

**Informe final* del Proyecto HB004
Barcode de Bambúes nativos de México**

Responsable: Dra. María Teresa Mejía Saulés
Institución: Instituto de Ecología AC
Departamento de Biología Evolutiva
Laboratorio Molecular
Dirección: Carretera antigua a Coatepec # 351, El Haya, Xalapa, Ver, 91070 , México
Correo electrónico: teresa.mejia@inecol.edu.mx
Teléfono, fax 01-228-842-1800 ext 5000 fax:01-228-818-7809
Fecha de inicio: Agosto 14,2009
Fecha de término: Abril 18, 2013
Principales resultados: Códigos de barras, bases de datos, fotografías, informe final.
Forma de citar el informe final y otros resultados:** Mejía Saulés, M. T. 2014. Barcode de Bambúes nativos de México. Instituto de Ecología, A.C. **Informe final SNIB-CONABIO, proyecto No. HB004** México D. F.

Resumen:

Uno de los grupos de plantas que se utilizan actualmente tanto en la construcción como en la elaboración de artesanías es el de los bambúes, los cuales están clasificados en la subfamilia Bambusoideae de las Poaceae. Más aún, en México se distribuyen 36 especies nativas, de las cuales 15 son endémicas y uno de los géneros incluido en la NOM-059, el género Olmeca con dos especies, forma parte de esta flora distribuida únicamente en el país. Por su uso y endemismo, el Jardín Botánico "Francisco Javier Clavijero" del INECOL ha reunido la mayoría de las especies nativas de este grupo, formando la "Colección Nacional de Bambúes Nativos", con la certificación de la Asociación Mexicana de Jardines Botánicos, A.C. en febrero del 2005 y abierta al público. La colección incluye plantas vivas de 25 especies, de las cuales 12 son endémicas de México. El objetivo particular de esta propuesta es obtener secuencias de ADN para el proyecto "Código de Barras de la Vida" para identificar las 36 especies de bambúes nativos mexicanos, en particular utilizando tres regiones de ADN de cloroplasto propuestas para plantas terrestres: rbcL, matK y psbK-psbI. Los objetivos particulares son: contribuir a conocer la biodiversidad vegetal de México, incrementar la base de datos de secuencias de ADN del Código de Barras, promover estudios de sistemática molecular del grupo, actualizar la NOM-059 con la nomenclatura actual de las Bambusoideae mexicanas, incrementar la colección nacional de bambúes en el Jardín Botánico Francisco J. Clavijero y depositar ejemplares de respaldo en el herbario XAL. Adicionalmente, se colabora en el proyecto de filogenia y diversidad de bambúes del mundo y el Jardín Botánico Clavijero forma parte de la Asociación Mexicana de Jardines Botánicos y de asociaciones internacionales, por lo cual este proyecto favorecería también la colaboración con estos grupos a través de intercambio de colecciones e información. La metodología que se utilizará para obtener secuencias de ADN ha sido probada ya en el grupo, con dos marcadores diferentes a los propuestos, en un estudio filogenético molecular de la subtribu Guadinae llevado a cabo por las proponentes de este proyecto. Además se cuenta con el equipo de laboratorio necesario. El proyecto se llevará a cabo con la colaboración de la especialista en bambúes la Dra. Teresa Mejía Saulés responsable de este proyecto, con la del Biól. Eduardo Ruiz-Sánchez estudiante de doctorado del INECOL y especialista en el género Otatea y de la Dra. Victoria Sosa, especialista en sistemática molecular.

-
- * El presente documento no necesariamente contiene los principales resultados del proyecto correspondiente o la descripción de los mismos. Los proyectos apoyados por la CONABIO así como información adicional sobre ellos, pueden consultarse en www.conabio.gob.mx
 - ** El usuario tiene la obligación, de conformidad con el artículo 57 de la LFDA, de citar a los autores de obras individuales, así como a los compiladores. De manera que deberán citarse todos los responsables de los proyectos, que proveyeron datos, así como a la CONABIO como depositaria, compiladora y proveedora de la información. En su caso, el usuario deberá obtener del proveedor la información complementaria sobre la autoría específica de los datos.

HB004 - BARCODE DE BAMBUES NATIVOS DE MEXICO

Informe final

21 de Junio 2012

Dra. Ma. Teresa Mejia Saulés

Instituto de Ecología A.C.



INSTITUTO DE
ECOLOGIA, A.C.



CONABIO

HB004- *Barcode de Bambúes Nativos de México*

Ma. Teresa Mejía-Saulés

Instituto de Ecología A.C.
Biología Evolutiva
Apartado Postal 63
91000 Xalapa, Veracruz

Resumen

Uno de los grupos de plantas que se utilizan actualmente tanto en la construcción como en la elaboración de artesanías es el de los bambúes, los cuales están clasificados en la subfamilia Bambusoideae de la familia Poaceae o Gramineae. En México se distribuyen 41 especies nativas (cinco recién descritas), de las cuales 20 son endémicas y uno de los géneros incluido en la NOM-059, el género *Olmeca* con dos especies, forma parte de esta flora distribuida únicamente en el país. Por su uso y endemismo, el Jardín Botánico “Francisco Javier Clavijero” del INECOL ha reunido la mayoría de las especies nativas de este grupo, formando la “Colección Nacional de Bambúes Nativos de México”, con la certificación de la Asociación Mexicana de Jardines Botánicos, A.C. en febrero del 2005.. La colección incluye plantas vivas de 31 especies, de las cuales 13 son endémicas de México. El objetivo particular de este estudio fue obtener secuencias de ADN para el proyecto “Código de Barras de la Vida” para identificar las 41 especies de bambúes nativos mexicanos, en particular utilizando tres regiones de ADN de cloroplasto propuestas para plantas terrestres: *rbcL*, *matK* y *psbK-psbI*. Los objetivos particulares fueron: incrementar la base de datos con secuencias de ADN en el “Barcode of Life”, promover los estudios de sistemática molecular de las Bambusoideae mexicanas, actualizar la nomenclatura de

las Bambusoideae de la NOM-059 y proponer las especies que estén en peligro de extinción, no consideradas en esta norma, incrementar la Colección Nacional de Bambúes nativos de México con plantas vivas en el Jardín Botánico “Francisco Javier Clavijero”, INECOL y la colección botánica en el herbario XAL. Para lo cual se realizaron colectas de campo en diferentes localidades, para obtener las muestras para extracción del ADN, ejemplares botánicos para el herbario y plantas vivas para establecerlas en jardín botánico. Para los códigos de barras se realizó la extracción de ADN, amplificación, secuenciación y alineación. Se utilizaron tres loci o marcadores del cloroplasto: *matK*, *rbcL* y *psbI-K*. Como resultados se obtuvieron 160 secuencias de *matk*, 160 de *rbcL* y 161 de *psbI-K*; 222 ejemplares herborizados (los cuales fueron fotografiados e incluidos en BOLDsystem) y 467 duplicados del material colectado en campo; se colectaron 15 especies para ser establecidas en la colección de bambúes *ex situ* y se obtuvieron 158 fotografías del hábitat de las especies y estructuras morfológicas. Se obtuvo una lista de 18 especies consideradas como vulnerables y candidatos para ser evaluadas para conocer su categoría de riesgo para proponerlas en la NOM-059. Como conclusiones tenemos que la bibliografía demostró los escasos o nulos estudios realizados en los bambúes nativos de México. La colecta de material botánico jugó un papel importante en este proyecto, ya que las secuencias obtenidas son de buena calidad, se incrementó la colección *ex situ* y del herbario XAL, se proponen 18 especies para ser evaluadas y son posibles candidatos para la NOM-059, se descubrieron cinco nuevas especies de bambúes, bambúes nativos de México han sido secuenciados y toda la información obtenida están disponibles en la base de datos de Boldsystem, se da a conocer que con los marcadores *matk* y *psbI-K* y su combinación, se pueden identificar los géneros de bambúes mexicano.

Introducción

La biodiversidad de cada país constituye un recurso natural valioso y vulnerable. Entre los primeros pasos para llevar a cabo la protección y obtención de beneficios de la biodiversidad están el muestreo, la identificación y el estudio de ejemplares biológicos. El conocimiento sobre la biodiversidad y la identificación de los organismos que se encuentran en ella, constituyen una riqueza y patrimonio nacional que no tienen precio. Esto significa que su conocimiento puede crear beneficios no solo a nuestro país, sino también para todos los países.

En la Convención sobre la Diversidad Biológica (CBD) celebrada en 1993, se cita en el artículo 7 *“Cada parte contratante debe, conforme le sea posible y conveniente en particular para los propósitos de [conservación y uso sustentable]: identificar los componentes de la diversidad biológica, monitorear, a través del muestreo y otras técnicas ..., mantener y organizar, por algún mecanismo, los datos derivados de las actividades de identificación y monitoreo ...”* y México como parte de este convenio ha apoyado a las diversas Instituciones de investigación, Asociaciones académicas e investigadores para llevar a cabo esta inmensa labor (<http://www.biodiversidad.gob.mx>).

Una de las promotoras para llevar a cabo el conocimiento de la diversidad es la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO), la cual fue creada en como una comisión intersecretarial en 1992. La CONABIO tiene la misión de promover, coordinar, apoyar y realizar actividades dirigidas al conocimiento de la diversidad biológica, así como a su conservación y uso sustentable para beneficio de la sociedad. La CONABIO fue concebida como una organización de investigación aplicada, promotora de investigación básica,

que compila y genera información sobre biodiversidad, desarrolla capacidades humanas en el área de informática de la biodiversidad y es fuente pública de información y conocimiento accesible para toda la sociedad (www.conabio.gob.mx).

Otra de las Asociaciones que también están apoyando el conocimiento de la diversidad biológica y su conservación es la Asociación Mexicana de Jardines Botánicos, A.C., la cual fue fundada en 1983. Actualmente integrada por más de 50 Jardines Botánicos Mexicanos y sus principales objetivos son preparar profesionales, estimular la creación de nuevos jardines botánicos regionales y promover programas de conservación, educación y uso de las plantas mexicanas. También promueve vínculos académicos y técnicos entre instituciones y redes nacionales e internacionales (Lascurain *et al.* 2006). Esta Asociación también ha estado colaborando para el conocimiento de la diversidad biológica e incluso publicaron en el 2000 la “Estrategia de Conservación para los Jardines Botánicos Mexicanos” (Rodríguez-Acosta, 2000) teniendo como base la “Estrategia Global para la Conservación Vegetal”. Las colecciones *ex situ* albergadas en los jardines botánicos son consideradas como clave para la conservación de especies de plantas silvestres como recurso natural ya que son consideradas como una póliza de seguro para el futuro y una base para programas de restauración y reintroducción (Botanic Gardens Conservation International, 2006; Vovides, Linares y Bye, 2010). El Jardín Botánico “Francisco Javier Clavijero” del Instituto de Ecología, A.C. (INECOL) con el apoyo financiero de la asociación de Bamboo of the Americas (BOTA) inició en el 2003 la formación de la Colección Nacional de Bambúes Nativos de México la cual es reconocida por las Asociación Mexicana de Jardines Botánicos A.C. como colección nacional en el 2005. Esta colección ha sido la base para iniciar la conservación *ex situ* así como el estudio de las bambusoides mexicanas.

Algunos de los estudios realizados son: propagación vegetativa (Pale, 2004), delimitación taxonómica de especies (Ruíz-Sánchez, 2009), filogenia molecular (Ruíz-Sánchez, Sosa & Mejía-Saulés, 2008), manejo (Pale, 2012), descripción de nuevas especies (Ruíz-Sánchez *et al.* 2011a y 2011b), etc.

Por otro lado, los métodos de identificación de especies ha evolucionado conforme la ciencia y tecnología lo van permitiendo. La identificación “tradicional” vigente aun en estos días consiste en la utilización de claves para la identificación de familias, géneros y especies que se incluyen en las Floras, Monografías o revisiones taxonómicas. Otro método de identificación es por comparación, en la cual se compara la planta a identificar con material botánico del herbario. Aquí lo importantes es contar con una buena colección del grupo y que este validada por el especialista. Con los avances de la tecnología, actualmente contamos con métodos de identificación automáticos o en línea, como por ejemplo el DELTA (DEscription Language for TAXonomy) [www.delta-intkey.com]), el cual nos permite obtener una identificación on-line o en línea, así como la descripción y claves de identificación. Esta es una herramienta adicional para la identificación de los organismos. Para gramíneas se tiene la información para realizar una identificación de los géneros de gramíneas del mundo (Harman y Clayton, 2007) en la cual se incluyen la subfamilia bambusoideae.

Recientemente, el Código de Barras de ADN ha surgido como una nueva e importante herramienta para identificar ejemplares biológicos, administrar la diversidad biológica y la investigación taxonómica. El código de barras consiste en una secuencia muy corta de ADN (entre 400 y 800 bp [Kress y Erickson, 2008]) estandarizada dentro de un gen conocido, el cual provee una manera de identificar la especie a la cual una planta, animal u organismo pertenece.

El Consorcio para el Código de Barras de la Vida (CBOL) se inicio en el 2004 como una organización internacional que promueve la colaboración de todos los países para que puedan entender mejor y proteger su biodiversidad (Ratnasingham y Hebert, 2007). El CBOL está generando una biblioteca de referencia global de secuencias, de acceso libre que permitirá a los no-taxónomos identificar cualquier ejemplar biológico. De tal manera que con el código de barras de un ejemplar no identificado puede ser comparado con los códigos de barras de referencia en la biblioteca para poder encontrar la especie a la que corresponde el ejemplar (www.boldsystems.org). Los proyectos de código de barras han generado cientos de miles de códigos de barras de referencia para decenas de miles de especies (actualmente cuenta con 1, 564 233 códigos de barras [www.boldsystems.org]). CBOL está creando colaboraciones entre agencias gubernamentales, investigadores locales y organizaciones no gubernamentales, que diseñen e implementen los proyectos de códigos de barras con la más alta prioridad en los diferentes países.

Los usos y beneficios globales del Código de Barras son muchos, entre ellos se puede citar: ayudan a documentar gran parte de los Objetivos de Desarrollo del Milenio (MDGs) y está colaborando en alcanzar las metas de la Convención sobre la Diversidad Biológica: en el control de plagas de la agricultura, disminuyendo la pobreza y el hambre, la identificación de vectores de enfermedades para el combate de las mismas, sustentabilidad del ambiente para mejorar el manejo y conservación de los recursos naturales, protegiendo especies en peligro con la meta de crear una biblioteca de códigos de barras para especies en peligro de extinción, monitoreando la calidad del agua para documentar especies indicadoras que pueden ser difíciles de identificar, de esta forma las agencias ambientales pueden usar el código de barras para mejorar sus

evaluaciones de calidad del agua, crear y hacer mejores leyes que aseguren el suministro de agua potable de buena calidad (www.barcodeoflife.org).

Por otro lado los beneficios que obtiene un país con el código de barras es la facilidad de identificar ejemplares rápida y económicamente, una mejor forma de controlar movimientos de especies a través de las fronteras nacionales, oportunidades para capacitar a estudiantes e investigadores locales, participación de investigadores locales en redes globales e iniciativas de biodiversidad, oportunidades para mejorar la infraestructura de investigación de ejemplares de colecciones nacionales, laboratorios de biología molecular y bases de datos sobre la biodiversidad.

CBOL está apoyando y financiando una gran variedad de proyectos de códigos de barras y continúa apoyando en planear nuevas iniciativas. Tal es el caso de México, que con su gran diversidad ha iniciado la colaboración con el CBOL en coordinación con CONABIO, apoyando diversos proyectos de código de barras. Tal es el caso específico del proyecto "Barcode de Bambúes Nativos" que mediante la Convocatoria para la generación de Código de barras del ADN de especies mexicanas convocada por CONABIO se obtuvo el financiamiento para desarrollar dicho proyecto.

Antecedentes

Los bambúes, es un grupo de plantas que se ha estudiado muy poco en América y sobre todo en México. Se han reportado 21 géneros y 345 especies de bambúes en América, distribuidos desde el sur de Estados Unidos hasta Sudamérica y el Caribe (Judziewicz *et al.* 1999). Aunque la mayor diversidad del grupo se localiza en América del Sur, especialmente en Brasil, los taxa de México son interesantes sobre todo por su endemismo. En México se registra la presencia de 36 especies de bambúes nativos, de las cuales 15 crecen exclusivamente en el país (Cortes, 2000; Clark y Cortes 2004) o sea que son especies endémicas. Uno de estos taxa endémicos es el género *Olmeca*, con dos especies creciendo solamente en el sur de nuestro país: Veracruz, Oaxaca y Chiapas (Soderstrom, Judziewicz y Clark, 1988). Los bambúes mexicanos se encuentran principalmente en las regiones tropicales de Chiapas, Guerrero, Michoacán, Morelos, Oaxaca y Veracruz. Aunque también hay algunas especies templadas, habitando desde el nivel del mar hasta cerca de los 3000 m en las faldas del Cofre de Perote y Pico de Orizaba en Veracruz. (Dávila *et al.* 2006).

La mayor parte de las especies de bambúes mexicanos se han clasificado en la subtribu Guaduinae, incluyendo los géneros *Eremocaulon*, *Aulonemia*, *Guadua*, *Apoclada*, *Otatea* y *Olmeca* (Judziewicz *et al.* 1999). La recircunscripción de esta subtribu llevada a cabo por Ruiz-Sánchez, Sosa y Méjia-Saulés (2008) detectó que se requiere aún profundizar el estudio molecular de sus integrantes, sobre todo de las especies de *Aulonemia* para reclasificarlas, así como nombrar nuevos taxa recientemente colectados. Este estudio molecular forma parte de la reconstrucción filogenética de todas las especies de las Bambusoideae a nivel mundial, proyecto

coordinado por la Dra. Lynn Clark (Universidad de Iowa), del cual forma parte la Dra. Mejia-Saulés del proyecto “Bamboo Biodiversity” (www.eeob.iastate.edu./research/bamboo).

Los bambúes mexicanos, sobre todo los que habitan bosques mesófilos, se han utilizado en la elaboración de artesanías (Mejia-Saulés y Dávila, 1992; Mejia-Saulés y Castillo, 1996). Entre las especies más utilizadas en la construcción de muebles y artesanías está el chiquián (*Rhipidocladum racemiflorum*), el cual es extraído de su hábitat natural y propagado recientemente en el centro del estado de Veracruz (Pale, 2004). Otro bambú que también es muy utilizado es la guadua (*Guadua aculeata*, *G. longifolia*), que por las propiedades físicas y mecánicas que presentan sus culmos o tallos se han utilizado tradicionalmente en la construcción de viviendas rurales, principalmente en las regiones tropicales de México (Ordoñez, Mejia-Saulés y Bárcenas, 2011) y en la elaboración de muebles (Mejia y Bernadat, 2004). El bambú conocido comúnmente como otate (*Otatea acuminata*) presenta una amplia distribución en la parte central de México, también se ha utilizado para construir paredes o mejor conocido como “bajereque”. Los resultados antes mencionados nos han permitido detectar que existe un gran potencial de uso, sobre todo en las especies de los géneros *Rhipidocladum*, *Guadua* y *Otatea*. Asimismo, hemos encontrado que estos bambúes que se reproducen vegetativamente (ya que florecen entre diez y quince años) son viables como plantas de ornato, ya que son fáciles de cultivar y requieren de un mínimo de mantenimiento y de cuidados. Sin embargo, la mayoría de las plantas son extraídas directamente de su medio natural sin ningún tipo de manejo o aprovechamiento sustentable y se ha observado que en algunas regiones ha disminuido la población natural de la especie (Vázquez, *et al.*, 2004). Más aún, en plantas con este tipo de reproducción, es importante llevar a cabo estudios de caracterización genética para determinar las poblaciones más variables y factibles

para la horticultura. Además, en la actualidad y para evitar la extracción ilegal de germoplasma de México es recomendable que se cuente con el código de barras de ADN de especies de interés (Guo y Li, 2004) y sobre todo realizar estos estudios en especies endémicas o en peligro.

México es un país megadiverso, en el que las especies de plantas constituyen uno de los grupos más biodiversos, sobre todo en las regiones tropicales (Espejo-Serna *et al.* 2004). Sin embargo, aunque se tienen considerables avances en los códigos de barras en animales, en las plantas apenas se están iniciando. Para lo cual, algunos grupos de plantas se han investigado y profundizado la selección de marcadores moleculares (Chase *et al.* 2005; Kress *et al.* 2005; Little y Stevenson 2007; Sass *et al.* 2007; Ford *et al.* 2009; CBOLD Plant working group 2009). Esto contrasta con la investigación de grupos de animales en los que el gen que codifica para la proteína Citocromo Oxidasa 1 (COI) se ha utilizado como único marcador en el código de barras (Hebert *et al.* 2004). El COI no es apropiado para la mayoría de las especies de plantas, debido a que las tasas de evolución molecular son mucho más altas que las de los animales (Kress *et al.* 2005). De modo que se han propuesto varios marcadores moleculares del cloroplasto, tales como *trnH-psbA*, *rpoC1*, *ndhJ*, *accD*, *psbK-psbl*, *matK*, *rbcL* para el código de barras genético de las plantas terrestres (Kress *et al.* 2005; Ford *et al.* 2009; CBOLD Plant working group 2009 y www.rbgekew.org.uk/barcoding/protocols.html).

Con base en estas propuestas se seleccionaron tres marcadores de cloroplasto para probarlos como código de barras para los bambúes mexicanos. Se eligieron los genes *rbcL* y *matK* ya que han sido propuestos universalmente para las plantas. A pesar de que en la 3^{er} reunión del "Consortium for the Barcode of Life" llevada a cabo en el Jardín Botánico de Nueva York en enero de 2007 se sugirieron dos opciones, la Opción 1 utilizando *rpoC1*, *rpoB* y *matK* y la

Opción 2 utilizando *rpoC1*, *matK* y *trnH-psbA*. En una reunión posterior del consejo directivo del consorcio se optó por utilizar *rbcL* y *matK*. Esta decisión se tomó con base en los resultados de 170 especies de angiospermas, de 81 gimnospermas y 156 criptógamas, utilizando las mismas condiciones de optimización de PCR (CBOLD Plant working group). El tercer marcador que se seleccionó es una región no codificadora, *psbI-psbK*, pero variable en angiospermas, propuesta por su amplia variación (<http://www.kew.org/barcoding/>). Elegimos tres marcadores ya que se ha concluido que para una diagnosis efectiva de las especies utilizando el código de barras en plantas es necesaria una combinación de varios loci (Sass *et al.* 2007; Ford *et al.* 2009).

El proyecto “*Barcode de Bambúes Nativos de México*” se realizó bajo la dirección y coordinación de la especialista en bambúes la Dra. Teresa Mejía contando con la colaboración de la Dra. Victoria Sosa, especialista en sistemática molecular de monocotiledóneas y del Dr. Eduardo Ruiz-Sánchez egresado del posgrado del INECOL y actualmente investigador del INECOL (sede Pátzcuaro, Morelia) y especialista en el género *Otatea*.

Objetivo

Obtener secuencias de ADN de los loci del cloroplasto de *matK*, *rbcL* y *psbK-psbI* para la identificación molecular de las 36 especies de bambúes nativos mexicanos.

Objetivos particulares

- ❖ Incrementar la base de secuencias de ADN de “Barcode of Life”
- ❖ Promover los estudios de sistemática molecular de las Bambusoideae mexicanas.
- ❖ Actualizar la nomenclatura de las Bambusoideae de la NOM-059 y proponer las especies que estén en peligro de extinción, no consideradas en esta norma.
- ❖ Incrementar la Colección Nacional de Bambúes nativos de México con plantas
- ❖ vivas en el Jardín Botánico “Francisco Javier Clavijero”, INECOL.
- ❖ Incrementar la colección botánica de las bambusoideae en el herbario XAL.

Metodología

1.- Revisión bibliográfica

Como toda investigación, se procedió a la revisión exhaustiva y recopilación de la información de las especies de bambúes nativos de México. Esto es, obtención de Floras, listados florísticos, claves para su identificación, descripciones originales de las especies, descripciones morfológicas, usos, distribución etc. Se considero también la revisión de bibliografía principalmente de Sudamérica ya que la distribución de algunas especies se presenta en estas latitudes.

2.- Obtención de las muestras

Nuestra experiencia trabajando técnicas moleculares utilizando ejemplares de herbario, tanto en gramíneas como en bambúes no ha sido exitosa. Resultados similares en otros grupos de monocotiledóneas se han obtenido, por lo cual se ha utilizado material fresco para los estudios moleculares en plantas (Sosa 2007; García-Cruz y Sosa 2008). Por lo cual este proyecto de Barcode de Bambúes Nativos de México se realizó utilizando muestras frescas obtenidas de 3 fuentes principales:

2.1 Colección Nacional de Bambúes Nativos de México

Esta colección la alberga el Jardín Botánico “Francisco Javier Clavijero” del INECOL y cuenta con 25 especies de bambúes nativos. Esta colección fue la base para obtener las primeras muestras para la estandarización de los protocolos de los loci seleccionados. Para la extracción

del ADN se colectaron hojas jóvenes, se cortaron en pedazos pequeños y se depositaron en bolsas ziploc con un poco de sílice. De esta forma el material fresco se deshidrata permitiendo que el ADN no se degrade. Después de tres días este material puede ser utilizado para la extracción del ADN. De la misma colección de bambúes, también se colectó material botánico para ser herborizado y contar con ejemplares de herbario así como algunos duplicados. De esta forma la Colección Nacional de Bambúes Nativos de México estará representada tanto en el Jardín Botánico como colección viva, en el herbario y en la base de datos de BOLD (BOLDsystem).

2.2 Bamboos of the Americas (BOTA)

La vinculación y la estrecha colaboración con el proyecto Bamboos of the Americas (BOTA) (www.bamboosoftheamericas.org) de la American Bamboo Society (ABS) nos permitió obtener material botánico de especies mexicanas que se está propagando en USA. El procedimiento de obtención de muestras fue el anteriormente citado en la sección 2.1. Esta colecta estuvo a cargo del Sr. Gib Cooper, Directivo del proyecto BOTA, quien ha asesorado a la Colección Nacional de Bambúes Nativos de México desde su formación.

2.3 Salidas de campo

Se realizaron varias salidas de campo a diferentes localidades del país (principalmente en los estados de Chiapas, Oaxaca y Veracruz) para completar un muestreo de 3-4 individuos de las especies de amplia distribución. Hay que hacer notar, que especies como *Otatea glauca* solo se conoce de la localidad tipo o en el caso de las especies de *Aulonemia* y *Olmea* solo se conocen una o dos localidades. De cada especie se colectaron ejemplares botánicos con sus respectivos

duplicados los cuales fueron herborizados y depositados en el Herbario XAL del INECOL para incrementar dicha colección.

Los duplicados de los ejemplares de herbario serán distribuidos en los principales herbarios donde se encuentran los especialistas de bambúes y/o gramíneas: CUVC (Universidad del Valle, Cali-Colombia), IEB (Instituto de Ecología, Pátzcuaro-México), ISC (Iowa State University, USA), MEXU (Instituto de Biología, UNAM-México), MO (Missouri Botanical Garden, USA), US (National Herbarium-USA).

Para colaborar con la Colección Nacional de Bambúes Nativos de México, se colectaran 2-3 plantas vivas siguiendo lo propuesto por Pale (2004), que es la colecta del rizoma-culmo, quitando la parte aérea de la planta para evitar la deshidratación de la planta. Este material se depositó en el Jardín Botánico Clavijero del INECOL donde está la Colección de bambúes.

En las salidas de campo se trató de fotografiar a cada una de las especies de bambúes en su hábitat natural para complementar la información obtenida. La mayoría de ellas son de las estructuras morfológicas diagnósticas ya que como los bambúes son de color verde, se confunden fácilmente con la vegetación y en las fotografías no se distinguen a simple vista. Se trató de seguir los lineamientos establecidos por CONABIO para las imágenes (fotografías) y las fotografías seleccionadas fueron incluidas en el sistema BOLD.

2.4 Identificación del material

Para la identificación del material colectado se utilizaron las claves de identificación disponibles en las monografías y floras. También se consultó material de herbario de: ENCB, IBUG, ISC, MEXU, MO, NY, XAL, US.

La identificación la realizó la especialista de bambúes, Dra. Teresa Mejia con el asesoramiento de la Dra. Lynn Clark especialista de bambúes americanos, de la Dra. Ximena Londoño especialista del género *Guadua* y del Dr. Eduardo Ruiz-Sánchez especialista en el género *Otatea*.

2.5 Actualización de la nomenclatura de las Bambusoideae de la NOM-059 y proponer las especies que estén en peligro de extinción, no consideradas en esta norma

Para la actualización nomenclatural de las bambusoideas citadas en la NOM-059 se utilizó la bibliografía especializada sobre bambúes, revisión de ejemplares de herbario y descripciones originales de las especies.

Para proponer las especies de bambú que estén en riesgo o en peligro de extinción (según NOM-059), se consideraron las observaciones realizadas en el hábitat natural de las especies así como la información que se obtuvo de cada una de las especies.

3. Laboratorio

Todo el trabajo molecular se realizó en el Laboratorio Molecular del Departamento de Biología Evolutiva del INECOL, el cual cuenta con el equipo necesario para extraer, amplificar y secuenciar los marcadores de ADN propuestos. Se utilizó el Laboratorio de Secuenciación del INECOL, que cuenta con un secuenciador ABI 310, en el que se obtuvieron las secuencias preliminares para determinar la efectividad de los protocolos. Una vez establecidos estos protocolos se enviaron a secuenciar a MACROGEN, Seoul, Corea ya que el costo fue menor. Los primers para amplificar las tres regiones de ADN de cloroplasto fueron: *matK*, *rbcL* y *psbK-psbI*. Los protocolos que se siguieron fueron los propuestos en www.rbgekew.org/barcoding/protocols.html.

3.1 Muestras

Para realizar este proyecto se utilizó material fresco de más de 163 muestras, las cuales incluyen las 35 especies (más una que no se encontró) registradas al iniciar este proyecto más 5 nuevas especies descritas durante el desarrollo del proyecto.

3.2 Extracción de ADN

La extracción de ADN se realizó con el material colectado en sílica gel. Se utilizó CTAB con modificaciones a los protocolos de Rogers y Bendich (1985), Doyle y Doyle (1987) y Cota-Sánchez *et al* (2006). En algunas muestras se utilizó el DNeasy Plant Mini kit (Quiagen, Valencia, California) siguiendo las instrucciones de la manufactura.

3.3 Amplificación

La amplificación se realizaron utilizando PCR, siguiendo el protocolo indicado en Ruiz-Sánchez *et al.* (2008). Los marcadores que se utilizaron fueron los propuestos para las plantas terrestres: *rbcL*, *matK* y *psbK-psbI* (<http://www.kew.org/barcoding/>).

3.4 Secuenciación

Posteriormente se realizó una secuenciación cíclica para obtener la secuencia de ADN de interés, siguiendo lo sugerido por Ruiz-Sánchez *et al.* (2008) para los bambúes. Las secuencias se analizaron preliminarmente en el secuenciador ABI 310 del INECOL. Una vez determinada su optimización se enviaron a MACROGEN Seoul, Corea. Algunas de ellas se tuvieron que repetir ya

que los electroferogramas resultaron de baja intensidad y/o el ADN utilizado en la reacción estaba en una baja concentración.

3.5 Alineación de las secuencias

Las secuencias obtenidas se editaron utilizando el programa de Sequencher. Estas secuencias se alinearon manualmente hasta que toda las secuencias estuvieran en orden y alineadas. Una vez alineados los electroferogramas se dieron de alta en el BOLDsystem. Este mismo procedimiento se realizo con los tres marcadores del cloroplasto: *rbcL*, *matK* y *psbK-psbI*.

3.6 Almacenamiento del ADN

Los extractos purificados de ADN obtenidos están resguardados en el Laboratorio Molecular del Departamento de Biología Evolutiva del INECOL.

4. Captura de la información en el BOLDsystem

Para iniciar la captura de la información en el BOLDsystem se dio de alta al proyecto con el nombre de “HB BARCODE DE BAMBUES NATIVOS DE MEXICO”. En el sistema BOLD se subieron los datos del espécimen, las fotografías del ejemplar voucher, las secuencias y los electroferogramas originales.

4.1 Datos del espécimen

De cada espécimen se capturaron, nombre de la Familia, nombre científico, país, municipio, localidad, coordenadas, altitud, colector y número de colecta.

4.2 Fotografías y/o imágenes

Durante las salidas de campo se tomaron fotografías de las especies de bambúes tratando que estuviera representado su hábitat natural (aunque generalmente se confunde la planta de bambú con la vegetación ya que todo el paisaje es de color verde). Se enfatizo en tomar fotografías de las estructuras morfológicas diagnósticas o representativas del género o especie. Los ejemplares de herbario ya montados en su cartulina también se fotografiaron para que este material este accesible de manera virtual a los usuarios.

4.3 Secuencias y electrofenogramas

Una vez obtenidas las secuencias de los tres loci del ADN del cloroplasto, se alinearon y se dieron de alta en el sistema BOLD donde se pueden consultar.

5. Análisis de la información

Se utilizaron todas las especies secuenciadas con los tres loci del cloroplasto: *matK*, *rbcL*, *psbI-psbK*. Se elaboraron siete matrices de alineamiento a partir de todas las posibles combinaciones de los loci secuenciados (*matK-rbcL*, *matK-psbIK*, *rbcL-psbIK* y *matK-rbcL-psbIK*). Primero,

cada una fue tratada de manera independiente para determinar los parámetros de interés. Se utilizó el programa DnaSP (DNA Sequence Polymorphism versión 5.10 [Rozas *et al.* 2003]) para calcular parámetros básicos de diversidad genética, los cuales incluyen el número de sitios polimórficos, número de sitios parsimoniosamente informativo y diversidad nucleotídica. Para examinar las relaciones filéticas de los taxa de estudio, se utilizó MEGA versión 5.05 (Tamura *et al.* 2011) para construir matrices de distancia genética empleando el modelo de sustitución de Kimura-2-parámetros y reconstrucción filogenética por el método de Neighbor-joining (NJ).

6. Productos académicos y Formación de Recursos humanos

De los resultados e información que se obtuvieron se publicaron artículos científicos, se participó en Congresos Nacionales e internacionales y en recursos humanos se dirigió una tesis de licenciatura sobre el conocimiento tradicional del “tarro” (*Guadua aculeta*).

Resultados

1. Revisión bibliográfica

La recopilación bibliográfica que se obtuvo fue lo básico, principalmente en México solo se cuenta con descripciones morfológicas con algunas ilustraciones citadas en Las Gramíneas de México (Beetle, 1983; Beetle *et al.* 1987; y Beetle, *et al.* 1995). Otra obra de importancia es el Catálogo de Gramíneas de México (Dávila *et al.* 2006); Gramíneas útiles de México (Mejia-Saulés y Dávila, 1996), Flora Mesoamericana (Davidse, *et al.* 1994), Flora Novo-Galiciana (McVaugh, 1983); Flora de Guatemala (Swallen 1955), Flora de Costaricensis (Pohl, 1980), Catalogue of New World Grasses (Judziewicz *et al.*, 2000) etc. Así como listados Florísticos de México (González, *et al.* 1991; Dávila, *et al.*, 1990; Espejo-Serna y López-Ferrari, 2000; Mejia-Saulés y Valdés, 1994; Mejia-Saulés, 2001). La monografía del género *Chusquea* (Clark, 1989) y tesis sobre bambúes: Cortes, 1982; Anaya, 1989; Pale, 2004; Ruíz-Sánchez, 2009.

2. Obtención de muestras

2.1 De la Colección Nacional de Bambúes Nativos de México se seleccionaron 50 muestras de las diferentes especies y se colectó material botánico para hacer los ejemplares de herbario con sus respectivos duplicados. El total que se entrega de ejemplares de herbario para que forme parte de la Colección Nacional de Bambúes Nativos de México en el herbario XAL es de 47 ejemplares montados en cartulina y 147 duplicados. Los 47 ejemplares de herbario fueron fotografiados y capturados en BOLDsystem (Tabla 1 y Anexo 1).

Tabla. 1. Muestras colectadas, ejemplares de herbario con duplicados y fotografías.					
Colectores: TM (Ma. Teresa Mejia-Saulés); ER (Eduardo Ruíz-Sánchez), GC (Gib Cooper), PC (Pablo Carrillo-Reyes).					
Obtención de las muestras	Número de colectas	Ejemplares de herbario montados en cartulina	Duplicados de ejemplares de herbario	Fotografías de los ejemplares de herbario	Fotografías de los bambúes en su hábitat natural
Colección de Bambúes Nativos de México	50	47*	147	47	1
Colectas de campo de TM	80	125	297	125	153
Colectas de campo de ER	13	25	21	25	4
Muestras de BOTA - GC	19	24	2	24	0
Colectas de campo PC	1	1	0	1	0
Totales	163	222	467	222	158

*. Algunas especies no fueron colectadas por que el bambú presento floración y la planta estaba seca.

Para incrementar la Colección Nacional de Bambúes Nativos de México, se colectaron las siguientes especies (Tabla 2):

Tabla 2. Lista de especies colectadas para la Colección Nacional de Bambúes Nativos de México

Número de registro del Jardín Botánico	Localización	Nombre científico	Familia	Condición actual
2010-008*A	VIVERO	<i>Arthrostylidium excelsum</i>	POACEAE	A
2010-007*A	INVERNADERO-5	<i>Aulonemia clarkiae</i>	POACEAE	A
2010-010*A	VIVERO	<i>Aulonemia laxa</i>	POACEAE	A
2009-101*A	VIVERO	<i>Chusquea circinata</i>	POACEAE	A
2009-101*B	VIVERO	<i>Chusquea circinata</i>	POACEAE	A
2009-102*A	VIVERO	<i>Chusquea foliosa</i>	POACEAE	A
2009-106*A	VIVERO	<i>Chusquea aff. glauca</i>	POACEAE	A
2009-106*B	VIVERO	<i>Chusquea aff. glauca</i>	POACEAE	A
2009-106*C	VIVERO	<i>Chusquea aff. glauca</i>	POACEAE	A
2009-098*E	VIVERO	<i>Chusquea liebmanii</i>	POACEAE	A
2009-103*A	VIVERO	<i>Chusquea nelsonii</i>	POACEAE	A
2009-103*B	VIVERO	<i>Chusquea nelsonii</i>	POACEAE	A
2009-105*A	VIVERO	<i>Chusquea pittieri</i>	POACEAE	A
2009-104*A	VIVERO	<i>Chusquea sp.</i>	POACEAE	A
2010-011*A	VIVERO	<i>Chusquea sulcata</i>	POACEAE	A
2010-054*A	PALMETUM	<i>Olmeca recta</i>	POACEAE	A
2009-019*A	ARBORETUM-0	<i>Olmeca reflexa</i>	POACEAE	A
2009-019*B	ARBORETUM-0	<i>Olmeca reflexa</i>	POACEAE	A
2009-019*D	INVERNADERO-5	<i>Olmeca reflexa</i>	POACEAE	A
2009-019*E	INVERNADERO-5	<i>Olmeca reflexa</i>	POACEAE	A
2009-019*F	INVERNADERO-5	<i>Olmeca reflexa</i>	POACEAE	A
2009-019*G	INVERNADERO-5	<i>Olmeca reflexa</i>	POACEAE	A
2009-020*A	INVERNADERO-5	<i>Olmeca reflexa</i>	POACEAE	A
2009-020*B	INVERNADERO-5	<i>Olmeca reflexa</i>	POACEAE	A
2009-020*C	INVERNADERO-5	<i>Olmeca reflexa</i>	POACEAE	A
2009-100*A	VIVERO	<i>Otatea glauca</i>	POACEAE	A
2010-028*B	INVERNADERO-5	<i>Otatea sp.</i>	POACEAE	A
2010-028*A	INVERNADERO-5	<i>Otatea sp.</i>	POACEAE	A
2010-028*C	INVERNADERO-5	<i>Otatea sp.</i>	POACEAE	A
2009-097*B	INVERNADERO-5	<i>Rhipidocladum pittieri</i>	POACEAE	A

La especie *Olmeca reflexa* fue encontrada en floración y en fructificación en su hábitat natural. Este género tiene la particular de que su fruto es carnoso o del tipo de una baya. Por lo cual se colectaron frutos maduros para establecer esta especie en el Jardín Botánico (Fig. 1 y 2).

Las condiciones templadas-húmedas donde se localiza el Jardín Botánico permite que la mayoría de las especies nativas de bambúes se establezcan. Aunado a estas condiciones medio ambientales, el conocimiento adquirido sobre la colecta del material vivo para su establecimiento ayudo a que se obtuviera éxito en el establecimiento de estas especies, salvo en las especies que se colectaron en floración, ya que después de establecidas empezaron a florecer y posteriormente a los pocos meses la planta se empieza a secar y finalmente muere (*Chusquea foliosa*, *Chusquea galeottiana*, *Chusquea perotensis*, *Chusquea repens*).

2.2 Bamboos of the Americas (BOTA)

La colaboración con BOTA y el Sr. Gib Cooper (representante de BOTA) desde que se inicio la formación de la Colección Nacional de Bambúes Nativos de México ha sido continua y en este proyecto sobre barcode de bambúes, el Sr. Cooper colaboró con 19 muestras frescas, con un total de 24 ejemplares de herbario y 2 duplicados los cuales estarán depositados en el Herbario XAL. Este material de herbario fue fotografiado y capturado en BOLDsystem (Tabla 1 y Anexo 1).

2.3 Salidas de campo

La mayor parte de las muestras se obtuvieron de diferentes localidades de México, principalmente de los estados de Oaxaca, Chiapas y Veracruz. Se colectaron todos los géneros y un total de 40 especies (incluyendo las 5 especies nuevas) con un total de 94 colectas. El total de

ejemplares de herbario es de 151 ejemplares montados en cartulina y 318 duplicados. Los colectores y número de colectas fueron: TM (80), ER (13) y PC (1). Los 151 ejemplares de herbario fueron fotografiados y capturados en BOLDsystem (Tabla 1 y Anexo 1).

De las especies de bambúes nativos de México, solo la especie *Chusquea simpliciflora* no fue posible incluirla en este proyecto debido a que no se localizó en el sitio colectado en 1993 por E. Martínez S. y C. H. Ramos No. 26346 en la estación Chajul, Chiapas. Aunque se exploró en los alrededores de la localidad no fue posible localizarla. Al parecer solo existe esta colecta para México ya que la especie se distribuye desde Centro América (Guatemala, Costa Rica, Panamá y Nicaragua) hasta Sudamérica (Colombia, Ecuador y Venezuela) (Judziewicz, *et al.*, 2000). Tal vez una causa de no encontrar ésta especie fue que floreció y como generalmente los bambúes mueren después de la floración, entonces la mata de bambú se seco y desapareció. Si esta es la causa, esperamos que algunas de las semillas germinen y en unos dos años volver a la localidad de Chajul para coleccionar algunas de las plántulas e incluir esta información en este proyecto.

Para la mayoría de las especies de bambúes se colectaron de 4 o tres muestras dependiendo de la disponibilidad del material e incluso de la distribución de las especies. Tal es el caso de *Arthrostylidium excelsum* y *Aulonemia clarkiae*, especies que solo fueron encontradas en una sola localidad e incluso en la primera especie la mata de bambú estaba seca ya que había terminado la floración y lo único que se colectó para ejemplar de herbario fue culmos (tallos) secos y para la extracción de ADN se colectaron algunas plántulas. En otras especies su distribución está restringida y solo se colectaron 3 muestras de diferentes localidades, tal es el caso de: *Chusquea aperta*, *Chusquea bilimekii*, *Chusquea longifolia* y *Chusquea pittieri*. Dos especies endémicas y

distribuidas regionalmente fueron *Chusquea galeottiana* (Cerro Teotepec, Guerrero) y *Rhipidoclaum martinezii* (Volcán del Tacaná, Chiapas).

El total de los 222 ejemplares de herbario montados en cartulina y los 467 duplicados obtenidos para este proyecto, como se menciona anteriormente, están depositados en el herbario XAL para incrementar la colección de los bambúes nativos de México (Fig. 3 y Anexo 2). Los duplicados serán distribuidos en los principales herbarios donde se encuentran los especialistas de bambúes y/o gramíneas: CUVC, IEB, ISC, MEXU, MO, US.

2.4 Identificación del material botánico

Con la ayuda de las claves y monografías de algunas de las especies se logró la identificación del material colectado. Para el material dudoso del género *Chusquea* y *Guadua* se tuvo la asesoría de la Dra. Lynn Clark (estancia en 2009) y Ximena Londoño (estancia en 2012). Del estudio del género *Otatea* realizado por Ruíz-Sánchez (2009) y colaboradores, se describieron 4 nuevas especies del género (Ruíz-Sánchez *et al.*, 2011b), las cuales fueron incluidas en este proyecto de Barcode. Posteriormente otra nueva especie fue incluida en la lista de bambúes, *Olmeca zapotecorum* (Ruíz-Sánchez *et al.*, 2011a). Se detectó un complejo de especímenes que está relacionado con *Chusquea glauca* la cual está identificada como *Chusquea* aff. *glauca* y 9 especímenes pertenecientes al género *Chusquea* que tal vez sean nuevos registros o se trate de especies nuevas para la ciencia, los cuales están identificados como *Chusquea* sp. e incluidos en este proyecto.

Por lo anteriormente descrito, el total de especies incluidas en este proyecto fue de 40 (sin incluir *Chusquea simpliciflora* que no fue posible colectar e incluyendo las 5 especies recién

descritas) (Anexo 1). Adicionalmente se incluyeron las 9 muestras del género *Chusquea* cuya identificación está como “sp.”.

2.5 Actualización de la nomenclatura de las Bambusoideae de la NOM-059 y proponer las especies que estén en peligro de extinción, no consideradas en esta norma

En la NOM-059 solamente se encuentra incluidas 13 especies de gramíneas y solo 3 de ellas son bambúes (Tabla 3) (www.semarnat.gob.mx).

Tabla 3. NOM-059 SEMARNAT-2010									
Orden	Familia	Género	Especie	Subespecie, forma o variedad	Sinonimia	Nombre común	Distribución	Categoría	Método
Poales	Poaceae	<i>Guadua</i>	<i>spinosa</i>		<i>Arthrostylidium spinosum</i>		no endémica	P	
Poales	Poaceae	<i>Olmeca</i>	<i>recta</i>				Endémica	P	
Poales	Poaceae	<i>Olmeca</i>	<i>reflexa</i>				Endémica	P	

Después de una revisión bibliográfica, de la revisión del material botánico depositado en los diferentes herbarios tanto nacionales como del extranjero de las observaciones de campo, se llego a la conclusión de que la especie incluida como *Guadua spinosa* actualmente es sinónimo de *Guadua longifolia*. Esto también es citado por Dávila *et al.* (2006) y Judziewicz *et al.* (2000). Por lo cual se debe de remover esta especie de la NOM-059 ya que *G. longifolia* es una especie de amplia distribución principalmente en el sur de México y Centro América. Las especies de *Olmeca recta* y *O. reflexa* permanecen en la norma.

De la revisión de ejemplares de herbario así como de las salidas de campo y observaciones realizadas se pueden considerar las siguientes especies para ser evaluadas y poder asignar el tipo de categoría de riesgo que les corresponde:

Arthrostylidium excelsum (Vulnerable en México)

Distribución: México (Chiapas), Caribe, Centro América (Guatemala, Honduras, Nicaragua y Panamá).

En México esta especie se encuentra distribuida en la zona de Solistohuacán, Chiapas. Su hábitat es el bosque mesófilo de montaña a una altitud de 1,896 msnm. Los macollos de bambú que se localizaron estaban secos ya que acababa de terminar la floración y solo se encontraron algunas plántulas de unos 5-8 cm. Tal vez por este motivo no fue posible localizar más macollos de esta especie, incluso en otras localidades visitadas de la zona. Por este motivo solo se colectaron unas plántulas para la extracción de ADN. Aunque esta especie tiene una mayor distribución en Centro América, en México puede ser una especie en riesgo, por lo cual es importante realizar visitas en un futuro a la zona de Solistohuacán para asegurarse del desarrollo de las plántulas hasta el macollo maduro y poder evaluar si está en alguna categoría de riesgo para posteriormente proponerla a la NOM-059.

Aulonemia clarckiae (Vulnerable en México)

Distribución: México (Chiapas) y Centro América (Honduras).

Su distribución es escasa y en México solo se pudo localizar en 2011, dos macollos en la zona de Jitotol, Chiapas. Su hábitat es el bosque mesófilo de montaña a una altitud de 1,702 msnm. Se

pudo observar que la vegetación está siendo alterada ya que están abriendo carreteras y se están estableciendo ranchos, lo que ocasiona la pérdida de la vegetación natural y por consecuencia la extinción de especies, como puede ser el caso particular de *Aulonemia clarkiae*, por lo cual es un fuerte candidato para la NOM-059.

Aulonemia fulgor (Endémica y Vulnerable)

Distribución: México (Oaxaca y Veracruz)

En el estado de Oaxaca se puede encontrar esta especie a orilla de la carretera de Tuxtepec-Oaxaca y en Veracruz se ha localizado en las faldas del Cofre de Perote. Habita en bosque mesófilo de montaña y bosque de pino, a una altitud de 1600 a 1800 y hasta 2,400 msnm. En Oaxaca se localizaron macollos de este bambú a unos cuantos metros de la carretera, su abundancia era regular y no se pudo coleccionar en otros sitios por el inconveniente del régimen de “usos y costumbres” que prevalece en la región. En el estado de Veracruz, por la cercanía y conocimiento de la región, se tuvo la oportunidad de realizar varias colectas, por este motivo la mayoría de las muestras son de Veracruz. Se encontraron plántulas de esta especie en Veracruz y en general la abundancia de esta especie se pudo observar es de regular a abundante. Se tendrían que realizar visitas a las diferentes localidades para evaluar la categoría de riesgo que le corresponde.

Chusquea aperta (Endémica y Vulnerable)

Distribución: México (Oaxaca y Veracruz)

Esta especie se localiza en la región de Tuxtepec, Oaxaca y regularmente se encuentra a orilla de la carretera mientras que en Veracruz se distribuye en las faldas del Cofre de Perote. Habita en

bosque de pino o de encino o combinación de ambos, bosque de pino-encino y a una altitud de 1670 a 2800 msnm. En el estado de Veracruz, esta especie fue colectada en 2006 en la localidad de El Ingenio y cuando se fue a colectar para este proyecto de investigación en 2010 ya no se encontró esta especie debido a que la vegetación en su totalidad fue talada para el establecimiento de un pequeño pueblo. En las otras localidades se localizó en vegetación más o menos conservada. Esta especie es considerada como candidato a la NOM-059.

Chusquea bilimekii (Endémica y Vulnerable)

Distribución: México (Edo. de México, Veracruz y Puebla)

Esta especie solo se ha localizado en los alrededores de Amecameca (Edo. de México), Chignahuapan (Puebla) y Calchualco-faldas del Pico de Orizaba y Cofre de Perote (Veracruz). Su hábitat es bosque de pino a una altitud de 2300 a 2860 msnm. Al parecer su presencia en las faldas del Pico de Orizaba y Cofre de Perote es más abundante que en las otras localidades. Aún así es considerada como especie vulnerable ya que en 2010 se fue a colectar en el Cofre de Perote y no se logro encontrarla en una de las localidades ya que hubo efectos antropogénicos, el bosque estaba talado y no hubo indicios de la presencia de esta especie. Incluso se buscaron plántulas en caso el de que este bambú haya estado en floración. Como se trata de una especie endémica es necesario explorar los alrededores de Amecameca y Chignahuapan para actualizar su distribución en México y evaluar la categoría de riesgo que le corresponde.

Chusquea galeottiana (Endémica y Vulnerable)**Distribución:** México (Oaxaca, Chiapas y Guerrero)

Especie endémica de distribución restringida, fue descrita en 1868 de un espécimen colectado en la “cordillera de Oaxaca”. Esta poco representado en México y solo se conoce de la localidad tipo de Oaxaca. Aunque se cita para Chiapas no se pudo localizar la zona de colecta. Para Guerrero se tuvo acceso a dos localidades entre Atoyac-Leonardo Bravo y las faldas del cerro Ototepec. Habita en bosque mesófilo de montaña o bosque mesófilo con encino a una latitud de 1500 a 2350 aunque también se encontró a 2700 msnm. En Guerrero en el 2010, las matas que se encontraron de este bambú fueron unas cuantas pero como estaban en floración tal vez las otras matas murieron por este suceso. En cuanto las semillas germinen y se desarrollen se espera encontrar un número considerable de este bambú. Por lo cual será necesario realizar visitas a esta zona para evaluar y determinar su categoría de riesgo. De igual forma se seguirá buscando su presencia en Chiapas y Oaxaca.

Chusquea perotensis (Endémica y Vulnerable)**Distribución:** México.

Es una especie endémica de México, se ha localizado en pendientes poco pronunciadas y en las orillas de los arroyos del Cofre de Perote en Veracruz. Habita en bosque de pino-encino y en bosque mesófilo de montaña a una altitud de 1,900-2,600 msnm. En Oaxaca se ha localizado en la Sierra de Juárez, en la zona de Calpulapan. Las colectas realizadas en el Cofre de Perote fueron escasas ya que en dos localidades ya no se encontraron matas de este bambú e incluso a unos metros ya estaba establecido un pueblo de reciente creación. En la Sierra de Juárez en

Oaxaca, se tuvo el inconveniente de que en esta región se rigen por “usos y costumbres” y aquí no sirve de nada el permiso de colecta. Por lo cual se tiene que pedir permiso y pagar entre \$2,000 a \$3,000 para poder acceder al lugar de interés, corriendo el riesgo de que la especie no se encuentre. Aunado a esto, encontrar a la persona encargada (equivalente al presidente municipal) es difícil, ya que una vez coincidió con las fiesta del pueblo y no fue posible contactarlo y en otros casos es imposible encontrar al encargado porque siempre están en la Ciudad de Oaxaca arreglando “asuntos oficiales”.

En base a las observaciones de campo y de la información obtenida de los herbarios, se detecto que *Chusquea perotensis* es candidato para estar en la NOM-059.

***Guadua velutina* (Endémica)**

Distribución: México (Oaxaca, SLP, Tabasco, Tamaulipas, Veracruz)

Especie distribuida principalmente a lo largo del Golfo de México. Su hábitat es selva alta perennifolia, selva baja y es común encontrarla en medio de los potreros o en vegetación riparia a lo largo de los riachuelos. Se puede encontrar a una altitud desde los 20 hasta los 1,050 msnm. Se necesitan explorar las localidades de San Luis Potosi, Oaxaca y Tamaulipas para decidir si esta especie podría ser considerada en la NOM-059 e incluso si se trata de una especie vulnerable.

***Merosthachys pauciflora* (Vulnerable)**

Distribución: México (Chiapas) y centro América (Bélice y Nicaragua)

Aunque esta especie no es endémica de México, se ha localizado una población en Chiapas, en la reserva de El Triunfo. En el 2011 se encontró esta población con abundancia de plántula de 0.80-1.30 m, lo que nos indica que su floración acababa de terminar hace un año aproximadamente.

Es común encontrarla a orilla del camino para subir a la reserva de El Triunfo. Como solo se conoce esta población se considera como una especie vulnerable, al menos para México.

Olmeca recta (Endémica y Vulnerable)

Distribución: México (Veracruz y Chiapas)

El género *Olmeca* tiene la particularidad de presentar un fruto carnoso que es considerado una baya, esto es una excepción dentro de los demás bambúes y en general en las gramíneas que presentan una cariopsis. *Olmeca recta* es una especie endémica de Veracruz y recientemente fue colectada en Chiapas. En Veracruz se distribuye en la región de los Tuxtlas, en selva alta perennifolia a una altitud desde los 100 a los 540 msnm. La región de los Tuxtlas cuenta con potreros abandonados y esta especie se puede encontrar a orilla de la carretera o utilizado como cerca viva en los potreros. La colecta de *O. recta* en Chiapas fue incidental ya que pasábamos por la carretera de Ocosingo-Palenque y entre la vegetación recién talada sobresalían algunas matas de esta especie. Su hábitat es selva mediana y a una altitud de 898 msnm. Siendo ésta colecta el primer registro de su presencia en Chiapas. Aunque la presencia de *Olmeca recta* es de abundancia regular es preocupante su estado de conservación debido a los factores antropogénicos que están influyendo en su hábitat natural y que hacen que sea considerada como una especie vulnerable.

Olmeca reflexa (Endémica)

Distribución: México (Chiapas, Oaxaca y Veracruz)

Esta especie fue colectada en 2009 en fructificación en la región del Uxpanapan en Veracruz y aunque es endémica de México su distribución es muy marcada y está presente en la región del

Uxpanapan entre los límites de los estados de Veracruz y Oaxaca y la región de Ocozocoautla, Chiapas. Su hábitat es selvas altas perennifolias a una altitud de 80 a 900 msnm. Su abundancia es escasa y el factor antropogénico ha ayudado a la deforestación de su hábitat natural por lo cual se le considera como una especie vulnerable.

Olmeca zapotecorum (Endémica y Vulnerable)

Distribución: México (Oaxaca)

Especie nueva descrita en 2011 y localizada en el cerro de Chayotepec en un bosque mésofilo de montaña entre 1470 a 1500 msnm. Solo se pudo localizar una población de esta especie. Esta área está considerada como un “Área de Conservación por iniciativa comunal” y en la cual los pobladores conscientes de la importancia de conservar el hábitat natural han implementado actividades y programas de ecoturismo. Esto les ha permitido el uso sustentable de la naturaleza que los rodea y asegura hasta cierto punto que esta especie de bambú recién descubierta persista en su hábitat natural. Se necesitan realizar expediciones de campo del otro lado del cerro para conocer la distribución de esta especie en la zona y evaluar el tipo de categoría en riesgo.

Otatea carrilloi (Endémica y Vulnerable)

Distribución: México (Chiapas)

Especie recién descrita que habita en bosque tropical caducifolio a una altitud de 850- 1,000 msnm. Solo se conoce solo una población de este bambú en Tonalá, Chiapas y aunque es abundante se considera vulnerable por su distribución restringida.

***Otatea glauca* (Endémica y Vulnerable)**

Distribución: México (Chiapas)

Esta especie habita en el ecotono de bosque tropical seco y bosque de encino a una altitud de 1,200 a 1,500 msnm. Se conoce una sola población y es considerada como vulnerable y en peligro ya que en las colectas realizadas en 2009 solo había cuatro individuos y estaban a orilla de la carretera, lo cual las expone al peligro de ser destruidas.

***Otatea reynosoana* (Endémica y Vulnerable)**

Distribución: México (Guerrero, Jalisco y Nayarit)

Especie recién descrita que habita en bosque de pino-encino y bosque mesófilo de montaña a una altitud de 1,300 a 1,650 msnm. Aunque se ha registrado en varias localidades se consideran solo tres poblaciones por lo cual se puede considerar como una especie vulnerable.

***Otatea transvolcánica* (Endémica y Vulnerable)**

Distribución: México (Estado de México, Colima y Jalisco)

Especie recién descrita que habita en bosque de pino-encino y bosque mesófilo de montaña a una altitud de 1,040 a 1850 msnm. Aunque es abundante su distribución está restringida a la cadena montañosa del eje transvolcánico y es considerada como especie vulnerable.

***Otatea ximena* (Endémica y Vulnerable)**

Distribución: México (Oaxaca)

Especie recién descrita que habita en bosque de pino-encino a una altitud de 1525 msnm. Solo se ha colectado en tres localidades en el estado de Oaxaca y puede considerarse como vulnerable.

Rhipidocladum martinezii**Distribución:** México (Chiapas)

Es una especie endémica, que se ha localizado en las cañadas bajas del Volcán del Tacaná, Chiapas. Se encuentra en bosque mesófilo de montaña a una altitud de 1,753 msnm. Cuando se fue a colectar esta especie en 2009, se encontraron pequeñas plántulas de 5-10 cm y algunas de ellas más desarrolladas (80 cm), lo cual indica que este bambú estuvo en floración. Aunque es una especie endémica, en la zona se encontró distribuida a lo largo del camino de terracería y su presencia parecía abundante. Se tendrían que realizar más visitas a la zona para evaluar que tipo de categoría de la NOM-059 le corresponde.

3. Laboratorio

Se utilizó material fresco de las 40 especies consideradas en este proyecto y se procesaron un total de 163 muestras. La extracción de ADN, amplificación y secuenciación en general fue exitosa y solo en algunas muestras se tuvo que realizar de nuevo estos procesos para obtener secuencias de buena calidad. La alineación de las mismas fue exitoso en general. Únicamente 3 muestras no fueron posible completar sus secuencias: *Chusquea nelsonii* (XAL-80) que no se pudo obtener secuencias de matK y rbcL; de *Rhipidocladum pittieri* (XAL-7) y *Rhipidocladum recamiflorum* (XAL-83) no se obtuvo una buena secuenciación, ya que como estaba seca la mata de bambú por la floración, el material colectado fueron algunas plántulas, pero al parecer no fue suficiente este material. Hay que esperar como un año para que las plántulas estén desarrolladas y poder colectar una mayor cantidad de material fresco.

Un total de 481 secuencias alineadas (ó 962 secuencias sin alinear - aqui se incluyen ambas direcciones) correspondientes a 160 secuencias alineadas de *matK*, 161 de *psbK-psbI* y 160 de *rbcL* con sus respectivos electroferogramas (Anexo 3).

4. Captura de la información en el BOLDsystem

Se capturó la información en el BOLDsystem de las 163 muestras, las cuales representan las 40 especies de bambúes mexicanos. De cada una de ellas se capturo: datos del espécimen (o muestra) colectado; un total de 222 fotografías correspondientes a los ejemplares de herbario montados en cartulinas (Fig.3) y 158 fotografías de las diferentes especies de bambúes en su hábitat natural (Fig. 4) y de sus estructuras morfológicas Fig.5). Un total de 481 secuencias alineadas (ó 962 secuencias sin alinear - aqui se incluyen ambas direcciones) correspondientes a 160 secuencias alineadas de *matK*, 161 de *psbK-psbI* y 160 de *rbcL* con sus respectivos electroferogramas (Anexo 1 y 3).

5. Análisis de la información

5.1 Caracterización molecular- Las amplificaciones que se obtuvieron fueron exitosas para cada uno de los barcodes probados en las especies de bambúes nativos. Por lo cual las secuencias de los nucleótidos para todos los taxa fueron adecuadamente amplificadas y secuenciados. Los análisis se realizaron con: 160 secuencias de *matK*, 161 de *psbI-K* y 160 de *rbcL*. En la Tabla 4 se incluye la información estadística de las secuencias del ADN y sus posibles combinaciones. Para los bambúes, el *matK* y *psbI-K* fueron los marcadores con el mayor número de sitios polimórficos. Mientras que el segundo loci propuesto por CBOL, *rbcL* presenta el menor

polimorfismo. Para los bambúes, la combinación de *matK+psbI-K* presenta más sitios polimórficos que la combinación de *matk+rbcL*.

Tabla 4. Información estadística de las secuencias de ADN				
Matrices	Número de nucleótidos	Número de polimorfismos	Diversidad nucleotídica	Sitios parsimoniosamente informativos
matK	829	64	0.01120	49
rbcL	579	12	0.00611	12
psbI-psbK	399	56	0.02742	42
matK-rbcL	1408	76	0.00912	61
matK-psbIK	1228	120	0.01639	91
rbcL-psbIK	978	68	0.01472	54
matK-rbcL-psbIK	1807	132	0.0131	103

5.2 Diversidad inter- e- intra específica. La eficiencia de cada barcode y sus combinaciones fueron probadas por el promedio de distancias de K2P (Kimura 2 parámetros) de matrices de distancias pareadas (pairwise distance matrices). La más alta diversidad intraespecífica fue *matK* y la combinación de *matK* con *psbI-K*. La variación intra- e inter-específica con menor distancia fue con *rbcL*.

5.3 Identificación de las especies. La eficiencia de cada ADN barcode en la identificación y delimitación de las especies fue probado por el porcentaje de grupos monofiléticos recuperados por medio de los análisis de Parsimonia y NJ (Fig. 6,7 y 8). El valor más alto de grupos monofiléticos fue obtenido de la reconstrucción de NJ en comparación con la reconstrucción por Parsimonia. 100% de monofilia fue recuperado con las matrices de *matK* e individuos de algunas especies de bambúes. El más bajo porcentaje de monofilia se obtuvo con *rbcL* y la combinación de *matK* + *psbI-K* fue la mejor (Tabla 4 y Fig. 9).

6. Productos académicos y formación de Recursos Humanos (Anexo 4)

6.1 Participación en Congresos/Reuniones

- Mejia-Saulés, M.T. 2010. *La colección de bambúes de México en su 5° Aniversario y su contribución a la Estrategia Global para la Conservación*. Poster presentado en n la 23° Reunión Nacional de Jardines Botánicos (se anexa archivo del poster).
- Mejia-Saulés, M.T., V. Sosa, E. Ruíz-Sánchez. 2010. Código de Barras de los Bambúes Nativos de México (Poaceae: Bambusoideae). XVII Congreso Mexicano de Botánica. Simposio "Taxonomía y Sistemática del Orden Poales en México en el Siglo XXI". (se anexa
- Ruíz-Sánchez, E. V. Sosa, Mejia-Saulés, M.T. 2010. Re-circunscripción de *Olmeca*, un bambú de los bosques tropicales y mesófilos en Mesoamerica. de Barras de los Bambúes Nativos de México (Poaceae: Bambusoideae). XVII Congreso Mexicano de Botánica. Simposio "Taxonomía y Sistemática del Orden Poales en México en el Siglo XXI".

6.2 Publicaciones

Ruíz-Sánchez, E., V. Sosa and T. Mejia-Saulés. 2011a. Molecular phylogenetics of the Mesoamerican bamboo *Olmea* (Poaceae, Bambuseae): Implications for taxonomy. *Taxon* **60** (1):89-98.

Sosa, V., M.T. Mejia-Saulés, M.A. Cuellar, A.P. Vovides. 201?. DNA barcoding in endangered Mesoamerican groups of plants. *The Botanical Review* (aceptado)

6.3 Formación de Recursos Humanos

Gustavo Martínez Patricio. 2012. **Conocimiento tradicional del “tarro “ (*Guadua aculeata*), en la localidad de Anayal Uno, Zozocolco de Hidalgo, Veracruz.** Tesis de Licenciatura. División de Procesos Naturales. Licenciatura en Desarrollo Sustentable. Universidad Intercultural del Estado de Puebla (en revisión).

Discusión

1. La **bibliografía** recopilada fue escasa ya que se han realizado pocos estudios sobre las especies de bambúes nativos de México. La mayoría de la bibliografía son las descripciones botánicas de las especies, las cuales algunas son escuetas y a veces solo se cuenta con la descripción original de la especie, como es el caso de: *Arthrostylidium excelsum*, *Aulonemia fulgor*, *Chusquea aperta*, *Chusquea perotensis*, *Olmeca recta* y *Otatea glauca*. Solo se cuenta con la monografía de género *Chusquea* (Clark, 1989), la cual fue muy útil sobre todo para la identificación de las especies, pero como no incluye todas las especies, es necesario actualizarlo.

2. La obtención de **muestras** a partir de la **Colección Nacional de Bambúes Nativos de México** fue la base para iniciar este proyecto, ya que fueron las primeras muestras que se utilizaron para estandarizar y afinar el protocolo de extracción de ADN, amplificación y secuenciación. Esta es una de la importancia de las colecciones botánicas *ex situ*, se pueden obtener las muestras de inmediato.

Las **muestras** enviadas por **BOTA** (material fresco para extracción de ADN y material botánico para el herbario XAL) completaron nuestro muestreo, aunque son especies nativas de México actualmente se están propagando en USA. Se procesaron 4 géneros y 17 especies (incluyendo 2 sp.): *Chusquea* (7 especies y 2 sp.), *Guadua* (4 especies), *Otatea* (3 especies) y *Rhipidocladum* (1 especie). Mas otra muestra de *Chusquea. circinata* y *Otatea acuminata*. Este material- ADN - está depositado en el Laboratorio Molecular de Biología Evolutiva y en el

herbario XAL el material herborizado y montado en cartulinas. Tal vez de esta forma se podría “repatriar” nuestros genotipos.

Las muestras obtenidas del campo, también fueron de material fresco (para extracción de ADN) y para ejemplares de herbario. Los 222 ejemplares montados en cartulina formaran parte de la Colección herborizada de bambúes nativos en el Herbario XAL y los 467 duplicados de estas colectas serán enviados a otros herbarios. Como es una colección botánica bien colectada e identificada, ésta será la base para los futuros proyectos sobre bambúes. Ya que actualmente en los herbarios mexicanos, la mayoría de los bambúes colectados provienen de plantas inmaduras y/o están mal colectados.

La **identificación del material botánico** se dificultó un poco ya que no existe la bibliografía completa para determinar todas las especies presentes en México. Se dejó pendiente material botánico del género *Chusquea*, ya que no se logró identificar con las claves y descripciones disponibles, tal vez se trate de registros nuevos para México o incluso de nuevas especies. Aún sin identificar, se incluyeron las *Chusqueas* sp. Se detectó un complejo de especies relacionadas con *Chusquea glauca* y éstas se incluyen en el proyecto como *Chusquea* aff. *glauca*. La adición de cinco nuevas especies de bambúes para México señala que aún faltan por explorar muchas regiones de México y también la necesidad de realizar estudios específicos sobre algunas especies o géneros de bambúes.

Es muy importante citar, que la NOM-059 solo incluye 2 especies de bambúes: *Olmeca recta* y *O. reflexa* y como resultado de este proyecto, se sugieren 18 especies para evaluar su categoría de riesgo. Por lo anteriormente citado, es muy importante seguir colectado bambúes en México para

conocer la diversidad de este grupo botánico, realizar estudios taxonómicos y/o filogenéticos-moleculares que nos ayuden a delimitar las especies y conocer su categoría de riesgo.

3. La experiencia que se tenía en las **técnicas moleculares** ayudo a que los protocolos estuvieran afinados en corto tiempo y como se utilizaron muestras recién colectadas esto ayudo a que se obtuviera ADN y secuencias de buena calidad.

4. La captura de la información obtenida en **BOLDsystem**, al inicio fue un poco complicada ya que apenas se estaba conociendo esta base de datos. Pero al concluir este proyecto, toda la información obtenida ya estaba disponible y fácil de consultar.

5. Este es el primer proyecto sobre **barcode de bambúes mexicanos** que se realiza, solo se ha trabajado barcode con las especies crípticas de *Tripogon* (Subfamilia: Chloridoideae) utilizando *matK* y *trnH-psbA* (Ragupathy *et al.* 2009). Por lo cual los resultados obtenidos solo se pueden comparar con los resultados obtenidos de las angiospermas. El análisis de la información nos indica que los marcadores *matK* y *psbI-K* así como la combinación de ambos, son los más viables para ser utilizados como barcode de los bambúes nativos de México. El nivel de identificación de estos marcadores para los bambúes fue a nivel genérico, por lo cual será necesario probar con otros marcadores como lo menciona Vijayan y Tsou (2010). Aunque el CBOL (2009) sugiere la combinación de *matK* y *rbcL* para plantas, los resultados en bambúes no coinciden con ellos.

Conclusiones

1. La revisión bibliográfica demostró los escasos o nulos estudios realizados en los bambúes nativos de México.
2. La colecta de material botánico jugó un papel importante en este proyecto: se pudieron obtener secuencias de buena calidad, material herborizado para incrementar la colección en los herbarios, obtención de plantas vivas para incrementar la Colección Nacional de bambúes. Detectar las especies vulnerables y proponer una lista de 18 especies para ser evaluadas y conocer su categoría de riesgo para actualizar la NOM-059. Aunado a todo esto se descubrieron cinco nuevas especies de bambúes.
3. Los bambúes nativos de México han sido secuenciados y toda la información obtenida están disponibles en la base de datos de Boldsystem.
4. Se ha iniciado el estudio del barcode de los bambúes nativos, lo cual será la punta de lanza para futuros estudios.
5. Se da a conocer que los marcadores *matk* y *psbI-K* y su combinación pueden identificar los géneros de bambúes mexicanos.

Reconocimientos

En la realización del presente proyecto “*Barcode de Bambúes Nativos de México*” estuvieron colaborando la Dra. Victoria Sosa en el aspecto molecular, el Dr. Eduardo Ruíz-Sánchez colaboró en la parte molecular y en parte de la colecta de material botánico, la M. en C. Claudia Navarro en el procesamiento de las muestras y captura de la información en el BOLDsystem, a la M. en C. Arith Pérez por el asesoramiento en el laboratorio, al Biol. Jesús Pale y M. en C. Antonio Vázquez que colaboraron en la colecta del material botánico, a Ismael Guzmán-Valdivieso por el asesoramiento en el análisis de la información.

A las especialistas de bambúes americanos, Dras. Lynn Clark (Iowa State University) y Ximena Londoño (Sociedad Colombiana del Bambú) por el asesoramiento e identificación de especies de los géneros *Chusquea* y *Gudua*. Al Sr. Gib Cooper (Bamboos of the Americas) quien amablemente envió muestras de bambúes para este proyecto.

Al Dr. Miguel Ángel Pérez-Farrera y M. en C. Rubén Martínez (Herbario Eizi Matuda (HEM), Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas) por la colaboración y facilidades otorgadas en las colectas realizadas en la reserva El Triunfo y al Biol. Carlos Guichard Romero (Subdirector de la RB El Triunfo-CONANP) por las facilidades y el permiso para las colectas en la reserva El Triunfo.

A CONABIO por financiar este proyecto - *HB004 "Barcode de bambúes nativos de México"* –

Referencias Bibliográficas

- Anaya, C. 1989. Estudio de la Subfamilia Bambusoideae (Poaceae), con revisión taxonómica para el Estado de Jalisco, México. Tesis de Licenciatura, Facultad de Agronomía. Universidad de Guadalajara, Jalisco. México.
- Beetle, A.A. 1983. Las Gramíneas de México. Tomo I. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos-COTECOCA. México, D.F. p. 198, 210-21.
- Beetle, A.A., M. Manrique, V. Jaramillo, P. Guerrero, A. Miranda, I. Núñez, A. Chimal. 1987. Las Gramíneas de México. Tomo II. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos-COTECOCA. México, D.F. p.23-32, 252-274.
- Beetle, A.A., A. Miranda, V. Jaramillo, A.M. Rodríguez, L. Aragón, A. Chimal, O. Sepúlveda. 1995. Las Gramíneas de México. Tomo IV. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos-COTECOCA. México, D.F. p.236-240, 278-285.
- Botanic Gardens Conservation International (BGCI). 2006. The Gran Canaria Declaration II: On climate change and plant conservation. Reino Unido: Área de Medio Ambiente y Aguas del Cabildo de Gran Canaria, Jardín Botánico Viera y Clavijo y Botanic Gardens Conservation International.

- CBOL Plant Working Group. 2009. A DNA barcode for land plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. **106** (31): 12794-12797
- Chase, M.W., N. Salamin, M. Wilkinson, J.M. Dunwell, R.P. Kesanakurthi, N. Haider y V. Savolainen. 2005. Land plants and DNA barcodes: short-term and long-term goals. *Philosophical Transactions of the Royal Society, Series B* **360**: 1889-1895.
- Clark, L.G. 1989. Systematics of *Chusquea* Section *Swallenochloa*, Section *Verticillatae*, Section *Serpentes*, and Section *Longifoliae* (Poaceae-Bambusoideae). The American Society of Plant Taxonomists. *Systematic Botany Monographs* **27**:1-127.
- Clark, L.G. and G. Cortes R. 2004. A new species of *Otatea* from Chiapas. *Bamboo Science and Culture* **18** (1): 1-6
- Cortes, R. 1982. Revisión taxonómica de los Bambusoides leñosos (Gramineae: Bambusoideae) del estado de Veracruz. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Veracruzana. Xalapa, Veracruz. 74 p.
- Cortes, R. G. 2000. Los Bambúes nativos de México. *BioDiversitas*. **30**: 12-15.
- Cota-Sánchez, H.J., K. Remarchuk and K. Ubayasena. 2006. Ready-to-use DNA extracted

with CTAB method adapted for herbarium specimens and mucilaginous plant tissue.

Plan Molecular Biology Reporter **24**: 161-167.

Dávila, P., P. Tenorio, E. Manrique, A. Miranda y A. Rodríguez. 1990. VIII. Listado Florístico de Las Gramíneas de Puebla. *En*: Listados Florísticos de México. Instituto de Biología, UNAM. México, D.F. 51 p.

Dávila, P., M.T. Mejía-Saulés, M. Gómez-Sánchez, J. Valdés-Reyna, J.J. Ortiz, C. Morín, J. Castrejón y A. Ocampo. 2006. Catálogo de las Gramíneas de México. Universidad Nacional Autónoma de México y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, D.F. 671 p.

Davidse, G., M. Sousa, A. O. Chater. 1994. Flora Mesoamericana. Volemn 6. Alismataceae a Cyperaceae. Universidad Nacional Autónoma de México (Instituto de Biología), Missouri Botanical Garden, The Natural History Museum (London). México, D.F. p. 194-210.

Doyle, J.J. and J.L. Doyle. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf material. *Phytochemical Bulletin* **19**: 11-15.

- Espejo-Serna, A.R. López-Ferrari. 2000. Las Monocotiledóneas Mexicanas, una sinópsis Florística. 1. Lista de Referencia. Partes IX a XI. Pandanaceae a Zosteraceae. Consejo Nacional de la Flora de México, A.C. Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, D.F. p. 28, 30, 61-63, 100-101, 146, 195.
- Espejo-Serna, A., A.R. López-Ferrari y I.S. Ugarte. 2004. A current estimate of angiosperm diversity in Mexico. *Taxon* **53**: 127-130.
- Ford, C.S., K.L. Ayres, N.Toomey, N. Haider, J.A. Stahl, L.J. Kelly, N. Wirkström, P.M. Hollingsworth, R.J. Duff, S.B. Hoot, R.S. Cowan, M.W. Chase y M.J. Wilkinson. 2009. Selection of candidate coding DNA barcoding regions for use on land plants. *Botanical Journal of the Linnean Society* **159**: 1-11.
- García-Cruz, J. y V. Sosa. 2008. Fruit production and floral traits: correlated evolution in *Govenia* (Orchidaceae). *Evolutionary Ecology* **22**: 801-815.
- González, E.M., S. Elizondo y Y. Herrera. 1991. Listados Florísticos de México. IX. Flora de Durango. Instituto de Biología, UNAM. México, D.F. 167 p.
- Guo, Z. H. y D. Z. Li. 2004. Phylogentic of *Thamnocalamus* group and its allies (Gramineae: Bambusoideae): inference from sequences of GBSSI gene and ITS

spacer. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **30**: 1-12.

Hebert, P.D.N., E.H. Penton, J.M. Burns, D.H. Janzen, W. Hallwachs. 2004. Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical butterfly *Astraptes fulgerator*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **101**: 14 812-14 817.

Harman, K.T and W.D. Clayton. 2007. Recent developments in Kew's grass databases (GrassBase). *Kew Bulletin* **62**: 375-379

Judziewicz, E.J., L.G. Clark, X. Londoño y M. J. Stern. 1999. American Bamboos. Smithsonian Institution Press. 392 p. Washington D.C.

Judziewicz, E.J., R. Soreng, G. Davidse, P. Peterson, T.S. Filguerias and F. Zuloaga. 2000. Catalogue of New World Grasses (Poaceae): I. Subfamilies Anomochlooideae, Bambusoideae, Ehrhartoideae, and Pharoideae. Contributions of the U.S. National Herbarium 39: 1-128.

Kress, W.J., K.J. Wurdack, E.A. Zimmer, L.A. Weight, D.H. Janzen. 2005. Use of DNA barcode to identify flowering plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. **102**: 8369-8374.

Kress, W.J., D.L. Erickson. 2008. DNA Barcoding – a windfall for tropical biology?.

Biotropica **40** (4): 405-408

Lascurain, M., O. Gómez, O. Sánchez y C.C. Hernández (Editores). 2006. Jardines

Botánicos: conceptos, operación y manejo. Asociación Mexicana de Jardines Botánicos
Publicación Especial No. 5 Asociación Mexicana de Jardines Botánicos, A.C. Mérida,
Yucatán, México. 151 p.

Little, D.P. y D.W. Stevenson. 2007. A comparison of algorithms for the identification of
specimens using DNA barcodes: examples from gymnosperms. *Cladistics* **23**: 1-21.

McVaugh, R. 1983. Gramineae. En: Anderson, W.R. (editor). Flora Novo-Galiciana. 1-436.

The University of Michigan Press: Ann Arbor

Mejía-Saulés, M. T. y P. Dávila A. 1992. Gramíneas útiles de México. Cuadernos No. 16.

Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F.
298 p.

Mejía-Saulés, M.T., y J. Valdés-Reyna. 1994. Gramineae. *En*: Flora de Veracruz. Lista

Florística. Flora de Veracruz, Fascículo 82. A. Gómez-Poma y V. Sosa
(compiladores.). Xalapa, Veracruz. p. 109-127.

- Mejia-Saulés, M. T. y G. Castillo-Campos. 1996. Bamboos: A natural resource in Monte Blanco, Mexico. *Temperate Bamboo Quarterly* **2** (3-4): 86-93.
- Mejía-Saulés, M.T. 2001. Poaceae 1: Clave de géneros. Flora de Veracruz, Fascículo 123 *En*: Flora de Veracruz. A. Gómez-Poma y V. Sosa (editores.). Xalapa, Veracruz. p. 109-127.
- Mejia-Saulés, M. T. y C. Bernadat. 2004. Especies de bambúes utilizados en la elaboración de artesanías en Monte Blanco, Ver. México. Informe Técnico. INECOL-Universidad de Agronomía Grignon-Paris.
- Pale, J. J. 2004. Propagación asexual del bambú nativo de México *Rhipidocladum racemiflorum* (Steud.) E. Fourn. (Poaceae: Bambusoideae), recurso artesanal en Monte Blanco, Ver. Tesis de licenciatura. Universidad Veracruzana, Facultad de Biología. Xalapa, Veracruz. 68 p.
- Pale, J.J. 2012. Manejo del bambú Chiquián (*Rhipidocladum racemiflorum*) en plantación a sol y bajo sombra asociada a cafetal en Teocelo, Ver. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias Agrícolas. Maestría en Manejo el Recurso Forestal. Universidad Veracruzana. Xalapa, Veracruz (Tesis en revisión).

Ordoñez, V.R.C., M.T. Mejía-Saulés, y G. Bárcenas. 2011. Manual para la construcción sustentable con bambú. Instituto de Ecología, A.C. y CONAFOR. Jalisco, México.

94 p.

Pohl, R.W. 1980. Family 15. Gramineae. *En: Flora Costaricensis. Fieldiana Bor.* 4: 1-608.

Ragupathy, S., S. G. Newmaster, M. Murugesan & V. Balasubramaniam. 2009. DNA

barcoding discriminates a new cryptic grass species revealed in an ethnobotany

study by the Hill tribes of the Western Ghats in southern India. *Molecular Ecology*

Resources **9**: 164-171.

Ratnasingham, S. and P.D.N. Hebert. 2007. Bold: The Barcode of Life Data System

(www.barcodinglife.org). *Molecular Ecology Notes*:. 10 páginas. doi: 10.1111/j.1471-8286.2006.01678.x

Rodríguez-Acosta, M. (Editora). 2000. Estrategia de Conservación para los Jardines

Botánicos Mexicanos. Asociación Mexicana de Jardines Botánicos, A.C. Publicación

Especial No. 4. Asociación Mexicana de Jardines Botánicos, A.C. y Benemérita

Universidad Autónoma de Puebla. Puebla, Puebla. 36 p.

- Rogers, S.O. and A.J. Bendich. 1985. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues. *Plant Molecular Biology* **5**: 69-76.
- Rozas, J., J. C. Sánchez-Del Barrio, X. Messeguer & R. Rozas. 2003. DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics* **19**: 2496-2497.
- Ruíz-Sánchez, E., V. Sosa y T. Mejia-Saulés. 2008. Phylogenetics of *Otatea* inferred from morphology and chloroplast DNA sequence data, and recircumscription of Guaduinae (Poaceae: Bambusoideae). *Systematic Botany* **33**: 277-283.
- Ruíz-Sánchez, E. 2009. Delimitación de especies y posición filogenética del género de bambú americano *Otatea* (Poaceae: Bambusoideae). Tesis de Doctorado. Posgrado INECOL. 187 p. Xalapa, Ver.
- Ruíz-Sánchez, E., V. Sosa and T. Mejia-Saulés. 2011a. Molecular phylogenetics of the Mesoamerican bamboo *Olmeca* (Poaceae, Bambuseae): Implications for taxonomy. *Taxon* **60** (1):89-98.
- Ruíz-Sánchez, E., V. Sosa, T. Mejia-Saulés, X. Londoño and L.G. Clark. 2011b. A taxonomic revision of *Otatea* (Poaceae: Bambusoideae: Bambuseae) including four new species. *Systematic Botany* **36** (2): 314-336.

- Sass, C., D.P. Little, D.W. Stevenson, y C.D. Specht. 2007. DNA barcoding in the Cycadales: testing the potencial of proposed barcoding markers for species identification of cycads. *PloS One* **11**: e1154.
- Soderstrom, T. R., E. Judziewicz y L. G. Clark. 1988. Distribution patterns in Neotropical bamboos. En: *Proceedings of the Neotropical Biotic Distribution Pattern Workshop*, Rio de Janeiro. Academia Brasileira de Ciencias. pp. 121.
- Sosa, V. 2007. A molecular and morphological phylogenetic study of subtribe Blettiinae (Epidendroideae, Orchidaceae). *Systematic Botany* **32**: 34-42.
- Swallen, J. R. 1955. Gramineae. En: *Flora de Guatemala. Fieldiana Botany* **24** (2): 2-376.
- Tamura, K., P. Daniel, P. Nicholas, N. Masatoshi & K. Sudhir. 2011. MEGA5: Molecular evolutionary genetic analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution* (In Press).
- Vijayan, K. & C. H. Tsou. 2011. DNA barcoding in plants: taxonomy and a new perspective. *Current Science* **99**: 1530-1541.

Vázquez-López, J.M., H. Vibrans, E. García-Moya, J.I. Valdéz-Hernández, A.

Romero-Manzanares and R. Cuevas-Guzmán. 2004. Effects of harvesting on the structure of a neotropical woody bamboo (*Otatea: Guadinae*) populations. *Interciencia* **29**(4): 207-211.

Vovides, A.P., E. Linares y R. Bye. 2010. Jardines Botánicos de México: historia

y perspectiva. Secretaría de Educación de Veracruz e Instituto de Ecología, A.C. 230 p.

Páginas Web consultadas

<http://www.bamboosoftheamericas.org>

<http://www.barcodeoflife.org>

<http://www.biodiversidad.gob.mx>

<http://www.boldsystems.org>

<http://www.conabio.gob.mx>

<http://www.delta-intkey.com>

<http://www.eeob.iastate.edu./research/bamboo>

<http://www.rbgekew.org.uk/barcoding/protocols.html>

<http://www.semarnat.gob.mx>