

UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA

EFFECTOS EN LA NUTRICIÓN Y LA SALUD DEL POLINIZADOR (*Bombus impatiens*) ALIMENTADO CON POLEN DE FLORES DE PEPINOS (*Cucumis sativus*)
CULTIVADOS BAJO INVERNADERO CON LOMBRICOMPOST

POR:

AXEL DAVID GONZALEZ MURILLO

TESIS

**PRESENTADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA COMO
REQUISITO PREVIO A LA OBTENCION DEL TITULO DE**

INGENIERO AGRONOMO



CATACAMAS, OLANCHO

HONDURAS, C. A.

DICIEMBRE, 2011

EFFECTOS EN LA NUTRICIÓN Y LA SALUD DEL POLINIZADOR (*Bombus impatiens*) ALIMENTADO CON POLEN DE FLORES DE PEPINOS (*Cucumis sativus*)
CULTIVADOS BAJO INVERNADERO CON LOMBRICOMPOST

POR:

AXEL DAVID GONZALEZ MURILLO

YASMIN CARDOZA Ph. D.

Asesor, E.E.U.U

RAUL MUÑOZ, M. Sc.

Asesor, Honduras

**TESIS PRESENTADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA
COMO REQUISITO PREVIO A LA OBTENCION DEL TITULO DE
INGENIERO AGRONOMO**

CATACAMAS, OLANCHO

HONDURAS, C. A.

DICIEMBRE, 2011

ACTA DE SUSTENTACION

DEDICATORIA

A DIOS TODO PODEROSO, por darme la sabiduría y el conocimiento suficiente para terminar mis estudios, por ser mi fiel aliado en los más difíciles momentos de mi vida y ayudarme con mis tropiezos dándome las agallas de nunca caer ante las situaciones de la vida.

A MI TIA: Delvis Venancia Maldonado Chávez, por haberme brindado su apoyo, confianza y cariño. Por haberme sabido aconsejar y siempre estar ahí en los momentos más importantes de mi vida y por haberse portado como una madre para mí.

A MI MADRE: Domitila Murillo, por brindarme su apoyo y sabios consejos en mis estudios y diario vivir.

A MI HERMANO: William Alexander Reyes Murillo. Por haberme brindado su confianza y buenos deseos.

AGRADECIMIENTO

A **nuestro Dios** todo poderoso por haberme sabido guiar por el buen camino de la vida y que con su apoyo pude vencer grandes obstáculos de mis estudios y de mi vida.

A mi tía, **Delvis Venancia Maldonado Chávez**, por su incondicional apoyo en todo momento y por sus consejos que me dieron la inspiración para seguir adelante y nunca caer.

A mi madre, **Domitila Murillo**, por estar siempre apoyándome en todo incluso en mis fracasos los cuales con su ayuda los convertí en victorias.

A la **Dr. Yasmin Cardoza**, por haberme recibido en su laboratorio en la Universidad Estatal de Carolina del Norte, y darme la oportunidad de realizar mi trabajo de tesis en el extranjero.

A mi novia **Susan Paola Gómez Ramos** por estar conmigo en los momentos más difíciles y saberme comprender en mis más complicados momentos, por brindarme siempre su cariño y confianza y por ser siempre mi más fiel amiga.

A la **Universidad Nacional de Agricultura** por haberme dado el privilegio de formar parte de su gran familia y formarme profesionalmente.

A mis asesores: M. Sc. Raúl Muñoz, Dr. Roy Menjívar, M. Sc. Julio San Martín, por brindarme su apoyo y conocimientos así como por tenerme paciencia en la elaboración del presente trabajo.

CONTENIDO

ACTA DE SUSTENTACION	i
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
CONTENIDO	iv
LISTA DE FIGURAS	vi
LISTA DE ANEXOS	vii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	3
2.1 General.....	3
2.2 Específicos	3
III. REVISIÓN DE LITERATURA	4
3.1 Importancia económica de los polinizadores.....	4
3.1.1. Polinización en Honduras	5
3.1.2. Polinización en los Estados Unidos de América.....	5
3.2 Los abejorros como polinizadores	6
3.2.1 Clasificación taxonómica.	6
3.2.2 Ciclo biológico	7
3.3 Efectividad de la polinización.....	8
3.3.1 Impacto ecológico de la introducción de abejorros en los sistemas de producción agrícola.....	9
3.3.2. Incremento en la producción	10
3.4. Parásitos de <i>Bombus spp.</i>	10
3.4.1. <i>Crithidia bombi</i>	10
3.4.2 Ciclo de vida de los parásitos del insecto.....	11

b). <i>Nosema bombi</i>	11
IV. MATERIALES Y MÉTODO	13
4.1 Localización.....	13
4.2 Materiales y equipo.....	13
4.3 Descripción del trabajo	13
4.4 Descripción de tratamientos.....	16
4.5 Variables evaluadas	17
4.5.1 Peso de las colonias.....	17
4.5.2 Actividad de abejorros en los ensayos	17
4.5.3 Número de individuos de las colonias.....	17
4.5.4 Respuesta inmunológica a patógenos.....	17
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	18
5.1 Peso de las colonias	18
5.2. Conteo de abejorros	19
5.3. Actividad de abejorros	20
5.4 Respuesta inmunológica a patógenos.	21
VI. CONCLUSIONES	24
VII RECOMENDACIONES	25
VIII. BIBLIOGRAFIA	27
IX. ANEXOS	30

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Peso promedio en gramos perdidos/colonias/tratamiento.....	18
Figura 2. Medias de obreras y crías por colonia.....	19
Figura 3. Promedio de abejorros pecoreando flores, durante 15 minutos (promedio de 30 observaciones).....	20
Figura 4. Porcentaje de reinas presentes al final del experimento.	21
Figura 5. Número de esporas del protozoo antes del experimento.....	22
Figura 6. Numero de esporas del protozoo después del experimento.	22

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Medias del peso de las colonias.....	31
Anexo 2. Medias de la actividad pecoreadora de los abejorros por tratamiento.....	31
Anexo 3. Medias del numero de obreras colectadas en los tratamientos	31
Anexo 4. Medias de esporas de parasitos de abejorros antes del tratamiento.....	31
Anexo 5. Medias de esporas de parasitos de los abejorros después del experimento.....	32
Anexo 6. Prueba de T para la variable actividad.....	32
Anexo 7. Prueba de T para la variable numero crias.....	32
Anexo 8. Prueba de T para la variable diferencia de peso	32
Anexo 9. Prueba de T para la variable numero obreras	33
Anexo 10. Prueba de T para determinar presencia de la reinas	33
Anexo 11. Prueba de T para la variable presencia de Crithidia antes del experimento	33
Anexo 12. Prueba de T para la variable presencia de Crithidia después del experimento...	33
Anexo 13. Prueba de T para la variable presencia de Nosema antes del experimento	34
Anexo 14. Prueba de T para la variable presencia de Nosema despues del experimento....	34

González, A.D. 2011. Efectos en la nutrición y la salud del polinizador (*Bombus impatiens*) alimentado con polen de flores de pepinos cultivados bajo invernadero con lombricompost. Tesis, Ing. Agr. Universidad Nacional de Agricultura. Catacamas, Olancho. Honduras. 32pp.

RESUMEN

Con el fin de evaluar el efecto en la nutrición y respuesta inmunológica del polinizador (*Bombus impatiens*) relacionada a la presencia de los patógenos, (*Crithidia bombi* y *Nosema bombi*), se realizó un trabajo entre junio y septiembre del 2011 en el departamento de entomología de la Universidad Estatal de Carolina del Norte, U.S.A. Los tratamientos evaluados fueron: (T1= colonias de abejorros alimentadas con flores de pepino cultivado con 33% de lombricompost y T2= colonias de abejorros alimentadas con flores de pepino cultivado sin lombricompost. Se utilizaron cuatro repeticiones y las variables evaluadas fueron: Peso de las colonias, números de individuos por colonia, actividad pecoreadora de los abejorros y numero de esporas de patógenos infecciosos existentes en el cuerpo de los abejorros. Para el análisis de datos se realizó una prueba de “T” (Student) confrontando las pruebas de medias de las variables. Los resultados obtenidos indican que no hay diferencia estadística entre tratamientos para cada una de las variables estudiadas. Sin embargo el tratamiento con lombricompost (T1) en las pruebas de media presento tendencias a favor del comportamiento y nutrición del insecto, pero no para su salud cuando se comparo con el testigo sin lombricompost.

Palabras Claves: Lombricompost, polinizador, abejorros, *Crithidia bombi* y *Nosema bombi*

I. INTRODUCCIÓN

Los insectos polinizadores son vitales para los ecosistemas naturales y la producción de productos agrícolas que sustentan nuestra población humana creciente. La privación de fuentes nutricionales de calidad de estos, puede llevar al aumento de enfermedades y parásitos, así como la disminución de la capacidad reproductiva y rendimiento de los insectos (FAO 2005).

Los polinizadores como las abejas y abejorros dependen del polen y del néctar como su fuente principal de nutrientes. Por lo tanto la calidad y cantidad de los recursos florales son importantes para asegurar la productividad y la salud de estas especies. Las modificaciones de las prácticas agrícolas que aumentan los recursos florales deben sostener grandes poblaciones de polinizadores, lo que conduce a aumentar el rendimiento de los cultivos.

Los abonos orgánicos, como el vermicompost (producto de la digestión de lombrices de tierra), son alternativas viables con respecto a los fertilizantes sintéticos para la producción agrícola. En comparación con los fertilizantes químicos, el vermicompost puede inducir resistencia en las plantas a las plagas. Estudios recientes demuestran que las plantas de pepino (*Cucumis sativus*), cultivadas con humus de lombriz, las estructuras florales de estas crecen mejor y más rápido, de esta manera pueden atraer y retener a los polinizadores con mejores resultados que las plantas cultivadas sin ninguna enmienda (FAO 2005).

Las flores de las plantas cultivadas con vermicompost, también proporcionan una mejor nutrición para los abejorros (*Bombus spp*), según lo determinado por la activación del ovario en micro-colonias sin reina (Cardoza 2006). Estos resultados sugieren fuertemente que la calidad nutricional de los recursos florales producidos por las plantas tratadas con vermicompost, es más alta, pero

los mecanismos responsables aún están por determinar. Por otra parte, se desconoce si esta mejora de la nutrición también dará lugar a resistencia a las enfermedades en esta especie de polinizadores (FAO 2005).

El trabajo consistió en determinar si al utilizar lombricompost, mejora la calidad de alimento y la salud del polinizador *Bombus impatiens*; lo que deberá además influir en mejorar la productividad de pepino.

II. OBJETIVOS

2.1 General

- Determinar si el polen de las flores de pepino cultivado con humus de lombriz, mejora el crecimiento poblacional, rendimiento y sistema inmunológico del abejorro.

2.2 Específicos

- Determinar si el crecimiento poblacional (medido a través del conteo de los individuos presentes en la colonia) de los abejorros (*Bombus impatiens*), es mejorado cuando se alimentan de flores de pepino cultivados con humus de lombricompost.
- Determinar si el crecimiento poblacional (medido a través del peso de la colonia) de *Bombus impatiens* es favorecido al utilizar flores de pepino fertilizado con lombricompost.
- Evaluar la respuesta inmunológica en los abejorros a los parásitos (*Crithidia bombi* y *Nosema Bombi*).

III. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1 Importancia económica de los polinizadores

Desde que surgieron las plantas con flor sobre la tierra comenzó un proceso de dependencia con los agentes polinizadores que se encargan de acarrear los granos de polen de una flor a otra, y así asegurar la fertilización de los óvulos que la flor posee, con la consiguiente formación de semillas y fruto. Se estima que cerca del 90 % de las plantas con flor son polinizadas por animales. Esta forma de polinización asegura la polinización cruzada entre organismos de la misma especie, aumentando la variabilidad genética de la progenie. Por esta razón los polinizadores son considerados claves, ya que son esenciales para el mantenimiento de las especies y comunidades vegetales y con ello persisten muchos otros organismos (Santos *et al.* 2010).

Entre estos organismos se encuentra el hombre, quien depende directa o indirectamente de la polinización animal para la producción de gran parte de los alimentos que consume, así como también medicinas y vestimenta. Se consideran a los insectos y entre estos a las abejas como los polinizadores por excelencia. La polinización de cultivos es la actividad económica más importante realizada por las abejas melíferas (*Apis mellifera* L.) y es una práctica común en varias partes del mundo. Es importante una adecuada polinización para obtener una mayor producción, y en muchos casos un mejor tamaño, uniformidad, forma y maduración temprana de los frutos (Santos *et al.* 2010).

Es conocida la importancia económica que poseen las abejas melíferas y otras especies de polinizadores, en algunas partes del mundo, por su “Servicio de polinización a la naturaleza” hacia cultivos de interés comercial, evaluado en millones de dólares, con ello

expresan, éstos trabajos, la necesidad de conservación de estos servicios de polinización y por ende de la abeja *Apis mellifera* y *Bombus impatiens* (Santos *et al.* 2010).

3.1.1. Polinización en Honduras

Uno de los cultivos de mayor importancia relacionados con los procesos de polinización es el melón. Las colmenas de abejas se colocan a razón de al menos una por cada 5,000 metros cuadrados, cuando empiece a observarse la entrada en floración del cultivo. Dichas colmenas se disponen en el exterior del invernadero cerca de una apertura y se retirarán cuando se observe que el cuaje del fruto esta realizado. Para que haya una buena polinización se requiere que la temperatura no descienda de 18°C, alcanzando sus valores óptimos entre 20 y 21°C (INFOAGRO 2007).

3.1.2. Polinización en los Estados Unidos de América

La importancia de las abejas y abejorros en la polinización de cultivos es importante en todos los países del mundo. En los Estados Unidos de América ha sido dimensionada esta tarea en aproximadamente 57,000 millones de dólares/año. La polinización como actividad agrícola provee a los apicultores americanos más del 65% de sus ingresos, dado el rol fundamental que ésta juega como estrategia productiva a largo plazo, en la cual se considera tan importante como la fertilización, la irrigación y el control de plagas. Por ello, el valor de la producción apícola de la Comunidad Económica Americana, en \$ 200.000.000, se traduce en un incremento de la producción agrícola de \$ 10.000.000.000, lo cual indica que por cada dólar que produce un apicultor, a través de la polinización entomófila, los agricultores incrementan su producción en 50 dólares (Manrique 1995).

3.2 Los abejorros como polinizadores

Bombus impatiens es la especie de polinizador más frecuente y usado, en gran parte del este de América del Norte. Tiene inusualmente colonias bien grandes y por esta razón puede estar en ventaja competitiva con otras especies de su género. Cuenta con una temporada de vuelo inusualmente larga y prospera en una amplia gama de hábitats y climas que van desde la zona templada fría (por ejemplo, Minnesota) hasta las regiones subtropicales cálidas (sur de la Florida). Su presencia en el área de Miami se documentó hace mucho tiempo, demostrando que esta especie puede establecerse y perpetuarse a sí misma en zonas cálidas y relativamente no estacionales. (Balaban 2006).

Los adultos por lo general están cubiertos de pelos largos, ramificados en “alerta” de colores negro y amarillo. Al igual que sus parientes las abejas, las colonias de abejorros forman nidos, se alimentan de néctar y polen que reúnen para alimentar a sus crías (Balaban 2006).

3.2.1 Clasificación taxonómica.

Reino:	Animalia
Filo:	Arthropoda
Subfilo:	Atelocerata
Clase:	Hexapoda
Orden:	Hymenoptera
Familia:	Apidae
Género:	<i>Bombus</i>
Especie	<i>impatiens</i>

Fuente: USDA 2005.

Los abejorros suelen formar sus nidos bajo tierra, y son mucho menos importantes que las abejas melíferas. Una reina de abejorro sola es responsable de la construcción del nido inicial y la reproducción. A menudo, las colonias maduras consistirán en menos de 50 miembros. Los abejorros a veces hacen la construcción de una cubierta de cera sobre la parte superior de su nido para la protección y el aislamiento. Los nidos no se utilizan año tras año, la última generación de verano incluye una serie de reinas que invernan por separado en lugares protegidos (Balaban 2006).

3.2.2 Ciclo biológico

El ciclo biológico de *Bombus impatiens* consiste de varias fases, siendo la primera la de anidamiento donde la reina fecundada sale de su hibernación en busca de un lugar para anidar. Cuando la reina sale de su nido por primera vez, realiza un vuelo en círculos frente de este para determinar su ubicación, una vez establecida empieza a aprovisionar su nido con néctar y polen recolectados por ella misma, para construir los cubículos en donde colocará los huevecillos, los que a su vez son depositados en respuesta de la estimulación ovárica causada por la ingestión de polen (Balaban 2006).

Las reinas de abejorro que ya se aparearon durante el invierno hasta principios de la primavera, inician su colonia luego de encontrar un agujero o grieta en el suelo o cerca. Esta construye tarritos de miel y las celdas de cría, y comienza a poner huevos. Pequeñas abejas estériles trabajadoras se desarrollan en primer lugar, y comienzan la recolección del néctar. A medida que el clima se calienta en verano, las nuevas celdas de cría y tarritos de miel se construyen. Estas celdas producen nuevas crías (más adultos) que a su vez se ponen a trabajar recolectando néctar para la colonia (Quero 2004).

3.3 Efectividad de la polinización

Los abejorros son polinizadores más efectivos de algunos cultivos que otros polinizadores por su mayor tamaño y la densa pilosidad que cubre su cuerpo, lo cual permite transferir más granos de polen por visita; por su capacidad de generar calor metabólico lo cual les permite trabajar a menores temperaturas; por su capacidad de realizar “polinización vibrátil” en flores con anteras de tipo poricida lo cual resulta esencial en la polinización de algunos cultivos (Ejm: tomates y pimientos) y beneficioso en otros (Ejm: arándanos y kiwis); y por la mayor longitud de su lengua (probóscide), les permite polinizar flores de corola larga como habas y trébol rojo. La percepción de que su presencia aumentaba el rendimiento de algunos cultivos se remonta al siglo XIX, motivo por el cual cuatro especies europeas fueron introducidas en Nueva Zelanda (MacFarlane 1995 & Gurr citado por Morales 2007).

No obstante, fue recién a mediados de 1980 con las técnicas de cría masiva de colmenas comerciales, que la introducción de abejorros no nativos se convirtió en un fenómeno de escala global. Las especies más utilizadas comercialmente son (*B. terrestris*, *B. impatiens*, *B. ignitus*, *B. occidentalis* y *B. lucorum*, (Winter *et al.* 2006). En la actualidad las colmenas comerciales de *Bombus* se comercializan en por lo menos 36 países para polinizar más de 25 cultivos tanto bajo cubierta (tomate, frutilla, pimiento) como en campo (kiwi, zuchini, almendra, manzana y palta o aguacate). Este comercio, sumado a la liberación en la naturaleza de reinas fecundadas, ha sido la fuente de invasión de cinco especies de abejorros en algunas regiones de Sudamérica, Asia y Oceanía (Morales 2007).

Los abejorros son importantes polinizadores de plantas con flores. En esta era de la disminución del número de abejas domésticas, las colonias de abejorros salvajes adquieren importancia adicional. Las abejas son una parte crucial de las comunidades de vida silvestre conocidos en los ecosistemas, debido a que polinizan las plantas en la búsqueda de su alimento, (el néctar y el polen de las flores). Se considera que hasta el 40 por ciento de la producción mundial de alimentos se debe a la polinización por las abejas silvestres, que incluyen al abejorro. Los abejorros son cada vez más utilizados en la producción de pepino

de invernadero, la intensa vibración producida por los músculos de vuelo es conocida para desalojar de manera eficiente polen de la flor de pepino, resultando en una mayor producción de frutos (Morales 2007).

Muchas plantas han evolucionado a lo largo de los milenios para aprovechar la capacidad de varios insectos a esparcir su polen de planta en planta. Este fenómeno es conocido como melitofilia (Morales 2007).

3.3.1 Impacto ecológico de la introducción de abejorros en los sistemas de producción agrícola

Para que ocurra desplazamiento competitivo entre dos especies es necesario un solapamiento sustancial en el uso de un recurso; que el recurso por el cual compiten sea limitado y, por último, que la menor capacidad de adquisición del recurso resulte en una reducción de la aptitud biológica de la especie competitivamente inferior o de ambas especies (usualmente medida como una disminución en el tamaño poblacional, la tasa reproductiva o ambas). La mayoría de los estudios que han buscado responder si las abejas sociales (*Apis* y *Bombus*) introducidas compiten con los polinizadores nativos se han basado en estimaciones del grado de solapamiento del recurso floral, comparaciones de la eficiencia en la adquisición de recursos, mediciones de cambios temporales o espaciales en las abundancias, o en la tasa de adquisición de recursos. Estas variables son relativamente fáciles de medir en el campo y son valiosas en la medida que indican un escenario de potencial competencia, si bien no proveen evidencias concluyentes (Paini, 2004, citado por Morales 2007).

Los estudios existentes sobre impacto de abejorros introducidos en la polinización de plantas nativas se han limitado a comparar la efectividad de estas especies con la de especies nativas, y la mayoría revela que los abejorros introducidos son menos efectivos que las especies nativas. No obstante, si el efecto del polinizador no nativo y los polinizadores nativos es aditivo, el efecto neto sobre la planta puede ser neutro o positivo.

Sin embargo, si el abejorro no nativo desplaza a una especie nativa más efectiva, la planta podría sufrir una reducción en su polinización (Madjidian 2005). Por este motivo, los estudios futuros deberían incorporar la frecuencia de la interacción, además de la eficiencia de la misma en términos de transporte de polen por visita o por unidad de tiempo (FAO, 2005). En general los *Bombus* son especies generalistas que visitan un amplio espectro de plantas, por lo cual se espera que el solapamiento con otras especies sea mayor que si se tratara de polinizadores oligotróficos especializados en una o unas pocas especies de plantas (FAO 2005)

Basualdo y Badascarrasburé 2000 indican que entre los cultivos que son beneficiados con la presencia de insectos polinizadores, especialmente por abejorros son: frutales (almendros, manzanos, ciruelos, duraznos, cerezos, palta, kiwi), leguminosas y forrajes (alfalfa, trébol rojo, trébol blanco y trébol de olor), hortalizas (repollo, zanahoria, coliflor, pepino, cebolla, zapallo, melón, berenjena, sandia, calabaza) y oleaginosas (girasol, colza).

3.3.2. Incremento en la producción

Se determinó un incremento de un 23% de producción con la utilización de colmenas para polinizar en forma intensiva, de igual manera se ha estudiado el incremento en cultivos como ser sandia con un incremento del 26%, zapallo con un incremento de más del 25%, como en toda cucurbitácea se requieren de 3 a 4 colonias por hectárea, en pepino para envasado la utilización de colmenas para hacer una polinización intensiva produce un 35% de incremento de frutos y uniformidad de tamaños. (Oldenburg s.f.).

3.4. Parásitos de *Bombus* spp.

3.4.1. *Crithidia bombi*

El protozoo *Crithidia bombi* es un flagelo que se puede encontrar en los intestinos de abejorros (*Bombus* spp). Se cree que este endoparásito es nativo de Europa y se encontró

por primera vez en América del Norte, en Canadá en la década de los setenta. La infección de *C. bombi* tiene varios efectos negativos para las abejas individuales y la salud de la colonia como un todo. El éxito de la fundación de colonias por las reinas, la supervivencia de los trabajadores, adecuación de las colonias establecidas, y crecimiento de la colonia es muy reducida con abejas infectadas. Así mismo, las obreras o trabajadoras, infectadas presentan disminución de la eficiencia de forrajeo, debido al comportamiento de forrajeo alterado (Brown 2006).

3.4.2 Ciclo de vida de los parásitos del insecto

a). *Crithidia bombi*

Las células de *Crithidia bombi*, que es un protozoo, se adhieren a las paredes del intestino de abejorros (*Bombus* spp.) donde se multiplican. Unos días más tarde, las células se excretan al panal de cría o de otros materiales del nido a través de las heces de las abejas. Luego otras abejas de la colonia pueden infectarse cuando entran en contacto con las heces que contienen células de *Crithidia bombi* (Brown, 2006).

b). *Nosema bombi*

Es un microsporidio parásito unicelular de abejorros (*Bombus* spp.) que se ha encontrado en la mayoría de especies de abejorros. La transmisión se produce a través de la propagación de las esporas, a través de la alimentación oral de las larvas y adultos, aunque la larva es más susceptible. Las abejas presentan muy pocos síntomas al ser infectadas por *Nosema bombi*, aunque de vez en cuando se pueden encontrar abejas aletargadas.

Aunque variable en sus efectos, *Nosema bombi* tiene un impacto negativo en el desarrollo y el tamaño de la colonia. Las reinas infectadas son capaces de hibernar, pero cuando han sido infectadas se reduce el éxito de la hibernación. Las reinas infectadas que emergen

tienen menor cantidad de proteína y una menor tasa de apareamiento en comparación a las reinas no infectados (Whittington y Winston, 2006).

Las esporas de *Nosema bombi* germinan en el intestino de *Bombus spp* e infectan tanto las células del intestino-medio y los túbulos de Malpighi (un tipo de sistema excretor que se encuentran en el tracto digestivo de algunos insectos). Otros tejidos como el tejido conectivo, nervios y tejido de grasa corporal también pueden infectarse (Whittington y Winston, 2006).

IV. MATERIALES Y MÉTODO

4.1 Localización

El experimento se realizó en el departamento de entomología en la Universidad Estatal de Carolina del Norte, localizada en la ciudad de Raleigh, Carolina del Norte USA. Latitud 35° 46'18" N y longitud 78° 38'20"W. Se encuentra a una altura de 96 msnm y tiene una temperatura máxima en otoño de 20°C y mínima de 13°C, con precipitación media anual que alcanza valores de 1,183 mm (NCSU, s.f.).

North Carolina State University fue fundada en 1887 y actualmente es la más grande de Carolina del Norte. Si bien es una universidad con 102 distintas áreas de estudio de pregrado, se especializa en agricultura, diseño, ingeniería y textiles. Está acreditada por la asociación sureña de colegios y escuelas (NCSU, s.f.).

4.2 Materiales y equipo

En la realización de este experimento se utilizó el siguiente material y equipo: maceteros, mallas, jaulas, regaderas, lápiz, libreta de apuntes, luces rojas, centrifugadora, balanza electrónica, gafas, guantes, gabacha, marcador permanente, etiquetas, abejorros, semillas de pepino, soluciones dulces a base de azúcar, polen comercial, hemocitómetro Neubauer y lombricompost.

4.3 Descripción del trabajo

El trabajo se realizó entre el 2 de junio al 2 de septiembre del 2011 en uno de los invernaderos de la universidad, las plantas se cultivaron bajo condiciones naturales de

iluminación exterior con temperatura entre 28 a 35 ° C y 60 -70% de humedad relativa. En cada macetera se sembro tres semillas de pepino (*Cucumis sativus*) variedad 'Boston Pickler'.

Cuando alcanzaron su desarrollo floral, fueron colocados a campo libre, a una temperatura ambiente de 32 ° C y humedad relativa de 70%, con un fotoperíodo de 13 horas luz. Las plantas estuvieron en el interior de mallas de tela organza o de punto de 2X2X4m (Ancho, alto y largo respectivamente).

En cada jaula (repetición) se colocó una colonia de abejorros de la especie *Bombus impatiens*; Las colonias fueron obtenidas de la empresa Koppert Biological Systems Inc-USA (Romulus, MI), se mantuvieron en el insectario durante 30 días con una temperatura de 26 a 29°C y a 60% de humedad relativa. A cada colonia se les proporcionó tres veces por semana jarabe azucarado (25ml) al 50% y polen comercial (10g).

Las colonias fueron cuidadas en el insectario hasta ser llevadas al campo definitivo, con el fin de homogenizar las colonias se efectuaron cuatro raleos semanales, los que consistieron en colocar una bola de algodón de 6 pulgadas de diámetro en donde se posaron las obreras para fabricar las celdas de cría, considerando dejar únicamente en cada bola diez obreras extrayendo el excedente con el fin de efectuar los análisis de presencia de parásitos; después de los cuatro raleos se consideró que las colonias estaban homogenizadas y listas para ser llevadas a campo abierto.

En la realización del raleo, para evitar fuga de especímenes este se realizó en el interior del insectario en una habitación provista de focos con luz roja, la cual engequee temporalmente a los abejorros, lo que facilita su extracción.

Para el análisis de la variable pesos de las colonias, estas fueron pesadas después de haber realizada la homogenización, considerando este como peso inicial y al finalizar el experimento nuevamente dichas colonias fueron pesadas considerando este peso como final; esta información fue reforzada con el conteo de los diferentes estados de desarrollo de *Bombus* (Huevo, larva y adulto).

Las plantas de pepino alcanzaron la floración óptima a los 32 días y en ese momento fueron colocadas junto con su respectiva colonias las que fueron previamente distribuidas al azar, cada repetición estuvo compuesta por una colonia de abejorros con 18 maceteras conteniendo una planta cada una distribuidas en 2 hileras de nueve plantas cada una. Para asegurar la disponibilidad de flores frescas durante un mayor número de días las plantas de cada repetición poseían seis diferentes edades distanciadas tres días cada una, utilizando tres plantas por edad. Para suplir alimento adicional y proveer de energía a los insectos se colocó tubos de ensayo con soluciones de agua azucara el 25%.

En el ensayo las plantas fueron regadas 2 veces para medir la variable actividad del insecto diariamente de 9 a 11 A.M. se realizó conteo del número de insectos que estaban visitando las flores extrayendo polen (pecoreando) para cada repetición se contabilizó el número de individuos que estaban pecoreando en las 18 plantas durante 15 minutos. Para evitar errores en el conteo todas las plantas fueron revisadas minuciosamente.

El conteo se realizó durante 30 días lo que equivale al número de muestreos efectuados. Al finalizar el análisis de la variable actividad, se extrajeron las 8 colonias de abejorros del experimento para efectuar el conteo total de individuos presentes en estas, para contabilizar los individuos presentes en cada colonia, para facilitar dicho conteo se introdujeron las colonias en un refrigerador a 4°C para inactivar los diferentes estados de desarrollo. Luego se tomó 10 obreras al azar de cada caja, con el fin de evaluar la variable parasitismo consistente en macerar los abdómenes de las diez abejorros en forma individual a cada abdomen contenidos en microtubos se les adiciono 0.5 ml de agua destilada luego se colocaron con una centrifuga, a 13 RPM por un lapso de 2 minutos, con el fin de

sedimentar los restos de abdómenes después se filtró la muestra para separar los restos de abdomen que quedaron en el fondo de los microtubos, posteriormente por medio de una micropipeta se tomaron 10 microlitros de solución para luego hacer un recuento de esporas microscópicas con la ayuda de un hemocitómetro Neubauer. Para poder realizar un conteo de forma precisa previamente se realizaron practicas de conteos durante 13 ocasiones en donde se perfecciono el mismo; para facilitar la observación de las esporas en cada uno de los macerados se adiciono una gota la colorante Giemsa la el que resalta la ubicación de dichas estructuras.

La diferenciación de esporas entre los parásitos se realiza con facilidad porque *Nosema bombi* es mas grande y presenta un halo brillante alrededor de la espora lo que no sucede con *Crithidi bombi* la cual tiene esporas pequeñas con un flagelo que le permite movilizarse con facilidad por lo que se debe realizar el conteo en el menor tiempo posible para evitar error en la lectura porque es capas traslade de un campo a otro en la cámara de neubauer en poco tiempo. El colorante (Giemsa) que tiene como componentes una mezcla de azul de metilo, azur B y eosina según (Rodriguez 1998).

4.4 Descripción de tratamientos.

Se evaluaron dos tratamientos con:

1. Colonias de abejorros ubicadas con plantas de pepinos que han sido nutridos con lombricompost, 33%.(T1) por cada tratamiento se evaluaron 4 repeticiones.
2. Colonias de abejorros ubicadas en pepinos que han sido sembrados sin lombricompost (T2).

Para cada variable se realizó una prueba de “T” de students para diferenciar entre las medias de tratamientos. para ello se utilizó el programa de análisis estadístico Mini Tab.

4.5 Variables evaluadas

4.5.1 Peso de las colonias

Se tomó el peso de las colonias antes y después de ser sometidas a los tratamientos y luego se obtuvo la diferencia de pesos en gramos.

4.5.2 Actividad de abejorros en los ensayos

La actividad se midió por medio de observaciones en el interior de las cámaras que tenían las plantas de pepino en campo definitivo, realizando conteos en periodos de tiempo de 15 minutos por día.

4.5.3 Número de individuos de las colonias

Se colectaron las colonias después de 30 días de ser expuestas a los tratamientos, dichas colonias se congelaron para el respectivo conteo de obreras, crías, zánganos y verificar la presencia de reinas en las mismas.

4.5.4 Respuesta inmunológica a patógenos

Se hizo un conteo del número de esporas de los parásitos internos tanto intracelulares como intestinales, por medio de macerados abdominales y conteo con hemocitometro Neubauer.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en cada una de las variables de respuesta, se discuten a continuación.

5.1 Peso de las colonias

La pruebas de media obtenidas a través de la prueba de T (Figura 1 y Anexo 1) indican que no existe diferencia estadística significativa entre los tratamientos evaluados; sin embargo se puede observar una tendencia en incrementar el peso de la colonia donde se utilizó lombricompost.

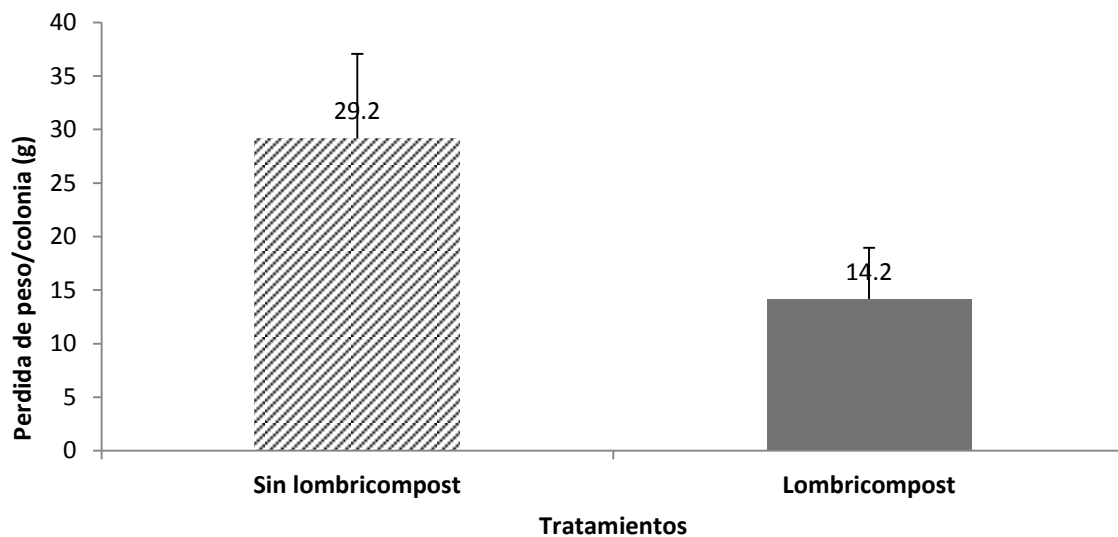


Figura 1. Peso promedio en gramos perdidos/colonias/tratamiento.

Este resultado está estrechamente relacionado con los datos obtenidos del conteo de estados de desarrollo de los insectos encontrados en las colonias (Figura 2).

5.2. Conteo de abejorros

El número promedio de obreras existentes en los dos tratamientos fue igual (promedio 17.3/colonia) y el número de crías fue levemente superior en el tratamiento con lombricompost, sin existir diferencia estadística entre ellos, esto significa que el uso de lombricompost, no favoreció el incremento de la población de obreras en la colonia, aunque, hay una tendencia en favor del tratamiento con lombricompost (Figura 2, Anexo 1).

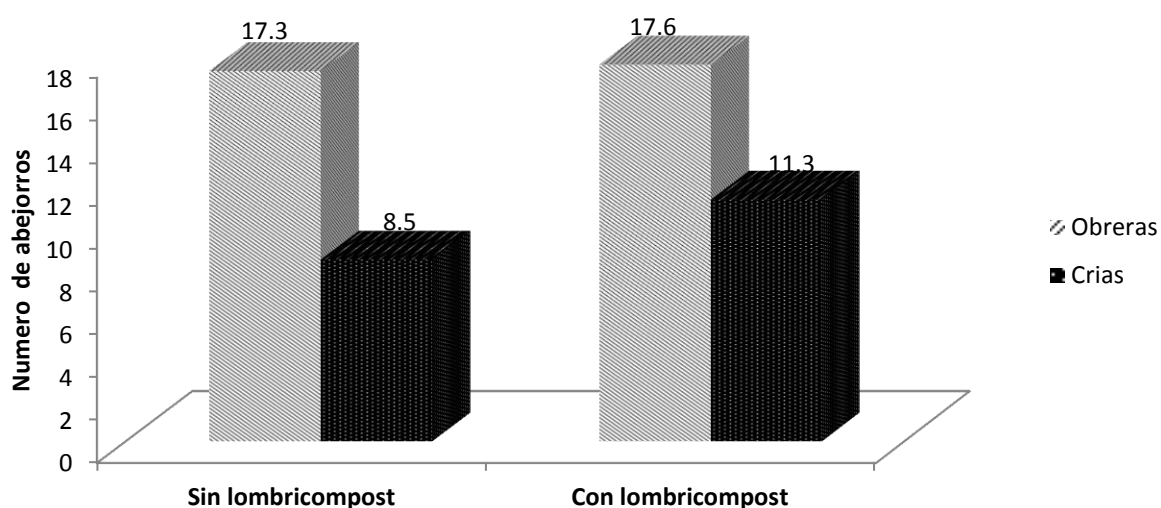


Figura 2. Medias de obreras y crías por colonia.

5.3. Actividad de abejorros

Al realizar la prueba de “T” para la variable actividad de los abejorros no se encontró diferencia estadística significativa entre los tratamientos evaluados. Igual a lo presentado en las variables anteriores lombricompost presenta una leve tendencia en mejorar la actividad del insecto, lo que podría estar relacionado a que las flores de las plantas sembradas con lombricompost son más atractivas para el insecto (Figura 3 y Anexo 2).

Posiblemente si en la investigación se hubiera utilizado una población mayor de abejorros por repetición en ambos tratamientos, se hubiera obtenido, más diferencias entre ellos lo que en las pruebas de medias se hubiese encontrado diferencia estadística.

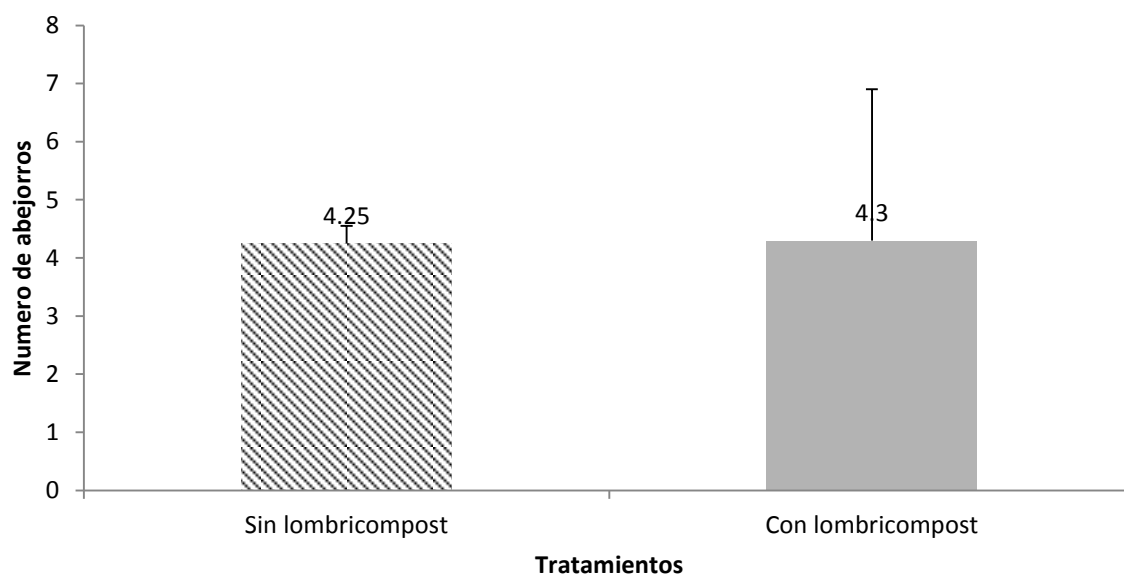


Figura 3. Promedio de abejorros pecoreando flores, durante 15 minutos (promedio de 30 observaciones).

Al finalizar el ensayo se contabilizo la presencia de reinas en las colonias para evaluar la longevidad de las mismas en los tratamientos, se puede observar en la figura 4 el tratamiento con lombricompost, presento la mayor sobrevivencia; lo que sugiere que en este tratamiento las reinas encontraron una mejor nutrición para ellas y su progenie lo que da como resultado una mayor longevidad.

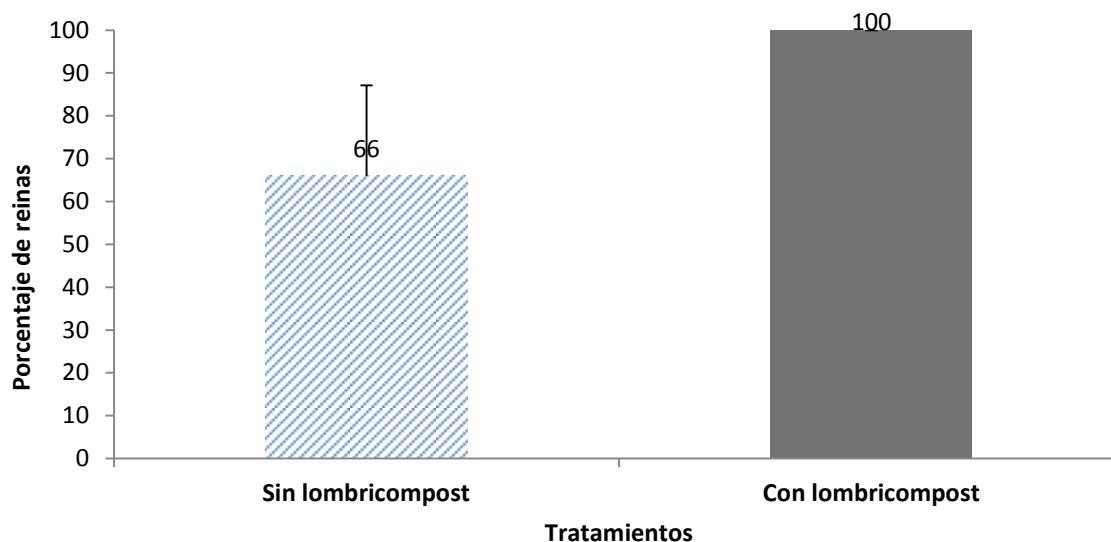


Figura 4. Porcentaje de reinas presentes al final del experimento.

5.4 Respuesta inmunológica a patógenos.

Tanto para los conteos de parásitos de *N. bombi* y *C. bombi*, encontrados en el interior del cuerpo de los insectos, no se encontró diferencia estadística significativa entre los tratamientos, en el conteo realizado antes y después de finalizado el ensayo, lo que si se pudo observar es que *Crithidia bombi* es más patogénico que *Nosema bombi* porque en todas las muestras se encontró mayor cantidad de esporas (Figura 5).

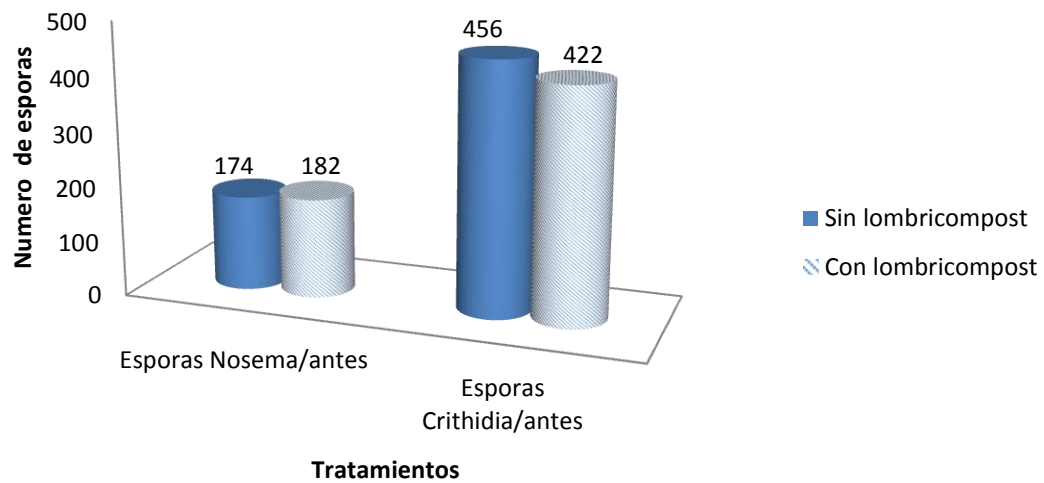


Figura 5. Número de esporas del protozoo antes del experimento.

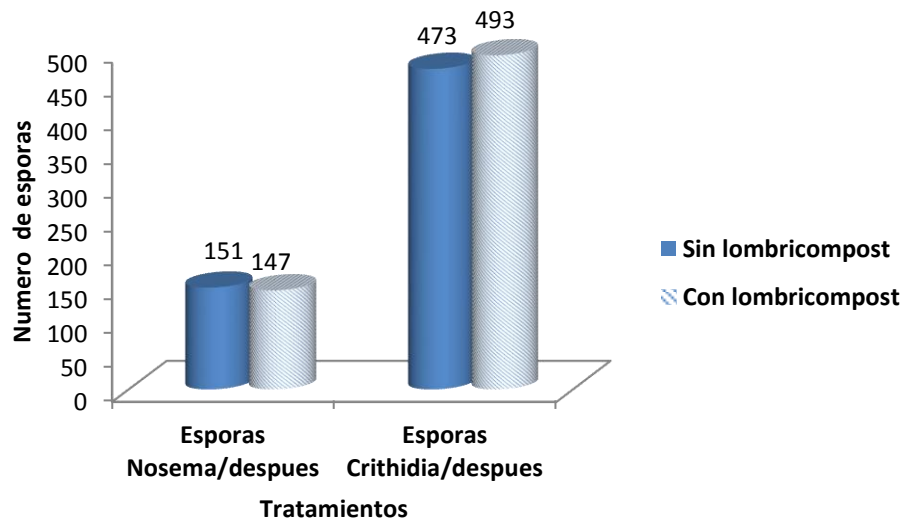


Figura 6. Numero de esporas del protozoo después del experimento.

Se puede observar que el número de esporas de *Nosema bombi* disminuyó un poco, para los dos tratamientos y que el número de esporas de *Crithidia bombi* aumento; ello significa que no hubo influencia en los tratamientos sobre la existencia de los parásitos del insecto.

Según información proporcionada por San Matin 2011 a mayor presencia de humedad relativa habrá mayor presencia de *Nosema bombi* y al incrementar la temperatura favorece el desarrollo de *Crithidia bombi*; en el presente estudio no se obtuvo información de las

condiciones de temperatura y humedad relativa existentes en las mayas las que pudieron ser diferentes a las existentes en el interior de las mismas por lo que no podemos decir con certeza si las mismas tuvieron un gran efecto sobre estos parásitos (Figura 6).

Una observación adicional realizada fue sobre la calidad de los frutos proporcionados por ambos tratamientos, pudiéndose observar que donde se utilizó lombricompost únicamente el 12.5% de los frutos tenían mal formación y en el tratamiento sin lombricompost un 50% presentaron mal formación lo que podría deberse a la efectividad en la polinización y/o la diferencia de nutrientes que estaban disponibles para las plantas.

VI. CONCLUSIONES

En ninguna de las variables evaluadas se encontró diferencia estadística, para el uso de los tratamientos con y sin uso de lombricompost.

El tratamiento en donde se usó lombricompost, aunque no se diferenció estadísticamente del testigo (Sin lombricompost), presento tendencia en favorecer el desarrollo de *Bombus impatiens* en lo relacionado a número de individuos, actividad de los insectos, así como en evitar perdida de peso de la colonia y reducir el número de parásitos en el cuerpo de los insectos.

Se constató que los parásitos de los insectos *Nosema bombi* y *Crithidia bombi* estaban presente en el 100% de los insectos observados, lo que confirma que son los causantes de la mayor mortalidad de adultos.

VII RECOMENDACIONES

Se recomienda en futuros ensayos, de esta índole utilizar mayor número de especímenes polinizadores a los utilizados en el presente ensayo.

Replicar estos trabajos en diferentes épocas del año, para determinar, cuál de ellos es más favorable para la actividad de los polinizadores.

Para determinar en efecto de suplemento alimenticio sobre el comportamiento de *Bombus impatiens* se recomienda retirar en los ensayos en campo los suministros de azúcar en el agua porque posiblemente ella influyo en la no diferenciación de actividad en los tratamientos.

En futuros trabajos se debe evaluar diferentes fuentes de materia orgánica y diferentes niveles de fertilización con lombricompots porque posiblemente entre las fuentes de materia organica y las dosis evaluadas exista alguna de ellas que proporcione mejor nutrición y protección de los polinizadores.

Incluir dentro de las variables en futuros trabajos de este tipo contabilización de emisiones o flores y producción de pepinos.

En futuros ensayos se debe considerar la obtención del peso promedio de los adultos existentes en cada colonia que no se considero en este trabajo, ello podría proporcionar diferencias entre tratamientos.

Se recomienda en futuros trabajos tomar datos de temperatura y humedad relativa prevalientes en el interior de los ambientes donde se realizan estos estudios en campo porque según especialistas estos influyen grandemente sobre las plantas, insectos polinizadores y especialmente sobre los parásitos de *Bombus spp.*

VIII. BIBLIOGRAFIA

Balaban, J. 2006. Specie *Bombus impatiens* - Common Eastern Bumble Bee (En línea). Iowa. EE.UU. Consultado 11 de mayo del 2011. Disponible en <http://bugguide.net/node/view/56797>

Basualdo, M; Badascarrasbure, E. 2000. Rol de las Abejas en la Polinización de Cultivos. (En línea). Consultado 13 de mayo del 2011. Disponible en <http://www.inta.gov.ar/ediciones/idia/alt/api04.pdf>

Brown, M. 2006. Commercial Bumble bees may be infecting wild bees with *Crithidia bombi* (En línea). Argentina. Consultado 15 de mayo del 2011. Disponible en http://www.nbii.gov/portal/server.pt/community/parasites/1655/crithidia_bombi/5882

FAO (Organización de las naciones unidas para la agricultura y alimentación). 2005. La apicultura y los medios de vida sostenibles (En línea). Roma. Consultado 11 de mayo del 2011. Disponible en <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/008/y5110s/y5110s00.pdf>.

INFOAGRO (Informacion Tecnica Agricola). 2007. El Cultivo del Melon (en línea). España. Consultado 14 de mayo del 2011. Disponible en http://www.infoagro.com/frutas/frutas_tradicionales/melon.htm

Morales, C.L. 2007. Introducción de abejorros (*Bombus*) no nativos: causas, consecuencias ecológicas y perspectivas (En línea). Cordoba, Argentina. Consultado 12 de mayo del 2011. Disponible en http://www.scielo.org.ar/scielo.php?Script=sci_arttext&pid=S1667-782X2007000100005

NCSU (North Carolina State University). (En línea). EE.UU. Consultado 16 de mayo del 2011. Disponible en <http://northcarolina.stateuniversity.com/>

Quero, A. 2004. Las abejas y la apicultura. (En línea). Consultado 17 de mayo del 2011. Disponible en: http://www.fapas.es/proyectos/documentos/abejas_y_apicultura.pdf

Santos, E; Mendoza, Y; Diaz, R; Harriet, J; y Campa, J. 2010. Valor Economico de la Polinizacion Realizada por Abejas (*Apis melífera*), en Uruguay (En línea). Consultado 14 de mayo del 2011. Disponible en <http://participacion.elpais.com.uy/abejasporestelasantos/importancia-de-la-apicultura-en-el-medio-ambiente>

Y. Cardoza. 2006. Infestation of commercial bumblebee (*Bombus impatiens*) field colonies by small hive beetles (*Aethina tumida*). (en línea). USA. Consultado el 14 de mayo del 2011. Disponible en http://journals1.scholarsportal.info/details.xqy?uri=/03076946/v31i0006/623_iocbifcbsbht.xml

Whittington, R; Winston, M.L. 2006. *Nosema bombi* Causes Decreased Colony Size in Bumble Bees (En línea). Consultado 15 de mayo del 2011. Disponible en http://www.nbii.gov/portal/server.pt/community/nosema/1657/nosema_bombi/5840

Juliano Oldenburg. 2005 Cultura apícola. (En línea). Brazil. Consultado el 14 de mayo del 2011. Disponible en http://www.culturaapicola.com.ar/apuntes/floraapicola/91_Polinizacion_intensiva.pdf

USDA (Departamento de agricultura de los Estados Unidos). *Bombus impatiens*. (en línea). 2005. Consultado el 16 de mayo del 2011. Disponible en <http://agclass.nal.usda.gov/mtwdk.exe?k=default&l=115&s=1&n=1&y=0&w=Bombus%20impatiens&t=3>

Madjidian J.A., C.L. Morales & H.G. Smith. (2008). Large garden Bumblebee. (en línea). España. Consultado el 15 de mayo del 2011. Disponible en <http://www.interreg-bionatura.com/especies/pdf/Bombus%20ruderatus.pdf>

Integral house. (en línea). Consultado el 14 de mayo del 2011. Disponible en http://www.integralhouse.com/plagas_abejas.php#info

Redalyc (Sistema de información científica red de revistas científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal). 2007. Colombia. (en línea). Consultado el 16 de mayo del 2011. Disponible en <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/1803/180316240008.pdf>

M. Rodríguez. 1998. Técnicos especialistas de laboratorio en análisis clínico. (en línea). Consultado el 14 de diciembre del 2011. Disponible en <http://www.editorialcep.com/oposiciones-sanitarias/castilla-la-mancha/temasmuestra/19-tema-laboratorio.pdf>

A. Manrique. 1995. La Polinización entomófila y su importancia para la agricultura. (en línea). Consultado el 14 de diciembre del 2011. Disponible en http://sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas_tec/FonaiapDivulga/fd47/polini~1.htm

San Mrtin, J. 2011. Efecto de la temperatura y humedad relativa sobre la insidensi de *Nosema bombi* y *Crithidia bombi*. Universidad Nacional de Agricultura. Entrevista personal

IX. ANEXOS

Anexo 1. Medias del peso de las colonias.

Tratamiento	Pérdida de peso (gr.)	
T1 (Testigo)	29.187	A
T2 (Lombricompost)	14.187	A

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$)

Anexo 2. Medias de la actividad pecoreadora de los abejorros por tratamiento

Tratamiento	Media de abejorros/día	
Testigo	4.18	A
Lombricompost	5.25	A

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$)

Anexo 3. Medias del numero de obreras colectadas en los tratamientos

Tratamiento	Obreras	Crías	
Testigo	17.3	8.5	A
Lombricompost	17.6	11.3	A

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$)

Anexo 4. Medias de esporas de parasitos de abejorros antes del tratamiento

Tratamiento	Esporas <i>Nosema</i> /antes	Esporas <i>Crithidia</i> /antes	
Testigo	174	456	A
Lombricompost	182	422	A

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$)

Anexo 5. Medias de esporas de parásitos de los abejorros después del experimento

Tratamiento	Esporas <i>Nosema</i> /después	Esporas <i>Crithidia</i> /después	
Testigo	151	473	A
Lombricompost	147	493	A

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$)

Anexo 6. Prueba de T para la variable actividad

	N	Media	Desv. Esta	M. del error
Sin lombricompost	4	4.25	0.6	0.3
Con lombricompost	4	4.3	2.07	1.03
Diferencia	4	0.05	2.6	1.3

IC de 95% para la diferencia media:: (-4.18, 4.08)

Prueba t de diferencia media = 0 (vs. no = 0): Valor T = -0.04 Valor P = 0.972

Anexo 7. Prueba de T para la variable número crías

	N	Media	Desv. Esta	M. del error
Sin lombricompost	6	8.5	7.94	3.24
Con lombricompost	6	11.33	7.26	2.96
Diferencia	6	2.83	8.84	3.61

IC de 95% para la diferencia media:: (-12.11, 6.44)

Prueba t de diferencia media = 0 (vs. no = 0): Valor T = -0.78 Valor P = 0.468

Anexo 8. Prueba de T para la variable diferencia de peso

	N	Media	Desv. Esta	M. del error
Sin lombricompost	6	29.17	19.34	7.9
Con lombricompost	6	14.17	9.17	3.75
Diferencia	6	15	17.89	7.3

IC de 95% para la diferencia media:: (-3.77, 33.77)

Prueba t de diferencia media = 0 (vs. no = 0): Valor T = 2.05 Valor P = 0.095

Anexo 9. Prueba de T para la variable numero obreras

	N	Media	Desv. Esta	M. del error
Sin lombricompost	6	17.33	11.69	4.77
Con lombricompost	6	17.68	6.89	2.81
Diferencia	6	0.33	9.95	4.06

IC de 95% para la diferencia media:: (-10.78, 10.11)

Prueba t de diferencia media = 0 (vs. no = 0): Valor T = -0.08 Valor P = 0.938

Anexo 10. Prueba de T para determinar presencia de la reinas

F.V.	SC	GL	CM	F	p-valor
Tratamiento	1	0.33333	0.33333	2.50	0.1747
Error	5	0.66667	0.13333		
Total	11				

Anexo 11. Prueba de T para la variable presencia de Crithidia antes del experimento

	N	Media	Desv. Esta	M. del error
Sin lombricompost	4	208588	116364	58182
Con lombricompost	4	178675	66463	33231
Diferencia	4	29913	156828	78414

IC de 95% para la diferencia media:: (-219636, 279461)

Prueba t de diferencia media = 0 (vs. no = 0): Valor T = 0.38 Valor P = 0.728

Anexo 12. Prueba de T para la variable presencia de Crithidia después del experimento

	N	Media	Desv. Esta	M. del error
Sin lombricompost	4	224375	138393	69197
Con lombricompost	4	243086	162172	81086
Diferencia	4	18711	185424	92712

IC de 95% para la diferencia media:: (-313762, 276340)

Prueba t de diferencia media = 0 (vs. no = 0): Valor T = -0.20 Valor P = 0.853

Anexo 13. Prueba de T para la variable presencia de Nosema antes del experimento

	N	Media	Desv. Esta	M. del error
Sin lombricompost	4	30350	17447	8724
Con lombricompost	4	33350	14815	7408
Diferencia	4	3000	21867	10933

IC de 95% para la diferencia media:: (-37795, 31795)

Prueba t de diferencia media = 0 (vs. no = 0): Valor T = -0.27 Valor P = 0.802

Anexo 14. Prueba de T para la variable presencia de Nosema despues del experimento

	N	Media	Desv. Esta	M. del error
Sin lombricompost	4	22913	15033	7516
Con lombricompost	4	21841	9352	4676
Diferencia	4	1071	17275	8637

IC de 95% para la diferencia media:: (-26417, 28560)

Prueba t de diferencia media = 0 (vs. no = 0): Valor T = 0.12 Valor P = 0.909