


Evaluation of the growth of *Magnolia pugana* seedlings *in situ* and *ex situ*, endemic species of Western Mexico in danger of extinction

Evaluación del crecimiento de plántulas de *Magnolia pugana* *in situ* y *ex situ*, especie endémica del Occidente de México en peligro de extinción

Romo-Campos, R. L.¹ , Avendaño López, A. N.², Ascencio-Suárez N. S.³, Peña-López, B. E.³, Güitrón-López M. M.⁴.

¹Department of Botany and Zoology. University of Guadalajara. Mexico. ²Department of agricultural production. Universidad de Guadalajara. México. ³Graduated from the Bachelor of Biology. University of Guadalajara. Mexico.

⁴Department of Applied Ecology. University of Guadalajara. Mexico.

Cite this paper/Cómo citar este artículo: Romo-Campos, R. L., Avendaño López, A. N., Ascencio-Suárez, N. S., Peña-López, B. E., Güitrón-López, M. M. (2022). Evaluation of the growth of *Magnolia pugana* seedlings *in situ* and *ex situ*, endemic species of Western Mexico in danger of extinction. *Revista Bio Ciencias* 9, e1196. doi: <https://doi.org/10.15741/revbio.09.e1196>



ABSTRACT

Conserving populations of endangered species in contrasting environments, such as their natural habitat (*in situ*) and an urban park (*ex situ*), can be central to a better knowledge of viability in several environments. *Magnolia pugana* is an endemic and endangered tree species distributed in western Mexico. This work studied the response to survival, growth, and photosynthetic performance of *M. pugana* seedlings *in situ* and *ex situ*. 30 twelve-month-old seedlings were transplanted at two sites; *in situ* conditions (La Virgen stream in San Lorenzo, Zapopan) and *ex situ* (La Culebra stream in the Bosque Los Colomos urban park, Zapopan). During six months, survival, growth variables (height, basal area, and coverage), and physiological variables (quantum efficiency of PSII and electron transport rate), were evaluated monthly.

Article Info/Información del artículo

Received/Recibido: May 05th 2021.

Accepted/Aceptado: January 20th 2022.

Available on line/Publicado: February 09th 2022.

RESUMEN

La conservación de poblaciones de especies en peligro de extinción en ambientes contrastantes, como su hábitat natural (*in situ*) y un parque urbano (*ex situ*), puede llevar a una mejor comprensión de su desempeño en diferentes entornos. *Magnolia pugana* es una especie arbórea endémica y en peligro de extinción que se distribuye en el occidente de México. Se estudió la respuesta a la supervivencia, crecimiento y desempeño fotosintético de plántulas de *M. pugana* *in situ* y *ex situ*. Se trasplantaron 30 plántulas de doce meses de edad en dos sitios: *in situ* (arroyo La Virgen en San Lorenzo, Zapopan) y *ex situ* (arroyo La Culebra en el parque urbano Bosque Los Colomos, Zapopan). Durante seis meses cada mes se evaluaron la supervivencia, variables de crecimiento (altura, área basal y cobertura) y fisiológicas (eficiencia cuántica del PSII y tasa de transporte de electrones). Las plántulas establecidas en condiciones *in situ* mostraron mayor supervivencia, altura, área basal y cobertura de la copa, que las que se trasplantaron en condiciones *ex situ*. Así mismo, las plántulas en su ambiente original (*in situ*) revelaron mejor desempeño fotosintético que las del

*Corresponding Author:

Romo-Campos Rosa de Lourdes. Universidad de Guadalajara. Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Departamento de Botánica y Zoología. Camino Ramón Padilla Sánchez No. 2100, Nextipac, Zapopan, Jalisco, México. C.P. 45200. E-mail: rirc.cucba@gmail.com

The seedlings established under *in situ* conditions showed greater survival, height, basal area, and crown cover than those transplanted below *ex situ* conditions. Likewise, the seedlings in their original environment (*in situ*) revealed better photosynthetic performance than those of the Bosque Los Colomos urban park (*ex situ*). Conservation and restoration actions for *M. pugana* populations should be focused on their native distribution. These studies contribute to the investigation of actions to protect and conserve endangered species.

KEY WORDS

Growth, *ex situ*, *in situ*, *Magnolia pugana*, seedlings, conservation.

Introduction

One of the most important aspects of successful regeneration of plant populations is seedling growth, which is key to community dynamics (Kitajima & Fenner, 2000). The establishment of plants in contrasting environments can lead to a better understanding of the ability of threatened endemic species to adapt to different environments and contribute to population restoration (Li & Pritchard, 2009; Mendoza *et al.*, 2009).

The establishment of plants in areas different from their natural habitat can be a limitation for their survival, growth, and development (Quintana-Ascencio *et al.*, 2004; Restrepo & Cardona, 2011). For example, García-Castro *et al.* (2017), evaluated in *Magnolia pugana* seedlings the effect of light, fertility, and seed origin on the relative growth rate and its components, reporting diverse morphological and physiological differences, making it possible to adapt to diverse environments.

Chlorophyll fluorescence is a useful tool to assess the tolerance of plants in different environments (Ashraf & Harris, 2013). Plants of the same species could show different photosynthetic responses to environmental variables, for example, Navarro *et al.* (2010) found differences in the response of chlorophyll fluorescence to water stress in *Pinus halepensis*. Likewise, research

parque urbano Bosque Los Colomos (*ex situ*). Las acciones de conservación y restauración de las poblaciones de *M. pugana* deberían estar enfocadas a su área nativa de distribución. Estos estudios contribuyen en la investigación de acciones para proteger y conservar especies en peligro de extinción.

PALABRAS CLAVE

Crecimiento, *ex situ*, *in situ*, *Magnolia pugana*, plántulas, conservación.

Introducción

Uno de los aspectos más importantes para el éxito en la regeneración de las poblaciones vegetales es el crecimiento de las plántulas, que es clave en la dinámica de las comunidades (Kitajima & Fenner, 2000). El establecimiento de plantas en ambientes contrastantes puede llevar a una mejor comprensión de la capacidad de especies endémicas amenazadas para adaptarse a diferentes entornos y contribuir a la restauración de sus poblaciones (Li & Pritchard, 2009; Mendoza *et al.*, 2009).

El establecimiento de plantas en áreas diferentes a su hábitat natural puede ser una limitación para su supervivencia, crecimiento y desarrollo (Quintana-Ascencio *et al.*, 2004; Restrepo & Cardona, 2011). Por ejemplo, García-Castro *et al.* (2017), evaluaron en plántulas de *Magnolia pugana* el efecto de la luz, fertilidad y origen de la semilla sobre la tasa de crecimiento relativo y sus componentes, donde encontraron que hubo diferencias morfológicas y fisiológicas con las que podrían adaptarse a diferentes ambientes.

La fluorescencia de la clorofila es una herramienta útil para valorar la tolerancia de las plantas en diferentes ambientes (Ashraf & Harris, 2013). Plantas de la misma especie podrían mostrar respuestas fotosintéticas diferentes a variables ambientales, por ejemplo, Navarro *et al.* (2010) encontraron diferencias en la respuesta de la fluorescencia de la clorofila al estrés hídrico en *Pinus halepensis*. Así mismo, investigaciones en adultos de *Quercus mongolica* Fisch. ex Ledeb, provenientes de dos poblaciones distintas mostraron diferencias al analizar la eficiencia cuántica del PSII (ϕ_{PSII}) y la tasa de transferencia de electrones (Zhang *et al.*, 2005).

on adults of *Quercus mongolica* Fisch. ex Ledeb, from two different populations, showed differences when analyzing PSII quantum efficiency (ϕ PSII) and electron transfer rate (Zhang et al., 2005).

The Sierra Madre Occidental is a mountainous complex that extends almost from the border with the United States to northern Jalisco (González-Elizondo et al., 2012), besides one of the most important regions in terms of floristic richness (Rzedowski, 1978). This is a transitional zone between the Nearctic and Neotropical kingdoms with a high diversity of species and endemism, including the Magnoliaceae family (Vázquez-García et al., 2002).

Magnolia pugana (H. H. Iltis & A. Vázquez) A. Vázquez & Carvajal, known regionally as “almacausco”, is an evergreen tree between 10 and 20 m tall that grows along the banks of streams tributary to the Santiago River, forms part of the vegetation community of gallery forests (Vázquez-García et al., 2002), and is endemic to central Jalisco and southern Zacatecas. The fragmentation of its habitat due to extensive cattle ranching and forest use for furniture manufacturing has caused a decline in its populations, therefore, the population is at serious risk of extinction (Cicuzza et al., 2007). Due to its restricted distribution and populations with few individuals, factors such as inbreeding and genetic drift could promote extinction scenarios (Vázquez-García et al., 2002; Muñiz-Castro et al., 2021). In addition, Jacobo-Pereira et al. (2016) found restrictions in seed dispersal due to low viability and dormancy mechanisms.

Repopulation of endangered species is crucial for the rescue and conservation of vulnerable populations (Dawson et al., 2013). The restoration of *M. pugana* populations is important due to the critical state of its populations caused by habitat loss and low numbers of individuals (Muñiz-Castro et al., 2021). The comparison of the growth and physiological performance of this species in areas outside its range and in its original habitat could provide new knowledge for its conservation. There are no studies of the growth of *M. pugana* *in situ* and *ex situ* conditions, which would provide essential information for the development of programs and activities for the restoration of its populations. This work aimed to evaluate the growth and chlorophyll fluorescence of *Magnolia pugana* seedlings in two contrasting habitats: *in situ* (original habitat) and *ex situ* (urban park).

La Sierra Madre Occidental es un complejo montañoso que se extiende casi desde la frontera con Estados Unidos hasta el Norte de Jalisco (González-Elizondo et al., 2012), además es una de las regiones más importantes en riqueza florística (Rzedowski, 1978). Esta es una zona transicional entre los reinos Neártico y Neotropical que posee alta diversidad de especies y endemismos entre las cuales está la familia Magnoliaceae (Vázquez-García et al., 2002).

Magnolia pugana (H. H. Iltis & A. Vázquez) A. Vázquez & Carvajal, conocido regionalmente como “almacausco”, es un árbol perennifolio de entre 10 y 20 m de altura, que crece en bordes de arroyos tributarios del Río Santiago, forma parte de la comunidad vegetal de los bosques de galería (Vázquez-García et al., 2002), y es endémico del centro de Jalisco y sur de Zacatecas. La fragmentación de su hábitat por la ganadería extensiva y el aprovechamiento forestal para la fabricación de muebles, han provocado el descenso de sus poblaciones, por lo que está en grave riesgo de desaparición (Cicuzza et al., 2007), debido a su distribución restringida y a poblaciones con pocos individuos, factores como la endogamia y la deriva genética podrían favorecer escenarios de extinción (Vázquez-García et al., 2002, Muñiz-Castro et al., 2021). Aunado a lo anterior Jacobo-Pereira et al. (2016) encontraron restricciones en la dispersión de las semillas por su baja viabilidad y mecanismos de latencia.

La repoblación de especies en peligro de extinción es crucial para el rescate y conservación de poblaciones vulnerables (Dawson et al., 2013). La restauración de poblaciones de *M. pugana* es importante debido al estado crítico en que se encuentran sus poblaciones por la pérdida de su hábitat y bajo número de individuos (Muñiz-Castro et al., 2021). La comparación del crecimiento y desempeño fisiológico de dicha especie en zonas fuera de su área de distribución y en su hábitat original, podría proveer nuevos conocimientos para su conservación. No hay estudios del crecimiento de *M. pugana* en condiciones *in situ* y *ex situ*, lo que aportarían importantes conocimientos para la elaboración de programas y actividades de restauración de sus poblaciones. El objetivo de este trabajo fue evaluar el crecimiento y fluorescencia de la clorofila en plántulas de *Magnolia pugana* en dos hábitats contrastantes: *in situ* (hábitat original) y *ex situ* (parque urbano).

Metodología

Área de estudio

El sitio *in situ* se ubicó en San Lorenzo (SL) en

Methodology

Study area

The *in situ* site was located in San Lorenzo (SL) in the municipality of Zapopan, Jalisco, located 8 kilometers from the community of Santa Lucia between 103°33'13.82" W, 20°49'12.28" N, at an altitude of 1467 meters. Most of the soils come from the Tertiary and Quaternary periods, rich in compounds such as volcanic rocks, basalt, and tuff. The dominant soils belong to the Eutrous Regosol and Haplic Feozem type, which are characterized by a sandy texture, and poor in organic matter. (INEGI, 1981). Soil use is agricultural and forestry. Most of the land is owned by smallholders, followed by ejido and communal land (INEGI, 1981). The average annual temperature is 20.6°C. The average minimum and maximum temperatures are 8.2°C and 33.4°C in January and May, respectively. The average annual precipitation is 999.3 millimeters (Ruiz *et al.*, 2012). The riparian forest is the natural habitat of *M. pujanana*, which is accompanied by tree species: *Litsea glaucescens* Kunth, *Taxodium mucronatum* Ten, *Piper hispidum* Kunth, *Piper jaliscanum* S. Watson, *Ficus insipida* Willd., and *Aphananthe monoica* (Hemsl.) J.-F. Leroy (Acevedo-Rosas *et al.*, 2008), which on average have heights between 18 and 25 m in height, shrubs of 2 to 4 m in height are also found.

The *ex situ* site was established in an urban area with the category of Municipal Hydrological Protection Area called "Bosque Los Colomos" (BLC), located northeast of the city of Guadalajara, Jalisco, Mexico (González-Hernández *et al.*, 2015). It has an area of approximately 90 hectares and its coordinates are 20°42'38" N, 103°24'12" W and 20°42'07" N, 103°23'26" W; the altitude is 1556 meters. The soil is Regosol Eutric with little development with a coarse texture and poor in organic matter. The climate is semi-warm sub-humid [(A)C(w1) (w)] with rainfall in summer, with annual precipitation of 976.5 millimeters and a mean annual temperature of 19.5 °C (Loza-Ramírez & González-Salazar, 2009). The vegetation structure is mainly composed of trees 15 to 20 m tall and shrubs 2 to 5 m tall. The main established native species are: *Pinus ayacahuite* C. Ehrenb. ex Schltld., *P. devoniana* Lindl., *P. douglasiana* Martínez, *P. maximartinezii* Rzed., *P. oocarpa* Schiede ex Schltld., *P. patula* Schltld. & Cham., *P. tenuifolia* Salisb. However, secondary vegetation and introduced species are also found: *Casuarina cunninghamiana* Miq., *C. equisetifolia*

el municipio de Zapopan, Jalisco, situado a 8 kilómetros de la comunidad de Santa Lucia entre 103°33'13.82" O, 20°49'12.28" N, a una altitud de 1467 metros. La mayor parte de los suelos proviene del período terciario y cuaternario, ricos en compuestos como rocas volcánicas, basalto y toba. Los suelos dominantes pertenecen al tipo Regosol Eútrico y Feozem Háplico, los cuales se caracterizan por una textura arenosa, y pobres en materia orgánica. (INEGI, 1981). El uso del suelo es agropecuario y forestal. La tenencia de la tierra en su mayoría corresponde a la pequeña propiedad, siguiendo la ejidal y la comunal (INEGI, 1981). El clima es semicálido subhúmedo con lluvias en verano, la temperatura media anual es de 20.6 °C, la temperatura mínima y máxima promedio corresponden a los meses de enero y mayo con 8.2 °C y 33.4 °C, respectivamente. La precipitación promedio anual es de 999.3 milímetros (Ruiz *et al.*, 2012). El bosque ripario es el hábitat natural de *M. pujanana*, que es acompañada de especies arbóreas: *Litsea glaucescens* Kunth, *Taxodium mucronatum* Ten, *Piper hispidum* Kunth, *Piper jaliscanum* S. Watson, *Ficus insipida* Willd., y *Aphananthe monoica* (Hemsl.) J.-F. Leroy (Acevedo-Rosas *et al.*, 2008), que en promedio tienen alturas entre 18 y 25 m de altura, también se encuentran arbustos de 2 a 4 m de altura.

El sitio *ex situ* se estableció en un área urbana con categoría de Área Municipal de Protección Hidrológica llamada "Bosque Los Colomos" (BLC), localizada al noreste de la ciudad de Guadalajara, Jalisco, México (González-Hernández *et al.*, 2015). Tiene una superficie de aproximadamente 90 hectáreas y sus coordenadas son 20°42'38" N, 103°24'12" O y 20°42'07" N, 103°23'26" O; la altitud es de 1556 metros. El suelo es Regosol Eútrico con poco desarrollo con textura gruesa y pobres en materia orgánica. El clima es semicálido subhúmedo [(A)C(w1) (w)] con lluvias en verano, con una precipitación anual de 976.5 milímetros y una temperatura media anual de 19.5 °C (Loza-Ramírez & González-Salazar, 2009). La estructura de la vegetación está compuesta principalmente por árboles de 15 a 20 m de altura y arbustos de 2 a 5 m de altura. Las principales especies nativas establecidas son: *Pinus ayacahuite* C. Ehrenb. ex Schltld., *P. devoniana* Lindl., *P. douglasiana* Martínez, *P. maximartinezii* Rzed., *P. oocarpa* Schiede ex Schltld., *P. patula* Schltld. & Cham., *P. tenuifolia* Salisb. Sin embargo, también se encuentra vegetación secundaria y especies introducidas: *Casuarina cunninghamiana* Miq., *C. equisetifolia* L., *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh., *E. citrinoides* Benth., *E. globulosus* St.-Lag., y *E. robusta* Sm. (Jara-Arce & Orendain-Díaz, 2009).

L., *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh., *E. citrinoides* Benth., *E. globulosus* St.-Lag., and *E. robusta* Sm. (Jara-Arce & Orendain-Díaz, 2009).

Seed collection and seedling growth in the greenhouse

In April 2015, seeds of at least 10 adult individuals of *Magnolia pugana* were collected at the San Nicolás locality (20° 48'53.2" N and 103° 34'49.8" W), germination and seedling growth were carried out in a greenhouse located at the Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (20° 44'53.6" N and 103° 30'52.2" W) following the methodology applied by García-Castro *et al.* (2018).

In July 2015, 60 twelve-month-old *M. pugana* seedlings, ranging from 15 to 25 centimeters in height, were established approximately three meters apart between individuals and 1.5 meters from the margin of each stream. Thirty seedlings were transplanted in La Virgen stream in San Lorenzo (*in situ*) and 30 seedlings were transplanted in Bosque Los Colomos (*ex situ*) on La Culebra stream (Fig. 1a). Both sites are devoid of tree and shrub vegetation, the vegetation was removed approximately 20 years ago for agricultural activities in SL and the BLC for recreational activities. During the recording of the variables, herbaceous vegetation was kept free around the seedlings.

To assess environmental conditions at the beginning and end of the work in both sites; temperature, and water vapor pressure deficit were measured, using with HOBO electronic devices (H08-004-002, Onset Computer Corporation, Massachusetts, USA), and photosynthesis photon flux density (DFFF) with a Quantum LI-COR LI-250; at the SL site (*in situ*) the temperature was 26.1 ± 0.6 °C, vapor pressure deficit 2.3 ± 0.13 MPa; and at the BLC site (*ex situ*) the temperature was 29.7 ± 1.1 °C, vapor pressure deficit 2.4 ± 0.3 MPa.

Response variables

From October 2016 through March 2017, each month in both study sites (SL and BLC), survival was assessed by counting live and dead seedlings. Stem length (cm), stem base diameter (mm) (with a Mitutoyo Absolute digital vernier), and canopy cover (recorded with the length of the two perpendicular axes to estimate the horizontal projection of cover) were also measured according to the ellipse area formula (Mueller-Dombois & Ellenberg, 1974). Chlorophyll fluorescence was assessed in the last month

Colecta de semillas y crecimiento de plántulas en invernadero

En abril de 2015 se colectaron semillas de por lo menos 10 individuos adultos de *Magnolia pugana* en la localidad San Nicolás (20° 48'53.2" N y 103° 34'49.8" O), la germinación y el crecimiento de las plántulas se llevó a cabo en un invernadero ubicado en el Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (20° 44'53.6" N y 103° 30'52.2" O) de acuerdo con la metodología aplicada por García-Castro *et al.*, (2017).

En julio de 2015, 60 plántulas de *M. pugana* de doce meses de edad, de entre 15 y 25 centímetros de altura, fueron establecidas aproximadamente con tres metros de separación entre individuos y a 1.5 metros del margen de cada arroyo. 30 plántulas fueron trasplantadas en el arroyo La Virgen, en San Lorenzo (*in situ*) y 30 plántulas en el Bosque Los Colomos (*ex situ*) sobre el arroyo La Culebra (Fig.1a). Ambos sitios están desprovistos de vegetación arbórea y arbustiva, la vegetación fue eliminada hace aproximadamente 20 años para realizar actividades agropecuarias en SL y en el BLC para actividades recreativas. Durante el registro de las variables se mantuvo libre de herbáceas alrededor de las plántulas.

Para conocer las condiciones ambientales en cada sitio se midieron al inicio y al final del trabajo la temperatura, el déficit de presión de vapor del agua con dispositivos electrónicos HOBO (H08-004-002, Onset Computer Corporation, Massachusetts, USA), y la densidad del flujo de fotones de la fotosíntesis (DFFF) con un Quantum LI-COR LI-250; en el sitio SL (*in situ*) la temperatura fue de 26.1 ± 0.6 °C, el déficit de presión de vapor 2.3 ± 0.13 MPa; y en el sitio BLC (*ex situ*) la temperatura fue de 29.7 ± 1.1 °C, el déficit de presión de vapor 2.4 ± 0.3 MPa.

Variables de respuesta

Desde octubre de 2016 y hasta marzo de 2017, cada mes se evaluaron en cada uno de los sitios de estudio (SL y BLC) la supervivencia mediante el conteo de plántulas vivas y muertas. También se midió la longitud del tallo (cm), el diámetro de la base del tallo (mm) (con un vernier digital Mitutoyo Absolute) y la cobertura de la copa (se registró con la longitud de los dos ejes perpendiculares para estimar la proyección horizontal de la cobertura) de acuerdo con la fórmula del área de la elipse (Mueller-Dombois & Ellenberg, 1974).

La fluorescencia de la clorofila se evaluó el último mes (enero de 2017) con un analizador de fluorescencia portátil

(January 2017) with a portable fluorescence analyzer (Mini-PAM, Photosynthesis Yield Analyzer, Walz, Effeltrich, Germany). Every two hours from 08:00 to 17:00 hours in seven seedlings per site (SL and BLC), the effective quantum yield of photosystem II (Φ_{PSII}) was estimated in a light-adapted sample with the following formula: $\Phi_{PSII} = (F'_m - F_t) / F'_m$, where F'_m which is the maximum fluorescence emitted by chlorophyll when a pulse of actinic light is superimposed on light levels and F_t is the chlorophyll fluorescence emitted by plants in a stable phase of illumination (e.g., field light conditions) (Genty *et al.*, 1989). Values for Φ_{PSII} range from 0.8 to 0.83 when unstressed plants; these values decrease with increasing environmental stress (Maxwell & Johnson, 2000).

Also, in seven seedlings per site at 5:00 h (pre-dawn), the maximum quantum efficiency of photosystem II (F_v/F_m) was measured with the following formula $F_v/F_m = (F_m - F_0) / F_m$, where F_v is the variation of chlorophyll fluorescence of a dark-adapted leaf ($F_v = F_m - F_0$) and F_m is the maximum fluorescence of a dark-adapted leaf (Maxwell and Johnson, 2000). The rate of electron transfer (ETR) was estimated with the following formula: $ETR = \Phi_{PSII} \times RFA \times 0.05 \times 0.084$, expressed in $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, where 0.5 is the energy distribution factor between photosystem I and photosystem II, and 0.84 is a standard factor of light absorbed by photosynthetic tissue (Ehleringer, 1981).

Experimental design and statistical analysis

The experimental design was completely randomized with two treatments: *in situ* (SL) and *ex situ* (BLC) with 30 seedlings (replicates) for each site. Survival was recorded and analyzed with the X^2 test, considering the number of dead and live seedlings as a column factor and the site as a row factor. Stem basal area (mm) ($n = 60$) was analyzed with repeated measures ANOVA to evaluate the effect of site and time (month of sampling). The assumptions of normality and homogeneity of variance were tested prior to the analyses. Tukey's multiple comparison test ($\alpha = 0.05$) was used to identify differences between sites. Canopy cover and stem length variables were analyzed using Friedman's test with repeated measures due to the lack of normality and homoscedasticity ($n = 60$).

Photosystem II effective quantum yield Φ_{PSII} ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), photosystem II maximum quantum efficiency (F_v/F_m) ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and electron transfer rate (ETR, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) were

(Mini-PAM, Photosynthesis Yield Analyzer, Walz, Effeltrich, Alemania). Cada dos horas desde las 08:00 a 17:00 horas en siete plántulas por sitio (SL y BLC), se estimó el rendimiento cuántico efectivo del fotosistema II (Φ_{PSII}) en una muestra adaptada a la luz con la siguiente fórmula: $\Phi_{PSII} = (F'_m - F_t) / F'_m$, donde F'_m que es la fluorescencia máxima emitida por la clorofila cuando un pulso de luz actínica se superpone a los niveles de luz y F_t es la fluorescencia de la clorofila emitida por las plantas en fase estable de iluminación (por ejemplo, condiciones de luz en campo) (Genty *et al.*, 1989). Los valores para Φ_{PSII} varían entre 0.8 y 0.83 cuando las plantas no tienen estrés; estos valores disminuyen cuando se incrementa el estrés ambiental (Maxwell & Johnson, 2000).

También en siete plántulas por sitio a las 5:00 horas (pre-amanecer) se midió la eficiencia cuántica máxima del fotosistema II (F_v/F_m) con la siguiente fórmula $F_v/F_m = (F_m - F_0) / F_m$, donde F_v es la variación de la fluorescencia de la clorofila de una hoja adaptada a la oscuridad ($F_v = F_m - F_0$) y F_m es la fluorescencia máxima de una hoja adaptada a la oscuridad (Maxwell & Johnson, 2000). La tasa de transferencia de electrones (ETR) se estimó con la siguiente fórmula: $ETR = \Phi_{PSII} \times RFA \times 0.05 \times 0.084$, expresado en $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, donde 0.5 es el factor de distribución de la energía entre el fotosistema I y el fotosistema II, y 0.84 es un factor estándar de la luz absorbida por el tejido fotosintético (Ehleringer, 1981).

Diseño experimental y análisis estadístico

El diseño experimental fue completamente al azar con dos tratamientos: *in situ* (SL) y *ex situ* (BLC) con 30 plántulas (repeticiones) por cada sitio. Se registró la supervivencia se analizó con la prueba de X^2 , considerando el número de plántulas muertas y vivas como factor de columna y el sitio como factor de hilera. El área basal del tallo (mm) ($n = 60$) se analizó con ANOVA de medidas repetidas para evaluar el efecto del sitio y del tiempo (mes de muestreo). Previo a los análisis fueron comprobados los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza. Para identificar diferencias entre sitios se utilizó la prueba de comparación múltiple de Tukey ($\alpha = 0.05$). Las variables de cobertura de la copa y longitud del tallo se analizaron mediante la prueba de Friedman con medidas repetidas debido a la falta de normalidad y homoscedasticidad ($n = 60$). El rendimiento cuántico efectivo del fotosistema II Φ_{PSII} ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la eficiencia cuántica máxima del fotosistema II (F_v/F_m) ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y la tasa de transferencia de electrones (ETR, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), se evaluaron mediante

evaluated by repeated measures ANOVA ($n = 14$) with seven seedlings per site to assess the effect of site and time (sampling time). All analyses were performed with the statistical package Statistica version 7.0 (StatSoft Inc., 2004).

Results

Growth

During the first three months after transplanting, it was observed that 100 % of the seedlings survived at both sites. At the end of the evaluation (six months after transplanting), survival analysis showed significant differences between sites ($X^2 = 1784.5$, $p < 0.001$). In the BLC (*ex situ*) 73 % of seedlings survived, in contrast to those in SL (*in situ*) where 97 % of seedlings survived.

Repeated measures ANOVA for seedling basal area growth revealed significant differences between locations ($F = 341$, $p < 0.01$). At the SL site, the basal area of seedlings increased on average 68.8 % compared to that of seedlings at the BLC site. The time \times site interaction showed no statistical differences ($F = 1.75$, $p > 0.05$ and $F = 0.17$, $p > 0.05$) (Table 1).

The variable cover also showed differences between sites ($X^2 = 143.56$, $p < 0.001$), at the SL site seedlings increased canopy cover by 61.1 %, in contrast to the BLC site (Table 1). The variable stem length also revealed significant differences ($X^2 = 108.58$, $p < 0.000$), seedlings at SL showed 18.7 % greater height compared to seedlings at the BLC site (Table 1).

ANOVA de medidas repetidas ($n = 14$) con siete plántulas por sitio para evaluar el efecto del sitio y el tiempo (hora de muestreo). Todos los análisis fueron realizados con el paquete estadístico Statistica versión 7.0 (StatSoft Inc., 2004).

Resultados

Crecimiento

Durante los tres primeros meses después del trasplante se observó que sobrevivieron el 100 % de las plántulas en ambos sitios. Al final de la evaluación (seis meses después del trasplante), el análisis de la supervivencia mostró diferencias significativas entre sitios ($X^2 = 1784.5$, $p < 0.001$). En el BLC (*ex situ*) sobrevivieron el 73 % plántulas, en contraste con las de SL (*in situ*) donde el 97 % de las plántulas sobrevivió.

El ANOVA de medidas repetidas para el crecimiento del área basal de las plántulas reveló diferencias significativas entre localidades ($F = 341$, $p < 0.01$). En el sitio SL el área basal de las plántulas aumentó en promedio 68.8 % en comparación con el de las plántulas del sitio BLC. La interacción tiempo \times sitio no mostró diferencias estadísticas ($F = 1.75$, $p > 0.05$ y $F = 0.17$, $p > 0.05$) (Tabla 1).

La variable cobertura también mostró diferencias entre sitios ($X^2 = 143.56$, $p < 0.001$), en el sitio SL las plántulas incrementaron la cobertura de la copa en 61.1 %, en contraste con el sitio BLC (Tabla 1). La variable longitud del tallo también reveló diferencias significativas ($X^2 = 108.58$, $p < 0.000$), las plántulas en SL mostraron 18.7 % mayor altura en comparación con las plántulas del sitio BLC (Tabla 1).

Tabla 1.
Promedio (\pm EE) de las variables de crecimiento (cobertura de la copa, longitud del tallo y área basal del tallo) de plántulas de *Magnolia pugana* *in situ* y *ex situ*.

Table 1.
Average (\pm SE) of the growth variables (cover, stem length and basal area of the stem) of *Magnolia pugana* seedlings *in situ* and *ex situ*.

| Site | Coverage (cm ²) | Stem length (cm) | Stem basal area (mm ²) |
|---------------------------------------|-------------------------------|------------------------------|------------------------------------|
| San Lorenzo (<i>in situ</i>) | 815.1 _a \pm 39.3 | 28.54 _a \pm 0.6 | 7.44 _a \pm 0.18 |
| Bosque Los Colomos (<i>ex situ</i>) | 498.2 _b \pm 22.1 | 20.2 _b \pm 0.5 | 5.26 _b \pm 0.15 |

Different letters indicate significant differences for each variable according to Tukey's test ($p < 0.05$).

Letras diferentes indican diferencias significativas para cada variable según la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

Chlorophyll fluorescence

The maximum quantum yield of photosystem II Φ_{PSII} showed statistical differences ($F = 61.1$, $p < 0.0001$). In *Magnolia pugnana* seedlings from the BLC site, it was lower ($0.626_b \pm 0.01$) than in the SL site ($0.778_a \pm 0.01$). Repeated measures analysis of variance of the effective photosynthetic efficiency of Φ_{PSII} revealed significant differences by site effect ($F = 17.77$, $p < 0.001$). The Φ_{PSII} in seedlings from the SL site showed 20.7 % more quantum yield than those from the BLC site (Fig. 1). Differences by sampling time were also revealed; the lowest photosynthetic efficiency occurred at 16:00 h ($0.4788 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). The site \times sampling time interaction revealed no statistical differences ($F = 0.59$, $p > 0.5$).

In electron transfer rate (ETR) we also found significant differences ($F = 17.62$, $p < 0.01$) by site effect. Seedlings from the SL site showed 82.4 % more ETR ($20.8_a \pm 2.6$) in contrast to those from the BLC site ($17.3_b \pm 1.9$). There were also differences by sampling time ($F = 92.54$, $p < 0.0001$). Between 12:00 and 16:00

Fluorescencia de la clorofila

El rendimiento cuántico máximo del fotosistema II Φ_{PSII} mostró diferencias estadísticas ($F = 61,1$, $p < 0.0001$). En las plántulas de *Magnolia pugnana* del sitio BLC fue menor ($0.626_b \pm 0.01$) que en el sitio SL ($0.778_a \pm 0.01$). El análisis de varianza de medidas repetidas de la eficiencia fotosintética efectiva del Φ_{PSII} , reveló diferencias significativas por efecto del sitio ($F = 17.77$, $p < 0.001$). El Φ_{PSII} en las plántulas del sitio SL mostraron 20.7 % más rendimiento cuántico que las del sitio BLC (Figura 1). También se revelaron diferencias por la hora de muestreo; la eficiencia fotosintética más baja se presentó a las 16:00 h ($0.4788 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). La interacción sitio \times hora de muestreo no reveló diferencias estadísticas ($F = 0,59$, $p > 0.5$).

En la tasa de transferencia de electrones (ETR) también encontramos diferencias significativas ($F = 17.62$, $p < 0.01$) por efecto del sitio. Las plántulas del sitio SL mostraron 82.4 % más ETR ($20.8_a \pm 2.6$) en contraste con las del sitio BLC ($17.3_b \pm 1.9$). También hubo diferencias por la hora de muestreo ($F = 92.54$, $p < 0.0001$). Entre las 12:00 y las 16:00 horas se registró la mayor tasa de transferencia de

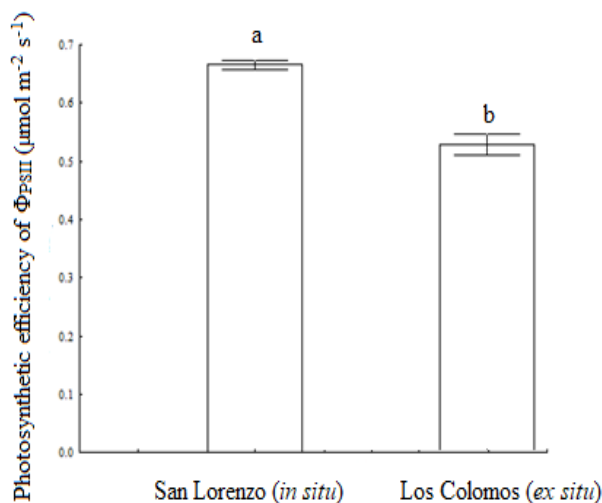


Figure 1. Average (\pm SE) of the effective photosynthetic efficiency of photosystem II Φ_{PSII} ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) in *Magnolia pugnana* seedlings transplanted in two sites: San Lorenzo (*in situ*) and Bosque Los Colomos (*ex situ*). Different letters indicate significant differences according to Tukey's test ($p < 0.05$).

Figura 1. Promedio (\pm EE) de la eficiencia fotosintética efectiva del fotosistema II Φ_{PSII} ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) en plántulas *Magnolia pugnana* trasplantadas en dos sitios: San Lorenzo (*in situ*) y Bosque Los Colomos (*ex situ*). Letras diferentes indican diferencias significativas según la prueba de Tukey's ($p < 0.05$).

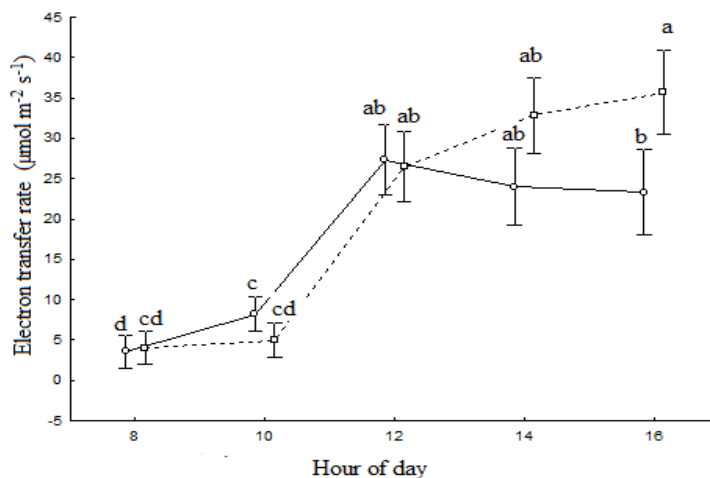


Figure 2. Average (\pm SE) of the electron transfer rate ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) in *Magnolia pugana* seedlings transplanted in two sites: San Lorenzo (*in situ*) dotted line and Bosque Los Colomos (*ex situ*) continuous line. Different letters indicate significant differences for each variable according to Tukey's test ($p < 0.05$).

Figura 2. Promedio (\pm EE) de la tasa de transferencia de electrones ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) en plántulas de *Magnolia pugana* en dos sitios: San Lorenzo (*in situ*) en línea punteada y Bosque Los Colomos (*ex situ*) en línea continua. Letras diferentes indican diferencias significativas según la prueba de Tukey's ($p < 0.05$).

hours, the highest electron transfer rate was recorded. We found differences by site \times sampling time interaction ($F = 16.47$, $p < 0.001$), ETR increased in the hours with the highest solar radiation from 12:00 hours and up to 16:00 hours, but at the BLC site seedlings decreased ETR in the last two sampling hours, in contrast to those in SL (Figure 2).

Discussion

Both *in situ* and *ex situ* conservation of endangered species require knowledge of the survival and growth of the species under study to obtain basic biological information as a preliminary step in protection actions (IUCN, 2012). Survival is one of the main factors affecting the regeneration of plant populations (Elzinga *et al.*, 2001), and also represents an important measure to evaluate the success of conservation programs for endangered populations (Ramírez-Herrera *et al.*, 2005). One of the main objectives of *ex situ* conservation is to avoid the extinction of endangered populations as an effort to improve and increase conservation programs (Mauder & Byers, 2005). In this work, we found that

electrones. Encontramos diferencias por la interacción sitio \times hora de muestreo ($F = 16.47$, $p < 0.001$), la ETR aumentó en las horas con mayor radiación solar de las 12:00 horas y hasta las 16:00 horas, pero en el sitio BLC las plántulas disminuyeron la ETR en las dos últimas horas de muestreo, en contraste con las de SL (Figura 2).

Discusión

Tanto la conservación *in situ* como la *ex situ* de especies en peligro de extinción, requieren del conocimiento de la supervivencia y crecimiento de las especies en estudio para obtener información básica de la biología como paso previo en acciones de protección (IUCN, 2012). La supervivencia es uno de los factores principales que afectan la regeneración de poblaciones de plantas (Elzinga *et al.*, 2001), además, representa una medida importante para evaluar el éxito en programas de conservación de poblaciones en peligro de extinción (Ramírez-Herrera *et al.*, 2005). Uno de los principales objetivos de la conservación *ex situ* es evitar la extinción de poblaciones en peligro como un esfuerzo para mejorar y aumentar los programas de conservación (Mauder & Byers, 2005). En este trabajo encontramos que en condiciones *in situ*

in situ conditions (San Lorenzo) had higher survival than *ex situ* (Bosque Los Colomos). These results are consistent with those reported by Restrepo & Cardona (2011), who carried out plantations with juveniles of five endemic species of the *Magnolia* genus with contrasting environmental site conditions, with greater survival and growth in conditions similar to their natural habitat.

Plant growth depends on its ability to capture resources such as light and nutrients (Tilman, 1985). The growth of the basal area and stem height is considered as an indicator of the morpho-physiological quality of seedlings (Restrepo & Cardona, 2011). In this work, seedlings established *in situ* conditions showed greater growth in basal area and stem length and therefore a greater competitive ability than those grown in *ex situ* conditions. These results agree with those obtained by García-Castro *et al.* (2018) who studied under greenhouse conditions, the relative growth rate of *Magnolia pugana* seedlings obtained from seeds with *in situ* and *ex situ* provenance and found that seedlings from *in situ* populations had higher growth in contrast to seedlings with *ex situ* provenance.

The capture of solar radiation by the canopy affects plant productivity (Lambers & Poorter, 1992). This measure can also predict the direction that the plant community may follow (Tilman, 1987), where competition for resources determines the abundance of species (Mouquet *et al.*, 2002). In this work, *in situ* seedlings showed greater canopy cover than those in *ex situ* conditions, which implies greater solar radiation capture area and therefore better photosynthetic performance in seedlings established in their original distribution area.

Chlorophyll fluorescence can be used as a tool to evaluate the adaptive capacity of plants in different environmental conditions (Cavender-Bares & Bazzaz, 2004). The maximum photosynthetic efficiency of photosystem II (F_v/F_m) in a healthy plant presents values between 0.8 and 0.83, the decrease of this value indicates that there are processes of inactivation of photosystem II by some type of stress, also called photoinhibition (Ribeiro *et al.*, 2005). In this work in neither of the two populations of *Magnolia pugana* established values of 0.8 were reached, however, seedlings established in SL showed 19.5 % more photosynthetic efficiency (0.778

(San Lorenzo) hubo mayor supervivencia que en *ex situ* (Bosque Los Colomos). Estos resultados concuerdan con lo que registraron Restrepo & Cardona (2011), los cuáles realizaron plantaciones con juveniles de cinco especies endémicas del género *Magnolia* con condiciones ambientales de sitio contrastantes, mayor supervivencia y crecimiento en condiciones similares a su hábitat natural.

El crecimiento de las plantas depende de su habilidad para capturar recursos como luz y nutrientes (Tilman, 1985). El crecimiento del área basal y altura del tallo está considerado como un indicador de la calidad morfo-fisiológica de plántulas (Restrepo & Cardona, 2011). En este trabajo las plántulas establecidas en condiciones *in situ* mostraron mayor crecimiento en el área basal y la longitud del tallo y por lo tanto una mayor habilidad competitiva que las que crecieron en condiciones *ex situ*. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por García-Castro *et al.* (2017) que estudiaron en condiciones de invernadero, la tasa de crecimiento relativo de plántulas de *Magnolia pugana* obtenidas de semillas con procedencia *in situ* y *ex situ*, y encontraron que las plántulas de poblaciones *in situ* tuvieron mayor crecimiento en contraste con las plántulas con procedencia *ex situ*.

La captura de radiación solar por la cobertura incide en la productividad de las plantas (Lambers & Poorter, 1992). Esta medida además puede predecir la dirección que pueden seguir las comunidades de plantas (Tilman, 1987), donde la competencia por recursos determina la abundancia de las especies (Mouquet *et al.*, 2002). En este trabajo las plántulas *in situ* mostraron mayor cobertura de copa que las que estuvieron en condiciones *ex situ*, lo anterior implica mayor área de captación de radiación solar y por lo tanto mejor desempeño fotosintético en las plántulas establecidas en su área de distribución original.

La fluorescencia de la clorofila puede ser utilizada como una herramienta para evaluar la capacidad de adaptación de plantas en diferentes condiciones ambientales (Cavender-Bares & Bazzaz, 2004). La eficiencia fotosintética máxima del fotosistema II (F_v/F_m) en una planta saludable presenta valores de entre 0.8 y 0.83, la disminución de este valor indica que hay procesos de inactivación del fotosistema II por algún tipo de estrés, también llamado fotoinhibición (Ribeiro *et al.*, 2005). En este trabajo en ninguna de las dos poblaciones de *Magnolia pugana* establecidas se alcanzaron valores de 0.8, sin embargo, las plántulas establecidas en SL mostraron 19.5 % más eficiencia

$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), in contrast to that recorded in BLC ($0.626 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), and therefore SL seedlings showed better photochemical performance than those established in BLC.

Techniques such as chlorophyll fluorescence provide basic insights into the fundamental mechanisms of photosynthesis and the effect of stress factors on plants that impact the decrease in photosynthetic efficiency of PSII (Φ_{PSII}) (Force *et al.*, 2003; Murchie & Lawson, 2013). Plants of the same species in different habitats show morphological and physiological changes to acclimate (Zhang *et al.*, 2005). Φ_{PSII} could decrease due to variation in environmental factors (Adams & Demming-Adams, 2004). In this work, the lower quantum yield was observed in *Magnolia pugana* seedlings established in *ex situ* conditions.

The electron transport rate (ETR) is a protective mechanism of the photosynthetic apparatus against a decrease in quantum efficiency (Flexas & Medrano 2002). High ETR values occur in response to increased quantum efficiency (Hernández-González *et al.*, 2020). In this work, the electron transport rate in SL seedlings (*in situ*) was significantly higher in the 16:00 hours sampling (Figure 2), in contrast to those in the BLC (*ex situ*); this means that *M. pugana* seedlings in SL showed a recovery of PSII, which could suggest that in the latter site they had greater tolerance to light.

The study of the growth of endangered species is crucial for the conservation of populations of endemic species. The conservation of populations of endangered native species is crucial to alleviate the decline of populations and requires knowledge of the ecophysiological attributes, so studies such as this one contribute to the knowledge and search for actions for the restoration of endangered riparian species.

Conclusions

Magnolia pugana seedlings transplanted at the San Lorenzo site (*in situ*) showed higher survival and better performance in growth and photosynthetic efficiency compared to seedlings transplanted at

fotosintética ($0.778 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), en contraste con la registrada en BLC ($0.626 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), y por lo tanto las plántulas de SL mostraron mejor desempeño fotoquímico que las que se establecieron BLC.

Técnicas como la fluorescencia de la clorofila proporcionan conocimientos básicos sobre los mecanismos fundamentales de la fotosíntesis y el efecto de factores de estrés sobre las plantas que inciden en la disminución en la eficiencia fotosintética del PSII (Φ_{PSII}) (Force *et al.*, 2003; Murchie & Lawson, 2013). Plantas de la misma especie en hábitats diferentes muestran cambios morfológicos y fisiológicos para poder aclimatarse (Zhang *et al.*, 2005). Φ_{PSII} podría disminuir por variación de los factores ambientales (Adams & Demming-Adams, 2004). En este trabajo se observó menor rendimiento cuántico en las plántulas de *Magnolia pugana* establecidas en condiciones *ex situ*.

La tasa de transporte de electrones (ETR) es un mecanismo de protección del aparato fotosintético ante la disminución de la eficiencia cuántica (Flexas & Medrano, 2002). Valores altos de ETR se presentan como respuesta al aumento en la eficiencia cuántica (Hernández-González *et al.*, 2020). En este trabajo, la tasa de transporte de electrones en las plántulas de SL (*in situ*) fue significativamente mayor en el muestreo de las 16:00 horas (Figura 2), en contraste con las del BLC (*ex situ*); lo anterior significa que las plántulas de *M. pugana* en SL mostraron una recuperación del PSII, lo que podría sugerir que en este último sitio éstas tuvieron mayor tolerancia a la luz.

El estudio del crecimiento de las especies en peligro de extinción es crucial para la conservación de poblaciones de especies endémicas. La conservación de poblaciones de especies nativas en peligro de extinción es crucial para paliar la disminución de las poblaciones y requiere del conocimiento de los atributos ecofisiológicos, por lo que estudios como el presente contribuyen en el conocimiento y búsqueda de acciones para la restauración de especies riparias en peligro de extinción.

Conclusiones

Las plántulas de *Magnolia pugana* trasplantadas en el sitio San Lorenzo (*in situ*) mostraron mayor supervivencia y mejor desempeño en el crecimiento y la eficiencia fotosintética en comparación con las plántulas trasplantadas en el Bosque Los Colomos (*ex situ*). Es

Bosque Los Colomos (*ex situ*). It is important to continue these studies because the information generated contributes to knowledge for decision making regarding the establishment of *Magnolia pugana* plantations for conservation and restoration purposes.

importante dar continuación a estos estudios debido a que la información generada contribuye al conocimiento para la toma de decisiones, respecto al establecimiento de plantaciones de *Magnolia pugana* para fines de conservación y restauración.

Acknowledgments

To Ismael Sotelo in charge of the Bosque Los Colomos Urban Park and Mr. Palomino Suárez for allowing the reforestation at Rancho La Saucedá on the La Virgen River in San Lorenzo.

Agradecimientos

A Ismael Sotelo encargado del Parque Urbano Bosque Los Colomos y al Sr. Palomino Suárez por permitir la reforestación en el Rancho La Saucedá sobre el Río La Virgen en San Lorenzo.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflicts of interest.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Contribution by author

Rosa de Lourdes Romo Campos: study proposal, experimental design, statistical analysis of data, proofreading. Adriana Natividad Avendaño López: data recording and data analysis. Noemí Saraí Ascencio Suárez: sampling of seedlings at San Lorenzo site, data recording. Blanca Elizabeth Peña López: sampling of seedlings at Bosque Los Colomos site. María Marcela Güitrón López: data recording and proofreading.

Contribución por autor

Rosa de Lourdes Romo Campos: propuesta del estudio, diseño experimental, análisis estadísticos de datos, corrección del escrito. Adriana Natividad Avendaño López: registro de datos y análisis de datos. Noemí Saraí Ascencio Suárez: muestreo de plántulas en sitio San Lorenzo, registro de datos. Blanca Elizabeth Peña López: muestreo de plántulas en sitio Bosque Los Colomos. María Marcela Güitrón López: registro de datos y corrección del escrito.

References

- Acevedo-Rosas, R., Hernández-Galaviz, M., & Cházaro-Basáñez, M. (2008). Especies de plantas vasculares descritas de las barrancas aledañas a la ciudad de Guadalajara y de Río Blanco, Jalisco, México. *Polibotánica*, (26), 1-38. <https://www.encb.ipn.mx/assets/files/encb/docs/polibotanica/revistas/pb26/plant.pdf>.
- Adams, W. W., & Demming-Adams, B. (2004). Chlorophyll fluorescence as a tool to monitor plant response to the environment. En Papageorgiou, G. C. & Govindjee *Advances in Photosynthesis and Respiration*. Ed. Springer: https://doi.org/10.1007/978-1-4020-3218-9_22.
- Ashraf, M., & Harris, P. J. C. (2013). Photosynthesis under stressful environments: An overview. *Photosynthetica*, 51(2), 163–190. <https://doi.org/10.1007/s11099-013-0021-6>
- Cavender-Bares, J., & Bazzaz, F. A. (2004). From leaves to ecosystems: using chlorophyll fluorescence to assess photosynthesis and plant function in ecological studies. In: Papageorgiou, G. C. & Govindjee. Chlorophyll a Fluorescence: A Signature of Photosynthesis. *Springer*, Dordrecht, Holland, 737–755 pp. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-3218-9_29
- Cicuzza, D., Newton, A. C., & Oldfield, S. (2007). Red List of Magnoliaceae. Fauna & Flora International. Cambridge, UK, 52 pp. <https://portals.iucn.org/library/sites/library/files/documents/RL-2007-001.pdf>

- Dawson, I. K., Guariguata, M. R., Loo, J., Weber, C. J., Lengkeek, A., Bush, D., Cornelius, J., Guarino, L., Kindt, R. Orwa, C., Russell, J., & Jamnadass, R. (2013). What is the relevance of smallholders' agroforestry systems for conserving tropical tree species and genetic diversity in *in situ*, *in situ* and *ex situ* settings? A review. *Biodiversity and Conservation*, 22(2), 301-324. <https://doi.org/10.1007/s10531-012-0429-5>.
- Ehleringer, J. (1981). Leaf absorptances of Mohave and Sonoran Deserts plants. *Oecologia*, 49, 366-370. <https://doi.org/10.1007/BF00347600>
- Elzinga, C. L., Salzer, D. W., Willoughby, J. W., & Gibbs, J. P. (2001). Monitoring Plant and Animal Populations. *Blackwell Science*, Inc., UK, 360 pp.
- Flexas, J., & Medrano, H. (2002). Drought-inhibition of photosynthesis in C3 plants: stomatal and non-stomatal limitation revisited. *Annals of Botany*, 89(2), 183–189. <https://doi.org/10.1093/aob/mcf027>
- Force, L., Critchley, C., & van Rensen, J. J. S. (2003). New fluorescence parameters for monitoring photosynthesis in plants. *Photosynthesis. Research*, 78, 17. <https://doi.org/10.1023/A:1026012116709>
- García-Castro, K., Romo-Campos, R., Jacobo-Pereira, C., & Gómez-Rubio, R. (2017). 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), 622-633. <https://dx.doi.org/10.15517/rbt.v66i2.33394>.
- Genty, B., Briantais, J-M., & Baker, N. R. (1989). The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta*, 990(1), 87-92. [https://doi.org/10.1016/S0304-4165\(89\)80016-9](https://doi.org/10.1016/S0304-4165(89)80016-9)
- González-Elizondo, S. M., González-Elizondo, M., Tena-Flores, J. A., Ruacho-González, L., & López-Enríquez, I. L. (2012). Vegetación de la Sierra Madre Occidental, México: una síntesis. *Acta Botánica Mexicana*, 100, 351–404. <https://doi.org/10.21829/abm100.2012.40>
- González-Hernández A. L., Navarrete-Heredia, J. L., Quiroz-Rocha, J. A., & Deloya, D. (2015). Coleópteros necrócolos (Scarabaeidae: Scarabaeinae, Silphidae y Trogidae) del Bosque Los Colomos, Guadalajara, Jalisco, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 86(3), 764-770. <https://doi.org/10.1016/j.rmb.2015.07.006>
- Hernández-González, O., Romo-Campos, R. L., Muñiz-Castro, M. A., & Flores, J. (2020). Light and irrigation effects on chlorophyll fluorescence depend on seedling provenance in *Magnolia pugana* endemic of Mexico. *Flora*, 271, 151684. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2020.151684>
- INEGI. (1981). Síntesis geográfica de Jalisco. Ed. Secretaría de Programación y Presupuesto.
- IUCN (Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza). (2012). Categorías y criterios de la Lista Roja de la UICN. Ed. UICN. 17. <https://portals.iucn.org/library/sites/library/files/documents/RL-2001-001-2nd-Es.pdf>
- Jacobo-Pereira, C., Romo-Campos, R., & Flores, J. (2016). Germinación de semillas de *Magnolia pugana* (Magnoliaceae), especie endémica y en peligro de extinción del occidente de México. *Botanical Science*, 94(3), 575-584. <https://dx.doi.org/10.17129/botsci.512>
- Jara-Arce, R. A., & Orendain-Díaz, D. A. (2009). Caracterización de la composición y sanidad forestal del Bosque Los Colomos. En: Anaya, M., Cordero, V. O., Ramírez, Q. A. and Guerrero-Nuño, J. J. Bosque Los Colomos Guadalajara "Una Visión integral para su conservación". (pp. 205-216) Ed. Símbolos Corporativos, S.A. de C.V.
- Kitajima, K., & Fenner, M. (2000). Ecology of seedling regeneration. En: Fenner, M. Seeds: the ecology of regeneration in plant communities. (pp. 331-359), Ed. CAB International. <https://10.1079/9780851994321.0331>
- Lambers, H., & Poorter, H. (1992). Inherent variation in growth rate between higher plants: a search for physiological causes and ecological consequences. *Advances in Ecological Research*, 23, 187–261. [https://doi.org/10.1016/S0065-2504\(08\)60148-8](https://doi.org/10.1016/S0065-2504(08)60148-8)
- Li, D. Z., & Pritchard, H. W. (2009). The science and economics of *ex situ* plant conservation. *Trends Plant Science*, 14(11): 614–621. <https://10.1016/j.tplants.2009.09.005>
- Loza-Ramírez, L., & González-Salazar, A. (2009). Estudio del clima en el Bosque Los Colomos. En: Anaya, M., Cordero, V. O., Ramírez, Q. A. & Guerrero-Nuño, J. J. Bosque Los Colomos Guadalajara, «Una visión integral para su conservación». (pp. 137-169). Ed. Guadalajara: Símbolos Corporativos S.A. de C.V.
- Maxwell, K., & Johnson, G. N. (2000). Chlorophyll fluorescence—a practical guide. *Journal of Experimental of Botany*, 51(345), 659–668. <https://doi.org/10.1093/jexbot/51.345.659>.

- Maunder, M., & Byers, O. (2005). The IUCN technical guidelines on the management of *ex situ* populations for conservation: Reflecting major changes in the application of *ex situ* conservation. *Oryx*, 39(1), 95-98. <https://doi.org/10.1017/S0030605305000177>.
- Mendoza, I., Gómez-Aparicio, L., Zamora, R., & Matías, L. (2009). Recruitment limitation of forest communities in a degraded Mediterranean landscape. *Journal of Vegetation Science*, 20(2), 367–376. <https://doi.org/10.1111/j.1654-1103.2009.05705.x>
- Mouquet, N., Moore, J. L., & Loreau, M. (2002). Plant species richness and community productivity: why the mechanism that promotes coexistence matters. *Ecology Letters*, 5(1), 56–65. <https://doi.org/10.1046/j.1461-0248.2002.00281.x>
- Mueller-Dombois, D., & Ellenberg, H. (1974). Aims and methods of vegetation ecology. Ed. John Wiley & Sons.
- Muñiz-Castro, M. A., Castro-Félix, P., Carranza-Aranda, A. S., Vázquez-García, J. A., & Santerre, A. (2021). Genética de poblaciones, delimitación de especies y conservación en el complejo de especies *Magnolia pacifica* a lo largo de un gradiente de continentalidad y humedad en el occidente de México. *Botanical Sciences*, 98(3), 500-516. <https://doi.org/10.17129/botsci.2551>
- Murchie, E. H., & Lawson, T. (2013). Chlorophyll fluorescence analysis: a good practice and understanding some new applications. *Journal of Experimental Botany*, 64(13), 3983-3998. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert208>
- Navarro, F. B., Jiménez, M. N., Cañadas, E. M., Gallego, E., Terrón, L., & Ripoll, M. A. (2010). Effects of different intensities of overstory thinning on tree growth and understory plant-species productivity in a semi-arid *Pinus halepensis* Mill. afforestation. *Forest Systems*, 9(3), 410-417. <https://doi.org/10.5424/fs/2010193-8858>
- Quintana-Ascencio, P. F., Ramírez-Marcial, N., González-Espinosa, M., & Martínez-Ico, M. (2004). Sapling survival and growth of coniferous and broad-leaved trees in successional highland habitats in Mexico. *Applied Vegetation Science*, 7(1), 81–88. <https://doi.org/10.1111/j.1654-109X.2004.tb00598.x>
- Ramírez-Herrera, C., Vargas-Hernández, J. J., & López-Upton, J. (2005). Distribución y conservación de las poblaciones naturales de *Pinus greggii*. *Acta Botánica Mexicana*, 72: 1-16.
- Restrepo, M. L. G., & Cardona, E. P. (2011). Resultados preliminares del crecimiento temprano en vivero y en parcelas de conservación de varias especies de magnolias propagadas sexual y asexualmente. En: Restrepo, M. L. G. Avances en la estrategia para la conservación de las especies de la familia Magnoliaceae en jurisdicción de CORANTIOQUIA. (pp. 81-84). Ed. Boletín Técnico Biodiversidad. https://www.corantioquia.gov.co/ciadoc/FLORA/AIRNR_FLORA_2191Reg_2011.pdf#page=83
- Ribeiro, R. V., Souza, G. M., Oliveira, R. F., & Machado, E. C. (2005). Photosynthetic responses of tropical tree species from different successional groups under contrasting irradiance conditions. *Brazilian Journal of Botany*, 28(1), 149-161. <https://doi.org/10.1590/S0100-84042005000100012>
- Ruiz, C. J. A., Flores, L. H. E., Regalado, R. J. R., & Ramírez, O. G. (2012). Estadísticas climáticas normales del Estado de Jalisco. Ed. INIFAP-CIRPAC. <https://docplayer.es/20576572-Estadisticas-climaticas-normales-del-estado-de-jalisco.html>
- Rzedowski, J. (1978). Vegetación de México. Ed. Limusa.
- StatSoft Inc. (2004). STATISTICA (data analysis software system), version 7. www.statsoft.com. <https://statistica.software.informer.com/7.0/>
- Tilman, D. (1985). The resource-ratio hypothesis of plant succession. *The American Naturalist*, 125(6), 827–852. <https://doi.org/10.1086/284382>
- Tilman, D. (1987). Secondary succession and the pattern of plant dominance along experimental nitrogen gradients. *Ecological Monographs*, 57(3), 189–214. <https://doi.org/10.2307/2937080>
- Vázquez-García, J. A., Carbajal, S., & Hernández, L. L. (2002). *Magnolia pugana* (Magnoliaceae): una nueva combinación en el complejo *Magnolia pacifica*. *Novon*, 12(1), 137-141. <https://doi.org/10.2307/3393253>
- Zhang, J., Zou, X., Yang, C., & Ao, H. (2005). The chlorophyll fluorescence characteristic of *Quercus mongolica* from different provenances. *Journal Northeast Forestry University*, 33(3), 20-21. <https://europepmc.org/abstract/cba/568253>