

Evaluación de la germinación del polen de *Zea mays* a través de metodologías *in vitro* en Santa Marta, Colombia

Evaluation of the germination of the pollen of *Zea mays* in vitro methodologies in Santa Marta, Colombia

Rafael Segundo Escobar Pallares y Catherine Pardey Rodríguez

Programa de Ingeniería Agronómica, Facultad de Ingeniería, Universidad Magdalena

*Autor de correspondencia: catherinepardey@unimagdalena.edu.co

Recibido: 10 de julio de 2020

Aceptado: 11 de septiembre de 2020

Publicación en línea: 09 de diciembre de 2020

Resumen

Palabras clave:
viabilidad de polen; medio de cultivo;
tinción de polen; híbrido Synko

La viabilidad del polen es un parámetro fundamental en la formación de la semilla, existen diferentes técnicas para su evaluación, de las cuales la germinación *in vitro*, presenta resultados confiables. El polen de maíz tiene dificultad para germinar en medios de cultivo debido a la morfología y fisiología. Este estudio tuvo como objetivo evaluar cinco formulaciones de germinación *in vitro* sobre polen de maíz del híbrido Synko sembrada bajo las condiciones climáticas de Santa Marta-Colombia. El periodo de antesis se dio 50 días después de siembra; los granos de polen recolectados fueron puestos de inmediato, sobre cinco medio de cultivo ya referenciados en maíz, los cuales están constituidos por diferentes formulaciones de agar - agar, sacarosa, nitrato de calcio y ácido bórico. El arreglo estadístico fue un Diseño Completo al Azar, ocho repeticiones por tratamiento y dos réplicas en el tiempo. El conteo de granos de polen viables se hizo sobre cuatro campos por caja Petri, sobre 50 granos por campo, en un estéreo microscopio Leica M205, y en un microscopio compuesto de luz a 40X. Se utilizó como referencia de viabilidad la tinción con acetocarmin al 2 %, en 10 portaobjetos por réplica, 100 granos de polen por portaobjetos. El medio constituido por 0,6 % de agar-agar, 17 % de sacarosa, y 0,03 % de nitrato de calcio, registró el promedio más alto de germinación de granos de polen; este es de 70,13%. La tinción del polen con acetocarmin superó los porcentajes de viabilidad *in vitro*.

Abstract

Key words:
pollen viability; culture medium,
pollen stain, Synko hybrid

Pollen viability is a fundamental parameter in the formation of the seed, there are different techniques for its evaluation, of which *in vitro* germination presents reliable results. Corn pollen has difficulty germinating in culture media due to morphology and physiology. This study aimed to evaluate five *In Vitro* germination formulations on maize pollen of the Synko hybrid sown under the climatic conditions of Santa Marta-Colombia. The anthesis period occurred 50 days after sowing; the collected pollen grains were placed immediately, on five culture medium already referenced in corn, which are made up of different formulations of agar - agar, sucrose, calcium nitrate and boric acid. The statistical arrangement was a Complete Random Design, eight replications per treatment and two replications over time. The grain count was made on four fields per Petri dish, on 50 grains per field, on a Leica M205 stereo microscope, and on a 40X compound light microscope. The staining technique with 2 % acetocarmin was used as a reference, evaluated on 10 slides per replica, 100 pollen grains per slide. The Culture Medium made up of 0.6 % agar-agar, 17 % sucrose, and 0.03 % calcium nitrate, registered the highest average germination of pollen grains; this is 70.13 %. Pollen staining with acetocarmin exceeded the percentages of viability *In Vitro*.



Introduction

El maíz es una de las gramíneas más cultivadas en el mundo y es una de las especies más productivas (Federación Nacional de Cultivadores de Cereales, 2010). Colombia registra rendimiento promedio de maíz amarillo tecnificado de 5,8 Ton/Ha (Fenalce, 2019). La calidad del polen es un parámetro que influye en la calidad y cantidad de semilla y es utilizado para realizar estudios relacionados con la biología de la polinización, ya que existen procesos de mejora genética y de producción de cultivos que depende de la espiga macho (MacRobert *et al.*, 2015). El concepto "calidad de polen" se refiere a viabilidad y/o germinación; "viabilidad" se define como la capacidad que tiene un grano de polen de vivir, germinar, crecer, y desarrollarse; y "germinación de polen" como la capacidad del polen de emitir el tubo polínico en condiciones adecuadas (Rejón García *et al.*, 2010; Sorkheh *et al.*, 2011). La viabilidad puede ser medida, a través de la germinación in vitro e in vivo (Corazza Kaefer *et al.*, 2016). La técnica de germinación in vitro, es considerada confiable, exacta y simple (Araméndiz Tatis *et al.*, 2013). Según Vieira de França *et al.* (2009) la técnica de germinación in vitro presenta ventajas frente a las tinciones tradicionales y los ensayos de actividad enzimática, debido a que estas dos últimas pueden arrojar falsos positivos de viabilidad, al detectar elementos celulares y enzimas funcionales, los cuales no garantizan que el polen sea viable.

La germinación in vitro en medio de cultivo es una técnica que simula, las condiciones del estigma, induciendo la germinación del tubo polínico (Almeida *et al.*, 2011; Corazza Kaefer *et al.*, 2016). El estigma puede ser considerado como una estructura modificada para la captura y recepción del polen, que confiere un medio óptimo para que tenga lugar la germinación del grano y el crecimiento del tubo polínico. Durante este proceso una gran cantidad de agua y nutrientes junto a otras moléculas son transportadas al interior del grano de polen bien sea desde el exudado estigmático, en caso de estigmas húmedos, o de las papilas estigmáticas en caso de estigmas secos, como es el caso del polen de maíz (Arco Alcaraz, 2009; Hui Xu *et al.*, 2012). En la interacción entre el polen y el estigma existen diferentes macromoléculas como carbohidratos, sustancias pépticas y lípidos, necesarios para la fertilización (Arco Alcaraz, 2009; Hui Xu *et al.*, 2012). La composición y el pH del medio son factores importantes que afectan la germinación del polen, se requiere en las angiospermas una fuente de carbono, boro y a menudo otros nutrientes para promover las condiciones

necesarias para que se dé la germinación del tubo polínico (Vieira de França *et al.*, 2009). Cada especie requiere formulaciones específicas de medios de cultivo para obtener buena germinación de granos de polen (Corazza Kaefer *et al.*, 2016). Se han desarrollado medios y procedimientos para la germinación de polen in vitro en numerosas especies, sin embargo, la germinación artificial en las gramíneas ha resultado laborioso (Pfahler, 1967).

El polen de maíz presenta estructura tri - celular, lo cual lo hace de difícil manejo y almacenamiento (Youmbi *et al.*, 2005). Este tipo de polen presenta dificultad al ser sometido a la germinación in vitro y tiene una tasa de conservación escasa, porque su metabolismo no se detiene después de ser desprendido de la planta (Youmbi *et al.*, 2005). Todos estos aspectos mencionados y dada la necesidad de conocer la calidad del polen para producir semilla de maíz, el presente trabajo tuvo como objetivo evaluar cinco formulaciones de germinación in vitro reportadas sobre polen de maíz en el híbrido Synko (Syngenta) crecido bajo las condiciones climáticas de suelo y ambiente del Centro de Desarrollo Agrícola y Forestal de la Universidad del Magdalena (C.D.A.F) ubicado en Santa Marta, Colombia

Materiales y métodos

Área de estudio, establecimiento y desarrollo del cultivo

Se sembró el híbrido Synko dentro de las instalaciones de la Universidad del Magdalena, en el Centro de Desarrollo Agrícola y Forestal de la Universidad del Magdalena (C.D.A.F), ubicado en la ciudad de Santa Marta, en el departamento del Magdalena (Colombia), localizada, entre los 74° 07' y 74° 12' de longitud Oeste 11° 11' 0.9" y 11° 13' 29.6" de latitud Norte. La textura del suelo es franco arcillo arenoso (Pardey Rodríguez, 2015).

Se realizaron dos siembras consecutivas, con diferencias de 15 días entre ellas, hasta cubrir un área de 770m²; 11 surcos de 70 metros de largo con distancias entre surco de 0,8 m y entre planta de 0,50 m. El suelo se preparó con un pase de arado y uno de rastrilla, se fertilizó con una mezcla de 17-6-18-2 (nitrógeno, fósforo, potasio y magnesio) en una dosis de 35 gramos/planta, antes de la floración del cultivo. Se realizó un control de malezas 15 días después de la siembra, enmarcado en un ploteo manual con guadaña entre los surcos hasta desmalezar toda el área requerida. Para el control de larvas de Lepidoptera, se realizaron dos aplicaciones, entre los 15 y 20

días después de la siembra con 80 g de *Bacillus thuringiensis* y 24 cc de Carrier diluidos en una bomba de espalda con capacidad de 20 L, la mezcla se aplicó entre 6:00 y 7:00 am, se realizó un mojado completo del cogollo de la planta por hileras hasta cubrir el lote, luego se realizó una segunda aplicación 8 días después. Lo anterior con el fin de no inactivar el producto por los rayos solares y coincidir con la hora de ingestión de las larvas (figura 1).



Figura 1. Lote de maíz híbrido Synko en centro de desarrollo agrícola y forestal de la Universidad del Magdalena en Santa Marta, Colombia.

Recolecta del polen

La recolecta del polen se realizó dos veces teniendo en cuenta el periodo de antesis. Al momento de la colecta de polen se registró la humedad relativa y la temperatura ambiental con un higrotermómetro digital modelo L101. El polén se almacenó en bolsas especiales para tal fin, éstas son de papel blanco recubiertas con cera, la espiga se ubicó dentro de la bolsa, y por medio de golpes suaves, se dio el desprendimiento del polen dentro de ella, se tomó polen de 10 a 12 espigas, luego se transportó de inmediato al laboratorio para evitar la deshidratación.

Evaluación de la germinación del polen de maíz

Se evaluó el efecto de cinco medios de cultivos previamente reportados en maíz. Constituidos por una combinación de diferentes concentraciones de agar - agar al 0,6, 0,7 y 1 %, sacarosa al 10, 15, 17, 20 y 25 %, ácido bórico al 0,01, 0,03 y 0,04 %, nitrato de calcio al 0,025, 0,01, 0,03 %, cada tratamiento corresponde a un medio de cultivo evaluado (tabla 1).

La preparación de las mezclas de cada componente del medio de cultivo se realizó adicionando y calentando cada uno de ellos, evitando la ebullición de la mezcla, hasta alcanzar una disolución de cada uno de los componentes de acuerdo con cada uno de los cinco tratamientos. En la autoclave se esterilizaron los medios y las cajas de Petri, ambos envueltos en papel Kraft. Los medios de germinación se prepararon con un día de anticipación a la siembra del polen, se sirvieron, marcaron e identificaron las cajas Petri de acuerdo con el tratamiento correspondiente.

La siembra del polen en las cajas Petri, se hizo con una aguja de disección, se distribuyó el polen en cuatro campos, luego se selló con papel Parafilm y las cajas Petri se ubicaron por dos horas a una temperatura entre 25 y 27°C, en oscuridad en el cuarto de incubación con una humedad relativa del 78 % (Almeida *et al.*, 2011; Corazza Kaefer *et al.*, 2016).

Análisis estadístico

Se aplicó un diseño completamente al azar con cinco tratamientos, con dos réplicas en el tiempo. Cada réplica se conformó por ocho cajas Petri donde se realizaron cuatro conteos por caja sobre 50 granos de polen cada uno. El porcentaje de granos de polen germinados se calculó como el cociente del número de granos de polen germinados en cada campo óptico con relación al total de 50 granos de polen en el mismo campo (Araméndiz Tatis *et al.*, 2013; Cerovic *et al.*, 2014; Corazza Kaefer *et al.*, 2016).

Tabla 1. Descripción de cinco medios de germinación de polen de maíz del híbrido Synko, cada tratamiento corresponde a un medio de cultivo.

Tratamiento	Agar -agar (%)	Sacarosa (%)	Ácido bórico (%)	Nitrato de Calcio (%)	Fuente
1	1	10	0,03	0,025	Bair y Loomis, 1941 citado por Alcaraz, 2009
2	1	20	0,04	-	Pfahler, 1981
3	0,7	15	0,01	0,01	Almeida <i>et al.</i> , 2011
4	0,6	17	-	0,03	Almeida <i>et al.</i> , 2011 y Corazza Kaefer <i>et al.</i> , 2016
5	0,6	25	-	-	Corazza Kaefer <i>et al.</i> , 2016

El conteo se realizó con la ayuda del estéreo - microscopio Leica M 205 y en el microscopio compuesto de luz 40 X. Como testigo de viabilidad de polen se utilizó la prueba de tinción, en la cual se tomó polen recién colectado se pasó a 10 portaobjetos por repetición y se les añadió una gota de acetocarmín al 2 %. Después de 24 horas se observó el polen en el estéreo - microscopio LEICA M205; para su evaluación se trazaron campos que ayudaron a realizar el conteo. Se realizó una determinación visual basada en la forma, los granos de polen redondeados y teñidos de rojo; se consideró polen viable y polen no viable; estos últimos de forma constreñida y sin tinción. El término "constreñidos" hace referencia a los granos de polen que tienen deformación del citoplasma (González *et al.*, 2002). Posteriormente se estimó el porcentaje de viabilidad, dato que sirvió de parámetro de comparación a la viabilidad conseguida por el método de germinación *in vitro*.

% viabilidad= (N° de granos bien formados y teñidos)/(N° total de granos)

Para identificar si existen diferencias en los medios de cultivo se realizó un análisis de varianza y para elegir el mejor tratamiento que favoreció la germinación del polen se realizó una comparación de medias empleando la prueba de rangos múltiples Duncan a 5 % (P<0,05) de significancia estadística. Se utilizó el programa estadístico Statgraphics Centurion XVI.I.

Resultados

La germinación del híbrido Synko (Syngenta) se dio en promedio a los 7 días después de la siembra (DDS); la floración a los 45 DDS. La emisión de polen comenzó a los 50 DDS. La temperatura al momento de la colecta fue de 25,2 y 27,5 °C y La humedad relativa de 79 y 78 %, para la primera y segunda replica respectivamente. La siembra de los granos de polen tomados dos horas después de recolectado y conservado a 4° C por 24 horas, no logró germinar en ningún medio de cultivo probado (datos no registrados). La germinación del polen en los cinco tratamientos se observó después de colectados e inmediatamente sembrados sobre cada medio de cultivo como se muestra en la figura 2.

El promedio de germinación de cada tratamiento se muestra en la tabla 2; en todos los cinco medios referenciados germinaron granos de polen así se muestra en los valores mínimos; se presentaron valores máximos de germinación de 80 y 100 % en los tratamientos 1, 3 y 4; los cuadrantes de lectura mostraron variaciones entre ellos como se evidencia en los coeficientes de variación.

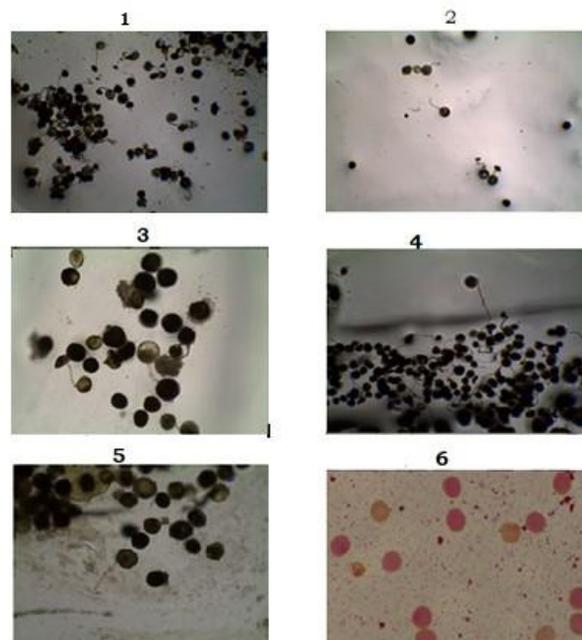


Figura 2. Polen de maíz evaluado en diferentes medios por la técnica de germinación *in vitro*. 1). Medio 1. 2) Medio 2. 3) Medio 3. 4) Medio 4. 5) Medio 5. 6). Determinación de viabilidad por la técnica de tinción con Acetocarmín.

Los porcentajes de germinación de polen *in vitro* del híbrido Synko mostró diferencias (P<0,05) entre las cinco formulaciones como se muestra en la tabla 3. La mejor formulación para el híbrido Synko fue en el tratamiento Cuatro, constituido por 0,6 % de agar - agar, 17 % de sacarosa, 0,03 % de nitrato de calcio y sin adición de ácido bórico para lograr 70,13 % de germinación como se muestra en la figura 3. La comparación entre la técnica de germinación de polen con la técnica de tinción, evidenció que los porcentajes de viabilidad fueron mayores al teñir el polen que al inducir su germinación a través de los cinco medios de cultivos como se muestra en la figura 2.

Discusión

La floración del híbrido Synko producida por Syngenta se dio después de los 50 DDS. Las variables de temperatura y humedad coinciden con un clima seco. Lo normal es que un grano de polen de maíz dure entre 18 y 24 horas viable en ambientes frescos. De ahí que bajo las condiciones de la granja donde se hizo la siembra de maíz, una vez colectado el polen debe ser sembrado en los medios de cultivo de inmediato y puesto en ambientes fresco.; Corazza Kaefer *et al.* (2016), reporta que las variables climáticas influyen en la germinación del polen en el medio de cultivo porque afectan el estado de turgencia de la membrana del grano de polen.

Tabla 2. Resumen estadístico para el porcentaje de germinación del polen del híbrido Synko de maíz para cada tratamiento y el porcentaje de viabilidad con la técnica de tinción, los números muestran las variaciones con respecto a la media, y la representación de esta entre cada tratamiento y la técnica de tinción. D E= desviación estándar, CV= coeficiente de variación, Min= mínimo y Máx= máximo.

Tratamiento	Recuento	Promedio	D.E	CV (%)	Mín	Máx
1	64	32,62	16,77	51,42	2,0	80,0
2	64	12,87	3,52	27,38	6,0	20,0
3	64	26,37	15,04	57,03	8,0	80,0
4	64	70,12	18,96	27,04	30,0	100,0
5	64	9,187	3,80	41,36	4,0	20,0
Tinción	20	96,25	1,83	1,90	93,0	99,0

Tabla 3. Análisis de varianza para el porcentaje de germinación de polen del híbrido Synko de maíz, sobre cinco tratamientos analizados en un diseño completamente al azar. SC= suma de cuadrados, GI= grados de libertad, CM= cuadrado medio.

Fuente	SC	GI	CM	Razón-F	Valor-P
Tratamiento	37699,1	4	9424,76	210,76	0,0000
Error	14086,4	315	44,7188		
Total	51785,5	319			

Corazza Kaefer *et al.*, 2016, afirma que una hora fija no es relevante para influenciar en la tasa de germinación sino los factores de humedad relativa y la temperatura, la cual debe ser 72 % y 27,2 °C respectivamente, así no se ve afectado los resultados de germinación.

Youmbi *et al.*, 2005 comprobó que el polen de maíz tiene características especiales que dificultan su germinación al ser trinucleado, el cual presenta una longevidad corta, con una alta tasa de deshidratación, que es regida por la pared de la membrana, y una tasa de conservación pobre debido a que su metabolismo es rápido y no se detiene después de ser desprendido de la antera.

Las diferencias ($P < 0,05$) encontradas en los tratamientos (tabla 3) fueron citados por Youmbi *et al.*, (2005); Davide *et al.* (2009) y Almeida *et al.* (2011) quienes señalan que la germinación del polen en un medio de cultivo de un mismo genotipo puede variar, al usar diferentes formulaciones de ahí que se deba ajustar las concentraciones de los reactivos al genotipo, diseñando un modelo estadístico que permita inferir el efecto de la concentración de cada elemento químico que actúa en el medio de cultivo afectando la germinación del grano de polen. La mejor formulación correspondió al tratamiento cuatro, donde se logró 70,13 % de germinación. El reporte de Almeida *et al.*, (2011), muestra 70 % de germinación con la concentración de 17 % de sacarosa; Davide *et al.*, (2009), confirman haber obtenido los mejores resultados al hacer germinar polen de maíz, a una concentración de sacarosa 16,5%. Youmbi *et al.*, (2005), con 10 y 15 % de sacarosa. Almeida *et al.*, (2011), utilizando diferentes concentraciones de

Sacarosa, Agar, ácido bórico, y utilizando Cloruro de Calcio hidratado, manifiesta que independientemente de la presencia de calcio o boro en los medios de cultivo, el contenido de sacarosa entre 10 y 20 %, proporciona la germinación más alta, y que la concentración cercana al 10 % es la más indicada para la germinación de polen de maíz. Taylor y Hepler, (1997), confirman que la sacarosa en el medio de germinación puede alterar la permeabilidad del crecimiento del tubo polínico, resultando en la lixiviación de metabolitos y iones al medio. Vieira de França *et al.* (2009) ; Almeida *et al.* (2011) y Jankovic *et al.* (2014) dice también que la sacarosa estimula la fermentación del etanol durante el crecimiento in vitro y se acumula a niveles de 100 mM que inhibe el crecimiento; sugieren probar otros azúcares como la glucosa o fructosa que reducen la hidrólisis en el tejido; además que proporcionan la energía para el desarrollo del tubo polínico y provee un balance osmótico entre el polen y la solución de germinación influenciado por otras sustancias como el ácido bórico y el calcio. Es por eso, concentraciones excesivas o deficientes de cualquiera de estas sustancias pueden prevenir o dificultar la germinación del grano de polen.

Bohórquez *et al.* (2013) registra del boro en las monocotiledóneas, este es requerido en pequeñas cantidades con relación a las dicotiledóneas, en las cuales se requiere en mayores cantidades; La cantidad óptima para algunas especies puede ser tóxica o insuficiente para otras. Martínez *et al.* (2009) dice del boro es un elemento requerido para el transporte de azúcares entre muchas otras funciones; una deficiencia de él causa deterioro en el crecimiento de los puntos

meristemáticas, de ahí que las concentraciones correctas permitirán el desarrollo del crecimiento del tubo polínico. Pfahler (1967), reportó que los mejores resultados de germinación en polen de maíz los alcanzó con concentraciones de 0,01% de ácido bórico. Schreiber y Dresselhaus (2003), demuestran que al variar concentraciones al ácido bórico de 0,02 a 0,025 %, pueden obtener resultados diferentes en el porcentaje de germinación del polen de maíz, los mejores resultados son superiores al 90 % de germinación usando una concentración de 0,005 % de ácido bórico.

Pfahler, (1967) y Almeida *et al.* (2011) consiguieron los mejores resultados de germinación de polen de maíz a una concentración de calcio 0,03%. Los estudios han indicado que la unión de calcio toma lugar en las regiones pépticas de la pared del tubo de polen, lo que aumenta la rigidez de la pared y la estabilidad con una disminución en la ruptura. El calcio en un medio de cultivo proporciona características fisiológicas al tubo polínico y al grano de polen, dándole menor sensibilidad a los cambios en el medio básico, menor permeabilidad, crecimiento en un aspecto lineal y rígido del tubo polínico. La acción del calcio sobre el grano de polen está aparentemente asociada con la membrana del tubo polínico. Por lo tanto en ausencia de calcio hay una mayor permeabilidad de la membrana del tubo polínico, provocando la liberación de metabolitos internos al medio externo (Vieira de França *et al.*, 2009). Lo anterior demuestra que hay que estandarizar cada uno de los elementos del medio de cultivo para igualar o superar la germinación obtenida del polen de maíz en el híbrido Synko.

Conclusiones

La germinación del grano de polen del híbrido Synko (Syngenta) se logra en los medios de cultivo referenciados por otros autores en maíz bajo las condiciones agroecológicas de la granja de la Universidad del Magdalena. La siembra en los medios de cultivo de los granos de polen no debe pasar por etapas previas de almacenamiento.

Agradecimiento

Los autores expresan sus agradecimientos al grupo de Investigación Fitotecnia del Trópico, perteneciente a la universidad del Magdalena, por haber apoyado financieramente la compra de los reactivos.

Referencias

Alcaraz, M. L. 2009. Biología reproductiva del aguacate (*Persea americana* Mill). Implicaciones para la optimización del Julio-diciembre de 2020

cuajado. Tesis de doctorado. Universidad de Málaga, Málaga, España.

Almeida, C., do Amaral, A. L., Barbosa Neto, J. F. and De Melo Sereno, M. J. C. 2011. Conservação e germinação in vitro de pólen de milho (*Zea mays* subsp. *mays*). *Revista Brasileira de Botanica* 34(4), 493–497. Doi: <https://doi.org/10.1590/s0100-8404201100040000>.

Araméndiz Tatis, H., Cardona Ayala, C. y Jarma Orozco, A. 2013. Eficiencia de dos métodos para evaluar la viabilidad del polen de berenjena (*Solanum melongena* L. cv. Lila criolla). *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica* 16(2): 351–358. Doi: <https://doi.org/10.31910/rudca.v16.n2.2013.907>.

Bohórquez, W., Gómez, J. y Flórez, V. 2013. Nutritional factors and modification in the content of anthocyanins associated with the blackening of rose petals (*Rosa* sp.). *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 16(1): 103–112. <https://doi.org/Doi:10.31910/rudca.v16.n1.2013.864>.

Cerovic, R., Pajic, Z., Filipovic, M., Fotiric-Akšic, M., Radicevic, S., Nikolic, D. y Dordevic, M. 2014. Pollen germination and pollen tube growth in ZP maize lines. *Genetika* 46(3): 935–948. <https://doi.org/10.2298/GENSR1403935C>.

Corazza Kaefer, K. A., Chiapetti, R., Fogaca, L., Luis Muller, A., Borghetti Calixto, G. y Dall'Olglio, E. I. 2016. Viability of maize pollen grains in vitro collected at different times of the day. *African Journal of Agricultural Research* 11(12): 1040–1047. Doi: <https://doi.org/10.5897/ajar2015.10181>.

Davide, L. M. C., Pereira, R. C., Abreu, G. B., Souza, J. C. y Pinho, É. V. R. V. (2009). Viabilidade de Pólen de Milho em Diferentes Períodos de Armazenamento em Baixa Temperatura. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo* 8(2): 199–206. <https://doi.org/10.18512/1980-6477/rbms.v8n2p199-206>

Federación Nacional de Cultivadores de Cereales. 2010. El cultivo del maíz, historia e importancia. Url: <http://hdl.handle.net/20.500.12324/1004> . Consultado: 10 de agosto de 2020.

Fenalce. 2019. Estadística. URL: <https://www.fenalce.org/alfa/pg.php?pa=60>. Consultado: 10 de agosto de 2020.

González, M., A. Estévez, J. Castillo, J. Salomón, O. Moré y M. Hernández. 2002. La Calidad del polen: requisito indispensable del mejoramiento tradicional de la papa en Cuba. *Revista Latinoamericana de la Papa* 13(1): 75-94.

- Hui Xu, X., Chen, H., Lin Sang, Y., Wang, F., Ping Ma, J., Gao, X.-Q. y Sheng Zhang, X. 2012. Identification of genes specifically or preferentially expressed in maize silk reveals similarity and diversity in transcript abundance of different dry stigmas. *BMC Genomics* 13(294): 2–17. Doi: <https://doi.org/https://doi.org/10.1186/1471-2164-13-294>.
- Jankovic, D., Jankovic, S., Paunovic, S., Cirkovic, B. y Zaran, N. 2014. Effect of different concentrations of agar, sucrose, boric acid and calcium chloride on pollen germination in english walnut cultivar 'geisenheim 251.' *International Journal of Biosciences (IJB)* 1: 217–223. <https://doi.org/10.12692/ijb/4.7.217-223>.
- MacRobert, J. F., Setimela, P., Gethi, J. y Worku Regasa, M. 2015. *Manual de producción de semilla de maíz híbrido*. CIMMYT. México, D.F.
- Martínez, F.E., Sarmiento, J., Fischer, G. y Jiménez, F. 2009. Síntomas de deficiencia de macronutrientes y boro en plantas de uchuva (*Physalis peruviana* L.). *Agronomía Colombiana* 27(2): 169–178.
- Pardey Rodríguez, C. 2015. Seed production and crosses among maize (*Zea mays* L.) accessions of the Magdalena department of Colombia. *Acta Agronomica* 64(1): 82–91. Doi: <https://doi.org/10.15446/acag.v64n1.44551>.
- Pfahler, P.L. 1967. In vitro germination and pollen tube growth maize (*Zea mays* L.) pollen: Calcium and boro effects. *Canadian Journal of Botany* 45(6), 839–845. Doi: <https://doi.org/10.1139/b67-087>.
- Pfahler, P.L. 1981. In vitro germination characteristics of maize pollen to detect biological activity of environmental pollutants. *Environmental Health Perspectives* 37:125–132. Doi: <https://doi.org/10.1289/ehp.8137125>.
- Rejón García, J., Suárez Rizzo, C., Alché Ramírez, J., Castro López, A. y Rodríguez-García, M. 2010. Evaluación de diferentes métodos para estimar la calidad del polen en distintos cultivares de olivo (*Olea europaea* L.). *Polen* 20: 60–72. Doi: <https://doi.org/10.14201/pol.v20i0.8921>.
- Schreiber, D. N. y Dresselhaus, T. 2003. In vitro pollen germination and transient transformation of *Zea mays* and other plant species. *Plant Molecular Biology*, 21(3): 31–41. Doi: <https://doi.org/10.1007/BF02772809>.
- Sorkheh, K., Shiran, B., Rouhi, V., Khodambashi, M., Wolukau, J. N. y Ercisli, S. 2011. Response of in vitro pollen germination and pollen tube growth of almond (*Prunus dulcis* Mill.) to temperature, polyamines and polyamine synthesis inhibitor. *Biochemical Systematics and Ecology* 39(4–6): 749–757. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.bse.2011.06.015>.
- Taylor, L.P. y Hepler, P. K. 1997. Pollen germination and tube growth. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 48(1): 461–491. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.48.1.461>.
- Vieira de França, L., Nascimento, W. M., Carmona, R. and Alves de Freitas, R. 2009. Viability of eggplant pollen. *Cropps Breeding and Applied Biotechnology* 9(4): 320–327. Doi: <https://doi.org/10.12702/1984-7033.v09n04a06>.
- Youmbi, E., The, C. y Tedjacno, A. 2005. Conservation of the germination capacity of pollen grains in three varieties of maize (*Zea mays* L.). *Grana*, 44(3): 152–159. Doi: <https://doi.org/10.1080/00173130500233271>.
- Citar como:** Escobar Pallares, R.S. y Pardey Rodríguez, C. 2020. Evaluación de la germinación del polen de *Zea mays* a través de metodologías *in vitro* en Santa Marta, Colombia. *Intropica* 15(2): en prensa. Doi: <https://doi.org/10.21676/23897864.3565>