

MARCADORES MORFOMÉTRICOS PARA LA IDENTIFICACIÓN DEL SEXO EN *Zamia furfuracea* L. f. (Zamiaceae)

MORPHOMETRIC MARKERS FOR GENDER IDENTIFICATION IN *Zamia furfuracea* L. f. (Zamiaceae)

María Á. Baldo-Romero¹; Lourdes G. Iglesias-Andreu¹;
Mario Vázquez-Torres²; Lázaro R. Sánchez-Velásquez³;
Mauricio Luna-Rodríguez⁴; Pablo Octavio-Aguilar⁵

¹Instituto de Biotecnología y Ecología Aplicada, Universidad Veracruzana. Av. de las Culturas Veracruzanas núm. 101, Campus para la Cultura, las Artes y el Deporte, col. Emiliano Zapata. C. P. 91090. Xalapa, Veracruz, México.

Correo-e: liglesias@uv.mx, Tel./Fax: (52)(2288422773) (Autor para correspondencia).

²Centro de Investigaciones Tropicales, Universidad Veracruzana. Ex-Hacienda Lucas Martín, privada de Araucarias s/n, col. Periodistas. C. P. 91019. Xalapa, Veracruz, México.

³Coordinación Universitaria para la Sustentabilidad. Calle Diana Laura Riojas viuda de Colosio núm. 83, col. Emiliano Zapata. C. P. 91090. Xalapa, Veracruz, México.

⁴Laboratorio de Alta Tecnología de Xalapa. Calle Médicos núm. 5, col. Unidad del Bosque. C. P. 91010. Xalapa, Veracruz, México.

⁵División de Estudios de Posgrado e Investigación, Instituto Tecnológico de Ciudad Victoria. Blvd. Emilio Portes Gil núm. 1301. C. P. 87010, apdo. postal 175. Cd. Victoria, Tamaulipas, México.

RESUMEN

Z*amia furfuracea* L. f. es endémica de Veracruz, México. La especie es una cícada dioica que se encuentra en peligro de extinción. No se ha registrado la existencia de un dimorfismo sexual en esta especie, por lo que no es posible efectuar una identificación del sexo en estadios tempranos o sin estructuras reproductivas. La determinación de las diferencias asociadas con el sexo en *Z. furfuracea* se hizo a través de la evaluación de nueve variables morfológicas en 31 individuos machos y 26 hembras de una población natural de Veracruz. El número de pares de foliolos, el ancho de la hoja, el promedio del ancho del foliolo y el diámetro del peciolo fueron significativamente diferentes entre sexos ($P = 0.043$, $P = 0.032$, $P = 0.041$ y $P = 0.002$, respectivamente). Estos caracteres pueden constituir marcadores morfométricos para determinar, con mayor certeza, la proporción de sexos en la especie.

PALABRAS CLAVE: Cícadas, dioicismo, dimorfismo sexual, peligro de extinción.

ABSTRACT

Z*amia furfuracea* L. f. is endemic cycad species from Veracruz, Mexico. The species is dioecious cycad, which is endangered. There is no report about the existence of a sexual dimorphism in this species, so it is not possible to perform adequate gender identification in early stages or when there is no strobili. A total of nine morphological variables were evaluated in 31 male and 26 female plants of a natural population of Veracruz to determine differences related to the gender of *Z. furfuracea*. Number of pairs of leaflets, leaf width, average width of the leaflet and diameter of the petiole were significantly different between genders ($P = 0.043$, $P = 0.032$, $P = 0.041$ and $P = 0.002$, respectively). These characteristics may form morphometric markers to determine with greater certainty the gender ratio in this species.

KEYWORDS: Cycad species, dioecism, sexual dimorphism, endangered.



Recibido: 15 de marzo, 2013

Aceptado: 04 de octubre, 2013

doi: 10.5154/r.chscfa.2013.03.010

<http://www.chapingo.mx/revistas>

INTRODUCCIÓN

La identificación temprana del sexo en especies dioicas, como las cícadas, constituye un aspecto de interés por razones relacionadas con el papel reproductivo (Emebiri & Nwufu, 1996) y por cuestiones prácticas asociadas con aspectos económicos y de conservación (Purrington & Schmitt, 1995). La demanda de cícadas, a nivel mundial, para uso ornamental es alta (Instituto Nacional de Ecología-Secretaría del Medio Ambiente, Recursos Naturales y Áreas Protegidas [INE-SEMARNAP], 2000), por lo que una identificación adecuada de sexos puede contribuir a incrementar la producción de plantas y reducir los costos económicos (Emebiri & Nwufu, 1996), especialmente en el caso de las hembras ya que son utilizadas como semilleros representando un valor agregado para el viverista. Desde el punto de vista ecológico, conocer la proporción de machos y hembras en las poblaciones naturales garantiza la permanencia y facilita el manejo de las mismas al poder modificar los atributos demográficos relacionados con la fecundidad. Algunos estudios se han desarrollado para identificar tempranamente los sexos en cícadas sin resultados concluyentes (Norstog & Nicholls, 1997). En este grupo no se ha determinado la presencia de un dimorfismo sexual en estados inmaduros pese a la utilidad que esto significaría, considerando que los individuos por lo regular alcanzan su madurez reproductiva entre 3 y 20 años (Vázquez-Torres, Cruz-Pérez, & Campos-Jiménez, 2011).

Dada la importancia de las especies de cícadas, y el estatus amenazado en que se encuentra la mayoría de éstas (International Union for Conservation of Nature and Natural Resources [IUCN], 2007), es de crucial importancia emprender estudios que permitan la identificación del sexo en estadios juveniles y adultos sin estructura reproductiva. Algunos trabajos se han desarrollado al respecto. Foster y San Pedro (1942) indicaron que la altura del tallo principal en hembras de *Microcycas* (Zamiaceae) es menor que en los machos, debido probablemente a que la producción de conos femeninos grandes inhibe el subsecuente desarrollo de las hojas y el crecimiento del tallo. En *Ceratozamia mexicana* Brongn. (Zamiaceae), el tamaño y número de espinas de los peciolas de las hojas maduras de los machos es mayor que en las hembras (Sánchez-Tinoco, Vázquez-Torres, & Alejandro-Rosas, 1990). En *Zamia inermis* Vovides, Rees & Vázq. Torres (Zamiaceae) se ha observado que la combinación de caracteres como la longitud de la hoja mayor, el ancho apical de la hoja y el diámetro del peciolo, pueden resultar de utilidad para discriminar el sexo en individuos juveniles (Sánchez-Tinoco, Vázquez-Torres, & Cruz-Kuri, 1993).

El conocimiento sobre el dimorfismo sexual de *Zamia furfuracea* L. f. es limitado. Esta especie de tallo hipógeo (que crece por debajo de la superficie terrestre) y con hojas de color verde pálido a verde olivo presenta un cono masculino de forma ovoide o cilíndrico, que es más pequeño que el cono femenino grande y con forma de barril (Vázquez-Torres et

INTRODUCTION

Early identification of gender in dioecious species such as cycad species is an aspect of interest for reasons related to reproductive role (Emebiri & Nwufu, 1996) and due to practical issues related to conservation and economic aspects (Purrington & Schmitt, 1995). The demand of cycad species, worldwide, for ornamental use is high (Instituto Nacional de Ecología-Secretaría del Medio Ambiente, Recursos Naturales y Áreas Protegidas [INE-SEMARNAP], 2000), therefore, proper identification of gender can contribute to increase the production of plants and reduce the economic costs (Emebiri & Nwufu, 1996), especially in the case of females, because they are used as seedbeds representing an added value for the nursery growers. From the ecological point of view, to know the proportion of males and females plants in natural populations ensures the permanence and facilitates the management of them by changing the demographic attributes related to fertility. Some studies have been developed to identify at an early stage the gender in cycad species with inconclusive results (Norstog & Nicholls, 1997). In this group, the presence of sexual dimorphism in immature stages has not been determined, despite the utility that this would mean, considering these plants usually reach reproductive maturity between 3 and 20 years (Vázquez-Torres, Cruz-Pérez, & Campos-Jiménez, 2011).

Given the importance of cycad species and the threatened status (International Union for Conservation of Nature and Natural Resources [IUCN], 2007), it is crucial to undertake studies to identify the gender in juvenile and adult stages without strobili. In this regard, some studies have been developed. Foster and San Pedro (1942) indicated that the height of the main stem in female species of *Microcycas* (Zamiaceae) is lower than in male species, possibly because the production of large female cones inhibits the subsequent development of the leaves and stem growth. In *Ceratozamia mexicana* Brongn. (Zamiaceae), size and number of petiole spines of mature leaves of male species are higher than in female species (Sánchez-Tinoco, Vázquez-Torres, & Alejandro-Rosas, 1990). In *Zamia inermis* Vovides, Rees & Vázq. Torres (Zamiaceae) it was observed that the combination of features such as the length of the bigger leaf, apical width of the leaf and the diameter of the petiole, may be useful to determine the gender at the juvenile stage of the species (Sánchez-Tinoco, Vázquez-Torres, & Cruz-Kuri, 1993).

Knowledge about sexual dimorphism of *Zamia furfuracea* L. f. is limited. This species of hypogeum stem (grows below the earth's surface) and pale green to olive green leaves has an ovoid or cylindrical male cone, which is smaller than the large barrel-shaped female cone (Vázquez-Torres et al., 2011). The species has no chromosomes heteromorphic that allow us to distinguish the gender at an early stage (Norstog & Nicholls, 1997). Currently, *Z. furfuracea* is considered endangered according to the NOM-059-ECOL-2010 (Diario Oficial de la Federación, 2010), vulnerable for the

al., 2011). La especie no posee cromosomas sexuales heteromórficos que permitan distinguir tempranamente el sexo (Norstog & Nicholls, 1997). Actualmente, *Z. furfuracea* se considera en peligro de extinción de acuerdo con la NOM-059-ECOL-2010 (Diario Oficial de la Federación, 2010), vulnerable para la IUCN (2007) y regulada por Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora (apéndice II) (CITES, 2008). La distribución natural de la especie abarca la zona costera centro-sur del estado de Veracruz, desde el nivel del mar hasta los 50 m (Vázquez-Torres, Torres-Hernández, & Bojórquez-Galván, 2001) y es propia de la selva baja caducifolia así como de dunas costeras y palmar (Vovides, Rees, & Vázquez-Torres, 1983). La proporción de machos y hembras en las poblaciones naturales se encuentra en relativa igualdad numérica, aunque los machos parecen sobrevivir por más tiempo (Vázquez-Torres et al., 2001). Es importante contar con marcadores morfométricos que permitan identificar el sexo de manera temprana en *Z. furfuracea* con el fin de seleccionar hembras, las cuales tienen mayor valor comercial al producir semillas, además de contribuir con el manejo de las poblaciones naturales vulnerables por la extracción de adultos o fragmentadas por las actividades agropecuarias. En tal contexto, el presente trabajo tuvo como objetivo identificar marcadores morfométricos, que pudieran estar asociados con el sexo, en adultos de *Z. furfuracea*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio de estudio

La población natural de *Z. furfuracea* se establece en La Catalana, La Antigua, Veracruz, localidad de la zona costera central del estado entre los 19° 18' 08.66'' N y 96° 17' 49.30'' O (Figura 1), próxima a la línea de costa. El clima es cálido con temperatura media anual de 25.3 °C y precipitación pluvial media anual de 1,500 mm. El suelo es arenoso con pH promedio de 7.23 y materia orgánica promedio de 3.36 % (determinados mediante los métodos de Bouyoucus-Day [pH], potenciómetro y Walkley-Black [materia orgánica], a partir de 12 muestras en el laboratorio de suelos de la Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad Veracruzana).

Evaluación de los caracteres morfométricos de *Z. furfuracea*

El muestreo se realizó en agosto de 2011, periodo del año en que las estructuras reproductivas femeninas y masculinas de esta especie son visibles. Las muestras se tomaron en un transecto en banda de 200 x 30 m. Los individuos adultos fueron identificados por la presencia de estructuras reproductivas o restos de las mismas. Cada uno de ellos fueron georeferenciados (GPS Garmin eTrex Legend, USA), etiquetados y ubicados gráficamente en papel milimétrico. Se registraron el sexo, número de coronas (disposición helicoidal de un conjunto de hojas), número de hojas adultas por corona, número de pares de folíolos por hoja, longitud y

International Union for Conservation Nature (IUCN, 2007) and regulated by the Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora (appendix II) (CITES, 2008). The natural distribution of the species covers the south-central coastal area of the state of Veracruz, from sea level up to 50 m (Vázquez-Torres, Torres-Hernández, & Bojórquez-Galván, 2001) and is typical of the low deciduous forest and coastal dunes and palmar (Vovides, Rees, & Vázquez-Torres, 1983). The proportion of male and female plants in natural populations is in relative numerical equality, although male species seem to survive longer (Vázquez-Torres et al., 2001). It is important to have morphometric markers to identify the gender at an early stage in *Z. furfuracea*, in order to select female individuals, which have higher commercial value because of the production of seeds, and contribute to the management of natural populations due to the extraction of adult plants or fragmented by agricultural activities. In this context, the present study aimed to identify morphometric markers that may be associated with gender, in adult's plants of *Z. furfuracea*.

MATERIALS AND METHODS

Study area

The natural population of *Z. furfuracea* is set in La Catalana, La Antigua, Veracruz, locality in the central coastal area between 19° 18' 08.66'' N and 96° 17' 49.30'' W (Figure 1), close to the coastline. The climate is warm with average annual temperature of 25.3 °C and average annual rainfall of 1,500 mm. The soil is sandy with average pH of 7.23 and average organic matter of 3.36 % (determined by the methods of Bouyoucus-Day [pH], potentiometer and Walkley-Black [organic matter], from 12 samples at the Soil Laboratory of the Faculty of Agricultural Sciences at the Universidad Veracruzana).

Assessment of morphometric characters of *Z. furfuracea*

Sampling was conducted in August 2011, a period of the year when male and female reproductive structures of this species are visible. Samples were taken on a band transect of 200 x 30 m. Adult individuals were identified by the presence of reproductive structures or remains of them. Each of them was georeferenced (GPS Garmin eTrex Legend, USA), labeled and graphically located on graph paper. Gender, number of crowns (helical arrangement of a set of leaves), number of mature leaves per crown, number of pairs of leaflets per leaf, length and width of leaves, average length and width of four leaflets from the middle part of the leaf, petiole diameter and distance from the base of the petiole to the first pair of leaflets were recorded. Measurements were performed using a flexometer (Stanley) and a standard vernier analog (Truper).

Statistical analysis

Data were subjected to a One Way Analysis of Variance (ANOVA) in completely randomized design (CRD), af-



FIGURA 1. Ubicación geográfica de la población estudiada de *Zamia furfuracea*. Fuente: Modificado de INEGI (1998).
 FIGURE 1. Geographical location of the studied population of *Zamia furfuracea*. Source: Modified from INEGI (1998).

ancho de las hojas, promedio de longitud y ancho de cuatro foliolos de la parte media de la hoja, diámetro de peciolo y distancia de la base del peciolo al primer par de foliolos. Las mediciones se realizaron con un flexómetro (Stanley) y un vernier analógico estándar (Truper).

Análisis estadístico

Los datos se sometieron a análisis de varianza (ANOVA) unifactorial en un diseño completamente al azar (DCA), previa comprobación de la distribución normal y homogeneidad de varianza, para comparar los caracteres morfométricos registrados en individuos machos y hembras. La prueba U de Mann-Whitney se empleó para las variables que aun transformadas (Ln: logaritmo natural) no cumplieron los requisitos para la aplicación del ANOVA. Las variables que resultaron significativamente diferentes se analizaron mediante componentes principales (ACP). Finalmente, se hizo un análisis discriminante para determinar si las variables morfológicas pudieran estar asociadas con el sexo. Todos los análisis estadísticos se realizaron con el software STATISTICA (Statsoft, 2007).

ter verifying the normal distribution and homogeneity of variance, to compare morphometric characters recorded in male and female species. The Mann-Whitney U test was used for variables that even transformed (Ln: natural logarithm) did not meet the requirements for the application of ANOVA. The variables that were significantly different were analyzed using principal component analysis (CP). Finally, a discriminant analysis was performed to determine whether the morphological variables may be related to the gender. All statistical analyzes were performed using the software STATISTICA (Statsoft, 2007).

RESULTS AND DISCUSSION

Morphometric characteristics evaluated in adult individuals of *Z. furfuracea* (Table 1) agree with the values reported by Vovides et al. (1983). The number of pairs of leaflets, leaf width, average width of the leaflet and petiole diameter of the nine variables analyzed were significantly higher in female individuals than in male individuals ($P = 0.043$, $P = 0.032$, $P = 0.041$ and $P = 0.002$, respectively). Differences in vegetative characters between male and female species have been

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las características morfométricas evaluadas en los adultos de *Z. furfuracea* (Cuadro 1) coinciden con los valores reportados por Vovides et al. (1983). De las nueve variables analizadas; el número de pares de foliolos, el ancho de la hoja, el promedio del ancho del foliolo y el diámetro del pecíolo fueron significativamente mayores en hembras que en machos ($P = 0.043$, $P = 0.032$, $P = 0.041$ y $P = 0.002$, respectivamente). Las diferencias de los caracteres vegetativos entre machos y hembras han sido reportadas en otras especies dioicas. En adultos de *Mercurialis annua* L. (Euphorbiaceae), las hembras son más grandes que los machos en tamaño y asignan una mayor cantidad de recursos principalmente a las hojas (Sánchez Vilas & Pannell, 2011). Un comportamiento similar se ha observado en las hembras de *Pistacia lentiscus* L. (Anacardiaceae) (Díaz-Barradas & Correia, 1999) y *Rhamnus alpinus* L. (Rhamnaceae) (Bañuelos & Obeso, 2004). Esto resulta congruente con lo indicado por Obeso (2002), quien afirma que las plantas de diferentes sexos pueden desarrollar diversas estrategias en el uso de los recursos para reproducción y crecimiento. Los resultados obtenidos en este trabajo sugieren que las hembras de *Z. furfuracea* de La Catalana asignan sus recursos al desarrollo de estructuras vegetativas, especialmente a las hojas. Esto concuerda con lo reportado por Montesinos, De Luis, Verdú, Raventós, y García-Fayos (2006), respecto a que las hembras almacenan la mayoría de los recursos en forma de hojas e invierten una pequeña proporción de éstos en incrementar la reproducción inmediata. En algunas especies difásicas (con flores masculinas y femeninas que se

reported in other dioecious species. In *Mercurialis annua* L. (Euphorbiaceae), the female adults individuals are larger than males in size and it allocate a greater amount of resources primarily to the leaves (Sánchez Vilas & Pannell, 2011). Similar behavior has been observed in females of *Pistacia lentiscus* L. (Anacardiaceae) (Díaz-Barradas & Correia, 1999) and *Rhamnus alpinus* L. (Rhamnaceae) (Bañuelos & Obeso, 2004). This is consistent with that indicated by Obeso (2002), who states that males and females plants may develop different strategies in the use of resources for reproduction and growth. The results obtained in this study suggest that females of *Z. furfuracea* from La Catalana allocate their resources to the development of vegetative structures, especially to leaves. This is consistent with that reported by Montesinos, De Luis, Verdú, Raventós, and García-Fayos (2006), because female plants store the most resources in the form of leaves and invest a small proportion of them to increase the immediate reproduction. In some biphasic species (with male and female flowers growing in sexually dimorphic branches that are spatially and temporally isolated), the storage organs of the females are larger than the males; for example, the female phase of *Gurania* (Cucurbitaceae) and *Psiguria* (Cucurbitaceae) is preceded by an increase in stem diameter (García & Antor, 1995). In this regard, the hypothesis of the advantage of size predicts that smaller individuals will express the gender that represent lower costs, in this case, male plants, whose expenditure for the production of pollen is lower than the total expenditure of metabolic energy and mineral nutrients for the production of eggs, seeds and fruits (Lovett-Doust & Lovett-Doust, 1988). The stem of epigaeous cycads retains a covering of

CUADRO 1. Características morfométricas analizadas en una población de *Zamia furfuracea*.

TABLE 1. Morphometric characteristics analyzed in a population of *Zamia furfuracea*.

Caracteres / Characters	Machos / Male	Hembras / Female
Número de coronas / Number of crowns	1.65 ± 0.16	1.81 ± 0.23
Número de hojas / Number of leaves	10.87 ± 1.20	15.08 ± 2.06
Pares de foliolos / Pairs of leaflets	13.77 ± 0.54 ^a	15.65 ± 0.75 ^b
Longitud de la hoja / Leaf length (cm)	69.08 ± 3.51	74.39 ± 3.48
Ancho de la hoja / Leaf width (cm)	27.96 ± 0.84 ^a	30.73 ± 0.94 ^b
Longitud de foliolos / Length of leaflets (cm)	15.17 ± 0.37	15.96 ± 0.49
Ancho de foliolos / Width of leaflets (cm)	2.79 ± 0.06 ^a	3.01 ± 0.09 ^b
Diámetro del pecíolo / Petiole diameter (cm)	0.72 ± 0.03 ^a	0.86 ± 0.03 ^b
DPPF / DPFL (cm)	29.03 ± 2.27	28.48 ± 1.68

^{a,b}Diferencia estadísticamente significativa (ANOVA $P < 0.05$). ± Error estándar de la media.

DPPF = Distancia de la base del pecíolo al primer par de foliolos.

^{a,b}Statistically significant difference (ANOVA $P < 0.05$). ± Standard error of the mean.

DPFL = Distance from the base of the petiole to the first pair of leaflets.

dan en ramas sexualmente dimórficas y que están espacial y temporalmente aisladas), los órganos de almacenamiento de las hembras son más grandes que los de los machos; por ejemplo, la fase femenina de *Gurania* (Cucurbitaceae) y *Psiguria* (Cucurbitaceae) es precedida por un incremento en el diámetro del tallo (García & Antor, 1995). Al respecto, la hipótesis de la ventaja del tamaño predice que los individuos pequeños expresarán el género que represente menores costos; en este caso, los machos cuyo gasto para la producción de polen es menor que el gasto total de energía metabólica y nutrientes minerales para la producción de los óvulos, semillas y frutos (Lovett-Doust & Lovett-Doust, 1988). En cícadas de formas epígea, el tronco conserva un cubrimiento de catáfilas sobrepuestas a la base de las hojas, cuya función principal es la protección y soporte, ya que está compuesto por células de pared delgada para almacenamiento (Norstog & Nicholls, 1997). Las hembras al tener mayor demanda de recursos para la producción de conos grandes y maduración de semillas, pudieran presentar mayor cantidad de células de reserva no sólo en la parte del tronco sino también en la base del peciolo, lo que podría explicar que las hembras muestren diámetros mayores que los machos.

El análisis de componentes principales de las cuatro variables significativamente diferentes entre sexos (número de pares de folíolos, ancho de la hoja, promedio del ancho del folíolo y diámetro del peciolo) indicó que 75.78 % de la variación total presente en los adultos reproductivos es explicado por los dos primeros componentes (Cuadro 2). El número de pares de folíolos, el ancho de la hoja y el diámetro del peciolo fueron las variables de mayor contribución para el componente 1, y para el componente 2 fue el promedio del ancho del folíolo (Cuadro 3). La Figura 2 muestra la proyección espacial de las variables en el plano conformado por los dos primeros componentes. No se observó un claro agrupamiento de los individuos según el sexo (Figura 3). Es posible que esto se deba a una pérdida parcial de la información de las variables originales en los nuevos componentes generados por el análisis multivariado efectuado (Guisande, Vaamond, & Barreiro, 2011).

Los resultados del análisis discriminante (Lambda de Wilks = 0.754, $F_{4,52} = 4.24$, $P < 0.0048$) (Cuadro 4) mostraron que el promedio del ancho de los folíolos presentó el valor más alto ($P < 0.04$). Las funciones de clasificación de machos y hembras, basadas en las variables morfométricas que más contribuyeron a dicho agrupamiento, revelaron que el ancho promedio de los folíolos fue la variable de mayor valor diagnóstico para la clasificación de los machos, mientras que el diámetro del peciolo lo fue para la clasificación de hembras (Cuadro 5). El 70.2 % de los adultos reproductivos evaluados fueron clasificados correctamente de acuerdo con la matriz de clasificación por sexo. La variable con mayor contribución a la función discriminante, determinada mediante el análisis canónico, fue el promedio del ancho de folíolo, y de acuerdo con el coeficiente de estructura, el diámetro de peciolo resultó ser la variable de mayor importancia (Cuadro 6).

cataphylls superimposed on the base of leaves, its main function is to protect and support, because it is composed of thin-walled cells for storage (Norstog & Nicholls, 1997). Female plants have greater demand for resources for the production of large cones and seed maturation; they may have greater number of reserve cells, not only in the stem but also at the base of the petiole, which could explain why females have diameters greater than males.

The principal component analysis of the four variables significantly different between genders (number of pairs of leaflets, leaf width, average width of leaflet and petiole diameter) indicated that 75.78 % of the total variation present in reproductive adult individuals is explained by the first two components (Table 2). The number of pairs of leaflets, leaf width and petiole diameter were the variables with higher contribution for component 1, and average width of the leaflet (Table 3) was for component 2. Figure 2 shows the spatial projection of the variables in the plane formed by the first two components. No clear cluster grouping of the individuals according to the gender (Figure 3) was observed. This may be due to a partial loss of information of the original variables into new components generated by the multivariate analysis performed (Guisande, Vaamond, & Barreiro, 2011).

The results of the discriminant analysis (Wilks Lambda = 0.754, $F_{4,52} = 4.24$, $P < 0.0048$) (Cuadro 4) showed that the width average of the leaflets showed the highest value ($P < 0.04$). Classification functions of males and females individuals, based on morphometric variables that contributed most to this grouping, revealed that the average width of the leaflets was the variable with greater diagnostic value for the classification of the males, and the diameter of the petiole classification was for females (Table 5). The 70.2 % of the reproductive adults evaluated were correctly classified according to the matrix of gender classification. The variable with the largest contribution to the discriminant function determined by the canonical analysis was the average of width leaflet, and according to the structure factor, the diameter of the petiole was the most important variable (Table 6).

Considering the morphometric characters are strongly influenced by the environment their diagnostic value is limited to the specific conditions in which the individuals was developed. However, the results obtained in this study should be corroborated in other natural populations of *Z. furfuracea* under different environmental conditions.

CONCLUSIONS

The morphometric variables analyzed in this study (pairs of leaflets with values within the range of 13.77 ± 0.54 , leaf width 27.96 ± 0.84 cm, 2.79 ± 0.06 cm average of leaflets width and 0.72 ± 0.03 cm of diameter of the petiole for the males, and 15.65 ± 0.75 pairs of leaflets, 30.73 ± 0.94 cm leaf width, 3.01 ± 0.09 cm average of leaflets width and 0.86 ± 0.03 cm of diam-

CUADRO 2. Matriz de autovalores del análisis de componentes principales (CP) en una población de *Zamia furfuracea*.
 TABLE 2. Matrix of eigenvalues of the principal component analysis (CP) in a population of *Zamia furfuracea*.

CP	Autovalor / Eigenvalue	Total (%)	Autovalor acumulado / Accumulated eigenvalue	Varianza acumulada / Accumulated variance (%)
CP 1	1.797	44.930	1.797	44.930
CP 2	1.234	30.854	3.031	75.784
CP 3	0.654	16.353	3.685	92.137
CP 4	0.315	7.863	4.000	100.000

CUADRO 3. Contribución de las variables morfológicas, basada en correlaciones, para los dos primeros componentes principales (CP) de una población de *Zamia furfuracea*.

TABLE 3. Contribution of morphological variables, based on correlations, for the first two principal components (CP) of a population of *Zamia furfuracea*.

Caracteres / Characters	CP 1	CP 2
Pares de foliolos / Pairs of leaflets	0.371	0.141
Ancho de la hoja / Leaf width	0.219	0.165
Ancho de foliolos / Width of leaflets	0.000	0.686
Diámetro del pecíolo / Petiole diameter	0.410	0.007

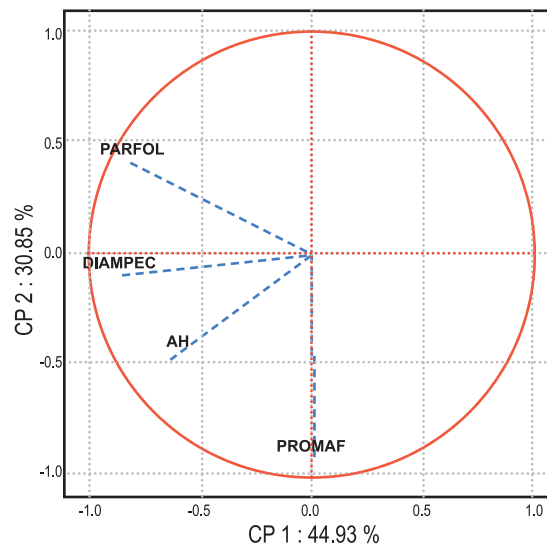


FIGURA 2. Proyección espacial de las variables morfométricas evaluadas en una población de *Zamia furfuracea* en un plano conformado por los dos primeros componentes principales (CP). PARFOL: Número de pares de foliolos, AH: Ancho de la hoja, PROMAF: Promedio del ancho foliolos, DIAMPEC: Diámetro del pecíolo.

FIGURE 2. Space Projection of morphometric variables evaluated in a population of *Zamia furfuracea* in a plane formed by the first two principal components (CP). PARFOL: Number of pairs of leaflets, AH: Leaf width, PROMAF: Average of width leaflets, DIAMPEC: petiole diameter.

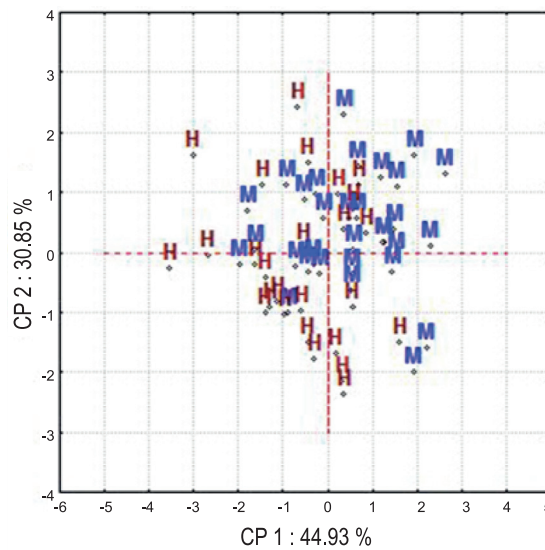


FIGURA 3. Distribución de los machos (M) y las hembras (H) en un plano conformado por los dos primeros componentes principales (CP) de una población de *Zamia furfuracea*.

FIGURE 3. Distribution of males (M) and females (H) in a plane formed by the first two principal components (PC) of a population of *Zamia furfuracea*.

CUADRO 4. Funciones discriminantes de las variables morfométricas evaluadas en una población de *Zamia furfuracea*.

TABLE 4. Discriminant functions of morphometric variables evaluated in a population of *Zamia furfuracea*.

Caracteres / Characters	Lambda de Wilks / Wilks' Lambda	Lambda parcial / Partial Lambda	F	P
Pares de foliolos / Pairs of leaflets	0.777	0.970	1.608	0.210
Ancho de la hoja / Leaf width	0.763	0.988	0.633	0.430
Ancho de foliolos / Width of leaflets	0.818*	0.921	4.438	0.040
Diámetro del pecíolo / Petiole diameter	0.779	0.968	1.711	0.197

*Valor estadísticamente significativo ($P \leq 0.05$).

*Statistically significant value ($P \leq 0.05$).

CUADRO 5. Funciones de clasificación morfométrica agrupadas por sexo en una población de *Zamia furfuracea*.

TABLE 5. Functions of morphometric classification grouped by gender in a population of *Zamia furfuracea*.

Caracteres / Characters	Funciones discriminantes / Discriminant functions	
	Machos / Male $P = 0.544$	Hembras / Female $P = 0.456$
Pares de foliolos / Pairs of leaflets	1.740	1.890
Ancho de la hoja / Leaf width	0.671	0.726
Ancho de foliolos / Width of leaflets	22.850	24.690
Diámetro del pecíolo / Petiole diameter	21.390	26.880
Constante / Constant	-59.580	-72.160

CUADRO 6. Análisis canónico de las variables morfométricas de una población de *Zamia furfuracea*.TABLE 6. Canonical analysis of morphometric variables in a population of *Zamia furfuracea*.

Caracteres / Characters	Coefficiente estándar / Standard coefficient	Coefficiente de estructura basado en correlaciones / Coefficient of structure based on correlations
Pares de foliolos / Pairs of leaflets	0.464	0.490
Ancho de la hoja / Leaf width	0.234	0.520
Ancho de foliolos / Width of leaflets	0.644	0.494
Diámetro del pecíolo / Petiole diameter	0.443	0.751
Autovalor / Eigenvalue	0.326	No aplica / Do not apply

Dado que los caracteres morfométricos en especies vegetales como las cícadas se encuentran fuertemente influidos por el ambiente, éstos pueden presentar variación, por lo que su valor diagnóstico se limita a las condiciones específicas donde los individuos se desarrollan. No obstante, los resultados obtenidos en este estudio pueden ser corroborados en otras poblaciones de *Z. furfuracea* bajo condiciones ambientales diferentes.

CONCLUSIONES

Las variables analizadas con valores dentro de los rangos de 13.77 ± 0.54 pares de foliolos, 27.96 ± 0.84 cm de ancho de la hoja, 2.79 ± 0.06 cm de promedio del ancho de foliolos y 0.72 ± 0.03 cm de diámetro del pecíolo para los machos, y de 15.65 ± 0.75 pares de foliolos, 30.73 ± 0.94 cm de ancho de la hoja, 3.01 ± 0.09 cm de promedio del ancho de foliolos y 0.86 ± 0.03 cm de diámetro del pecíolo para las hembras, resultan potencialmente útiles para la identificación del sexo en individuos adultos de *Z. furfuracea* que no presenten estructuras reproductivas. Los resultados obtenidos en este estudio son de gran beneficio para la conservación de las poblaciones naturales de *Z. furfuracea* así como para su producción comercial como especie ornamental.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) (proyecto núm. 152073). Se agradece al CONACYT por la beca de posgrado otorgada al primer autor (núm. de apoyo 229666).

REFERENCIAS

Bañuelos, M., & Obeso, J. R. (2004). Resource allocation in the dioecious shrub *Rhamnus alpinus*: The hidden costs of reproduction. *Evolutionary Ecology Research*, 6, 397–413. Obtenido de http://www.unioviado.es/mjbanuelos/pdfs/BaOb_04_EvolEcolRes.pdf

eter of the petiole for the females plants), are potentially useful to the gender identification in adults individuals of *Z. furfuracea* that do not have reproductive structures. The results obtained in this study are of great benefit to the conservation of natural populations of *Z. furfuracea*, and for commercial production as this important ornamental species.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was funded by the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) (project num. 152073). We thank CONACYT for the postgraduate scholarship granted to the first author (num. 229666).

- Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora (CITES). (2008). Consultado 10-09-2009 en <http://www.cites.org>
- Diario Oficial de la Federación. (2010). Norma Oficial Mexicana 059-SEMARNAT-2010. Protección ambiental–especies nativas de México de flora y fauna silvestres–categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio–lista de especies en riesgo. México D. F.: Autor.
- Díaz-Barradas, M. C., & Correia, O. (1999). Sexual dimorphism, sex ratio and spatial distribution of male and female shrubs in the dioecious species *Pistacia lentiscus* L. *Folia Geobotánica*, 34, 163–174. doi: 10.1007/bf02803082
- Emebiri, L. C., & Nwufu, M. I. (1996). Occurrence and detection of early sex-related differences in *Telfairia occidentalis*. *Sex Plant Reproduction*, 9, 140–144. doi: 10.1007/BF02221393
- Foster, A. S., & San Pedro, M. R. (1942). Field studies on *Microcycas calocoma*. *Memorias de la Sociedad Cubana de Historia Natural "Felipe Poey"*, 16, 105–121.
- García, M. B., & Antor, R. J. (1995). Sex ratio and sexual dimorphism in the dioecious *Borderea pyrenaica* (Dioscoreaceae). *Oecología*, 101, 59–67. doi 10.1007/BF00328901
- Guisande, C., Vaamonde, A., & Barreiro, A. (2011). *Tratamiento de datos con R, STATISTICA y SPSS*. España: Ediciones Díaz de Santos.
- Instituto Nacional de Ecología-Secretaría del Medio Ambiente, Recursos Naturales y Áreas Protegidas (INE-SEMARNAP). (2000). Proyecto para la protección, conservación y recuperación de la familia Zamiaceae (Cycadales) de México. Obtenido de http://www.semarnat.gob.mx/temas/gestionambiental/vidasilvestre/Documents/Preps/Pprep_Cycadas.pdf
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). (1998). Carta topográfica imagen digital 1:250 000. México: Autor
- International Union for Conservation of Nature and Natural Resources. (IUCN). (2007). Consultado 10-09-2009 en <http://www.iucnredlist.org>.
- Lovett-Doust, J., & Lovett-Doust, L. (1988). *Plant reproductive ecology: Patterns and strategies*. USA: Oxford University Press.
- Montesinos, D., De Luis, M., Verdú, M., Raventós, J., & García-Fayos, P. (2006). When, how and how much: Gender-specific resource use strategies in the dioecious tree *Juniperus thurifera*. *Annals of Botany*, 98, 885–889. doi: 10.1093/aob/mcl172
- Norstog, K. J., & Nicholls, T. J. (1997). *The biology of the cycads*. USA: Cornell University Press.
- Obeso, J. R. (2002). The costs of reproduction in plants. *New Phytologist*, 155, 321–348. doi: 10.1046/j.1469-8137.2002.00477
- Purrington, C. B., & Schmitt, J. (1995). Sexual dimorphism of dormancy and survivorship in buried seeds of *Silene latifolia*. *Journal of Ecology*, 83, 795–800. doi: 10.2307/2261416
- Sánchez-Tinoco, M. Y., Vázquez-Torres, M., & Alejandro-Rosas, J. A. (1990). Determinación del dimorfismo sexual en una población de *Ceratozamia mexicana* Brongn. (Zamiaceae). *Delpino*, 29-30, 7–35.
- Sánchez-Tinoco, M. Y., Vázquez-Torres, M., & Cruz-Kuri, L. (1993). Determinación del dimorfismo sexual en *Zamia inermis* Vovides, Rees & Vázquez-Torres, Zamiaceae (Cycadales), basado en características morfológicas vegetativas. *La Ciencia y el Hombre*, 15, 113–127. Obtenido de <http://cdigital.uv.mx/bitstream/123456789/5218/2/199315P113.pdf>
- Sánchez-Vilas, J., & Pannell, J. R. (2011). Sexual dimorphism in resource acquisition and deployment: Both size and timing matter. *Annals of Botany*, 107, 119–126. doi: 10.1093/aob/mcq209
- StatSoft, Inc. (2007). STATISTICA (data analysis software system), version 8.0. Consultado en <http://www.statsoft.com>.
- Vázquez-Torres, S. M., Torres-Hernández, L., & Bojórquez-Galván, L. H. (2001). *Distribución, abundancia, estructura poblacional y potencial reproductor de Zamia furfuracea* L. f. México D. F.: CONABIO.
- Vázquez-Torres, S. M., Cruz-Pérez, A., & Campos-Jiménez, J. (2011). *Las cícadas de Veracruz. Guía ilustrada*. Xalapa, México: Gobierno del Estado de Veracruz, Consejo Veracruzano de Ciencia y Tecnología.
- Vovides, A. P., Rees, J. D., & Vázquez-Torres, M. (1983). *Flora de Veracruz: Zamiaceae*. Xalapa, Veracruz, México: Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos.