Influencia de la interaccion salinidad y aumento ATPasa branquial, sobre iones plasmaticos (Cl-, Na+, K+) en smolt *Salmon salar*.

Karla Castro M

27/7/2021

Planteamiento del problema

Variada bibliografía habla de lo crítico que es identificar en forma precisa y oportuna cuando un salmón esta smoltificado y puede ser llevado al mar, lo anterior es para evitar peces desadaptados o rezagados que son muy susceptibles a enfermedades y de muy mal crecimiento.

Muchos profesionales con años de producción de smolt, nunca han realizado análisis de smoltificación a sus peces con excelentes resultados en mar, sólo se guían por las característica morfológicas (externas) del pez y su comportamiento natatorio; además de un estricto control en la aplicación de fotoperiodo. Sin embargo no son para nada la media de profesionales, y la gran mayoría se ayudan con técnicas muy conocidas para tener la certeza de que la smoltificacion esta correcta para iniciar los traslados.

En la industria existen a lo menos 2 metodologías y que son excelentes herramientas a usar.

Test de Agua de Mar o de regulación de iones, mas conocido como análisis de electrolitos: Este análisis consiste en someter a un grupo de peces (muestra) a una cantidad de salinidad conocida a través de un protocolo (temperatura, salinidad y duración de la prueba). Para determinar la cantidad de iones de Sodio (Na+) y Cloro (Cl-) existentes en la sangre a medida que transcurre la prueba.

Test de Enzimas o ATPasa branquial: "la Na+K+_ATPasa es la fuerza motriz más importante para la secreción de iones monovalentes en agua salada. La actividad de esta enzima aumenta en los smolts como una pre-adaptación para la regulación de iones en agua de mar".

Para todos los salmónidos anádromos, la tolerancia a la salinidad y otros aspectos del desarrollo, que ocurren durante esmoltificación, se pierden si los peces permanecen en agua dulce . Por lo tanto, la esmoltificación es un proceso reversible, y hay un período limitado de tiempo durante el cual los peces se encuentran preparados para la entrada a agua de mar, conocida como la "ventana fisiológica de esmoltificación". Los límites temporales de la ventana de esmoltificación están determinados por factores ambientales que controlan tanto la estimulación como la pérdida de caracteres de individuos parr.

Al igual, el aumento de la ATPasa branquial denota que los peces estan listo para ser trasladados al mar, por ende en este estudio tiene como objetivo general evaluar si las variables salinidad en interaccion con el aumento de la ATPasa branquial, inciden sobre el aumento de los electrolicos plasmaticos disponibles para el desafio.

 H_0 :

 $La\ interaccion\ salinidad\ y\ ATP as a\ branquial\ no\ afecta\ en\ la\ cantidad\ de\ electrolitos\ plasmaticos\ disponibles\ en\ S.salar$

 H_1 :

 $La\ interaccion\ salinidad\ y\ ATP as a\ branquial\ si\ afecta\ en\ la\ cantidad\ de\ electrolitos\ plasmaticos\ disponibles\ en\ S.salar$

Descripcion de los datos

Para este estudio se utilizaron 50 ejenplares de Salmon Salar, provenientes desde el sur. Los peces fueron mantenidos en estanques de 500 L con agua dulce en las dependencias de La Universidad de Los Lagos, Osorno. Se tomaron muestras de ATPasa branquial y sangre, para evaluar el nivel basal (T0) de las muestras.

Luego a los estanques se les recambio el agua, por agua de mar 32 psu.

Los peces fueron mantenidos a una temperatura constante del agua de aprox. 14°c, y con un fotoperiodo de 24 horas luz.

La salinidad tambien fue constante de 32psu.

Los nivels de oxigeno en los estanques fue de aproximadamente entre 90-100% saturación y 9-11 de concentración de oxigeno disuelto por litro.

Los muestreso de ATPasa branquial y sangre, para analisis de electrilotos plasmaticos fueron a 24(T1), 48(T2), 72(T3) y 96(T4) horas de puestos en agua de mar.

Tambien se considero el peso, la longitud, el factor K y las observaciones fenotipicas en cuanto a las marcas y coloracion de estos.

Las muestra de ATPasa branquial se analizaron siguiendo el protocolo PL-1, del laboratotio de la Universidad de los Lagos. Donde se extrae el primer arco branquial y se preserva en nitrogeno liquido para su posterior analisis.

Las muestras de sanngre, para los electroitos se tomaron con un corte diagonal proximo a la aleta caudal y mediante un capilar heparinizado se extrajo la sangre depositandola en tubos eppendorf. Luego se llevaron en un cooler a 4°c al laboratorio para su posterior analisis.

Para los analisis estadistico, se considero como variables predictoras ATPasa branquial y Tiempo, y nuestras variables respuestas son Na+, Cl- y K+

Analisis exploratorio de datos

Se cargo la carpeta de los datos resultados de nuestros analisis, con 50 observaciones de 10 variables.

Se realizo un resumen de los datos.

```
##
       Tiempo
                              N
                                             Obs
                                                                   Peso
##
    Length:50
                        Min.
                               : 1.00
                                         Length:50
                                                             Min.
                                                                     : 54.0
    Class :character
                                                             1st Qu.:108.5
##
                        1st Qu.:13.25
                                         Class : character
##
    Mode :character
                        Median :25.50
                                         Mode :character
                                                             Median :121.5
##
                        Mean
                               :25.50
                                                             Mean
                                                                     :127.4
##
                        3rd Qu.:37.75
                                                             3rd Qu.:140.2
                                                                     :222.0
##
                        Max.
                               :50.00
                                                             Max.
                                           ATPasa
##
       Longitud
                           K
                                                              K+
           :16.00
                            :0.8079
                                                                : 1.010
##
    Min.
                     Min.
                                       Min.
                                              :13.01
                                                        Min.
##
    1st Qu.:20.00
                     1st Qu.:1.0686
                                       1st Qu.:13.32
                                                        1st Qu.: 5.136
    Median :21.00
                     Median :1.2351
                                       Median :13.87
                                                        Median :11.143
##
           :21.81
                           :1.2367
                                              :14.35
    Mean
                     Mean
                                       Mean
                                                        Mean
                                                              : 9.914
    3rd Qu.:23.38
                     3rd Qu.:1.3491
                                       3rd Qu.:15.12
##
                                                        3rd Qu.:13.365
           :28.50
                            :2.1590
                                              :17.28
                                                                :23.740
##
    Max.
                     Max.
                                       Max.
                                                        Max.
##
                          C1-
         Na+
##
   Min.
           :115.9
                     Min.
                            :111.5
    1st Qu.:149.8
                     1st Qu.:145.9
##
##
   Median :178.0
                     Median :183.9
           :185.1
##
   Mean
                     Mean
                            :173.7
                     3rd Qu.:202.7
##
    3rd Qu.:215.3
##
    Max.
           :285.6
                     Max.
                            :238.3
```

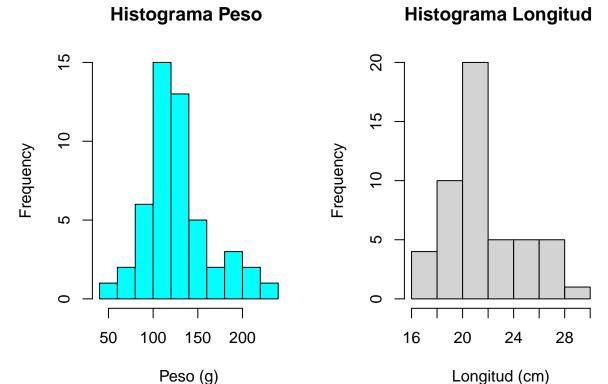
Luego se realizo un compilado de los datos y se transformo las variables de caracteres a factor.

```
## tibble [50 x 10] (S3: tbl_df/tbl/data.frame)
   $ Tiempo : chr [1:50] "TO" "TO" "TO" "TO" ...
   $ N
              : num [1:50] 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ...
##
              : chr [1:50] "P" "P" "P" "P" ...
##
   $ Obs
   $ Peso
              : num [1:50] 122 132 108 100 114 ...
##
   $ Longitud: num [1:50] 20 22.5 20 20.5 21 20.5 21.5 21.5 23.5 24.5 ...
##
   $ K
              : num [1:50] 1.52 1.16 1.35 1.16 1.23 ...
##
   $ ATPasa : num [1:50] 13.3 15.7 13.7 13.4 14.8 ...
   $ K+
              : num [1:50] 12 15.4 11.8 11.1 15.7 ...
              : num [1:50] 146 150 130 141 140 ...
##
   $ Na+
   $ C1-
              : num [1:50] 145 124 112 118 120 ...
## tibble [50 x 10] (S3: tbl_df/tbl/data.frame)
##
    $ Tiempo
             : Factor w/ 5 levels "T0", "T1", "T2", ...: 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 ...
   $ N
##
              : num [1:50] 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ...
##
   $ Obs
              : Factor w/ 2 levels "LMP", "P": 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 ...
              : num [1:50] 122 132 108 100 114 ...
##
   $ Peso
##
   $ Longitud: num [1:50] 20 22.5 20 20.5 21 20.5 21.5 21.5 23.5 24.5 ...
##
   $ K
              : num [1:50] 1.52 1.16 1.35 1.16 1.23 ...
   $ ATPasa : num [1:50] 13.3 15.7 13.7 13.4 14.8 ...
##
##
   $ K+
              : num [1:50] 12 15.4 11.8 11.1 15.7 ...
   $ Na+
              : num [1:50] 146 150 130 141 140 ...
```

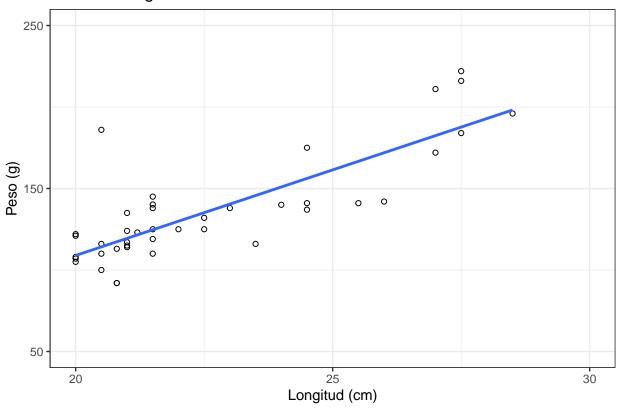
\$ C1-: num [1:50] 145 124 112 118 120 ...

Peso (g)

Luego se realizo un histograma y grafico de correlacion para las variables peso-longitud. Solamente para evaluar la correlacion entre estas, obteniendo los intervalos de confianza.



Peso vs Longitud

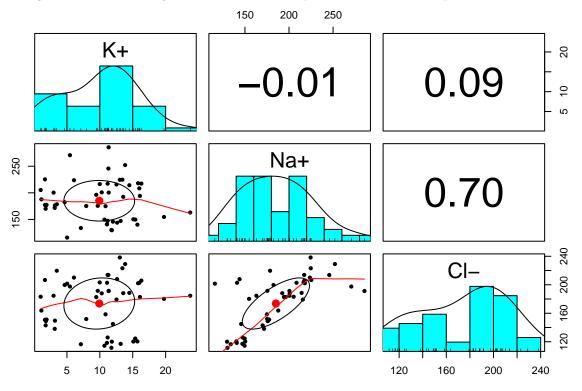


```
##
  [1] 0.8640919
##
##
    Pearson's product-moment correlation
##
## data: Datos_1$Longitud and Datos_1$Peso
## t = 11.894, df = 48, p-value = 6.437e-16
\#\# alternative hypothesis: true correlation is not equal to 0
## 95 percent confidence interval:
   0.7712418 0.9209376
## sample estimates:
##
         cor
## 0.8640919
## [1] 0.7712418 0.9209376
## attr(,"conf.level")
## [1] 0.95
```

Table 1: Prueba de hipotesis para el coeficiente de relacion Longitud y Peso

Test statistic	$\mathrm{d}\mathrm{f}$	P value	Alternative hypothesis	cor
11.89	48	6.437e-16***	two.sided	0.8641

Luego realizamos una grafica decorrelacion para las variables respuestas



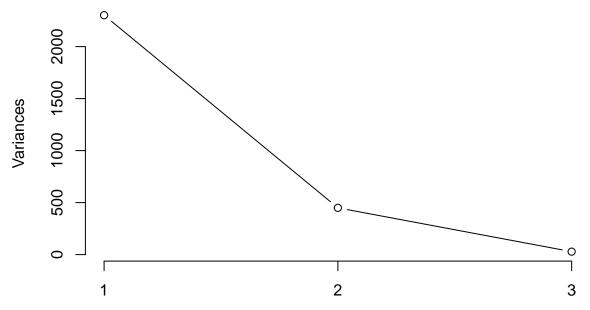
Se realizo un analisis de componentes principales con nuestras variables respuestas

```
##
        K+
             Na+
                   C1-
## 1 11.99 145.8 144.9
## 2 15.39 149.7 124.5
## 3 11.76 130.2 111.5
## 4 11.08 140.7 118.4
## 5 15.71 140.2 120.5
## 6 10.70 149.6 114.4
                                Cl-
##
           K+
                     Na+
     28.96286 1456.95341 1294.40496
##
## $multivariateNormality
              Test
                         HZ
##
                                  p value MVN
## 1 Henze-Zirkler 1.982795 1.468524e-07 NO
##
## $univariateNormality
             Test Variable Statistic
                                         p value Normality
##
## 1 Shapiro-Wilk
                     K+
                                0.9439
                                          0.0193
                                                    NO
## 2 Shapiro-Wilk
                                                    YES
                     Na+
                                0.9694
                                          0.2182
## 3 Shapiro-Wilk
                     C1-
                                0.9289
                                          0.0050
                                                    NO
##
## $Descriptives
##
                     Std.Dev
                              Median
                                         Min
                                                Max
                                                       25th
                                                                75th
                                                                            Skew
              Mean
                                                      5.136
                                                             13.365 -0.04373961
                    5.381715
                             11.143
                                        1.01 23.74
## K+ 50
            9.9138
## Na+ 50 185.1220 38.170059 177.990 115.88 285.60 149.850 215.345
## Cl- 50 173.6880 35.977840 183.900 111.50 238.30 145.900 202.650 -0.30460893
##
         Kurtosis
## K+ -0.6069976
```

```
## Na+ -0.3545583
## Cl- -1.2045139

## Standard deviations (1, .., p=3):
## [1] 47.981508 21.205337 5.331963
##
## Rotation (n x k) = (3 x 3):
## PC1 PC2 PC3
## K+ 0.0007529091 -0.03552926 -0.99936835
## Na+ 0.7374634989 0.67498008 -0.02344111
## Cl- 0.6753865714 -0.73698003 0.02670973
```

Datos_New_2



ccc

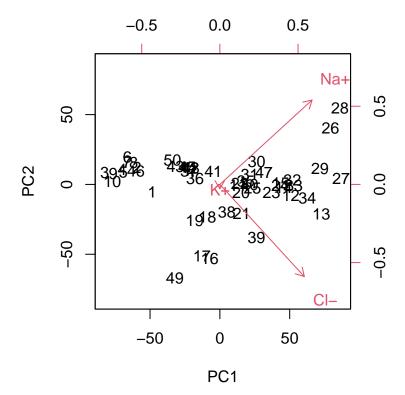
Importance of components:

PC1 PC2 PC3

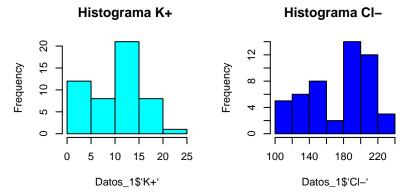
Standard deviation 47.982 21.2053 5.33196

Proportion of Variance 0.828 0.1617 0.01023

Cumulative Proportion 0.828 0.9898 1.00000



De las variables respuestas a utilizar, se les realizo un histograma



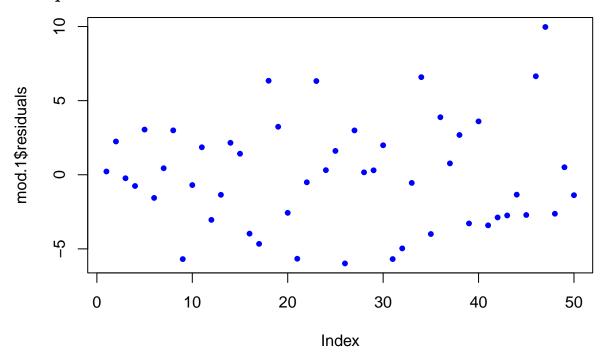
Se realizo un modelo lienal para cada variable respuesta, considerando la interaccion de nuestras variables predictoras.

```
##
## Call:
## lm(formula = Datos_1$`K+` ~ Datos_1$Tiempo:Datos_1$ATPasa)
##
## Residuals:
##
       Min
                1Q Median
                                        Max
##
   -5.9824 -2.7385 -0.0362
                            2.2225
                                     9.9695
##
## Coefficients:
##
                                    Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
## (Intercept)
                                     4.20792
                                                7.12486
                                                           0.591
                                                                    0.558
## Datos_1$TiempoTO:Datos_1$ATPasa 0.56961
                                                0.50217
                                                           1.134
                                                                    0.263
## Datos_1$TiempoT1:Datos_1$ATPasa 0.76417
                                                0.48911
                                                           1.562
                                                                    0.125
```

```
## Datos_1$TiempoT2:Datos_1$ATPasa 0.41878
                                               0.48085
                                                         0.871
                                                                  0.389
## Datos_1$TiempoT3:Datos_1$ATPasa 0.18340
                                                         0.365
                                                                  0.717
                                               0.50204
## Datos_1$TiempoT4:Datos_1$ATPasa 0.02356
                                               0.53269
                                                         0.044
                                                                  0.965
##
## Residual standard error: 3.849 on 44 degrees of freedom
## Multiple R-squared: 0.5407, Adjusted R-squared: 0.4885
## F-statistic: 10.36 on 5 and 44 DF, p-value: 1.307e-06
```

Analisis de supuestos

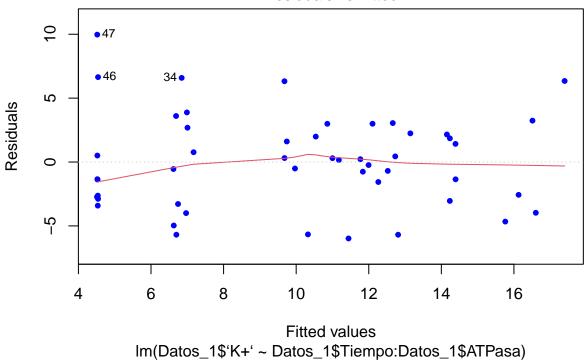
Independencia



```
##
## Durbin-Watson test
##
## data: Datos_1$`K+` ~ Datos_1$Tiempo + Datos_1$ATPasa
## DW = 2.1597, p-value = 0.9244
## alternative hypothesis: true autocorrelation is not 0
```

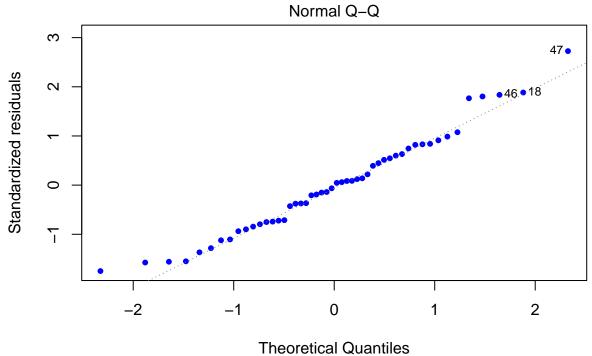
Homogeneidad de varianzas

Residuals vs Fitted



- ## Non-constant Variance Score Test
- ## Variance formula: ~ fitted.values
- ## Chisquare = 1.200943, Df = 1, p = 0.27313

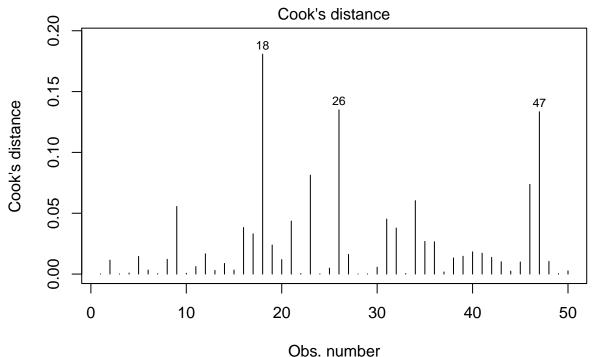
Normalidad



Im(Datos_1\$'K+' ~ Datos_1\$Tiempo:Datos_1\$ATPasa)

```
##
## Shapiro-Wilk normality test
##
## data: residuals(mod.1)
## W = 0.97166, p-value = 0.2701
```

Deteccion de valores atipicos



Im(Datos_1\$'K+' ~ Datos_1\$Tiempo:Datos_1\$ATPasa)

Elinacion de los valores atipicos

```
## # A tibble: 47 x 10
                                                           `K+` `Na+` `Cl-`
                                                K ATPasa
##
      Tiempo
                  N Obs
                            Peso Longitud
##
      <fct> <dbl> <fct> <dbl>
                                     <dbl> <dbl>
                                                   <dbl> <dbl> <dbl> <dbl>
##
    1 TO
                  1 P
                            122
                                      20
                                           1.52
                                                    13.3 12.0
                                                                 146.
                                                                        145.
    2 T0
                  2 P
                                                    15.7 15.4
##
                            132
                                      22.5 1.16
                                                                 150.
                                                                        124.
##
    3 T0
                  3 P
                            108
                                      20
                                            1.35
                                                    13.7 11.8
                                                                 130.
                                                                        112.
      T0
                  4 P
##
    4
                            100
                                      20.5 1.16
                                                    13.4 11.1
                                                                 141.
                                                                        118.
##
    5 TO
                  5 P
                            114
                                      21
                                           1.23
                                                    14.8 15.7
                                                                 140.
                                                                        120.
##
    6 T0
                  6 P
                            186
                                      20.5 2.16
                                                    14.1 10.7
                                                                 150.
                                                                        114.
##
    7 T0
                  7 P
                            138
                                      21.5 1.39
                                                    15.0 13.2
                                                                 147.
                                                                        117
##
    8
      TO
                    Ρ
                            140.
                                      21.5 1.41
                                                    13.9 15.1
                                                                 150.
                                                                        120.
##
    9 T0
                  9 P
                                      23.5 0.894
                                                    15.1 7.12
                                                                 134.
                                                                        116.
                            116
## 10 TO
                 10 P
                            141
                                      24.5 0.959
                                                    14.6 11.8
                                                                 130.
                                                                        120.
## # ... with 37 more rows
```

Analisis de nuestro modelo sin los outliers

```
##
## Call:
## lm(formula = Datos1$`K+` ~ Datos1$Tiempo:Datos1$ATPasa)
##
## Residuals:
## Min    1Q Median    3Q Max
## -6.4389 -1.6927 -0.3318    2.2207    7.7428
##
## Coefficients:
```

```
##
                                 Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
## (Intercept)
                                             6.89937
                                                       0.542
                                  3.73739
                                                                0.591
                                             0.48487
## Datos1$TiempoTO:Datos1$ATPasa 0.60230
                                                       1.242
                                                                0.221
## Datos1$TiempoT1:Datos1$ATPasa 0.73798
                                             0.48370
                                                       1.526
                                                                0.135
## Datos1$TiempoT2:Datos1$ATPasa 0.50400
                                             0.47414
                                                       1.063
                                                                0.294
## Datos1$TiempoT3:Datos1$ATPasa 0.21608
                                             0.48475
                                                       0.446
                                                                0.658
## Datos1$TiempoT4:Datos1$ATPasa -0.02076
                                             0.51341 - 0.040
                                                                0.968
## Residual standard error: 3.328 on 41 degrees of freedom
## Multiple R-squared: 0.6162, Adjusted R-squared: 0.5694
## F-statistic: 13.16 on 5 and 41 DF, p-value: 1.15e-07
```

Intervalos de confianza de nuestro modelo

```
##
                                    Estimate
                                                   2.5 %
                                                            97.5 %
## (Intercept)
                                  3.73739226 -10.1961592 17.670944
## Datos1$TiempoTO:Datos1$ATPasa 0.60230064
                                             -0.3769133 1.581515
## Datos1$TiempoT1:Datos1$ATPasa
                                 0.73797620
                                              -0.2388704
                                                         1.714823
## Datos1$TiempoT2:Datos1$ATPasa 0.50399669
                                              -0.4535490
                                                         1.461542
## Datos1$TiempoT3:Datos1$ATPasa 0.21608065
                                             -0.7628911
                                                          1.195052
## Datos1$TiempoT4:Datos1$ATPasa -0.02075865 -1.0576181 1.016101
```

Se realizo el modelo para cada variable perdictora de forma independiente.

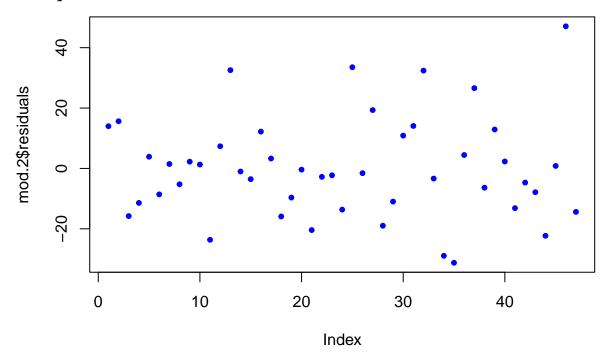
```
##
## Call:
## lm(formula = Datos1$`K+` ~ Datos1$Tiempo)
## Residuals:
##
     Min
             1Q Median
                           3Q
                                 Max
## -6.504 -1.695 -0.395 1.813 7.764
##
## Coefficients:
                  Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
##
## (Intercept)
                    12.385
                                1.037 11.938 4.38e-15 ***
## Datos1$TiempoT1
                    2.002
                                1.507
                                        1.328 0.191360
## Datos1$TiempoT2
                    -1.221
                                1.507 -0.810 0.422644
                    -5.646
## Datos1$TiempoT3
                                1.467 -3.848 0.000399 ***
## Datos1$TiempoT4
                    -8.963
                                1.507 -5.946 4.75e-07 ***
## Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
## Residual standard error: 3.281 on 42 degrees of freedom
## Multiple R-squared: 0.618, Adjusted R-squared: 0.5816
## F-statistic: 16.98 on 4 and 42 DF, p-value: 2.343e-08
##
## Call:
## lm(formula = Datos1$`K+` ~ Datos1$ATPasa)
##
## Residuals:
             1Q Median
                           3Q
                                 Max
## -7.928 -4.723 1.224 3.062 8.301
##
## Coefficients:
```

```
##
                Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
## (Intercept)
                 -8.9317
                             9.5932 -0.931
                                            0.3568
## Datos1$ATPasa
                                             0.0588 .
                 1.3017
                             0.6713 1.939
## ---
## Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
##
## Residual standard error: 4.926 on 45 degrees of freedom
## Multiple R-squared: 0.07711,
                                  Adjusted R-squared:
## F-statistic: 3.76 on 1 and 45 DF, p-value: 0.05879
El modelo dos, es para la segunda variable respuesta a estudiar.
##
## Call:
## lm(formula = Datos1$^Cl-` ~ Datos1$Tiempo:Datos1$ATPasa)
##
## Residuals:
##
      Min
               1Q Median
                              3Q
                                     Max
## -31.256 -11.199 -1.568
                            9.107 47.072
##
## Coefficients:
##
                                Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
## (Intercept)
                                251.990
                                            36.978
                                                    6.815 3.01e-08 ***
## Datos1$TiempoTO:Datos1$ATPasa
                                -9.121
                                             2.599 -3.510 0.0011 **
## Datos1$TiempoT1:Datos1$ATPasa
                                -3.470
                                             2.592 -1.339
                                                             0.1881
## Datos1$TiempoT2:Datos1$ATPasa
                                 -3.553
                                             2.541 -1.398
                                                           0.1696
## Datos1$TiempoT3:Datos1$ATPasa
                                -4.256
                                             2.598 -1.638 0.1090
## Datos1$TiempoT4:Datos1$ATPasa
                                -7.318
                                            2.752 -2.659 0.0111 *
## Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
##
## Residual standard error: 17.84 on 41 degrees of freedom
## Multiple R-squared: 0.7912, Adjusted R-squared: 0.7657
## F-statistic: 31.07 on 5 and 41 DF, p-value: 6.219e-13
```

Se siguio el mismo orden de los analisis anteriores

Evaluacion de supuestos

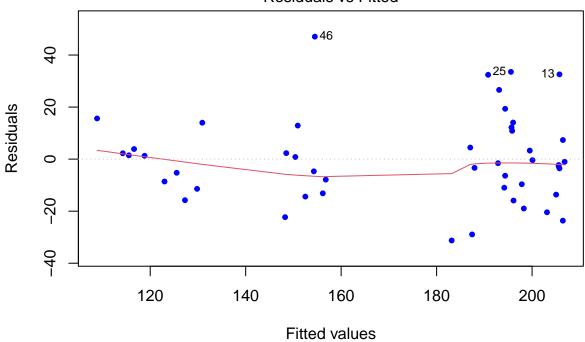
Independencia



```
##
## Durbin-Watson test
##
## data: Datos1$^Cl-` ~ Datos1$Tiempo + Datos1$ATPasa
## DW = 1.9179, p-value = 0.326
## alternative hypothesis: true autocorrelation is not 0
```

Homogeneidad de varianzas

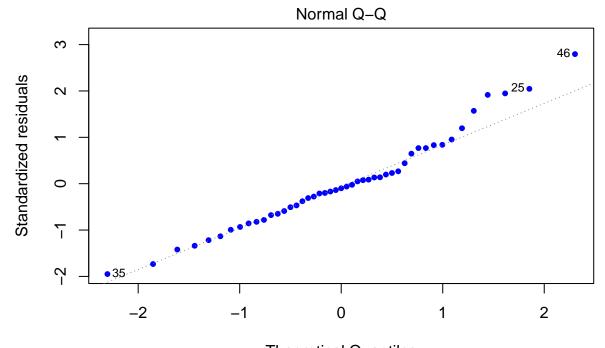
Residuals vs Fitted



Im(Datos1\$'Cl-' ~ Datos1\$Tiempo:Datos1\$ATPasa)

- ## Non-constant Variance Score Test
- ## Variance formula: ~ fitted.values
- ## Chisquare = 0.9898164, Df = 1, p = 0.31979

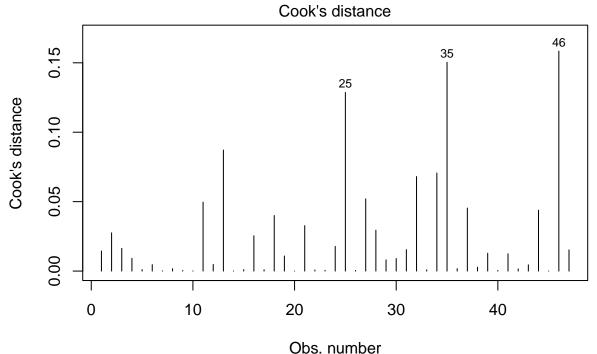
Normalidad



Theoretical Quantiles Im(Datos1\$'Cl-' ~ Datos1\$Tiempo:Datos1\$ATPasa)

```
##
## Shapiro-Wilk normality test
##
## data: residuals(mod.2)
## W = 0.96671, p-value = 0.1979
```

Deteccion de valores atipicos



Im(Datos1\$'Cl-' ~ Datos1\$Tiempo:Datos1\$ATPasa)

Eliminacion de los valores atipicos

```
## # A tibble: 44 x 10
##
                            Peso Longitud
                                                K ATPasa
                                                          `K+` `Na+` `Cl-`
      Tiempo
                  N Obs
##
      <fct> <dbl> <fct> <dbl>
                                     <dbl> <dbl>
                                                   <dbl> <dbl> <dbl> <dbl>
##
    1 TO
                  1 P
                            122
                                      20
                                           1.52
                                                    13.3 12.0
                                                                 146.
                                                                        145.
    2 T0
                  2 P
                                                    15.7 15.4
##
                            132
                                      22.5 1.16
                                                                 150.
                                                                        124.
                            108
##
    3 T0
                  3 P
                                      20
                                           1.35
                                                    13.7 11.8
                                                                 130.
                                                                        112.
      T0
                  4 P
##
    4
                            100
                                      20.5 1.16
                                                    13.4 11.1
                                                                 141.
                                                                        118.
##
    5 TO
                  5 P
                            114
                                      21
                                           1.23
                                                    14.8 15.7
                                                                 140.
                                                                        120.
##
    6 T0
                  6 P
                            186
                                      20.5 2.16
                                                    14.1 10.7
                                                                 150.
                                                                        114.
##
    7 T0
                  7 P
                            138
                                      21.5 1.39
                                                    15.0 13.2
                                                                 147.
                                                                        117
##
    8
      T0
                    Ρ
                            140.
                                      21.5 1.41
                                                    13.9 15.1
                                                                 150.
                                                                        120.
##
    9 T0
                  9 P
                                      23.5 0.894
                                                    15.1 7.12
                                                                 134.
                                                                        116.
                            116
## 10 TO
                 10 P
                            141
                                      24.5 0.959
                                                    14.6 11.8
                                                                 130.
                                                                        120.
## # ... with 34 more rows
```

Nuevo modelo sin los outliers

```
##
## Call:
## lm(formula = Datos2$`Cl-` ~ Datos2$Tiempo:Datos2$ATPasa)
##
## Residuals:
##
       Min
                 1Q
                     Median
                                 3Q
                                         Max
            -8.874
##
  -34.051
                      1.047
                              7.862
                                      33.509
## Coefficients:
```

```
##
                                Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
                                             32.062
                                                      7.478 5.59e-09 ***
## (Intercept)
                                 239.771
                                  -8.272
## Datos2$TiempoT0:Datos2$ATPasa
                                              2.251 -3.676 0.000729 ***
## Datos2$TiempoT1:Datos2$ATPasa
                                  -2.625
                                              2.245 -1.169 0.249571
## Datos2$TiempoT2:Datos2$ATPasa
                                  -3.031
                                              2.227
                                                     -1.361 0.181619
## Datos2$TiempoT3:Datos2$ATPasa
                                  -3.114
                                              2.288 -1.361 0.181609
## Datos2$TiempoT4:Datos2$ATPasa
                                  -6.844
                                              2.380 -2.876 0.006573 **
## ---
## Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
## Residual standard error: 14.62 on 38 degrees of freedom
## Multiple R-squared: 0.8597, Adjusted R-squared: 0.8413
## F-statistic: 46.59 on 5 and 38 DF, p-value: 3.422e-15
```

Intervalos de confianza

```
##
                                                2.5 %
                                                          97.5 %
                                  Estimate
## (Intercept)
                                 239.771352 174.864745 304.677959
## Datos2$TiempoT0:Datos2$ATPasa -8.272491 -12.828426 -3.716556
## Datos2$TiempoT1:Datos2$ATPasa
                                -2.624772
                                           -7.169061
                                                        1.919517
## Datos2$TiempoT2:Datos2$ATPasa
                                 -3.030572 -7.539273
                                                        1.478129
## Datos2$TiempoT3:Datos2$ATPasa
                                 -3.113838 -7.746308
                                                        1.518632
## Datos2$TiempoT4:Datos2$ATPasa -6.843940 -11.661842 -2.026037
```

Modelos lienales en ambas variables predictoras de forma independiente

```
##
## Call:
## lm(formula = Datos2$`K+` ~ Datos2$Tiempo)
##
## Residuals:
##
      Min
               1Q Median
                                3Q
                                      Max
## -6.1688 -1.5924 -0.5454 1.7583 7.9645
##
## Coefficients:
##
                  Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
## (Intercept)
                    12.385
                                 1.061 11.668 2.72e-14 ***
## Datos2$TiempoT1
                     2.002
                                 1.542
                                       1.298 0.201943
## Datos2$TiempoT2
                    -1.556
                                 1.592 -0.977 0.334370
## Datos2$TiempoT3
                    -5.779
                                 1.542
                                       -3.747 0.000578 ***
                                1.592 -5.755 1.13e-06 ***
## Datos2$TiempoT4
                    -9.163
## ---
## Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
## Residual standard error: 3.357 on 39 degrees of freedom
## Multiple R-squared: 0.615, Adjusted R-squared: 0.5755
## F-statistic: 15.57 on 4 and 39 DF, p-value: 1.073e-07
##
## Call:
## lm(formula = Datos2$`K+` ~ Datos2$ATPasa)
##
## Residuals:
     Min
             1Q Median
                            3Q
                                  Max
## -8.038 -5.410 1.301 3.125 8.222
```

```
##
## Coefficients:
## Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
## (Intercept) -9.3511 10.4731 -0.893 0.3770
## Datos2$ATPasa 1.3400 0.7361 1.820 0.0758 .
## ---
## Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
##
## Residual standard error: 5.018 on 42 degrees of freedom
## Multiple R-squared: 0.07312, Adjusted R-squared: 0.05105
## F-statistic: 3.313 on 1 and 42 DF, p-value: 0.07585
```

Interpretacion de resultados

Para la relacion longitud-peso, se encontro una realcion de estas

Los resultados obtenidos de la prueba, se observa que el valor p-valor = 6.437e-16 esmenor al nivel de significancion del 5%; concluyendo que hay evidencia estadisticaente significativa para rechazar H0. por lo tanto, la correlacion entre la longitud y el peso es distinta de cero.

El modelo 1 de nuestros analisis nos evidencian que el efecto de la interaccion Tiempo: ATPasa branquial, no son estadisticamente significativas, ya que p-valor es mayor al nivel de significancia del 5%. En consecuencia no hay evidencia para rechazar la hipotesis nula. Por lo tanto, no existen influencia de la interaccion ATPasa-Tiempo sobre los valores de K+ sanguineo de los ejemplares de S.salar.

El modelo tiene alta capacidad predictoria, ya que el valor de p = 1.307e-06, es menor al nivel de significancia, pero la bondad del ,odelo es baja (0.4885), por ende no es bueno el modelo.

Pero cuando se realizo el modelo con las variables predictoras de forma independientes cada una sobre K+, si existio diferencia estadisticamente significativas para los tiempos T3 y T4.

A la ves, en el primer modelo no se cumplieron los supuestos, pero una vez ajustado los datos y eliminado los outliers presentes, el modelo tuvo una mejor bondad y una alta capacidad de predecir.

Similarmete ocurrio con el modelo 2 de regresion, la interaccion ATPasa-Tiempo sobre la variable Cl- sanguineo, mostro que en la interaccion ATPasa y T0, al igual que ATPasa y T4 tuvo diferencas estadisticamente con respecto al resto de las interacciones.

Tambien nos evidencio que el efecto de la interaccion Tiempo: ATPasa branquial, son estadisticamente significativas, ya que p-valor es mayor al nivel de significancia del 5% (p= 6.219e-13). En consecuencia si hay evidencia para rechazar la hipotesis nula. Por lo tanto, existe influencia de la interaccion ATPasa-Tiempo sobre los valores de Cl- sanguineo de los ejemplares de S.salar.

El modelo tiene alta capacidad predictoria, ya que el valor de p = 6.219e-13, es menor al nivel de significancia y la bondad del modelo es alta (0.7657), por ende es bueno el modelo.

Una vez que se le elimino los outliers al modelo, aumento la bondad del modelo, manteniendo su alta capacidad predictoria y mejorando el modelo.

A la ves, cuando se realizo el modelo con las variables predictoras de forma independientes cada una sobre Cl-, si existio diferencia estadisticamente significativas para los tiempos T3 y T4, pero la ATPasa branquial sola, no tuvo efecto sobre el Cl-.

Conclusion

Podemos concluir, que los modelos utilizados en este proyecto bueron los apropiados para responder nuestra hipótesis, ya que tuvimos modelos con alta capacidad predictoria y con alta bondad del modelo.

A la vez pudimos responder nuestras hipotesis, concluyendo que la interaccion ATPasa y Tiempo de exposicion de los ejemplares a la salinidad elevada si influyen en los electrolitos plamaticos de CL-, Na+y K+., aunque en unos mas que en otros, provocando un aumento de estos.

Esto es escencial a la hora del traslados de los smolt al agua de mar, ya que nos asegura una buena chance de tener exito en la produccion.