

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA.

EFECTO DE LA D- TIROXINA EN EL PEZ COLA DE ESPADA Xiphophorus helleri (POECILIIDAE)

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I Ó L O G A

P R E S E N T A: TERESA KARINA GUARDADO MORALES



DIRECTORA DE TESIS: M. EN C. ALBA F. MARQUEZ ESPINOZA

LOS REYES IZTACALA, ESTADO DE MÉXICO 2005.





UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIA

Esta tesis la dedico a los seres más importantes en mi vida.

A mi padre, Alfredo: por darme la oportunidad de vivir y conocerte, por el amor inmenso y la confianza plena, por las palabras de aliento que quedaran guardadas en mi corazón como un legado, por la compañía en esas noches de charla tan amenas, por los consejos y vivencias compartidas, gracias por hacerme parte de tu pasado, tu presente y tu futuro, gracias porque conozco tu vida como si fuera mía, gracias por enseñarme a escuchar y por lo que me enseñaste sin decir palabras, en silencio con tu ejemplo y gracias porque me diste la confianza de decirte todo esto en vida, te Amo y te recuerdo como el mejor padre que pude tener.

Te fuiste en el momento, justo ni antes ni después, tu partida me ha dolido, pero ahora agradezco a Dios el haberte conocido.

Papá por 26 años, amigo de mi vida todo el tiempo, protector de mi miedo, brazo mío, palabra clara, corazón resuelto, te has muerto cuando menos falta hacías, cuando mas falta me haces, padre, abuelo, hijo y hermano mío, esponja de mi sangre, pañuelo de mis ojos, almohada de mi sueño.

Te has muerto o me has matado un poco.

Porque no estás, ya no estaremos nunca completos, en un sitio, de algún modo. Algo le falta al mundo, y tú te has puesto a empobrecerlo mas y a hacer a solas tus gentes tristes y tu Dios contento.

Jaime Sabines

A mi madre, Teresa: gracias por darme la de vida y conocer tu amor de madre, por los esfuerzos realizados para sacarnos adelante, por los consejos, por la dedicación y hasta la sobreprotección, te Amo simplemente por ser mi madre, eres una mujer maravillosa.

Ama a tus padres; si te causan algunas ligeras incomodidades, aprende a soportarlas. E I pago y el galardón que a tus padres dieres, aquel mismo debes esperar de tus hijos.

Tales de Mileto

A Oscar: Gracias por compartir conmigo tus sentimientos, emociones y experiencias, por el amor inmenso que despiertas en mi, por la confianza, paciencia, ternura y comprensión que me brindaste en nuestro tiempo, gracias por ser parte de mi vida. Te Amo con toda el alma y el tiempo no cambiara lo que siento.

A mis hermanos; Alfredo, Bertha, Joel, Jesús, Francisco, Carlos y Efraín, a quienes a pesar de los pesares los amo y los respeto.

A mis sobrinos; Fello, Nef, Joelin, Jos, Lili, Rosy, Nancy, Jony, Cristin, Lore, Marcos, Paco, Rodris, Dany, Chaquis, el Boo y Karla, los quiero mucho.

AGRADECIMIENTOS

Gracias DIOS, por darme la vida y por cada regalo recibido, agradezco los padres que elegiste para mi.

A la UNAM por recibirme con las puertas abiertas, a la FESI por albergar a los mejores profesores en Biología.

Quiero agradecer especialmente a Alba por la dirección de este trabajo, por las enseñanzas que van mas allá de lo profesional, por la amistad brindada, por tu apoyo moral en los días difíciles, por los consejos y por el cariño que despertaste en mi.

A mis sinodales: M. en C. Mario Fernández, por el tiempo y paciencia dedicados porque gracias a sus comentarios, correcciones y sugerencias este trabajo pudo concluirse; al M. en C. Gilberto Contreras R. por su amistad y confianza; al M. en C. Rodolfo Cárdenas, por el apoyo bibliográfico, comentarios y sugerencias y al M. En C. Jorge Gersenowies, por contribuir a enriquecer mi trabajo.

A mis amigos; Oscar, Sara, Miry, Almendra, Mary, Alfredo, Paco, Lalo, Quique, Carmen, Eu, Jenny, Mamuel, Los Juanos, Andrés, Ángeles, Marce, Alina, Ross, Lupilla, Gerardo, Omar, Memo, Lucero y Cris, esperando no omitir alguno, a todos los llevo en mi corazón.

INDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
ANTECEDENTES	6
OBJETIVOS	10
BIOLOGÍA DE LA ESPECIE	11
SISTEMETICA	13
METODOLOGÍA	14
DIAGRAMA DE FLUJO	17
RESULTADOS	18
DISCUSIÓN	27
CONCLUSIONES	32
SUGERENCIAS	33
BIBLIOGRAFÍA	34
ANEXO	39

RESUMEN

La acuacultura se practica en todos los países del mundo y se considera una industria en crecimiento, consiste en la manipulación de biotopos acuáticos para la producción de especies útiles al hombre, ya sea como alimento o para ornamentación. A pesar del incremento de la acuacultura como una actividad económica, se ha relegado a un segundo plano el cultivo de especies ornamentales. Algunas investigaciones encaminadas para el mejoramiento de dichas especies, se realizan mediante la administración de hormonas adicionadas al alimento, que intervengan en la reproducción, inducción sexual y crecimiento. Debido a la gran aceptación de peces de ornato en el comercio, es necesario realizar estudios enfocados al rápido desarrollo de los mismos, para una pronta reintegración de organismos a su medio natural o comercialización.

En el presente trabajo se reportan los efectos sobre la longitud total y el peso de la D-Tiroxina en concentraciones de 10 mg/Kg y 12.5 mg/Kg en ejemplares de *Xiphophorus helleri* de 15 días de nacidos. Los resultados obtenidos muestran, que la D-Tiroxina induce el crecimiento del pez, obteniendo diferencias significativas de los grupos experimentales con respecto al control (p<0.05); estimulando la longitud total de los organismos hasta 61.54% con 10 mg/Kg y 61.30% con 12.5 mg/kg con respecto al control. En el peso también se incrementaron sus valores en un 1056.62% con 10 mg/Kg y 1052.96% con 12.5 mg/kg con respecto al control. Concluyendo que la dósis óptima para el crecimiento del pez *Xiphophorus helleri* es la de 10 mg/Kg. Además la D-Tiroxina no afecta la relación pesolongitud, tipo de crecimiento y coeficiente de correlación del pez , por lo que presentaron una buena calidad de vida y una tasa de mortalidad nula.

INTRODUCCION

Las milenarias culturas de China, Japón y otras regiones del lejano Oriente practicaron la acuacultura durante siglos. En 475 a.C. Fan Li publicó la primera tesis de la materia. Las actividades e instalaciones acuaculturales están documentadas en antiguas obras de arte y literatura del lejano Oriente. Los clásicos, tanto griegos como romanos, mencionan el cultivo de ostras (Whealton. 1982). En el siglo XVI, las técnicas de mantenimiento de peces en recipientes de cristal se extendieron por Europa y en el siglo XIX, gracias a los avances de la ciencia, se inauguraron los primeros acuarios públicos. A finales de este mismo siglo surgieron en Estados Unidos las primeras sociedades de acuariofilia y los primeros acuarios tropicales. Eran instalaciones muy primitivas si se comparan con las actuales. Hoy en día el interés por los acuarios ha inducido el desarrollo de nuevas tecnologías (Mills 1991).

Actualmente, la acuacultura se practica de alguna forma en todos los países del mundo y se considera una industria en crecimiento (Whealton, 1982). La acuacultura consiste en la manipulación de biotopos acuáticos naturales o artificiales para la producción de especies útiles al hombre y por tanto, incluye todas las actividades de crianza, cultivo, manipulación, procesamiento y comercialización de los organismos que viven en dichos biotopos (Gilbert 1991).

Este interés por los peces puede dividirse en dos tendencias como alimento y para ornamentación. (Mills, 1991). Los peces ornamentales son aquellos que por su morfología y colorido son atractivos y utilizados como mascotas.

En México, a pesar del incremento de la acuacultura como una actividad económica, se ha relegado a un segundo plano el cultivo de especies

ornamentales, ello a motivado que incluso de países Europeos y Asiáticos se envían especies para satisfacer el creciente auge del acuarismo, esto, muy a pesar de que nuestro país cuenta naturalmente con algunas de estas especies ornamentales, como el caso de 150 especies marinas y diversas especies de agua dulce (Fuentes, 1998).

Debido, a que a nivel mundial ha crecido el gusto por el acuarismo, investigaciones, se empiezan a realizar encaminadas algunas mejoramiento de especies ornamentales, ya que hasta el momento la gran mayoría de los organismos y sobretodo los marinos son extraídos de los medios naturales, teniendo como consecuencia la disminución de sus poblaciones y por ende el deterioro de los medios acuáticos. Los estudios realizados son principalmente en áreas de reproducción, patrones de coloración, genética sexual y obtención de poblaciones monosexo, ya que estas cualidades son bien aceptadas en la acuariofilia mundial, incrementando con esto el valor comercial de las especies mejoradas. Para lograr estos cambios, se ha recurrido a la selección de organismos que posean características deseadas para obtener descendencia. Así mismo, se han hecho cruzas de especies para obtener híbridos y últimamente se ha recurrido a la administración de diversas hormonas que intervengan en la fisiología de los organismos.

La acción de las hormonas es relevante ya que incide en funciones biológicas vitales como son reproducción, inducción sexual, regulación de los mecanismos de crecimiento entre otros (Santandeu, 1994).

Las hormonas han sido administradas de diferentes maneras, una de ellas es inyectadas directamente al organismo, otra es por inmersión y por ultimo la hormona adicionada al alimento. Sin embargo, de estas formas de tratamiento la más popular es la de administración en la dieta. (Fuentes 1998).

Una de las familias de peces utilizadas en este tipo de investigaciones es POECILIIDAE, entre este tipo de peces se encuentra *Xiphophorus helleri* (pez cola de espada) debido a que son de fácil manejo, su ciclo de vida es relativamente corto y se adaptan muy bien a condiciones de laboratorio (Peña, 1996).

Algunos trabajos con poecilidos son los realizados por Kavumpurath y Pandian en 1993, administraron andrógenos en *Poecilia reticulata*, Fuentes en 1994 y Márquez en 1999 utilizaron 17α-metiltestosterona en el pez *Xiphophorus helleri* y Peña en 1996, Márquez en 1999 y Baca en el 2002, administraron dietiletilbestrol en *Xiphophorus helleri*.

Algunos estudios con tiroxina son los realizados por Nacario en 1983 *Sarotherodon niloticus L*, asegurando un efecto en longitud y peso y Barrington *et al.* en 1961 trabajaron con *Salmo gairdneri* asegurando que el tratamiento favorece el aumento de longitud y peso.

Las hormonas tiroideas son derivados de aminoácidos los cuales se yodan y cuya función consiste en modular la actividad de los diversos tejidos del organismo, especialmente aquellos relacionados con la maduración neuromuscular, oxidaciones tisulares, termogénesis y crecimiento. (Calondra, 1985)

La función metabólica general de las hormonas tiroideas es incrementar el metabolismo por lo que aumenta el consumo de oxígeno. Las hormonas tiroideas potencian la función de la bomba sodio-potasio al incrementar el numero de unidades de bombeo. Puesto que todas las células tienen esta bomba y virtualmente todas responden a las hormonas tiroideas, esta potenciación en la utilización del ATP y el incremento relacionado al consumo

de oxígeno vía fosforilación oxidativa, pudiera ser el mecanismo básico de acción de la hormona tiroidea.

Otro efecto mayor de la triyodotironina y la tiroxina es incrementar la síntesis de proteínas y producir un aumento en la utilización de nitrógeno. Las hormonas tiroideas, como los esteroides, inducen o reprimen proteínas por incremento o reducción de la trascripción genética (Murray *et al* 1992).

Debido a la gran aceptación de peces de ornato en el comercio, es necesario realizar estudios enfocados a ayudar al rápido desarrollo de los mismos, para una pronta reintegración de organismos a su medio natural o comercialización.

ANTECEDENTES

Barrington *et al.*, en 1961, aplicaron un tratamiento con tiroxina, encontrando que favorece el aumento de longitud y peso de *Salmo gairdneri*, mediante la adición de polvo tiroideo en el alimento.

Lam T. J. en 1980, realizó una investigación con Tilapia (*Sarotherodon mossambicus Rupel*), en donde estudia el efecto de la L – tiroxina – sodio (Eltroxin, Glaxo) en el desarrollo y la supervivencia de los organismos. Los huevos de esta especie, fueron tratados por inmersión en 0.1 ppm de solución, y se encontró una marcada aceleración en el desarrollo de los peces además de aumentar la supervivencia de los organismos.

Nacario en 1983, estudió el efecto de la tiroxina en larvas y pececillos de *Sarotherodon niloticus*, sumergiéndolos en diferentes concentraciones de tiroxina (0.1 ppm; 0.3 ppm; 0.5 ppm) y reportó un efecto en longitud y peso después de la cuarta semana de tratamiento.

Lam T. J., Juario, J. V. y Banno J. en 1985, investigaron el efecto de la tiroxina en el crecimiento y desarrollo durante el periodo post – larvario en *Chanos chanos*, obteniendo una marcada aceleración en el crecimiento del pez.

lwata en 1995. Estudió el comportamiento migratorio de los salmones, su relación con el cortisol y las hormonas tiroideas. Esta investigación sugiere que las hormonas tiroideas, la hormona de crecimiento y cortisol juegan un papel importante en la migración y en el patrón de comportamiento en salmonidos.

McCormick, et al., en 1995, analizaron los niveles de la hormona de crecimiento, cortisol y tiroxina después de la exposición al agua de mar por un

periodo de 24 horas, realizando un examen antes, durante y después de la transformación de salmoncillo - juvenil de *Oncorhynchus kisutch*, la fase experimental duro seis meses iniciando en marzo y concluyendo en septiembre, encontrando que los niveles de tiroxina en plasma varían significativamente con el tiempo y la salinidad.

Hutchison e Iwata en 1998, estudiaron el efecto de la tiroxina en el comportamiento agresivo de cuatro especies de salmones durante el periodo premigratorio. Los organismos fueron de un año de edad pertenecientes a las especies: Salmo trutta, Oncorhynchus mykiss y Onchorynkus masou y una especie no anádroma Salvelinus fontinalis. En el estudio se concluye que las especies anádromas tratadas con tiroxina muestran una importante reducción en el comportamiento agresivo con respecto al control. En la especie Salvelinus fontinalis se observó que no hay cambios en dicho comportamiento.

Jourdan, *et al.*, en el año 2000, estudiaron la influencia de las horas luz en el crecimiento, heterogéneo, desarrollo gonadal, esteroides sexuales, y niveles de tiroxina, así como de sodio y potasio en *Perca fluviatilis*. Con tres periodos de horas-luz, 12,18 y 24. utilizaron un promedio de 20 peces por estanque. Reportando que el incremento en horas-luz de 12. 18 y 24 h inhiben el desarrollo gonadal, especialmente en machos. Sin embargo, para hembras y machos no hay un efecto significativo en la relación sodio-potasio, en los niveles de esteroides sexuales en plasma y los niveles de hormonas tiroideas.

Los trabajos que se pueden citar con peces del genero *Xiphophorus* son los realizados por: Rosen que en 1960 trabajó con la descripción y generalidades de *Xiphophorus* en América central. Atz en 1962 estudio su efectos de hibridación de pigmentación. Atz y Kallman en 1966 trabajaron con la genética del pez. Kallman en 1973 trabajó con bases de diferenciación

genética de dibujos idénticos del pigmento en dos poblaciones del pez plata de la especie *Xiphophorus maculatus* y en 1983 estudió la determinación de mecanismos sexuales y control genético del proceso de madurez sexual del adulto de la especie *Xiphophorus montezumae*.

Lim *et al.* en 1992 realizaron un estudio utilizando dos hormonas 17 α -metiltestosterona y 17 β -estradiol, determinando los efectos en la diferenciación sexual y en el crecimiento en juveniles de *Xiphophorus helleri*. Los organismos fueron tratados por un periodo de diez días, utilizando dosis de 50, 100, 200, 500, y 700mg/gr peso/pez. Los autores concluyeron que las dosis elevadas de 17 α -metiltestosterona inhiben el funcionamiento de la gónada aunque son efectivas en la determinación sexual. Mientras que con las dosis de 500 y 700 se obtuvo 100% de masculinización; con 17 β -estradiol a las dosis de 500 y 700 se obtuvo un 100% de feminización.

Marquez en 1999. induce la determinación del sexo en los Poecilidos: *Poecilia reticulata, Poecilia spenops y Xiphophorus helleri* con la ayuda de la administración en la dieta de 17 α -metiltestosterona y dietiletilbestrol utilizando dosis de 5 mg/Kg a 12.5 mg/Kg. Utilizando crías recién nacidas y hembras preñadas.

Peña en 1996 Administra dietiletilbestrol en el alimento a hembras gravidas de *Xiphophorus helleri* para la obtención de poblaciones monosexo. La dosis optima donde se obtuvo mayor numero de hembras fue 10 mg/Kg con 84.3%, seguida por 7.5 mg/Kg con 79.3%; no observándose daños en las gónadas de las hembras pero si en los machos quienes resultan ser estériles, en los organismos su morfología corporal, tamaño, forma y color no se vio afectada en ningún caso.

Nava y Rodríguez en 1997 trabajaron con crías de *Xiphophorus helleri* administrando 17 α -metiltestosterona y vitaminas en dosis de 35 mg/Kg durante 40 días obteniendo poblaciones monosexo.

Baca R M. en el 2002, realizó un estudio en las gónadas de crías de *Xiphophorus helleri* después de la administración de Dietiletilbestrol en la dieta, encontrando tanto la dosis de 8 mg/Kg como la de 12 mg/Kg son adecuadas pala lograr una inducción sexual fenotípica en hembras, pero ninguna de ellas consigue una reversión gonadal, en la dosis de 12 mg/kg se incremento el peso y la talla de los organismos.

Los estudios realizados con *Xiphophorus* han sido extensos debido a su manejo accesible , mantenimiento a bajo costo, no presentan problemas por la manipulación, facilidad para la reproducción, facilidad en la alimentación, además de no requerir de grandes áreas para su crecimiento. Por lo cual en la presente investigación se eligió el pez cola de espada *Xiphophorus helleri*, planteando los siguientes:

OBJETIVOS:

\neg	Determinar si la D-tiroxina tiene algún efecto en el crecimiento del pez
	cola de espada Xiphophorus helleri, a partir de los 15 días , hasta los
	90 días de edad.

- ¬ Encontrar la dosis óptima para el crecimiento del pez cola de espada
 Xiphophorus helleri, de los 15 a los 90 días de edad.
- ¬ Establecer la relación peso longitud para esta especie.

BIOLOGÍA DE LA ESPECIE

Nombre científico: Xiphophorus helleri (Heckel 1848).

Familia POECILIIDAE. Originaria de Centroamérica y de las vertientes del Atlántico de México, se le encuentra ampliamente distribuida en aguas continentales mexicanas y fueron introducidos artificialmente en la parte central de la República Mexicana. Viven en agua dulce y cristalina en zonas de abundante vegetación a una temperatura de 22 – 24 °C, pH 7. Son peces que presentan un marcado dimorfismo sexual, de fecundación interna. En el macho maduro se modifican los cinco primeros radios de la aleta anal, el quinto radio forma un gancho mayor que los otros radios, esta estructura recibe el nombre de gonopodio, su función es la transferencia de espermatozoides en el momento de la cópula. Ambos sexos presentan una banda obscura y rasgos rojos en los costados. Aleta dorsal de 11 a 17 radios. Esta especie tiene una amplia distribución en la vertiente del Atlántico, desde Veracruz hasta Centroamérica (Márquez, 1999).

Peces relativamente pequeños, vivíparos, el tamaño del macho de 8-10 cm sin contar la espada; hembras de unos 12 cm. Cuerpo alargado, comprimido lateralmente y presentan un colorido fundamental verde claro azulado (Álvarez, 1970)

Son peces fáciles de reproducir, la gestación de la hembra dura 4-6 semanas. Una vez nacidas las crías hay que retirar a los progenitores, pues sienten una gran avidez por los pequeños. La crianza de los alevines es sencilla.

Xiphophorus helleri es una especie que se presta para la experimentación ecológica, fisiológica y morfológica. Es una especie "noble" ya que por sus características y resistencia permite su manipulación, lo que

hace que sea una especie ampliamente utilizada en el ámbito de la acuariofilia como en el científico (Hernández, 2003).

Estos peces inician su maduración sexual a los 27 mm de longitud total, entre los tres o cuatro meses de edad. Presentan un cortejo caracterizado por la alternancia de nados hacia delante y atrás del macho frente a la hembra, además se sugiere que tal movimiento podría acentuar, en apariencia, la longitud y coloración de la espada ó que la espada acentúa los movimientos del macho, esto con el fin de conquistar a la hembra (Peña,1996).

SISTEMATICA

Según Rosen, 1960, citado en Álvarez del Villar. 1970

Phylum Chordata

Subphylum Gnathostomata
Clase Osteichthyes

Subclase Actinopterygii

Orden Cyprinodontiformes

Suborden Cyprinodontoidei

Familia Poeciliidae

Género Xiphophorus

Especie Xiphophorus helleri. (Heckel, 1848)

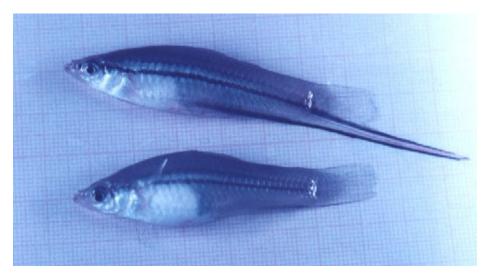


Figura 1. Pareja de Xiphophorus helleri. Arriba macho, abajo hembra.

METODOLOGÍA

Para realizar el presente estudio se utilizaron peces cola de espada, *Xiphophorus helleri* (POECILIIDAE), los que se colocaron en un acuario de 200 litros con temperatura regulada de 25°C (+1°C) mediante la utilización de un termostato, pH de 7.2 – 7.4, registrado con un potenciómetro portátil (pH Testr, Okaton Instruments), la concentración de O₂ fue 8.0 ppm mantenido por aireación constante de la red de aire del acuario, suministrado por una bomba marca GAST, modelo R 3105-1 con una capacidad de ½ caballo de fuerza. El agua se filtró constantemente mediante el uso de filtro de plataforma. El agua fue previamente declorada.

Los peces se acondicionaron y mantuvieron en cuarentena para evitar cualquier contagio, haciéndose una inspección constante, con el fin de detectar enfermedades, retirando los peces enfermos y parasitados, seleccionando una población de hembras y machos para su reproducción y obtener los grupos experimentales y el grupo control. Durante este periodo los peces fueron alimentados con alimento para trucha "trucha iniciador" de la marca Purina.

Para obtener las crías se separaron las hembras grávidas y se acondicionaron en acuarios de 60 litros conservando las mismas condiciones de temperatura, pH, O₂ y aireación pero en este caso se utilizó filtro de caja con carbón activado y fibra, cabe señalar que las hembras se colocaron en un corral de maternidad para evitar el canibalismo.

Mientras las crías nacían se preparó el alimento hormonado de las diferentes dietas experimentales para lo que se utilizó alimento "trucha iniciador" de Purina, adicionándose las diferentes dosis (10 mg/Kg y 12.5 mg/Kg) de hormona Tiroxina (T4) utilizando la técnica de la evaporación de

alcohol de Guerrero (1975), una vez preparado el alimento se mantuvo en envases oscuros a temperatura ambiente.

Se utilizaron 180 peces, de los cuales se formaran nueve grupos con 20 crías de 15 días de nacidas, para ser tratadas durante 75 días con las diferentes dosis de hormona T₄ las cuales fueron: control 0.0, 10.0 y 12.5 miligramos de hormona por cada kilogramo de alimento. Los peces fueron alimentados con una proporción del 10% de la biomasa del acuario (Nacario1983), una vez al día y sometidos a las mismas condiciones.

Los parámetros morfométricos evaluados fueron: longitud total y peso, haciéndose un registro quincenal. La talla fue tomada con la ayuda de papel milimétrico hasta milímetros y el registro de peso, con ayuda de una balanza semianalítica marca AINSWORTH AA – 160, hasta 0.0001g.

Una vez obtenidos los valores de longitud total y peso se estimo, la relación peso longitud mediante la ecuación descrita por Le Creen (en Gerkin, 1987)

$$W = aL^n$$
.

Donde:

W = peso del organismo

L = longitud del organismo

n = tipo de crecimiento (pendiente)

a = factor de condición (ordenada al origen)

La tasa de crecimiento de los peces, se determinó mediante el incremento de peso húmedo en un lapso de tiempo de experimentación, expresado en gramos peso húmedo / día / pez (Olvera, et al,. 1993)

$$TCW = \underline{W_f - W_i}$$
$$T - t$$

Donde:

TCW = tasa de crecimiento en peso

 $W_f = peso final$

 W_i = peso inicial

T - t = la duración en días

La tasa de crecimiento en la longitud total de los peces, se determinó mediante el incremento en milímetros en un lapso de tiempo de experimentación, expresado en milímetros / día / pez sustituido de (Olvera, *et al.*, 1993).

$$TCLT = \underline{LT_f - LT_i}$$
$$T - t$$

Donde:

TCLT= tasa de crecimiento en longitud total

 $LT_f = peso final$

 $LT_i = peso inicial$

T - t = la duración en días

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis de los datos obtenidos de crecimiento en longitud total y peso se aplico un análisis de varianza (ANOVA) y la prueba honesta de Tukey (p=0.05), utilizando el programa Statistica para Windows versión 4.5.

DIAGRAMA DE FLUJO

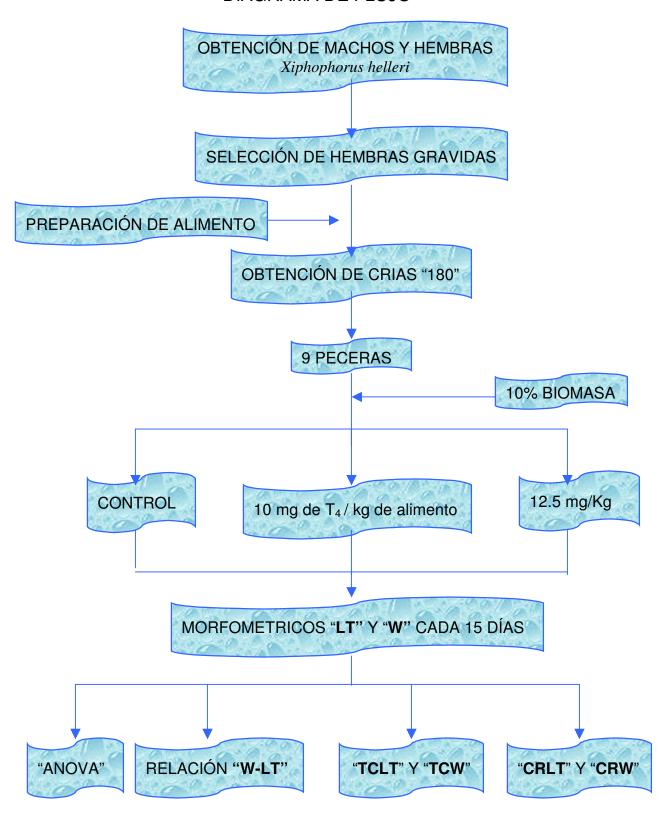
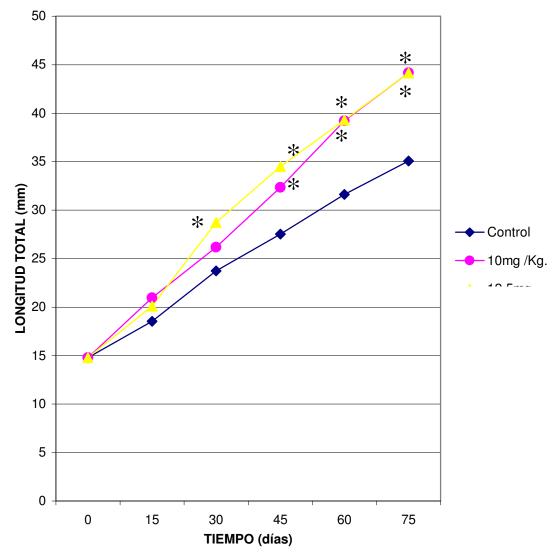


Figura 2. Diagrama de flujo

RESULTADOS

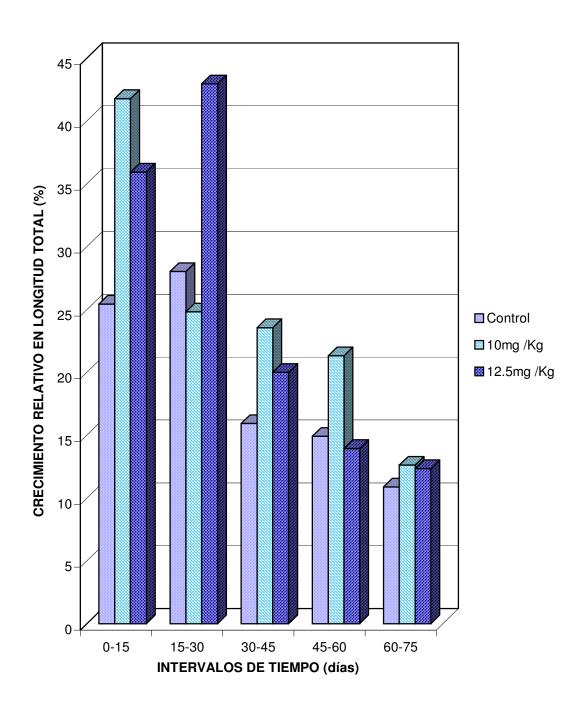
Longitud total "LT"

En la gráfica 1, se observa la longitud total promedio de los grupos experimentales y el control a lo largo del tratamiento. Siendo la LT inicial de 14.78 mm, observándose que al final del tratamiento los valores del control fueron de 35.06 mm, 44.17 mm para 10 mg/Kg y 44.13mm para 12.5 mg/Kg.



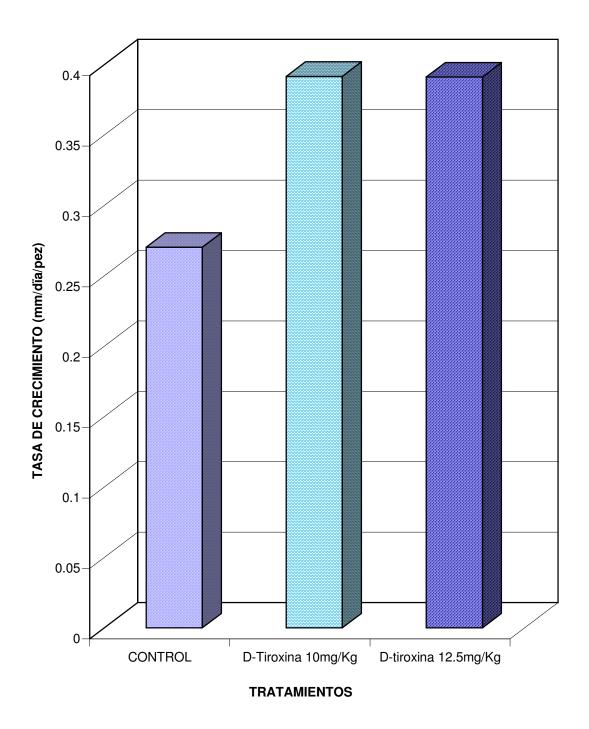
Gráfica 1. Crecimiento en longitud total (mm) de *Xiphophorus helleri* alimentados con dos dosis de D-tiroxina y un grupo control (*) Indica que existen diferencias significativas con respecto al grupo control.

La gráfica 2 muestra el crecimiento relativo en longitud total en cada periodo de medición.



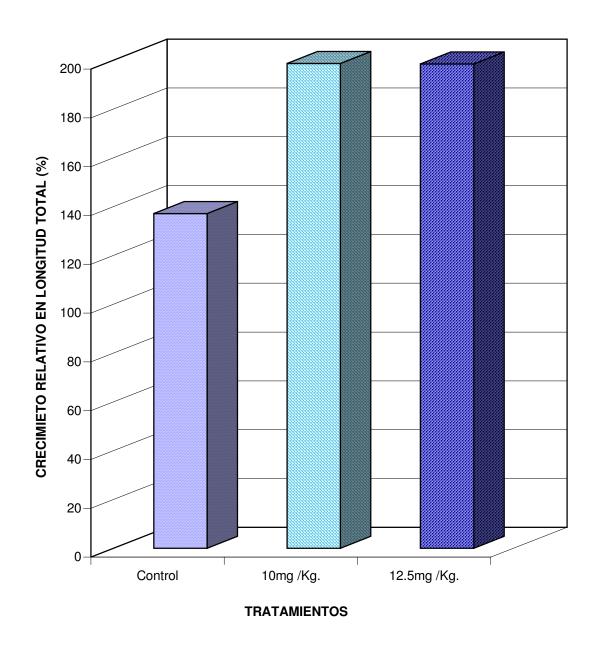
Gráfica 2. Crecimiento relativo en longitud total en cada intervalo de tiempo.

En la gráfica 3 se observa la tasa de crecimiento en longitud total. Siendo para el grupo control de 0.2704 mm/día, para la dosis de 10 mg/Kg de 0.3917 mm/día y para la de 12.5 mg/Kg de 0.3913 mm/día.



Gráfica 3. Tasa de crecimiento (mm / día / pez) del control y los tratamientos durante el tiempo de experimentación.

En la gráfica 4 se muestra el crecimiento relativo en longitud total de los grupos experimentales y el control durante el periodo de tratamiento. Observándose que el tratamiento con la dosis de 10 mg/Kg presenta un incremento de 61.53 % y en la dosis de 12.5 mg/Kg de 61.30% ms que el grupo control.

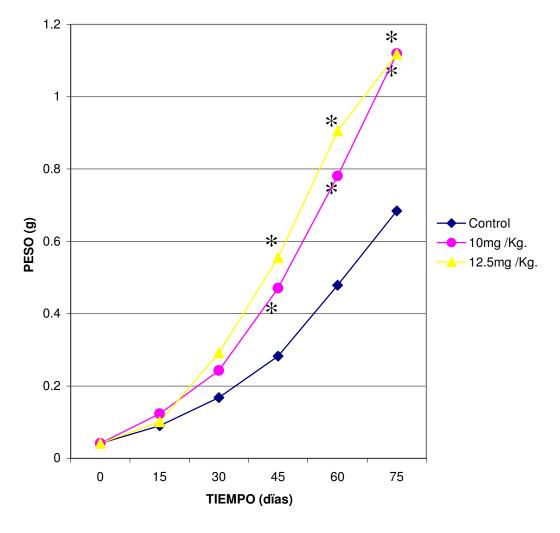


Gráfica 4. Crecimiento relativo en Longitud Total del grupo control y los tratamientos durante el periodo de experimentación.

Peso "W"

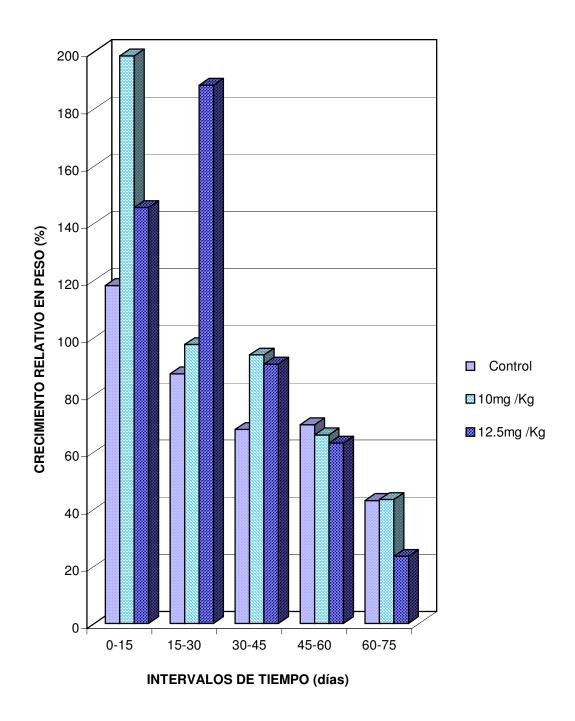
Se determino mediante el incremento de peso húmedo en el lapso de tiempo de experimentación

En la gráfica 5, se observa el peso promedio de los grupos experimentales y el control a lo largo del tratamiento. Observándose un peso inicial de 0.04117g y al concluir la fase experimental el W del control tuvo un valor de 0.6848g, 1.1198g para 10 mg/Kg y 1.1183g para 12.5 mg/Kg.



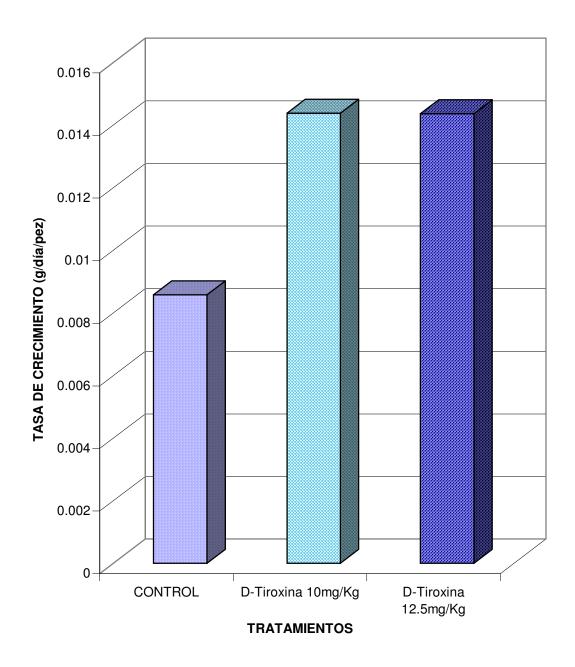
Gráfica 5. Crecimiento en peso (g), de *Xiphophorus helleri* alimentados con dos dosis de D-tiroxina y un grupo control.(*) Indica que existen diferencias significativas con respecto al grupo control.

La gráfica 6 muestra el crecimiento relativo en peso del control y los grupos experimentales.



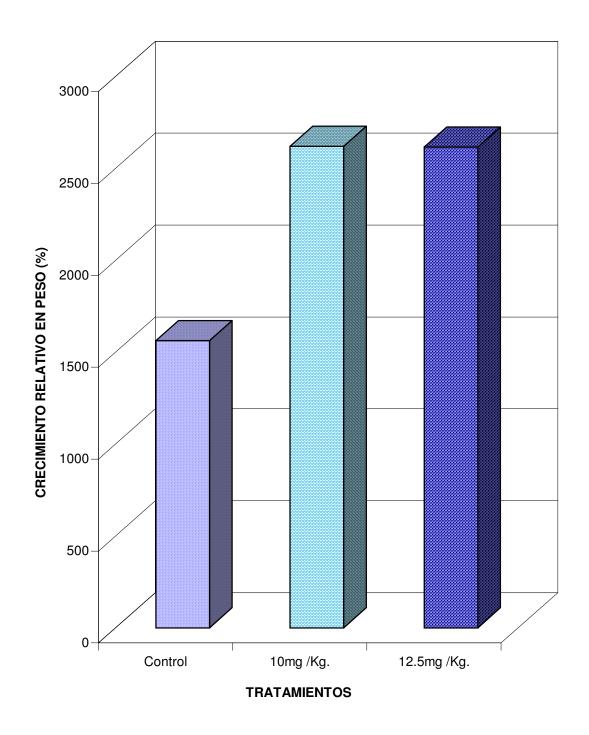
Gráfica 6. Crecimiento relativo en peso en cada intervalo de tiempo.

La gráfica 7 muestra la tasa de crecimiento. Observándose una T.C. de 0.00858109 g/día para el grupo control, 0.014361485 g/día en la dosis de 10 mg/kg y 0.014361378 g/día en la de 12.5 mg/Kg.



Gráfica 7. Tasa de crecimiento promedio en peso (g / día / PEZ.) del control y los tratamientos durante el experimento.

La gráfica 8 muestra el crecimiento relativo en peso observándose un aumento en el peso de 1056.62% y 1052.96% de los grupos experimentales 10 mg/Kg y 12.5 mg/Kg respectivamente, con respecto al control.



Gráfica 8. Crecimiento relativo en peso del inicio al final del tratamiento.

RELACIÓN PESO - LONGITUD "W - L"

Los valores obtenidos de la relación W-L se muestran en la tabla1.

TRATAMIENTO	TIPO DE	FACTOR DE	FACTOR DE
Mg/Kg	CRECIMIENTO	CONDICIÓN	CORRELACIÓN
CONTROL 0.0mg/Kg	3.1323	0.000009	0.9978
D-Tiroxina 10mg/Kg	3.0009	0.000010	0.9997
D- Tiroxina 12.5mg/Kg	3.1643	0.000007	0.9991

Tabla 1.relación peso – longitud (W-L) de los tratamientos y el control.

DISCUSIÓN.

El crecimiento tanto en longitud como en peso, tuvo una tendencia ascendente durante el periodo experimental. Observándose diferencias significativas a partir de los 30 días de tratamiento en la longitud total (p<0.05) y a partir de los 45 días en el peso (p<0.05).

LONGITUD TOTAL LT

Hasta el momento son pocos los trabajos enfocados al uso de tiroxina en peces con el fin de observar el efecto en crecimiento; sin embargo, existen trabajos realizados con salmones, bacalao y tilapia que mencionan que la tiroxina influye en la metamorfosis, el comportamiento e inclusive el crecimiento de los organismos, aunque este último sólo es mencionado y en pocos casos es sustentado con estadísticos que corroboren la información.

De acuerdo a lo expuesto anteriormente, se observa que la LT de los organismos es afectado por la administración de la D-Tiroxina con las concentraciones utilizadas en esta investigación, estos resultados concuerdan con la investigación realizada por Barrington, en 1975 reporta que en 1961, aplica un tratamiento con tiroxina, encontrando que se favorece el aumento de longitud de *Salmo gairdneri*, mediante la adición de polvo tiroideo en el alimento, los organismos fueron medidos semanalmente por un periodo de 9 semanas. El estudio realizado por Lam en 1980, concuerda con la presente investigación, ya que en el experimento con Tilapia (*Sarotherodon mossambicus Rupel*), estudia el efecto de la L – tiroxina – sodio en el desarrollo y la supervivencia de los organismos, y reportando una marcada aceleración en el desarrollo de los peces. Además, la longitud total de las larvas tratadas con Tiroxina tuvieron una ganancia significativa con respecto al grupo control y aumentan la supervivencia de los organismos. Por otro lado, Nacario en 1983 estudió el efecto de la tiroxina en larvas y juveniles de

Sarotherodon niloticus, afirmando que la T₄ a 0.5 ppm no genera un incremento significativo en el crecimiento después de la primer semana de tratamiento. Los peces tratados con T₄ a 0.1 ppm y 0.3 ppm incrementan su longitud después de la cuarta semana, habiendo diferencias significativas. La T₄ a 0.1 ppm incrementa significativamente la longitud de la aleta pectoral; pero a 0.3 ppm y 0.5 ppm causan anormalidad en las aletas pectorales, lordosis y escoliosis, en cuanto a estos aspectos sólo se consideró la LT de los organismos siendo significativa para la dósis de 10 mg/Kg a partir de los 45 días de tratamiento (p<0.05) y para 12.5 mg/Kg a partir de los 30 días de tratamiento (p<0.05). Lam y Banno en 1985, investigaron el efecto de la tiroxina en el crecimiento y desarrollo durante el periodo post larvario en Chanos chanos, obteniendo una marcada aceleración en el crecimiento del pez, de acuerdo a la investigación realizada la D-tiroxina tiene un efecto en la LT de los organismos incrementándola considerablemente, lo que permite hacer una comparación directa con los resultados de la presente investigación, y coincide con los resultados.

PESO W

De acuerdo a los resultados obtenidos, se observa que el peso de los organismos es estimulado por la administración de la D-Tiroxina con las concentraciones utilizadas en esta investigación, estos resultados se pueden comparar con los resultados obtenidos por Barrington, en 1975 quien, aplica un tratamiento con tiroxina, encontrando que se favorece el aumento del peso de Salmo gairdneri, mediante la adición de polvo tiroideo en el alimento, los organismos fueron pesados por un periodo de 9 semanas. Lam en 1980, por su parte estudia el efecto de la L - tiroxina - sodio en el desarrollo y la supervivencia de los organismos, realizando una investigación con (Sarotherodon mossambicus Rupel), en donde reporta una marcada aceleración en el desarrollo de los peces además, el peso de las larvas tratadas con Tiroxina tuvieron una ganancia significativa con respecto al grupo control lo que coincide con los resultados de la presente investigación ya que se obtuvo una marcada aceleración en el peso de los organismos a partir de los 45 días de tratamiento. Por otro lado, Nacario en 1983 estudió el efecto de la tiroxina en larvas y juveniles de Sarotherodon niloticus, afirmando que incrementa el peso los organismos tratados con T₄ a 0.1 ppm y 0.3 ppm siendo significativa después de la cuarta semana concordando con los obtenidos en esta investigación ya que se presento una marcada aceleración en el peso de los organismos a partir de los 45 días de tratamiento (sexta semana). Lam y Banno en 1985, investigaron el efecto de la tiroxina en el crecimiento y desarrollo durante el periodo post larvario en *Chanos chanos*. obteniendo una marcada aceleración en el crecimiento del pez lo cual coincide con lo obtenido en el presente estudio.

una posible explicación para los resultados obtenidos en la presente investigación es que una parte sustancial de la T₃ circulante no proviene de la secreción tiroidea, sino de la deshalogenación de la T₄ en los tejidos periféricos. Se sabe que en numerosos tejidos (hígado, fibroblastos, hipófisis,

músculo, riñón, sistema nervioso central, etc.) la T_4 puede ser deshalogenada en su posición 5 o 5´, dando lugar a la formación de la T_3 o a la T_3 reversa (T_3r) , si es deshalogenada en la posición 5. La T_3 tiene una actividad biológica 8 veces mayor que la T_4 y es además de acción mucho mas rápida. Estos hechos han llevado a sostener que la T_3 es la verdadera hormona tiroidea, en tanto que la T_4 seria una prohormona (Calondra,1985).

El primer paso en la acción de las yodotironinas está constituido por su entrada a la célula efectora, a través de la captación especifica mediada por vesículas. Las hormonas tiroideas afectan diversas vías metabólicas en estas células. Una de las acciones más conocidas es el aumento en el consumo se oxígeno, el que se relaciona con sus efectos sobre la mitocondria (otros efectos mitocondriales se relacionan con la síntesis de proteínas, respiración mitocondrial y ARN-polimerasa mitocondrial). Por otra parte, las hormonas tiroideas tienen un importante papel en el mantenimiento de la constancia iónica intracelular. Se ha encontrado que la T₃ regula la actividad de la ATPasa de membrana y la entrada de moléculas a la célula. Esta hormona, además, modula la síntesis de proteínas. Este efecto sobre ácidos nucleicos y proteínas esta vinculado a la acción estimulante del crecimiento y la morfogénesis.

RELACIÓN PESO - LONGITUD W - LT

De los resultados obtenidos en la presente investigación se evaluó la relación peso – longitud (W-LT) expresada en la tabla 1. los valores obtenidos en dicha relación no presentan diferencias significativas, lo que indica que tanto los organismos del grupo control como los organismos de los tratamientos presentan un buen estado fisiológico, sugiriendo que hay un buen aprovechamiento de los recursos proporcionados.

En cuanto al tipo de crecimiento para el grupo control, 10 mg/Kg y 12.5 mg/Kg es (=3) indicando una relación peso – longitud de tipo isométrico, revelando que durante el tratamiento hubo un aumento proporcional en el peso y la longitud total de los organismos.

El factor de correlación obtenido en la presente investigación mostró una relación entre las dos variables **W** y **LT** positiva; es decir que al variar la "**LT**", el "**W**" varía en la misma dirección, obteniéndose entonces un valor teórico "0.7 – 1.0". (Durán, 1984).

Por los resultados obtenidos en la relación W - LT que incluyen factor de condición, tipo de crecimiento y coeficiente de correlación revelan que los organismos presentaron una buena calidad de vida al no afectar ninguno de los parámetros indicados.

La aparente estabilidad en esta relación fue debida a que los peces de cada grupo fueron paridos por la misma madre y se comenzaron a hormonar a partir de los 15 días de edad, asegurando con esto la homogeneidad de las muestras (Pineda, 2003).

CONCLUSIONES

- La D-Tiroxina si tiene un efecto en el crecimiento del pez *Xiphophorus* helleri.
- La D-Tiroxina en el alimento estimula la longitud total de los organismos ya que promueve el incremento hasta un 61.54% para 10 mg/Kg y 61.30% para 12.5 mg/kg con respecto a los valores obtenidos en el grupo control. Siendo significativo desde los 30 días de tratamiento en la dosis de 12.5 mg/Kg.
- El peso de los organismos se ve afectado por la administración de la hormona D-Tiroxina en el alimento, incrementando sus valores en un 1056.62% para 10 mg/Kg y 1052.96% para 12.5 mg/kg siendo significativo a partir de los 45 días de tratamiento en ambas dosis.
- La dosis óptima para el crecimiento en la longitud total y peso del pez cola de espada *Xiphophorus helleri*. Es la de 10 mg/Kg de alimento.
- La D-Tiroxina no afecta la relación peso longitud, el estado fisiológico, tipo de crecimiento y coeficiente de correlación del pez cola de espada *Xiphophorus helleri* por lo que los peces presentaron una buena calidad de vida y un crecimiento de tipo isométrico.
- Las dosis utilizadas de D-Tiroxina no son tóxicas debido a que no se presentó mortalidad en los organismos.
- En la dosis de 10 mg/Kg a los 60 días de tratamiento comienzan a aparecer los caracteres sexuales secundarios.

SUGERENCIAS

- Se recomienda la utilización de la hormona D-tiroxina en peces de la especie *Xiphophorus helleri* para estimular el crecimiento.
- Se sugieren las dosis utilizadas en la presente investigación por los resultados en los incrementos obtenidos.
- Realizar estudios similares en otras especies de peces de ornato o en especies de consumo humano.
- Se sugiere realizar cortes histológicos para evaluar los posibles efectos en órganos internos.

BIBLIOGRAFÍA

- Baca R. M., 2002. Estudio de las gónadas de crías de Xiphophorus
 helleri tras la administración de Dietiletilbestrol en la dieta. UNAM
 Campus Iztacala, Tesis de Licenciatura en Biología, México.
- Bagenal, T. And E. Tesh., 1978. Age and growth in Tesh, (Ed) Methods
 for fish production in freshwater. Black well. Scientific Publications
 Oxford.
- Barrington, E. J. W., 1975. Introducción a la endocrinología general y comparada, Ed. H. Blume , España. P. 303

- π Fuentes P. J. A., 1994. Inducción sexual en peces de la familia POECILIIDAE con el uso de la hormona 17α-metiltestosterona. XVIII Simposio de Biologías de Campo y XI Coloquio Estudiantil de Tercera Etapa. UNAM Campus Iztacala.
- π Fuentes, P. J. A., 1998. Uso de la hormona17α-metiltestosterona en la obtención de poblaciones monosexo en peces cola de espada Xiphophorus helleri (POECILIIDAE), UNAM Campus Iztacala, Tesis de Licenciatura en Biología, México.
- ω Gerkin, A., 1978. Ecology of freshwater fish production. Blackwell Scientific Publications. London.
- σ Gilbert, B,. 1991. Acuicultura, Ediciones Omega, Barcelona.
- Guerrero, III, R. D., 1975, Use of androgen for the production of all male
 Tilapia aurea steindacher Trans. Am. Fish. Soc. 104:324-348.
- Φ Hernandez V. A. E., 2003. Contribución al conocimiento de la biología de Xiphophorus helleri Heckel (1848) (pisces: POECILIIDAE) en la laguna de Sontecomapan, Veracruz. UNAM FES Iztacala, Tesis de licenciatura en Biología, México.
- π Hutchison, M. J., Iwata, M., 1998, Effect of thyroxine on the decrease of aggressive behaviour of four salmonids during the parr-smolt transformation, Aquaculture 168, 169-175.
- ω Iwata M., 1995. Downstream migratory behavior of salmonids and its relationship with cortisol and thyroid hormones: A riview. 135: 131-139.

- Jourdan,S., Fontaine, P., Boujard, T., Vandeloise, E., Gardeur, J. N.,
 Anthouard, M., Kestemont, P., 2000. Influence of daylength on growth,
 heterogeneity, gonadal development, sexual steroid andthyroid levels,
 and N and P budgest in *Perca fluviatilis*, Aquaculture 186, 253-265.

- π Kavumpurath, S. y Padian, T. J., 1993. Masculinization of *Poecilia reticulata* by administration of synthetic or natural androgen to gravid females, Aquaculture, 116:83-88.

- ϖ Lim, B. H., Phang, V. P. E. and Reddy, P. K., 1992. The effects of short-term treatment of 17 α -metiltestosterona and 17 β -estradiol on growth and sex ratio in the red variety of swortail, *Xiphophorus helleri*, J.Aqua. trop., 7:267-274.
- Márquez E. A. F., 1999, Inducción sexual en peces *Xiphophorus helleri* (POECILIIDAE) a través de la administración de la17α metiltestosterona

- y de Dietiletilbestrol en el alimento, UNAM Campus Iztacala, Tesis de Maestría en Ciencias, Biología, México
- McCormick S. D., Young G., Björnsson B. T., Bern H. A., 1995,
 Circulating growth hormone, cortisol and thyroxine levels after 24h
 seawater challenge of yearling coho salmon at different developmental
 stages, Aquaculture 136:371-384.
- ω Mills, D., 1991. Guía del acuario, Ediciones Omega, Barcelona. p. 287.
- Murray R. K., Granner D. K., Mayes P. A., Rodwell V. W. 1992.
 Bioquimica de Harper. El manual moderno. México D. F. p. 493 498.
- Mava-Bautista, J. M. and Rodriguez-Gutiérrez, M., 1997, Effect of 17∞-methyltestosterona and vitamin B complex on the sexual reversion induction of two of the development stages of *Xiphophorus helleri*, Heckel, 1848 (Pisces: Poecilidae). J. Aqua. Trps, 12(1): 65-71.
- Olvera, N. M., Martínez, P. C. y Real de I. E. 1993. Manual de técnicas para laboratorio de nutrición de peces y crustáceos. Proyecto Aquila II. FAO. México.
- Φ Peña, A. F., 1996. Obtención de una población monosexo (hembras) de Xiphophorus helleri mediante la administración de Dietiletilbestrol en el alimento a hembras grávidas. Tesis de licenciatura. UNAM Campus Iztacala.

- ϖ Pineda, C. O., 2003. Uso de la hormona 17 β- estradiol para la inducción sexual en crías de peces guppys *Poecillia reticulata* (POECILIIDAE).
- π Rosen, D. E., 1960. Peces poecilidos en América Central del género Xiphophorus. Bull. Florida. State Museum. Biology. Science. 5 : 57-242.
- Santandeu, I. A. And Díaz, F. N.,1994, Effect of 17α-methyltestosterona on growth and nitrogen excretion in masu salmon *Oncorynchus masou* Brevoot. Aquaculture. 124: 321-333.
- ϖ Weatherly, A. M. 1972. Growth and ecology of Fish populations. Academic Press London. 1 122 pp.
- ω Whealton, F, W,. 1982, Acuacultura, AGT editor. México, p. 704.
- www.<u>File://A:\COMO</u> FUNCIONA EL TIROIDES.htm

ANEXO

Anexo 1.

Certificado de la D-tiroxina. SIGMA

TEST CERTIFICACIÓN

Nombre del producto D-Thyroxine

Numero del producto T2001 Numero CAS 51490

Formula $C_{15}H_{11}I_4NO_4$

Peso formula 776.9

Apariencia Polvo blanco amarillento con aspecto

tostado

Carbón 23.1 %
Nitrógeno 1.7 %
Pureza 99.5 %
Vida media 7 años.

Anexo 2.

Estructura tridimensional y composición química de la D-Tiroxina.

HO
$$\longrightarrow$$
 O \longrightarrow CH₂C \longrightarrow CH₂C \longrightarrow OH

Figura 3. estructura de la D- Tiroxina obtenida de SIGMA.

Anexo 3. Pruebas estadísticas de AVOVA y Tukey, para longitud total

45 (16)

60 {17}

75 {18}

.000036

.000036

.000036

.000036

.000036

.000036

.000036

.000036

.000036

.000036

.000036

.000036

.019430

.000036

.000036

.999999

.000041

.000036

.000036

.000036

.000036

.000036

.000036

.000036

.000036

.000036

.000036

.306595

.000036

.000036

.000036

1.000000

.000036

.000036

.000036

1.000000

1=Trataminento 2= Tiempo df= grados de libertad MS= suma de cuadrados Effect=tratamiento Error=error Summary of all Effects; design: (datos.sta) 1-VAR1, 2-VAR2 df MS Effect Effect Error Error p-level 2736.31 1013 16.21154 168.788 0.000000 17248.91 1013 16.21154 1063.990 0.000000 10 235.27 16.21154 14.513 12 1013 .000000 Tukey HSD test; variable VAR4 (datos.sta) Probabilities for Post Hoc Tests MAIN EFFECT: VAR1 25.14177 29.66581 30.27414 .000022 .000022 .000022 .121250 {2} .000022 {3} .121250 Tukey HSD test; variable VAR4 (datos.sta) Probabilities for Post Hoc Tests MAIN EFFECT: VAR2 14.78889 19.87337 26.21737 31.44675 36.71260 41.12447 .000020 .000020 .000020 .000020 .000020 15 {1} .000020 .000020 .000020 .000020 30 .000020 45 .000020 .000020 .000020 .000020 .000020 60 .000020 .000020 .000020 .000020 .000020 75 .000020 .000020 .000020 .000020 .000020 90 (6) .000020 .000020 .000020 .000020 .000020 Tukey HSD test; variable VAR4 (datos.sta) Probabilities for Post Hoc Tests INTERACTION: 1 x 2 {2} {3} {4} {5} {6} {7} {8} {9} {10} {11} {12} {13} {14} {15} {16} {17} {18} {1} 14.33333 27.52542 31.62712 35.06897 15.13333 20.96667 39.22222 20.10345 34.48148 39.28846 18.55000 23.74576 26.16949 44.1698 14.90000 .000037 .000036 .000036 .000036 .999823 .000036 .000036 .000036 .999999 .000036 .000036 .000036 .000036 0 .000036 .000036 .000036 .000036 15 {2} .000037 .000036 .000036 .000036 .000036 .000494 .092757 .000036 .000036 .000036 .000036 .000128 .819512 .000036 .000036 .000036 .000036 30 .000036 .000036 .000081 .000036 .000036 .000036 .019406 .097716 .000036 .000036 .000036 .000036 .000171 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036 45 (4) .000081 .000036 .000036 .000036 .000039 .000036 .000036 .000036 .936088 .000036 .000036 .000036 .000036 .979380 .000036 .000036 60 .000036 .000036 .000036 .000039 .000553 .000036 .000036 .000036 .999976 .000036 .000036 .000036 .000036 .013387 .019430 .000036 .000036 75 .000036 .000036 .000036 .000036 .000553 .000036 .000036 .000036 .029871 .000042 .000036 .000036 .000036 .000036 .999999 .000041 .000036 .000036 0 .999823 .000494 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036 1.000000 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036 15 .000036 .092757 .019406 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036 .999566 .000036 .000036 .000036 .000036 30 {9} .000036 .000036 .097716 .936088 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036 .059654 .000036 .000036 .000036 45 {10 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036 .999976 .029871 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036 .000289 .306595 .000036 .000036 60 {11} .000036 .000036 .000036 .000042 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036 1.000000 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036 75 {12} .000036 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036 1.000000 .000036 0 {13} .999999 .000128 .000036 .000036 .000036 .000036 1.000000 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036 15 {14} .000171 .000036 .000036 .000036 .000036 .819512 .000036 .000036 .000036 .000036 .999566 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036 30 {15} .000036 .000036 .000036 .979380 .013387 .000036 .000036 .000036 .059654 .000289 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036

.000036

.000036

.000036

.000036

.000036

.000036

.000036

.000036

.000036

.000036

.000036

.000036

.000036

.000036

.000036

Anexo 4. Pruebas estadísticas ANOVA Y Tukey, para el Peso.

Peso Summary of all Effects; design: (datos.sta) 1-VAR1, 2-VAR2 df MS df MS Effect Error Error F p-level 1 2 4.39284 1013 .038094 115.3166 0.000000 2 5 22.87798 1013 .038094 600.5704 0.000000 12 10 .67733 1013 .038094 17.7805 .000000																			
Tukey HSD test; variable VAR3 (datos.sta) Probabilities for Post Hoc Tests MAIN EFFECT: VAR1 {1} {2} {3} .2907503 .4637198 .5016983 1 {1} .000022 .000022 2 {2} .000022 .030712																			
3 {3}000022 .030712 Tukey HSD test; variable VAR3 (datos.sta) Probabilities for Post Hoc Tests MAIN EFFECT: VAR2																			
	15 {1} 30 {2} 45 {3} 60 {4} 75 {5} 90 {6}	{1} .0411717 .025724 .000020 .000020 .000020 .000020	{2} 7 .1046014 .025724 .000020 .000020 .000020 .000020	{3} • .2341240 .000020 .000020 .000020 .000020 .000020	{4} 0.4362251 .000020 .000020 .000020 .000020	{5} .7219441 .000020 .000020 .000020 .000020	{6} .9742705 .000020 .000020 .000020 .000020												
Tukey HSD test; variable VAR3 (datos.sta) Probabilities for Post Hoc Tests INTERACTION: 1 x 2																			
		{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}	{10}	{11}	{12}	{13}	{14}	{15}	{16}	{17}	{18}
		.0403467	.0898372	.1682763	.2824830	.4788051	.6847535	.0449233	.1229050	.2427746	.4707421	.7811908	1.119783	.0382450	.1010621	.2913210	.5554500	.9058365	1.118275
1 30 1 45 1 60 1 75 1 90 2 15 2 30 2 45 2 60 2 75 2 90 3 15 3 30	(3) (4) (5) (6) (7) (8) (9) (10) (11) (12) (13) (14)	.996133 .037641 .000036 .000036 .000036 1.000000 .671100 .000037 .000036 .000036 1.000000 .968902	.996133 .759383 .000045 .000036 .000036 .998802 .999981 .002582 .000036 .000036 .000036 .000036	.037641 .759383 .126270 .000036 .000036 .057112 .998711 .832011 .000036 .000036 .030833 .925562	.000036 .000045 .126270 .000041 .000036 .000036 .001150 .999783 .000036 .000036 .000036	.000036 .000036 .000036 .000041 .000037 .000036 .000036 1.000000 .000036 .000036	.000036 .000036 .000036 .000037 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036	1.000000 .998802 .057112 .000036 .000036 .000036 .761746 .000040 .000036 .000036 .000036 1.000000 .985810	.671100 .999981 .998711 .001150 .000036 .000036 .761746 .077138 .000036 .000036 .000036 .000036	.000037 .002582 .832011 .999783 .000036 .000040 .077138 .000036 .000036 .000036 .000037 .010592	.00036 .000036 .000036 .000062 1.000000 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036	.000036 .000036 .000036 .000036 .000036 .443712 .000036 .000036 .000036	.000036 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036	1.000000 .993776 .030833 .000036 .000036 .000036 1.000000 .626541 .000037 .000036 .000036	.968902 1.000000 925562 .000102 .000036 .000036 .985810 1.000000 .010592 .000036 .000036 .000036	.000036 .000038 .067311 1.000000 .00066 .000036 .000457 .997483 .000160 .000036 .000036 .000036	.000036 .000036 .000036 .000036 .825273 .047682 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036	.00036 .00036 .00036 .00036 .00036 .00036 .00036 .00036 .00036 .00036 .00036 .00036	.000036 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036 .000036
3 45 3 60 3 75 3 90	{16} {17}	.000036 .000036 .000036	.000038 .000036 .000036 .000036	.067311 .000036 .000036 .000036	1.000000 .000036 .000036 .000036	.000066 .825273 .000036 .000036	.000036 .047682 .000036 .000036	.000036 .000036 .000036	.000457 .000036 .000036 .000036	.997483 .000036 .000036 .000036	.000160 .694196 .000036 .000036	.000036 .000036 .092898 .000036	.000036 .000036 .000038 1.000000	.000036 .000036 .000036	.000058 .000036 .000036 .000036	.000036 .000036 .000036	.000036 .000036	.000036 .000036	.000036 .000036 .000039