

FLUJO DE POLEN ENTRE HÍBRIDOS TROPICALES DE MAÍZ DE DIFERENTE COLOR DE ENDOSPERMO

Manuel Guzmán H.¹, Félix San Vicente G.² y Daizi Díaz M.²

RESUMEN

El polen del maíz (*Zea mays* L.) es fácilmente transportado largas distancias por acción del viento, pudiendo ocurrir flujo de polen entre campos cercanos con sincronía floral, con probabilidad de ocasionar variaciones genéticas indeseables. El objetivo del presente estudio fue cuantificar el flujo de polen entre dos híbridos de maíz de distinto color de endospermo, cultivado bajo condiciones de riego. El ensayo fue establecido en el campo experimental del CENIAP, ubicado en Maracay, estado Aragua, durante el ciclo enero-abril de 2006. El lote experimental consistió en una cuadrícula central, que correspondió a la fuente de polen amarillo y cuatro ejes (norte, sur, este y oeste) formados por once subparcelas de maíz blanco, para una distancia máxima de 61 m. Para los ejes norte y sur, a 1 m de distancia, el flujo de polen fue de 25,65 % y 5,80 %; mientras que para la distancia máxima (51 m), el flujo fue de 0,79 % y 0 %, respectivamente. En el caso de los ejes este y oeste para la distancia de 1 m, los valores fueron de 15,32 % y 13,35 %; mientras que para distancia máxima (61 m), el flujo fue de 0,42 % y 0,05 %, respectivamente. El flujo de polen disminuyó exponencialmente a medida que aumentó la distancia de la fuente. El comportamiento del viento y el efecto de la turbulencia influyeron en la distancia recorrida por el polen. La aplicación de un modelo matemático permitió estimar una distancia segura de 100 m para prevenir el cruzamiento entre dos genotipos diferentes (líneas, poblaciones, híbridos, parientes silvestres). Mediante el uso de modelos matemáticos es posible estimar distancias seguras de aislamiento para evitar flujo de polen indeseado.

Palabras clave adicionales: Sincronía floral, maíz tropical, híbridos, maíz transgénico, viento

ABSTRACT

Gene flow between tropical maize hybrids with different endosperm color

Maize pollen (*Zea mays* L.) is easily wind-dispersed long distances and may cause gene flow between neighboring fields with flowering synchrony. Gene flow may lead to undesirable genetic variation. The objective of this study was to quantify gene flow between two maize hybrids with different endosperm color, grown under irrigation. The experiment was planted at the CENIAP experimental field in Maracay, Aragua State, Venezuela, during the period January-April 2006. The field layout consisted in a central square, planted with the yellow pollen source and four axes (North, South, East, and West) formed by 11 white maize subplots, for a maximum distance of 61 m. For the North and South axes, gene flow was 25.65 % and 5.80 % at 1 m distance; whereas for the maximum distance (51 m) out-cross was 0.79 % and 0 %, respectively. On the other hand, for the East and West axes, gene flow was 15.32 % y 13.35 % at 1 m distance, while for the maximum distance (61 m) out-cross was 0.42 % and 0.05 %, respectively. Gene flow decreased exponentially as the distance from the yellow pollen source increased. Wind pattern and turbulence effect influenced pollen transport. A mathematical model allowed the estimation of 100 m as a suitable distance to prevent cross-fertilization between two different genotypes (inbreds, populations, hybrids, wild relatives). Using appropriate mathematical models one could estimate isolation distances required to avoid undesirable gene flow.

Additional key words: Flowering synchrony, tropical maize, hybrids, transgenic maize, wind

INTRODUCCIÓN

El flujo de genes es el movimiento natural de éstos entre organismos individuales, a través de un proceso de recombinación sexual o hibridación

(Eastman y Sweet, 2002). En las plantas, este proceso ocurre cuando el polen poliniza y fertiliza exitosamente otra planta. La dispersión del polen puede representar una proporción significativa del flujo de genes en plantas que por mucho tiempo

Recibido: Noviembre 8, 2007

Aceptado: Junio 20, 2008

¹ Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA). CIAEP. Apdo. 102. Acarigua 3301-A. Venezuela. e-mail: maguzman@inia.gob.ve

² Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA). CENIAP. Apdo. 4653. Maracay 2101. Venezuela. e-mail: fsanvicente@inia.gob.ve; ddiaz@inia.gob.ve

han sido de interés para la agricultura, y esta acción simboliza un potencial de contaminación dentro de un sistema de producción (Levin y Kerster, 1974).

La planta de maíz es anemófila (el polen es disperso por acción del viento), por lo que produce grandes cantidades de polen para poder fertilizar y fecundar otras plantas (Schoper et al., 1987; Ma et al., 2004). Las panículas pueden producir entre 5 y 50 millones de granos de polen (Aylor et al., 2003), aunque usualmente varía entre 14 y 25 millones (Miller, 1985). La liberación de polen ocurre por un período entre 2 a 14 días; aunque usualmente ocurre entre 5 y 8 días (Aylor et al., 2003; Treu y Emberlin, 2000; Westgate et al., 2003).

Con relación al viento, un factor importante es la variación de la velocidad, la cual cambia significativamente durante el año observándose en el período lluvioso velocidades más bajas que en el período seco.

La facilidad que posee el polen del maíz para ser transportado por el viento es muy elevada, a pesar de ser uno de los de mayor tamaño y peso dentro de las plantas anemófilas. Aunado a esto, la alta producción de polen favorece su transporte a largas distancias aunque puede ocasionar problemas de contaminación en otros campos cercanos que estén cultivados con maíz. Este polen extraño puede causar variaciones fenotípicas y genotípicas no deseadas por el productor, sobre todo en el caso de lotes de producción de semilla certificada o en los campos de producción de maíz orgánico. Por otro lado, el flujo de polen de maíz transgénico a maíz no transgénico podría ocasionar el movimiento involuntario de genes con consecuencias impredecibles desde el punto de vista biológico y ambiental.

Ortiz (1993) midió la frecuencia en la ocurrencia de xenia usando caracteres como color y tipo de endospermo del grano de maíz, encontrando que el flujo genético entre diferentes tipos de maíz con floración simultánea fue considerablemente alto entre los extremos adyacentes de lotes colindantes. Sin embargo, prácticamente no hubo flujo genético hacia el centro de la parcela (alrededor de 15 m de la fuente de polen). En un estudio similar, Cervantes et al. (2001) determinaron el grado de dispersión del polen de una variedad de maíz introducida y el

flujo genético con una variedad local. El flujo de genes se evaluó por el efecto de la xenia que produce el color negro de la aleurona y se observó que la mayor parte del polen del maíz introducido cayó dentro de su propia parcela.

Más recientemente, Ma et al. (2004) estudiaron la dispersión del polen de un maíz transgénico amarillo como fuente de polen, y un maíz blanco como receptor. El nivel de cruzamiento fue menor a 1% después de 28 m en la dirección del viento y 10 m en contra de la dirección del viento y el flujo de polen se explicó adecuadamente mediante un modelo de decrecimiento exponencial en función de la distancia de la fuente. Dichos autores concluyeron que la distancia de aislamiento generalmente recomendada de 200 m, también parece ser apropiada para maíces transgénicos.

Es necesario determinar el flujo de polen en maíz en condiciones tropicales para desarrollar modelos biológicos que permitan establecer posibles escenarios ante la introducción de maíces transgénicos en países del trópico como Venezuela. El objetivo del presente trabajo fue determinar el flujo de polen entre híbridos de maíz de diferente color de endospermo.

MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo fue conducido en el Campo Experimental del Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (CENIAP) del INIA, ubicado en Maracay, Venezuela (10° 17' N; altitud de 455 msnm) durante el período comprendido entre enero y abril 2006. El suelo es de origen aluvial y coluvio aluvial, de textura franco, perteneciente al orden Inceptisol. El clima de la zona se caracteriza como Bosque Seco Premontano, con precipitación media de 930 mm al año y temperatura media de $24,3 \pm 0,8$ °C.

En el diseño del ensayo en campo se utilizó una adaptación del esquema utilizado por Figuera (2006). Adicionalmente, fueron incluidas dos parcelas por cada eje alcanzando una distancia máxima de 61 m para los ejes este y oeste, y de 51 m para los ejes norte y sur de la fuente de polen amarillo. Las diferencias con relación a la distancia máxima en cada eje se debió fundamentalmente a la dirección del surcado (sentido este-oeste) en el campo y a las limitaciones de espacio físico. El lote experimental consistió en un área efectiva de

siembra de 681,6 m² de los híbridos Pioneer 30R92 de endospermo blanco y Pioneer 3041 de endospermo amarillo, cultivados bajo riego y distribuidos según el esquema de campo descrito en la Figura 1. La cuadrícula central, denominada parcela principal o fuente de polen amarillo, correspondió al híbrido Pioneer 3041 y ocupó un área de 400 m². Por otro lado, fueron establecidos 4 ejes (norte, sur, este y oeste) formados por 11 subparcelas de 6,4 m² cada una, para un total de 281,6 m². Cada subparcela fue sembrada con el híbrido Pioneer 30R92 de endospermo blanco.

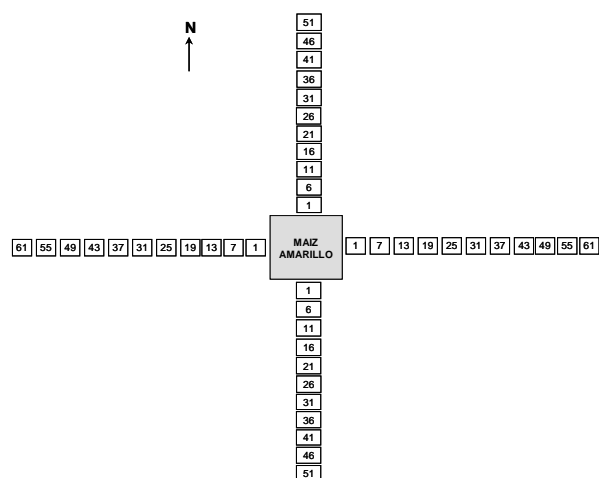


Figura 1. Arreglo espacial del experimento en campo (en metros)

La densidad de siembra, tanto en la parcela principal como en las subparcelas, fue de 62.500 plantas por hectárea. La distancia máxima desde la fuente de polen, en los ejes norte y sur fue de 51 m, y de 61 m en los ejes este y oeste. Cada subparcela fue identificada considerando la distancia a la que se encontraba de la fuente de polen.

Durante el desarrollo del experimento fueron determinadas las siguientes variables: (a) período de floración masculina en el maíz amarillo y período de floración femenina en el maíz blanco. La floración masculina fue evaluada desde la emisión de la panícula pasando por la dehiscencia y finalmente la antesis, mientras que la floración femenina fue registrada desde la emisión de los estigmas hasta su fecundación; (b) frecuencia de granos amarillos en mazorcas de endospermo blanco en las distintas subparcelas que se encontraban alrededor de la parcela principal, considerando la distancia máxima a la que fueron

transportados los granos de polen del maíz amarillo por acción del viento en cada uno de los ejes adyacentes a la fuente de polen. Para la evaluación de esta última variable fue cosechada la totalidad de las mazorcas presentes en las subparcelas de maíz blanco. Posterior al secado, se contaron los granos totales (blancos y amarillos) de cada mazorca en cada subparcela. Para cada mazorca, el porcentaje de flujo de polen fue calculado como el número de granos amarillos dividido por el número total de granos (blancos y amarillo) por mazorca. Posteriormente, el flujo de polen de cada subparcela fue calculado como el porcentaje de cada mazorca dividido por el número total de mazorcas. La velocidad, dirección y recorrido del viento, al igual que la precipitación fueron monitoreadas por la Estación Agrometeorológica del CENIAP, ubicada aproximadamente a 100 m del sitio del ensayo; y (c) estimación del flujo de genes mediante el uso del modelo matemático sugerido por Ma et al. (2004) utilizando como máximo umbral de flujo de genes 0,9%, con el fin de conocer una distancia altamente segura para que no exista intercambio de genes superior al porcentaje señalado anteriormente.

Para determinar la frecuencia del flujo de polen entre el maíz amarillo y el maíz blanco se utilizaron las ecuaciones de regresión exponencial sugeridas por Ma et al. (2004).

Los datos de cruzamiento o flujo de polen y la distancia de la fuente de polen amarillo fueron ajustados a una ecuación exponencial:

$$Y = Y_0 e^{(-\beta x)} \quad [1]$$

y a una ecuación exponencial modificada:

$$Y = Y_0 e^{(-\beta x)} + C \quad [2]$$

donde Y es el flujo de polen expresado en porcentaje (%), Y₀ el flujo de polen extrapolado a x = 0, β un coeficiente de forma, x la distancia en metros de la mazorca muestreada a la fuente de polen, y C un coeficiente que representa el flujo de polen en la mayor distancia expresado en porcentaje.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Sincronía de floración

La floración masculina y femenina de ambos híbridos coincidió en el tiempo (Figura 2). La liberación de polen, precedida por la emisión de la panícula del material de endospermo amarillo

se inició a los 59 dds (50 % de la población liberando polen). El período de floración masculina fue de 10 días, culminando a los 68 dds. La emergencia de las panículas y la liberación de polen están influenciadas en gran parte por la temperatura y la humedad relativa. Ambas variables climáticas influyeron directamente en el desprendimiento de los granos de polen de las anteras. Debido al incremento de la temperatura y la disminución de la humedad relativa durante el transcurso del día, la viabilidad de los granos de polen disminuye ampliamente (Treu y Emberlin, 2000; Aylor et al., 2003) y aunque éstos lleguen a los estigmas receptivos no serán capaces de fecundarlos. Cabe destacar que durante nuestro ensayo no hubo precipitaciones.

La floración femenina se inició a los 60 dds (50 % de la población de maíz blanco con los estigmas receptivos), observándose un alargamiento y una emisión vertiginosa de los estigmas a través de los días. La floración femenina culminó a los 68 dds, siendo el cambio de color el indicativo de la senescencia y deshidratación de la flor femenina (Figuera, 2006). El crecimiento de los estigmas y liberación de polen obtenidos concuerdan con los reportados por Bassetti y Westgate (1994) y Luna et al. (2001). La floración mostró un patrón de curva sigmoide, caracterizado al inicio por un crecimiento exponencial y seguido de una meseta que indica el punto máximo de expresión.

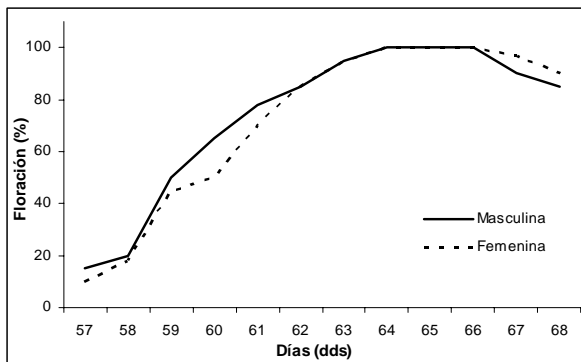


Figura 2. Floración masculina y femenina en dos híbridos de maíz

Comportamiento del viento

Los vientos predominantes durante el período de floración provenían del este, sureste y sur (Figura 3), y su velocidad diaria promedio fue de 3 km·h⁻¹ (Figura 4). Durante las primeras horas de

la mañana (00:00-09:00) no se registraron variaciones en la velocidad del viento (0 km·h⁻¹), pero sí entre las 09:00 y hasta las 22:00 hora local. El rango en el que se registró la mayor velocidad del viento estuvo entre las 11:00 y 15:00 hora local, alcanzado valores de hasta 10 km·h⁻¹. Estos períodos de alta velocidad de viento coincidieron con las horas del día cuando ocurrió la antesis.

Con relación al recorrido del viento (Figura 5) se registraron valores entre 107 y 57 km, con una media de 77 km.

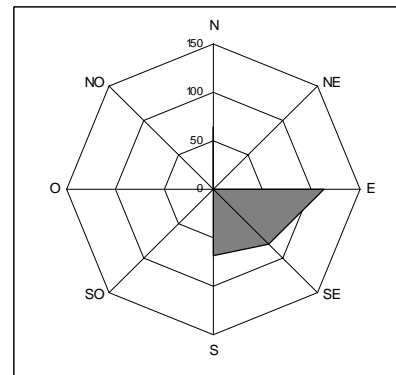


Figura 3. Dirección predominante del viento durante el período de floración

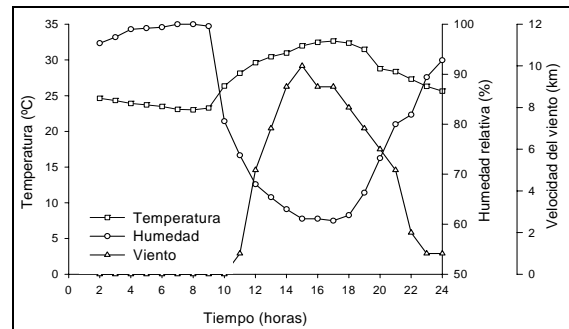


Figura 4. Temperatura, humedad relativa y velocidad del viento durante el período de floración.

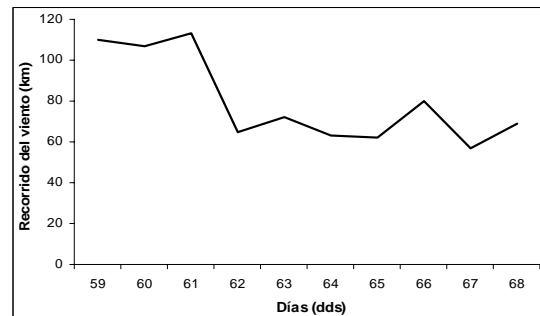


Figura 5. Recorrido diario del viento durante el período de floración

Flujo de polen con relación a la distancia de la fuente de polen

El flujo de polen fluctuó ampliamente a causa de la dirección y velocidad del viento, observándose que disminuyó exponencialmente a mayor distancia de la fuente, alcanzando en algunos casos valores de cero o cercanos a éste. La relación entre el flujo de polen y la distancia a la fuente estuvo bien representada por una función exponencial decreciente ($P \leq 0,01$) con valores de R^2 de 0,95; 0,60; 0,86 y 0,89 para los ejes norte, sur, este y oeste, respectivamente (Figura 6).

sur, este y oeste, respectivamente (Figura 6).

De acuerdo a los valores de R^2 , los datos de flujo de polen estuvieron mejor representados por la ecuación [1]. Sólo en el caso del eje sur se hizo uso de la ecuación [2], debido a que inicialmente los datos analizados mediante la ecuación [1] tendían a ser representados como una regresión lineal, por lo que mediante la adición de un valor conocido y constante para todos los datos se logró un mejor ajuste con una regresión exponencial (Figura 6).

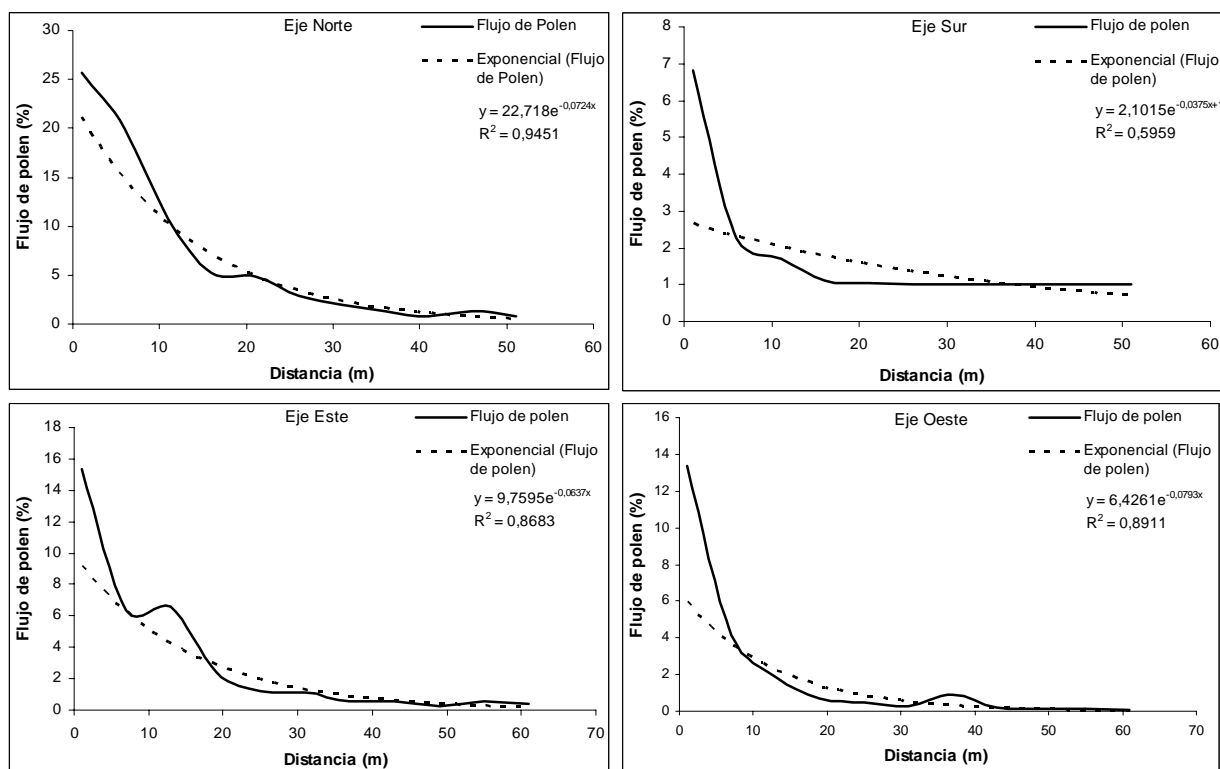


Figura 6. Flujo de polen en función de la distancia a la fuente de maíz amarillo

De manera general, se observó el mayor porcentaje de flujo de polen en subparcelas adyacentes a la parcela principal. A 1 m de distancia de la fuente de polen se encontraron valores de 25,65; 5,80; 15,32 y 13,35 % para los ejes norte, sur, este y oeste, respectivamente, mientras que al alcanzar distancias de 6 ó 7 m, los valores disminuyeron drásticamente (Cuadro 1). Estos resultados concuerdan con los presentados por Baltazar et al. (2005), Halsey et al. (2005) y Jarosz et al. (2005).

El corto recorrido realizado por el grano de polen de maíz se debe a que es uno de los más grandes y pesados dentro de las plantas

anemófilas (Raynor et al., 1972; Miller, 1985; Emberlin et al., 1999). Los valores mayores de flujo de polen fueron registrados hacia los lados norte y este, debido principalmente a la velocidad y dirección de los vientos en el área del ensayo.

Estimación teórica del flujo de polen

Conociendo que la Unión Europea considera un umbral máximo de 0,9 % de flujo de polen (Official Journal of the European Union, 2003) se decidió utilizar este valor para estimar distancias seguras de siembras considerando sólo aislamiento en el espacio. El modelo matemático utilizado para la estimación del flujo de polen

(ecuaciones [1] y [2]) permitió realizar una extrapolación con el fin de conocer una distancia segura ($\leq 0,9$ % de flujo de polen) que evitaría un posible intercambio de genes entre lotes de maíz que se encuentren en floración simultáneamente (Cuadro 1). Esta estimación es de gran ayuda para la elaboración de modelos de simulación en la

zona bajo estudio, ya que permitió establecer distancias seguras para evitar un intercambio no deseado de polen entre dos genotipos, o podrían ser aplicados para estimar distancias de aislamiento, en la situación hipotética de siembras de maíz transgénico en zonas agroecológicamente similares a la zona en estudio.

Cuadro 1. Flujo de polen (%) observado y teórico en función de la distancia en los ejes norte, sur, este y oeste

Dist. (m)	Ejes				Dist. (m)	Ejes			
	Norte		Sur			Este		Oeste	
	FP (*) observado	FP (*) teórico	FP (*) observado	FP (*) teórico		FP (*) observado	FP (*) teórico	FP (*) observado	FP (*) teórico
1	25,65	21,14	5,81	2,02	1	15,32	9,16	13,35	5,94
6	19,86	14,72	1,25	1,68	7	6,32	6,25	4,12	3,69
11	10,72	10,25	0,71	1,39	13	6,56	4,25	1,88	2,29
16	5,27	7,13	0,11	1,15	19	2,43	2,91	0,72	1,42
21	4,84	4,97	0,04	0,96	25	1,17	1,99	0,46	0,89
26	2,87	3,46	0,02	0,79	31	1,11	1,35	0,29	0,55
31	1,97	2,41	0,02	0,66	37	0,57	0,92	0,90	0,34
36	1,37	1,68	0,00	0,54	43	0,53	0,63	0,20	0,21
41	0,77	1,17	0,03	0,45	49	0,21	0,43	0,15	0,13
46	1,29	0,81	0,00	0,37	55	0,52	0,29	0,11	0,08
51	0,79	0,57	0,00	0,31	61	0,42	0,20	0,05	0,05
56	-	0,39	-	0,26	67	-	0,14	-	0,03
61	-	0,27	-	0,21	73	-	0,09	-	0,02
66	-	0,19	-	0,18	79	-	0,06	-	0,01
71	-	0,13	-	0,15	85	-	0,04	-	0,01
76	-	0,09	-	0,12	91	-	0,03	-	0,00
81	-	0,06	-	0,10	97	-	0,02	-	0,00
86	-	0,04	-	0,08	103	-	0,01	-	0,00
91	-	0,03	-	0,07	109	-	0,01	-	0,00
96	-	0,02	-	0,06	115	-	0,01	-	0,00
101	-	0,02	-	0,05	121	-	0,00	-	0,00
106	-	0,01	-	0,04	127	-	0,00	-	0,00
111	-	0,01	-	0,03	133	-	0,00	-	0,00
116	-	0,01	-	0,03	139	-	0,00	-	0,00
121	-	0,00	-	0,02	145	-	0,00	-	0,00
126	-	0,00	-	0,02	151	-	0,00	-	0,00
131	-	0,00	-	0,02	157	-	0,00	-	0,00
136	-	0,00	-	0,01	163	-	0,00	-	0,00
141	-	0,00	-	0,01	169	-	0,00	-	0,00
146	-	0,00	-	0,01	175	-	0,00	-	0,00
151	-	0,00	-	0,01	181	-	0,00	-	0,00
156	-	0,00	-	0,01	187	-	0,00	-	0,00
161	-	0,00	-	0,01	193	-	0,00	-	0,00
200	-	0,00	-	0,00	199	-	0,00	-	0,00

(*) FP: Flujo de polen

Para los ejes norte y este, la distancia segura teórica fue de 46 y 37 m, respectivamente. En el eje sur el flujo de polen teórico fue menor a 0,9 %

a los 21 m. Por otro lado, en el eje oeste el valor observado y el valor teórico fueron 19 y 25 m, respectivamente. Estas diferencias pudieran

deberse al patrón de comportamiento de la dirección del viento en el inicio de la antesis, con predominancia de vientos provenientes del eje sur.

La aplicación de las ecuaciones [1] y [2] permitió estimar una distancia segura de 100 m para prevenir el cruzamiento entre dos genotipos, ya que a estas distancias en los cuatro ejes evaluados, el flujo de genes fue bastante menor a 0,9 %, oscilando entre 0,05 y 0,00 %. Estos resultados son similares a los obtenidos por Figuera (2006) en un experimento efectuado en la misma localidad durante la época de lluvias. Sin embargo, se aprecia mayor flujo de polen en nuestro caso, posiblemente por efecto de mayor velocidad y recorrido del viento durante la época de sequía.

Influencia de la turbulencia ocasionada por el viento en el flujo de polen

La dominancia de los vientos en el período de floración provenía de los ejes sur, sureste y este. Sin embargo, se observó un flujo de polen considerable en sentido este (Cuadro 1). Esto posiblemente se debió a los movimientos del viento originados por el choque de dos o más ráfagas de diferentes direcciones. Este movimiento del viento, conocido comúnmente como turbulencia, ocasiona que los granos de polen se muevan hacia otra dirección distinta a la dirección predominante del viento (Chamberlain, 1967; Di-Giovanni y Kevan, 1991).

De manera general, a medida que la distancia entre la parcela y la fuente de polen aumentó el porcentaje de cruzamiento decreció. Es importante reconocer el efecto de la turbulencia del viento en el porcentaje de cruzamiento observado en el eje este, el cual se encontraba en dirección contraria a los vientos predominantes durante la época de floración.

CONCLUSIONES

El cruzamiento o flujo de polen fue exitoso debido a la coincidencia en la liberación de polen del híbrido de endospermo amarillo y la emisión de estigmas del híbrido de endospermo blanco.

El flujo de polen disminuyó exponencialmente a medida que aumentó la distancia de la fuente, debido a factores climáticos como dirección, velocidad y recorrido del viento.

El mayor cruzamiento (25,65 %) fue registrado

en el eje norte a un 1 m de distancia de la fuente de polen, mientras que el valor de cero cruzamiento sólo fue alcanzado en el eje sur a una distancia de 46 m.

El modelo matemático propuesto por Ma et al. (2004) aplicado a las condiciones de este ensayo permitió estimar una distancia segura de 100 m para prevenir el cruzamiento entre dos genotipos de maíz.

LITERATURA CITADA

1. Aylor, D.E., N.P. Schultes y E.J. Shields. 2003. An aerobiological framework for assessing cross-pollination in maize. *Agricultural and Forest Meteorology* 199: 111-129.
2. Baltazar, M.B., J.J. Sánchez-González, L. De La Cruz-Larias y J. Schoper. 2005. Pollination between maize and teosinte: an important determinant to gene flow in Mexico. *Theor. Appl. Genet.* 110: 519-526.
3. Bassetti, P. y M.E. Westgate. 1994. Floral asynchrony and kernel set in maize quantified by image analysis. *Agron. J.* 86: 699-703.
4. Cervantes, J., D. Louette, J. Molina, T. Cervantes y H. Azpiroz. 2001. Dispersión de polen e infiltración genética entre poblaciones contiguas de maíz. *Agricultura Técnica en México.* 27: 13-25.
5. Chamberlain, A.C. 1967. Deposition of particles to natural surface. *In: P.H. Gregory y J.L. Monteith (eds.). Airborne microbes.* Cambridge University Press, Cambridge, England. pp. 138-164.
6. Di-Giovanni, F. y P.G. Kevan. 1991. Factors affecting pollen dynamics and its importance to pollen contamination: a review. *Can. J. For. Res.* 21: 1155-1167.
7. Eastman, K. y J. Sweet. 2002. Genetically modified organisms (GMOs): the significance of recent/current, European Environment Agency. Report N° 28.
8. Emberlin, J., B. Adams-Groom y J. Tidmarsh. 1999. A Report on the dispersal of maize

- pollen. Nat. Pollen Res. Unit, Univ. College, Worcester. <http://www.soilassociation.org> (consulta del 02/06/08).
9. Figuera, J. 2006. Evaluación del flujo de polen en plantas de maíz de diferentes colores de endosperma. Tesis. Facultad de Agronomía. Universidad Central de Venezuela. Maracay. 96 p.
10. Halsey, M.E., K.M. Remund, C.A. Davis, M. Qualls, P.J. Eppard y S.A. Berberich. 2005. Isolation of maize from pollen-mediated gene flow by time and distance. *Crop Sci.* 45: 2172-2185.
11. Jarosz, N., B. Loubet, B. Durand, X. Foueillassar y L. Huber. 2005. Variations in maize pollen emission and deposition in relation to microclimate. *Environ. Sci. Technol.* 39: 4377-4384.
12. Levin, D.A. y H.W. Kerster. 1974. Gene flow in seed plants. *Evolutionary Biology* 7: 139-200.
13. Luna, S., J. Figueroa, B. Baltazar, R. Gómez, R. Townsend y J. Schoper. 2001. Maize pollen longevity and distance isolation requirements for effective pollen control. *Crop Sci.* 41: 1551-1557.
14. Ma, L.B., K.D. Subedi y L.M. Reid. 2004. Extend of cross-fertilization in maize by pollen from neighboring transgenic hybrids. *Crop Sci.* 44: 1273-1282.
15. Miller, P.D. 1985. Maize Pollen: Collection and Enzymology. In: W.F. Sheridan (ed.). *Maize for Biological Research.* p. 279-282.
16. Official Journal of the European Union. 2003. Regulation 1830 of the European Parliament and the Council concerning the traceability and labelling of genetically modified organisms and the traceability of food and feed products from genetically modified organism and amending Directive 2001/18EC, L268/p. 24.
17. Ortiz, E. 1993. Aislamiento y dispersión de polen en la producción de semilla de maíz. Tesis. Colegio de Postgraduados. Montecillo. México. 81 p.
18. Raynor, G.S., E.C. Ogden y J.V. Hays. 1972. Dispersion and deposition of corn pollen from experimental sources. *Agron. J.* 64: 420-427.
19. Schoper, J.B., R.L. Lambert y B.L. Vasilas. 1987. Pollen viability, pollen shedding, and combining ability for tassel hot tolerance in maize. *Crop Sci.* 27: 27-31.
20. Treu, R. y J. Emberlin. 2000. Pollen dispersal in the crops maize (*Zea mays*), oil seed rape (*Brassica napus* spp. *oleifera*), potatoes (*Solanum tuberosum*), sugar beet (*Beta vulgaris* spp. *vulgaris*) and wheat (*Triticum aestivum*). A report commissioned by the Soil Association: National Pollen Research Unit, University College Worcester, UK.
21. Westgate, M.E., J. Lizaso, W. Batchelor. 2003. Quantitative relationship between pollen-shed density and grain yield in maize. *Crop Sci.* 43: 934-942.