



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE ACUICULTURA

**Determinación de la concentración letal de la saponina en el mejillón
Mytella strigata y su efecto en el camarón Litopenaeus vannamei**

**CABRERA CARRION JHON ANDRES
INGENIERO ACUICOLA**

**LEON CORDOVA ALISON MARIU
INGENIERA ACUICOLA**

**MACHALA
2023**



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE ACUICULTURA

**Determinación de la concentración letal de la saponina en el
mejillón *Mytella strigata* y su efecto en el camarón *Litopenaeus
vannamei***

**CABRERA CARRION JHON ANDRES
INGENIERO ACUICOLA**

**LEON CORDOVA ALISON MARIU
INGENIERA ACUICOLA**

**MACHALA
2023**



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE ACUICULTURA

PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN

**Determinación de la concentración letal de la saponina en el
mejillón *Mytella strigata* y su efecto en el camarón *Litopenaeus
vannamei***

**CABRERA CARRION JHON ANDRES
INGENIERO ACUICOLA**

**LEON CORDOVA ALISON MARIU
INGENIERA ACUICOLA**

SANTACRUZ REYES ROBERTO ADRIAN

**MACHALA
2023**

Tesis - León y Cabrera

por Alisson León

Fecha de entrega: 15-oct-2023 11:33p.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 2194333524

Nombre del archivo: TESIS_LEON_Y_CABRERA_TURNITIN.docx (8.52M)

Total de palabras: 12221

Total de caracteres: 62632

Tesis - León y Cabrera

INFORME DE ORIGINALIDAD

7%

INDICE DE SIMILITUD

5%

FUENTES DE INTERNET

1%

PUBLICACIONES

2%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	Submitted to Universidad Técnica de Machala Trabajo del estudiante	1%
2	cibnor.repositorioinstitucional.mx Fuente de Internet	1%
3	Submitted to Universidad de Córdoba Trabajo del estudiante	<1%
4	www.entornointeligente.com Fuente de Internet	<1%
5	agrotendencia.tv Fuente de Internet	<1%
6	www.tortugasmarinas.net Fuente de Internet	<1%
7	C. Antonio-Estrada, L. A. Bello-Pérez, C. E. Martínez-Sánchez, J. L. Montañez-Soto et al. " Producción enzimática de maltodextrinas a partir de almidón de malanga () Enzymatic production of maltodextrins from taro () starch ", CyTA - Journal of Food, 2009 Publicación	<1%

CLÁUSULA DE CESIÓN DE DERECHO DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL

Los que suscriben, CABRERA CARRION JHON ANDRES y LEON CORDOVA ALISON MARIU, en calidad de autores del siguiente trabajo escrito titulado Determinación de la concentración letal de la saponina en el mejillón *Mytella strigata* y su efecto en el camarón *Litopenaeus vannamei*, otorgan a la Universidad Técnica de Machala, de forma gratuita y no exclusiva, los derechos de reproducción, distribución y comunicación pública de la obra, que constituye un trabajo de autoría propia, sobre la cual tienen potestad para otorgar los derechos contenidos en esta licencia.

Los autores declaran que el contenido que se publicará es de carácter académico y se enmarca en las disposiciones definidas por la Universidad Técnica de Machala.

Se autoriza a transformar la obra, únicamente cuando sea necesario, y a realizar las adaptaciones pertinentes para permitir su preservación, distribución y publicación en el Repositorio Digital Institucional de la Universidad Técnica de Machala.

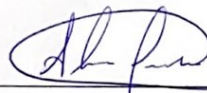
Los autores como garantes de la autoría de la obra y en relación a la misma, declaran que la universidad se encuentra libre de todo tipo de responsabilidad sobre el contenido de la obra y que asumen la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.

Aceptando esta licencia, se cede a la Universidad Técnica de Machala el derecho exclusivo de archivar, reproducir, convertir, comunicar y/o distribuir la obra mundialmente en formato electrónico y digital a través de su Repositorio Digital Institucional, siempre y cuando no se lo haga para obtener beneficio económico.



CABRERA CARRION JHON ANDRES

0706508512



LEON CORDOVA ALISON MARIU

0106261605

Dedicatoria

A mi madre, Olga Córdova, por su infinito amor y paciencia, es su apoyo incondicional que me permite esforzarme día a día. A mi padre Edwin, a quien desde mi infancia recuerdo como un apoyo en la persecución de mis sueños. A mis queridos hermanos, Dayana, Fabrizio y Keyla, mis seres de luz, quienes me han brindado tanto amor y compañía en cada etapa de mi vida.

A mi padrino Roque A., un ser a quien recuerdo con cariño desde mi infancia y quien, hasta el día de hoy, me ha brindado su apoyo de manera inquebrantable, su presencia en mi vida ha sido un regalo invaluable. A su esposa, Gladys, un ser humano hermoso que me ha comprendido y apoyado mi proceso académico. Por último pero no menos importante, a mi compañero y amigo, John, su apoyo constante y presencia en esta experiencia académica han sido invaluable. A mis seres queridos y amigos que con cada gesto, acción y palabra me han motivado. Gracias por ser mi inspiración.

Alison Mariu León Córdova

Dedicatoria

Esta tesis está dedicada con profunda gratitud y aprecio. A mis padres, John y Janeth, quienes han sido el sólido pilar de mi vida, guiándome con valores positivos y brindándome el coraje para nunca rendirme. A mis queridas hermanas, Melissa y Andrea, quienes siempre han estado a mi lado, cuidándome y apoyándome en cada decisión que he tomado. A todos mis familiares y amigos cercanos, que han sido un apoyo inquebrantable a lo largo de mi trayectoria académica.

No puedo pasar por alto el agradecimiento a mi compañera Alison, quien ha sido una constante fuente de apoyo a lo largo de nuestra carrera conjunta y una gran amiga durante todos estos años, sin olvidar que sus contribuciones han sido invaluable para la culminación de esta Tesis. Me llena de orgullo dedicar el fruto de mi esfuerzo a cada uno de ustedes. Gracias por siempre creer en mí y en mi capacidad a lo largo de este viaje.

John Andrés Cabrera Carrión

Agradecimiento

A Dios por la fortaleza y bendiciones que nos otorga día a día. Queremos expresar nuestro profundo agradecimiento a nuestras familias, ya que han sido un apoyo inquebrantable desde el inicio de nuestra formación académica. Siempre estuvieron pendientes de nosotros, brindándonos su apoyo de manera constante.

Además, deseamos agradecer de corazón a cada uno de los docentes que formaron parte de este proceso. Desde el primer día que comenzamos las clases, sus conocimientos han sido de gran valor tanto en el ámbito académico como en el laboral.

Para concluir, deseamos manifestar nuestra más sincera gratitud hacia nuestro tutor en esta obra, el Dr. Roberto Santacruz Reyes, quien ha sido una guía fundamental en el desarrollo de este trabajo. Asimismo, agradecemos muchísimo a todos los especialistas que desempeñaron un papel esencial en nuestro proyecto. Gracias a su valiosa ayuda y comprensión, logramos superar los obstáculos que se presentan en el camino. De igual manera, extendemos nuestro agradecimiento al Ing. Carlos Pezo, quien está a cargo del Laboratorio de Maricultura de la Facultad de Ciencias Agropecuarias. Gracias a su valiosa asistencia, pudimos llevar a cabo el proceso experimental sin cometer errores, lo que contribuyó a la producción de un trabajo de alta calidad, también un profundo agradecimiento al Laboratorio "Zarumalab" quienes fueron parte de este proceso y guía.

INDICE DE CONTENIDO

CAPÍTULO I.....	1
1.1 Introducción	1
1.2 Planteamiento del problema.....	2
1.1.2 Enunciamiento del problema	2
1.3 Formulación del problema	2
1.4 Justificación	3
1.5 Objetivos de la investigación	4
1.5.1. Objetivo general	4
1.5.2. Objetivos específicos	4
1.6 Hipótesis	4
2. CAPITULO II.....	5
2.1 Marco Teórico.....	5
2.2 Acuicultura.....	5
2.3 Camarón blanco (<i>Litopenaeus vannamei</i>).....	5
2.4 Ciclo de vida del camarón blanco	6
2.5 Cultivo de camarón blanco (<i>Litopenaeus vannamei</i>).....	7
2.5.1 Temperatura.....	8
2.5.2 Oxígeno	8
2.5.3 pH.....	8
2.6 Fitoplancton	9
2.7 Mejillón.....	9
2.8 Especie <i>Mytella strigata</i>	10
2.1.8 Origen de <i>Mytella sp</i>	11
2.2.8 Morfología de <i>Mytella sp.</i>	11
2.3.8 Alimentación del mejillón	11
2.4.8 Ecología del mejillón.....	12
2.5.8 Efecto de la presencia de mejillones en cultivo de camarón	12
2.9 Saponinas	12
2.1.9 Toxicidad de la saponina en organismos acuáticos	14
2.10 Concentración Letal Media (CL ₅₀).....	15
3. CAPITULO III.....	17
3.1 Materiales y Métodos.....	17

3.2	Tipo y diseño de Investigación	17
3.1.2	Tipo de investigación.....	17
3.3	Recolección de organismos (mejillones y camarones)	18
3.4	Técnica y recolección de información	19
3.5	Análisis estadísticos de los datos	19
3.1.5	Regresión lineal	19
3.2.5	Prueba Probit	19
3.6	Análisis estadístico para resultados.....	20
3.7	Materiales y Equipos.....	21
3.1.7	Materiales	21
3.2.7	Reactivos	21
3.3.7	Equipos	21
3.8	Ubicación del área de realización del estudio	21
3.9	Recolección de los organismos experimentales	22
3.10	Adquisición del agua de mar filtrada	22
3.11	Diseño Experimental	23
3.11.1.	Proceso previo a la experimentación	23
3.11.2.	Toma de muestras del estudio experimental.....	23
3.11.3.	Preparación de saponina	24
3.11.4.	Preparación de tratamientos.....	24
3.11.5.	Tratamientos utilizados en mejillón.....	25
3.11.6.	Tratamientos utilizados en camarón <i>L. vannamei</i>	25
3.12.	Monitoreo de las condiciones experimentales.....	26
3.12.1.	Ensayo de exposición aguda.....	26
3.12.2.	Test de Concentración	27
3.12.3.	Optimización de la metodología Semi-estática para la evaluación de toxicidad	27
4.	CAPITULO IV.....	28
4.1.	Resultados	28
4.1.1.	Monitoreo de la concentración de oxígeno disuelto	28
4.2.	Tasa de mortalidad de mejillones.....	30
4.3.	Tasa de mortalidad de Camarones	32
4.4.	Modelo Probit para la mortalidad de los organismos.....	34
5.	CAPITULO V	41

5.1. Discusión.....	41
5.2. CL ₅₀ para mejillones <i>Mytella strigata</i>	41
5.3. Efecto de la saponina en camarones <i>Litopenaeus vannamei</i>	42
6. CAPITULO VI.....	44
6.1. Conclusiones y Recomendaciones	44
6.1.1. Conclusiones.....	44
6.1.2. Recomendaciones	45
7. Referencias	46
ANEXOS.....	52

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Taxonomía de <i>Litopenaeus vannamei</i>	6
Tabla 2. Taxonomía de <i>Mytella strigata</i>	10
Tabla 3. Diseño experimental del bioensayo de toxicidad para de <i>Mytella strigata</i> (10 y 20 mm \pm 1 mm).....	18
Tabla 4. Diseño experimental del bioensayo de toxicidad para <i>Litopenaeus vannamei</i> (0,7 - 3 g \pm 0,1 g).....	18
Tabla 5. Características Físico-Químicas de saponina comercial	24
Tabla 6. Trazabilidad de Tratamientos y Condiciones de Observación en mejillones (10 y 20 mm \pm 1 mm).....	25
Tabla 7. Trazabilidad de Tratamientos y Condiciones de Observación en camarón (0.7 - 3 g \pm 0,1 g).....	26
Tabla 8. Control de O.D. (O ₂) en las peceras con mejillones de 20 \pm 1mm.....	28
Tabla 9. Concentración de Oxígeno disuelto (O ₂) en las peceras con mejillones de 10 \pm 0.1mm	29
Tabla 10. Concentración de Oxígeno disuelto (OD) en las peceras con camarón de 0,7 \pm 0,1 g.....	29
Tabla 11. Control de Oxígeno disuelto (OD) en las peceras con camarón <i>L. vannamei</i> de 3 \pm 0,1 g	30
Tabla 12. Porcentaje de mortalidad (promedio \pm DE) de <i>Mytella strigata</i> (10 \pm 1 mm) sometidos a diferentes dosis de saponinas durante 96 horas.....	31
Tabla 14. Porcentaje de mortalidad (promedio \pm DE) de <i>Litopenaeus vannamei</i> (0,7 \pm 0,1 g) sometidos a diferentes dosis de saponinas durante 96 horas	33
Tabla 15. Porcentaje de mortalidad (promedio \pm DE) de <i>Litopenaeus vannamei</i> (3 \pm 0,1 g) sometidos a diferentes dosis de saponinas durante 96 horas	33
Tabla 16. Datos Probit para <i>Mytella strigata</i> (10 \pm 1 mm) sometidos a diferentes dosis de saponinas durante 96 horas	34
Tabla 17. CL ₅₀ de saponina en diferentes intervalos de tiempo para <i>Mytella strigata</i> (10 mm)	35
Tabla 18. Datos Probit para <i>Mytella strigata</i> (20 mm) sometidos a diferentes dosis de saponinas durante 96 horas	36
Tabla 19. CL ₅₀ de saponina y límites de confianza mínimo y superior para <i>Mytella strigata</i> (20 mm)	37

Tabla 20. Datos Probit para <i>Litopenaeus vannamei</i> (0,7 g) sometidos a diferentes dosis de saponinas durante 96 horas.....	39
Tabla 21. CL ₅₀ de saponina y límites de confianza mínimo y superior para <i>Litopenaeus vannamei</i> (0,7 g)	40

TABLA DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1. Ciclo de producción del camarón blanco	7
Ilustración 2. Ubicación del laboratorio de la Universidad Técnica de Machala.....	22
Ilustración 3. Ubicación de la granja en donde se recolectan los organismos (mejillones y camarones)	22
Ilustración 4. Ubicación del laboratorio para la obtención del agua de mar filtrada	23
Ilustración 5. CL ₅₀ durante el tiempo de exposición de 24 a 96 horas de saponina sobre <i>Mytella strigata</i> (10 mm ± 1 mm).....	35
Ilustración 6. CL ₅₀ durante el tiempo de exposición de 24 a 96 horas de saponina sobre <i>Mytella strigata</i> (20 mm ± 1 mm).....	37
Ilustración 7. Comparación de CL ₅₀ entre mejillones de 10 mm vs 20 mm ± 0,1 mm en relación al tiempo (96 horas) y dosis (ppm) expuesta de saponina.....	38
Ilustración 8. CL ₅₀ durante el tiempo de exposición de 24 a 96 horas de saponina sobre <i>Litopenaeus vannamei</i> (0,7 g).....	39
Ilustración 9. Mejillón de 10 mm expuesto a los diferentes tratamientos	52
Ilustración 10. Preparación de los diferentes tratamientos para camarón de 3 g	52
Ilustración 12. Camarones siendo llevados a sus peceras de tratamientos	53
Ilustración 11. Camarón de 3 g expuesto a diferentes tratamientos	53
Ilustración 13. Camarones de 0,7 g con 0% mortalidad en 48 horas expuestos a 0,8 ppm de saponina.....	54
Ilustración 14. Muestras de la población de mejillones de 20 mm	54
Ilustración 16. 0% de letalidad en camarones de 3 g expuestos a dosis de ppm en 96 horas	55
Ilustración 15. Camarón de 3 g en su tratamiento control 0 ppm	55
Ilustración 17. Análisis de varianza de mejillones de 20 mm.....	56
Ilustración 18. Análisis de varianza de mejillones de 10 mm.....	56
Ilustración 19. Análisis de varianza de camarones de 0,7 g.....	56
Ilustración 20. Control de Oxígeno (O ₂) en las peceras con mejillones de 20 mm.....	57
Ilustración 21. Control de Oxígeno (O ₂) en las peceras con mejillones de 20 mm.....	57
Ilustración 22. Control de Oxígeno disuelto (O ₂) en las peceras con camarón blanco de 3 g ± 0.1 g	58
Ilustración 23. Control de Oxígeno disuelto (O ₂) en las peceras con camarón blanco de 0,7 g ± 0.1 g	58

Resumen

Este estudio buscó determinar la Concentración Letal Media (CL₅₀) de la saponina en el mejillón *Mytella strigata* y, como esta dosis afectaría al camarón *Litopenaeus vannamei*. Se llevaron a cabo experimentos cuantitativos utilizando 150 mejillones (10 y 20 mm) y 90 camarones (0,7 y 3 g), aplicando 5 tratamientos con diferentes dosis de saponina (0,4 – 0,6 – 0,8 – 1 – 1,2 ppm) con su respectivo control (0 ppm) por triplicado, durante un periodo de 96 horas. Los resultados se analizaron utilizando "Análisis de Regresión y Probit" en SPSS para calcular la CL₅₀. Los mejillones de ambas tallas mostraron un aumento en la mortalidad relacionada directamente con la concentración de saponina y el tiempo de exposición. En el caso de los mejillones de 10 ±1 mm se observó mortalidad del 100% en 72 horas a partir de una concentración de 1 ppm de saponina, y resultados similares se encontraron en el caso de los mejillones de 20 mm ± 1 mm. Por otro lado, en *L. vannamei* con peso de 0,7 g ± 0,1 g, dosis de saponina a 1 y 1,2 ppm resultaron en un aumento significativo de la mortalidad en respuesta al tiempo de exposición. En el caso de los camarones de 3 g ± 0,1 g, no mostraron mortalidad a ninguna de las dosis de saponina utilizadas. Los resultados obtenidos muestran que la CL₅₀ de saponina en mejillones fue de 0,4 y 0,49 ppm para organismos de 10 y 20 mm, respectivamente. Al someter a los camarones a las mismas dosis de saponinas, los organismos de 0,7 g, tuvieron una CL₅₀ de 2,27 ppm. Estos resultados sugieren que la saponina es efectiva para el control de poblaciones no deseadas de mejillones, y que es poco tóxica para camarones de 0,7 g, y no tóxica para camarones de 3 g. Esto respalda su potencial uso en la acuicultura, y especialmente en camaronicultura, sin que llegue a afectar a las especies cultivadas.

Palabras clave: Saponina, *Mytella strigata*, *Litopenaeus vannamei*, CL₅₀, Toxicidad.

Abstract

This study sought to determine the median lethal concentration (LC₅₀) of saponin in the mussel *Mytella strigata* and how this dose would affect the shrimp *Litopenaeus vannamei*. Quantitative experiments were carried out using 150 mussels (10 and 20 mm) and 90 shrimp (0.7 and 3 g), applying 5 treatments with different doses of saponin (0.4 - 0.6 - 0.8 - 1 - 1.2 ppm) with their respective control (0 ppm) in triplicate, during a period of 96 hours. The results were analyzed using "Regression and Probit Analysis" in SPSS to calculate the LC₅₀. Mussels of both sizes showed an increase in mortality directly related to saponin concentration and exposure time. In the case of 10 ± 1 mm mussels, 100% mortality was observed within 72 h from a concentration of 1 ppm saponin, and similar results were found in the case of 20 ± 1 mussels. On the other hand, in *L. vannamei* weighing 0.7 g, doses of saponin at 1 and 1.2 ppm resulted in a significant increase in mortality in response to exposure time. In the case of 3 g shrimp, they showed no mortality at any of the saponin doses used. The results obtained show that the LC₅₀ of saponin in mussels was 0.4 and 0.49 ppm for 10 and 20 mm organisms, respectively. When shrimp were subjected to the same doses of saponins, the 0.7 g organisms had an LC₅₀ of 2.27 ppm. These results suggest that saponin is effective in controlling unwanted mussel populations, and that it is slightly toxic to 0.7 g shrimp, and non-toxic to 3 g shrimp. This supports its potential use in aquaculture, and especially in shrimp farming, without affecting cultivated species.

Keywords: Saponin, *Mytella strigata*, *Litopenaeus vannamei*, LC₅₀, Toxicity.

CAPÍTULO I

1.1 Introducción

En Ecuador, el cultivo de camarón inició en la década de 1970, cuando las especies cultivadas *Litopenaeus vannamei* y *Litopenaeus stylirostris* siendo los crustáceos más comercializables, debido a que posee cualidades nutricionales y, sobre todo, facilitan su cultivo. A pesar del enorme alcance que ha adquirido el cultivo de camarón en el mundo de la acuicultura, ha traído consigo grandes consecuencias en todo el mundo debido a la sobreexplotación del medio ambiente natural y sus recursos.

Debido a la existencia de todos estos desequilibrios, han surgido plagas y/o enfermedades a lo largo de los años que han afectado el desarrollo y producción del camarón.

El cultivo efectivo de camarón requiere una prevención oportuna y un control efectivo durante toda la fase de producción, una forma es el monitoreo constante en el control de los organismos que puedan adherirse a los sustratos de las piscinas acuícolas, estos organismos son llamados invasores, especialmente al inicio de cada ciclo de crecimiento. Los mejillones son invasores difíciles de controlar porque son transportados a través de entradas de agua al inicio del proceso de cultivo, incluso se presentan en el proceso de cambio de agua, estos organismos tienen la capacidad de adaptarse y reproducirse rápidamente, se filtran en el agua al alimentarse de los nutrientes y fitoplancton presentes en el estanque, lo que genera problemas con el O.D (oxígeno disuelto), alteración del medio biológico, crecimiento e incluso mortalidad de los organismos clave de producción, cambios en el entorno biológico, crecimiento e incluso mortalidad de organismos de producción.

Las especies invasoras son una seria amenaza para la biodiversidad en el sector productivo, ya que tienen la capacidad de adaptarse fácilmente al medio y alterar la cadena biológica necesaria para el cultivo de especies, provocando enfermedades y/o pérdidas en la producción, además de provocar desequilibrios económicos e incluso mortalidad de cultivos si no se previenen a tiempo. Los impactos se producen tanto en la columna de agua como en el fondo marino y sus efectos pueden ser físicos, químicos y biológicos.

Los mejillones son invasores con alta capacidad de filtración, denominado *Mytella strigata*, donde absorben nutrientes, materia orgánica e incluso fitoplancton para poder alimentarse por filtración, lo que resulta ser un impacto negativo en la producción de camarón, porque absorbe todos los elementos necesarios para el desarrollo del camarón,

e incluso el fitoplancton, que es necesario para un desarrollo óptimo al alimentar a los camarones.

Por otro lado, las saponinas para uso comercial en acuicultura se utilizan como agentes de control/exterminio contra organismos no deseados que se adhieren fácilmente al medio de cultivo, ya sea en el agua, sustratos o incluso otros animales, como peces por ejemplo *Gambusia affinis*, cangrejos, mejillones, etc, que son organismos que pueden beneficiarse de la productividad primaria clave de *L. vannamei*, estos organismos con altas densidades de biomasa son perjudiciales para el buen funcionamiento del entorno de producción, incluso pueden competir por alimentos y/o espacio.

El objetivo principal es determinar la concentración letal media de la saponina mediante un diseño experimental para la estimación correcta de la dosis a manejar en el cultivo de *Litopenaeus vannamei*.

1.2 Planteamiento del problema

1.1.2 Enunciamiento del problema

En acuicultura, se ha revelado que la reproducción de especies invasoras provoca un desequilibrio en el ecosistema, causando enfermedades y pérdidas en la producción, por lo que, en los cultivos acuícolas, se utilizan ciertos productos para eliminar/controlar estas especies clasificadas como invasoras, el uso excesivo de ciertos productos puede afectar la producción e incluso cambiar el orden biológico del organismo en cultivo.

Otra problemática que se abarca dentro del estudio son los mejillones; siendo organismos potencialmente filtradores, dejan el agua del medio de cultivo sin productividad primaria, y por lo cual todos los nutrientes no serán utilizados por los organismos cultivados, incluso como consecuencia, el camarón está expuesto, posteriormente son atacados por depredadores.

Es importante conocer la concentración letal media de saponina para una producción/cultivo óptimo, por lo que es necesario un estudio experimental para determinar la dosis correcta a aplicar en el cultivo de *Litopenaeus vannamei*.

1.3 Formulación del problema

¿La aplicación de saponina para eliminar/controlar mejillones puede afectar a *L. vannamei*?

1.4 Justificación

El presente trabajo se justifica debido a la deficiente de información realizada en el campo a cerca de la saponina como agente exterminador/controlador en mejillones *Mytella strigata*, a causa de que son organismos invasores por su acción de agentes filtradores que eliminan la productividad primaria que es esencial para el correcto desarrollo de las piscinas acuícolas (Berrezueta et al., 2021).

El aumento constante de la producción acuícola ha permitido desarrollar estudios de alto interés sobre el efecto que tiene la saponina en la camaronicultura, con el objetivo de que los cultivos de estas especies no se vean afectados en su crecimiento y bienestar, por lo tanto, es importante notar que las saponinas pueden tener efectos deletéreos en organismos acuáticos, como la reducción de ingesta (Dawood et al., 2016).

Este producto, se clasifican como saponinas que son principios activos derivados de las plantas, que actualmente se encuentran comercializadas en el mercado de la acuicultura, a través del uso idóneo se puede obtener beneficios innumerables, sin embargo, la aplicación en dosis fuera del rango normal puede alterar el ciclo biológico de esta especie, produciendo una serie de complicaciones en las que se debe actuar de forma inmediata y con el apoyo de profesionales en el problema para remediar el daño ocasionado en el medio (Waller & Yamasaki, 1996).

Estas sustancias derivadas de origen vegetal sirven para protegerse a sí mismas, el clima es uno de los factores indispensables para su desarrollo, mencionado anteriormente, las saponinas son un metabolito secundario, que se encuentran de forma abundante en plantas del género *Chenopodiaceaea*, siendo uno de los principales anti-nutrientes que poseen, un claro ejemplo son las plantas de quínoa, donde las farmacéuticas han desarrollado este componente (García et al, 2018).

1.5 Objetivos de la investigación

1.5.1. Objetivo general

Determinar la concentración letal media (CL₅₀) de la saponina mediante un diseño experimental para estimar la dosis que afecta al mejillón *Mytella strigata* y su efecto en el camarón blanco *Litopenaeus vannamei*

1.5.2. Objetivos específicos

- Determinar la concentración letal media (CL₅₀) de la saponina en mejillones *Mytella strigata*.
- Analizar el efecto de la concentración letal de saponina previamente determinada en *Mytella strigata*, sobre *Litopenaeus vannamei*

1.6 Hipótesis

La saponina en el campo acuícola es usada como agente controlador/exterminador con dosis muy poco efectivas, al determinar la dosis letal media de la saponina se puede estimar el impacto que puede llegar a tener en los animales de cultivo acuático, con esto se analiza la dosis ideal para controlar a los mejillones (*Mytella strigata*).

CAPITULO II

2.1 Marco Teórico

La producción global de la acuicultura durante el año 2020 marcó un hito al llegar a 122,6 millones de toneladas, de las cuales 87,5 millones de toneladas correspondieron a animales acuáticos, valorados en 264.800 millones de dólares, mientras que 35,1 millones de toneladas se constituyeron en algas con un valor de 16.500 millones de dólares. Aproximadamente 54,4 millones de toneladas fueron cultivadas en entornos de aguas continentales, mientras que 68,1 millones de toneladas provinieron de la acuicultura en mares y costas (FAO, 2022).

La cría de camarones es uno de los segmentos de la acuicultura que está experimentando un crecimiento acelerado en Asia, Latinoamérica y, más recientemente, en África. La sostenibilidad en este ámbito requiere una acción tanto a corto como a largo plazo para reconocer y reducir los impactos en el entorno y la sociedad. Es fundamental garantizar la viabilidad económica y biológica a lo largo del tiempo, al mismo tiempo que se preservan los recursos costeros de los cuales esta actividad depende (FAO, 2022).

2.2 Acuicultura

La acuicultura se refiere a la cría y cultivo planificado de organismos acuáticos, como peces, mariscos, crustáceos y algas, en entornos controlados, con el propósito de obtener alimentos y otros productos acuáticos de manera sostenible y controlada (Parrado, 2016).

2.3 Camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*)

En 1931, Boone realizó la primera descripción del camarón patiblanco y lo identificó como *Penaeus vannamei*. No obstante, posteriormente, debido a la detección de sinonimias e inconsistencias en su clasificación, la especie fue trasladada a un nuevo género denominado *Litopenaeus*.

L. vannamei es un crustáceo decápodo (Tabla 1) que se distribuye principalmente en sistemas estuarinos de zonas tropicales y subtropicales desde el norte del Golfo de California, hasta Perú y las Islas Galápagos. Es una especie bentónica característica de fondos blandos, arcilloso-arenosos y se caracterizan por tener un color blanco transparente (Cobo y Pérez, 2018).

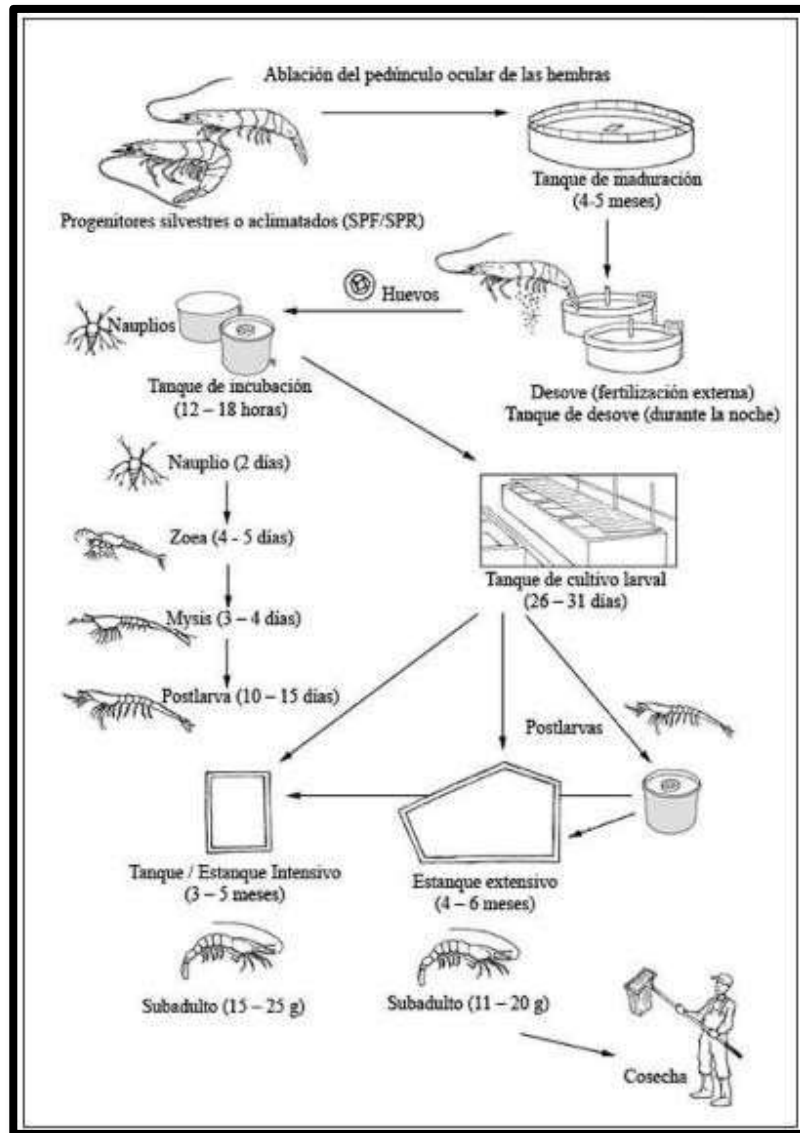
Tabla 1. Taxonomía de *Litopenaeus vannamei*

Reino	Animalia
Filum	Arthropoda
Subfilum	Crustacea
Clase	Malacostraca
Orden	Decapoda
Familia	Penaeidae
Género	<i>Litopenaeus</i>
Especia	<i>Litopenaeus vannamei</i>
Fuente:	Integrated Taxonomic Information System (2023)

2.4 Ciclo de vida del camarón blanco

El crustáceo posee antenas, periópodos (patas delanteras) y urópodos (cola), además de una cabeza alargada con 7 a 10 dientes dorsales y 2 a 4 dientes ventrales. En las hembras, los ovarios adquieren un tono verde, mientras que los machos depositan su esperma que fecunda los huevos de la hembra. Estos huevos evolucionan a través de diferentes etapas: nauplio, zoea y mysis, alcanzando eventualmente un estadio post-larva similar al de un camarón adulto. Estas post-larvas migran a los estuarios, donde la oferta abundante de alimento les brinda un entorno propicio para su desarrollo y llegan a pesar alrededor de 20 gramos, listos para su comercialización en un plazo de aproximadamente 3 a 4 meses. Con el propósito de la reproducción, las hembras requieren un caparazón blando y los machos un exoesqueleto rígido. La época de desove demanda condiciones cálidas y puede resultar en la puesta de 200,000 a 500,000 huevos. La vida útil del camarón abarca de 12 meses a 2 años, mostrando una resistencia adecuada a las condiciones de cautiverio y un crecimiento eficiente para la producción en masa. El proceso de producción del camarón abarca fases cruciales como cosecha, transporte y aclimatación, abordando aspectos fundamentales para la supervivencia y la producción eficaz del crustáceo, tanto en entornos marinos como estuarinos (Lara et al., 2015).

Ilustración 1. Ciclo de producción del camarón blanco



Fuente: Aquaculture (2002)

2.5 Cultivo de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*)

Ecuador es uno de los mayores exportadores mundiales de camarón transformándolo en uno de los principales productos de exportación no petrolero, de igual manera, es uno de los mayores productores de camarón en Latinoamérica, siendo el segundo producto que aporta significativamente a la economía en el país (Riega, 2020).

A lo largo de los años, la producción camaronera ha seguido desarrollándose de forma exponencial, pero cabe mencionar que la producción camaronera no está libre de riesgos y problemas que afecta económica y socialmente al país, el brote de enfermedades, depredadores, mala praxis, etc. han provocado pérdidas de productividad para el sector camaronero (Trujillo et al., 2017).

En el cultivo de camarón es indispensable tomar en cuenta ciertos criterios generales que son importantes en la etapa del cultivo, a continuación, se detalla estos requerimientos:

2.5.1 Temperatura

Un estudio realizado por Xu et al. (2018), demuestra que la temperatura optima varía mucho dependiendo la especie. En el caso del cultivo de *Litopenaeus vannamei* datan que una temperatura superior a 25°C, indica un nivel de supervivencia de hasta el 82.2% con condiciones óptimas en todo el periodo de cultivo.

La temperatura y salinidad en el crecimiento del camarón *L. vannamei* tienen un rol importante, por eso se deben tomar en cuenta todos los factores físicos, químicos y biológicos adecuados para el organismo a cultivar. Por eso, se sugiere los intervalos de temperatura de 30 - 35°C y de salinidad de 25-35, como rangos adecuados para su desarrollo (Bermudes et al., 2017).

2.5.2 Oxígeno

Uno de los parámetros más importantes a considerar en calidad de agua es el oxígeno, este parámetro es definitivo dentro de la camaronicultura, es importante considerar que los camarones son organismos poiquiloterms y la temperatura está relacionada con la tasa metabólica y esto se asocia con el consumo de oxígeno (Re et al., 2004).

Entonces, se considera mantener rangos de oxígeno disuelto de 4 a 7 mg/L, si estos rangos disminuyen los camarones requieren más energía para el proceso respiratorio lo que evidencia menor crecimiento, por el contrario, si los niveles de oxígeno superan el rango adecuado estos presentan deficiencias como la enfermedad de la burbuja donde su desarrollo es menor y los puede llevar hasta la muerte (Puente, 2009).

2.5.3 pH

Otro de los parámetros a considerar es el pH, este es un indicador del agua que nos permite determinar si esta es ácida o básica, para ello se requiere medir el pH mediante una escala que va en un rango de 0 a 14, y lo interpretamos de la siguientes manera; si el pH es inferior a 7 el agua es ácida, mientras que si el pH es superior a 7 significa que el agua es básica; para el cultivo óptimo de *Litopenaeus vannamei* el pH debe estar dentro del rango de 6 a 9, pero se ha evidenciado que hasta un pH de 5 no es nocivo para el camarón blanco (Paredes y Rodríguez, 2020).

2.6 Fitoplancton

En acuicultura es muy importante mantener algas benéficas en el medio de cultivo, estas son claves en la cadena trófica del sistema, pero es importante considerar que no todas las algas son buenas para el medio, existen algas que incluso causan las mareas rojas y generan un mal sabor en los organismos que se encuentren en ese medio (Valderrama et al., 2019).

También, el fitoplancton es importante mantener un nivel medio de densidad de fitoplancton, ya que si existe poca presencia ocasiona baja productividad primaria y crecimiento lento, por el contrario, si hay en exceso existen problemas serios en la piscina que puede llegar incluso a la muerte de la productividad (Ferrufino, 2013).

Si se tiene un buen nivel de productividad de fitoplancton, se ve beneficiado la productividad de *Litopenaeus vannamei*, por eso nace la importancia de controlar organismos capaces de alimentarse mediante filtración como lo son los mejillones, estos organismos perjudican la cadena trófica alterando el medio que es objetivo para el cultivo de camarón blanco (Martinez et al., 2020)

2.7 Mejillón

Los moluscos son organismos más diversos y abundantes, entre los más conocidos se encuentran los bivalvos cuya característica es la de ser filtradores, lo que les permite abrir y cerrar sus válvulas para alimentarse y respirar, sus branquias juegan un papel importante en su nutrición y respiración (Méndez, 2022).

Los mejillones son organismos bentónicos (Tabla 2) que se encuentran comúnmente en varias áreas de manglares alrededor del mundo, y esto se debe a la facilidad de dispersión que tienen en la etapa larvaria ya que son transportados por el mar, además de la capacidad de soportar diversas condiciones naturales, en esta etapa también sirven como alimento para organismos más grandes como peces o aves marinas (Suarez, 2022).

Los moluscos son moluscos bivalvos cuya característica es ser filtradores, además externamente se puede apreciar la presencia de dos válvulas que recubren su cuerpo, están conectadas por una charnela, lo que les permite abrir y cerrar sus válvulas para alimentarse y respirar (Signorelli, 2020).

Tabla 2. Taxonomía de *Mytella strigata*

Reino	Animalia
Filum	Mollusca
Clase	Bivalvia
Orden	Bivalvia
Familia	Mytilidae
Género	<i>Mytella</i>
Especia	<i>Mytella strigata</i>
Fuente: (Fundaciòn Charles Darwin, 2023)	

En su interior se encuentra su sistema muscular, así como sus branquias, que juegan un papel importante en su nutrición y respiración. Los mejillones también se han utilizado como un medio para reducir el exceso de nutrientes, especialmente en sistemas marinos con deficiencia de oxígeno, y como complemento de los programas tradicionales de tratamiento de aguas residuales debido a su capacidad de filtración (Naspiran et al., 2022).

2.8 Especie *Mytella strigata*

Esta especie de mejillón suele habitar en fondos fangosos de aguas poco profundas y rocas, donde prefiere conseguir fácilmente una gran cantidad de oxígeno y alimento. En la pesca son de gran interés económico y gastronómico, pero no son de gran valor nutricional, su dieta consiste en microalgas planctónicas, pero también son capaces de capturar partículas suspendidas en el agua, como microorganismos y metales pesados. Poseen una concha delgada, un ligamento opistodésico en la región cardinal y conservan un color verdoso a casi negro (Cordova, 2021).

Los estanques de cultivo de camarón son muy adecuados para esta especie por lo que tiene una buena supervivencia, estos se encuentran en criaderos de ostras, conchas, madera y raíces, pero los mejillones adultos son más comunes en sustratos hechos por el hombre, como muelles y centrales eléctricas. Teniendo en cuenta que se encuentran factores que afectan la supervivencia de *M. strigata* en cultivos suspendidos de bivalvos son variados, desde la presencia de epibiontes, la influencia de la depredación, la expansión del espacio y los competidores alimentarios (Diarte et al., 2013).

2.1.8 Origen de *Mytella sp.*

Los mejillones abundan en los mares templados y tropicales de todo el mundo, tanto en el hemisferio norte como en el sur. Son principalmente organismos marinos, aunque toleran una salinidad muy variable y habitan en aguas poco profundas sujetas a la influencia de las mareas. Los mejillones prefieren agua con un contenido mineral, porque necesitan carbonato de calcio para construir sus caparazones (Murillo, 2018).

Los bivalvos podrían ser un medio potencial de bio controlar, ayudando a reducir y eliminar los desechos de los organismos ambientales, por razones tanto ambientales como económicas, es razonable suponer que los bivalvos podrían integrarse en la piscicultura para reducir el impacto en el medio ambiente, que tiene el potencial de convertirse en un cultivo secundario valioso (Naspirán et al., 2022).

2.2.8 Morfología de *Mytella sp.*

Los moluscos bivalvos se caracterizan por no tener un cuerpo sólido y están compuestos por un caparazón que los protege como escudos, estos animales mudan y buscan corazas más espaciales para su desarrollo, estas especies presentan de dos valvas que recubren su cuerpo, en su interior se encuentra su sistema muscular, así como sus branquias, que juegan un papel importante en su nutrición y respiración (Buele, 2021).

2.3.8 Alimentación del mejillón

El principal proceso de alimentación de los moluscos bivalvos filtradores es el fitoplancton y zooplancton provocando el aclaramiento del agua, por lo que los procesos de selección de alimento también son importantes a la hora de cargar seston (organismos y materia orgánica no viva en un cuerpo de agua), donde la mayor parte del seston disponible es fitoplancton (Dután, 2022).

Es decir, se alimentan de aquellas sustancias que extraen del agua de mar que entra en su organismo a través de los cilios de las branquias. Los palpos de la boca distinguen entre las partículas que se tragan y las que se descartan. Una vez que el sistema digestivo ha seleccionado los nutrientes que necesita para su desarrollo, arroja todo lo que no necesita por las aberturas del manto (Fernández et al., 2007).

2.4.8 Ecología del mejillón

La morfología de algunas especies de bivalvos, presentes en los alrededores de filtraciones frías, desciende de especies mucho más pequeñas asociadas con desechos orgánicos hundidos en el fondo marino. Estas especies progenitoras viven en simbiosis con organismos capaces de extraer energía de compuestos químicos durante la descomposición de residuos orgánicos, teniendo en cuenta que el metabolismo de los moluscos bivalvos se manifiesta en aguas poco profundas, en las que fueron y siguen siendo heterótrofos, es decir, en algunas de estas especies reciben alimento a expensas de productos químicos debido a su relación simbiótica con las bacterias quimio autótrofas mencionadas anteriormente (Signorelli, 2020).

2.5.8 Efecto de la presencia de mejillones en cultivo de camarón

El mejillón de estudio es una especie de gran resistencia con fácil adaptación sea como invasora, introducida o especie nativa, teniendo gran tolerancia a temperaturas, con buena fecundación, reproducción y sobre todo tiene una buena adaptación a los sustratos donde se adhieren, con esa facilidad de reproducción representa una problemática en los cultivos de *Litopenaeus vannamei* donde se hace controles para evitar un desbalance de productividad primaria y no haya una alteración en el medio, que es clave para la supervivencia de organismo objetivo a cultivar por la principal razón de que los mejillones son organismos conocidos por ser organismos filtradores que generan una deficiencia de plancton necesario en la cadena trófica del medio de cultivo (Berrezueta et al., 2021).

2.9 Saponinas

Las saponinas son una gran familia de glucósidos anfifílicos de esteroides y triterpenos que se encuentran en plantas y algunos organismos marinos, al expresar una gran diversidad de estructuras tanto en las cadenas de azúcar, las saponinas exhiben una amplia gama de propiedades biológicas y farmacológicas, por sus principios activos importantes (Jiang et al., 2018).

Las saponinas son sustancias que tienen capacidad espumante en soluciones acuosas y son tensioactivos naturales. También tenemos los alcaloides, que son el grupo de productos naturales, este grupo incluye sustancias tóxicas en pequeñas dosis. Son sensibles a la luz y al calor, están estabilizados con ácidos inorgánicos y se encuentran en forma de sales (Siccha, 2019).

El aislamiento de saponinas de fuentes naturales suele ser una tarea formidable debido a la micro heterogeneidad de las saponinas en la naturaleza, la síntesis química puede proporcionar acceso a grandes cantidades de saponinas naturales, así como a sus congéneres, para comprender sus relaciones estructura-actividad y mecanismos de acción (Jiang et al., 2018).

La estructura de la saponina muestra los componentes sin azúcar y azúcar se denominan aglicona y glucosa, respectivamente. La porción de aglicona está compuesta por un esqueleto triterpenoide o esteroide. L-arabinosa, D-xilosa, D-glucosa, ácido D-glucurónico, D-galactosa, L-ramnosa y D-fructosa se encuentran entre los azúcares constituyentes de las saponinas. El resto de azúcar se une a la aglutina a través de un enlace glicosídico de éster o éter en uno o dos sitios de glicosilación (Moghimipour y Handali, 2015).

La aglicona puede contener uno o más enlaces C-C insaturados. Estos compuestos se pueden obtener de algún organismo marino como estrellas de mar, esponjas y pepinos de mar. Las saponinas también se encuentran en las secreciones defensivas de ciertos insectos. Las dos principales fuentes comerciales de saponinas son *Yucca schidigera* y *Quillaja saponaria* (Moghimipour y Handali, 2015).

Las saponinas contienen un esqueleto de triterpenos o esteroides, su identificación radica en la formación de espuma, esto se debe a que estos compuestos son tensioactivos y, además, en altas concentraciones pueden tener efectos perjudiciales para los organismos acuáticos, como la reducción de la ingesta, la inhibición de la absorción de nutrientes activos, la reducción de la fertilidad y la digestibilidad de las proteínas (Quillay et al., 2017).

La actividad antiinflamatoria se debe a que probablemente las saponinas ejercen su efecto inhibiendo la ciclooxigenasa en los leucocitos, y el efecto antioxidante se debe a la activación de la 5-lipoxigenasa. Las saponinas son especialmente tóxicas para los animales de sangre fría, y se propone como mecanismo de acción del biocida la pérdida de agua, un cambio en la permeabilidad de la membrana del molusco, que puede causar la muerte cuando se afectan las mucosas de las branquias (Quillay et al., 2017).

2.1.9 Toxicidad de la saponina en organismos acuáticos

Los piscicultores suelen utilizar saponinas para erradicar peces depredadores y competidores en el cultivo de camarones. Las saponinas de semillas del té pueden interactuar con la membrana de los eritrocitos, causando que esta se desintegre y la célula se dañe (Maciej et al., 2013).

Las saponinas no resisten los cambios de pH, por lo que provoca ruptura del enlace glucosídico liberando azúcares y sapogeninas, es utilizado para cuantificar y prevenir la formación de saponinas (Balseca, 2019).

Las saponinas pueden reducir la tensión superficial entre el agua y las branquias, lo que induce hemólisis, lo que inhibirá la absorción de oxígeno por las branquias. Eventualmente, los peces mueren lentamente debido a la falta de oxígeno y la toxicidad que obtiene la saponina por la salinidad del medio (Maciej et al., 2013).

La saponina se usa comúnmente para erradicar peces competidores y depredadores en estanques a razón de 200 kg/ha para estanques de camarones y de 200-250 kg/ha para el cultivo de langostas de agua dulce. En general, la dosis de saponina utilizada varía mucho, de 150 a 300 kg/ha, llegando incluso algunos a 555,6 kg/ha (Casanova et al., 2023).

Las saponinas son compuestos orgánicos que forman parte de los saponósidos, los cuales se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza. Estas sustancias tienen un sabor amargo y un color característico acre. Pueden destruir los glóbulos rojos a través de un proceso llamado hemólisis y son venenosas para los animales de sangre fría, utilizándose como veneno para peces (Coello, 2015).

En cuanto a los animales de sangre caliente, son tóxicos cuando se administran por vía intravenosa, pero su toxicidad es muy baja si se ingieren por vía oral. Además, son solubles en disolventes polares, pero no en aquellos de baja polaridad, como el hexano o el cloroformo. Su comportamiento se ve influenciado por el pH de la solución, ya que a niveles elevados de pH experimentan hidrólisis, dando lugar a saponinas de menor peso molecular (Coello, 2015).

Gamboa (2008) también menciona acerca del uso de la saponina para el control en bivalvos, en relación al mejillón azul (*Mytilus edulis*) y mejillón cebra (*Dressena polymorpha*) siendo un producto clave para su control y exterminación en organismos no deseados en medios de cultivos acuícolas.

El estudio del efecto tóxico de la saponina, demuestra que no se evidenció la muerte de pequeños crustáceos como cangrejos o jaibas, considerando así que no tiene un efecto negativo en los mismos. Sin embargo, en peces tuvo un efecto letal provocando su

mortalidad, por esto es recomendable el uso de la saponina para evitar la propagación de organismos invasores en un medio controlado de cultivo. Este producto puede causar un cambio de pH a niveles bajos, pero son niveles que se pueden remediar con el uso de ácidos orgánicos para mejorar su acción (Urgilés Pineda & Osorio Cevallos, 2015).

En algunas investigaciones se destaca la utilización de las saponinas triterpénicas liofilizadas obtenidas de los pericarpios de *Sapindus saponaria L.* como efecto letal molusquicida. Los resultados de este estudio son notables, demostrando una letalidad del 100% en un lapso de 24 horas a una concentración de 320 ppm, y de la misma forma, a una concentración de 220 ppm en un lapso de 48 horas (Amambal Cholán & Vega Alarcón, 2017).

2.10 Concentración Letal Media (CL₅₀)

La Concentración Letal Media (CL₅₀) es una medida utilizada para evaluar la toxicidad de una sustancia en organismos vivos, como animales acuáticos en este caso. Se refiere a la concentración de una sustancia que causa la muerte del 50% de los organismos de prueba en un período de tiempo determinado. En otras palabras, la CL₅₀ es el punto en el que la mitad de los organismos expuestos a la sustancia mueren, mientras que la otra mitad sobrevive (Hayes y Landis, 2004).

Para calcular la CL₅₀, se realizan experimentos en los que los organismos de prueba se exponen a diferentes concentraciones de la sustancia en cuestión durante un período de tiempo específico. Se registran las respuestas biológicas, como la mortalidad, y luego se utiliza un análisis estadístico para determinar la concentración en la que se alcanza el 50% de mortalidad.

La CL₅₀ es una herramienta importante en la evaluación de la toxicidad de sustancias, ya que proporciona información sobre la dosis en la que un producto químico tiene un efecto perjudicial significativo en los organismos. Esto es esencial para comprender los posibles riesgos ambientales y para establecer límites de exposición seguros en diversas aplicaciones, incluida la acuicultura. La CL₅₀ permite a los investigadores y reguladores estimar la potencial peligrosidad de una sustancia y tomar decisiones informadas para proteger la salud de los organismos y la sostenibilidad de los ecosistemas acuáticos (Harmsen, 2007).

En este trabajo se utilizó saponinas triterpénicas liofilizadas para establecer un efecto letal molusquicida, donde se demostró una letalidad del 100% en caracoles con dosis de 320 y 220 ppm en 24 y 48 horas respectivamente, entonces, establecieron una Concentración Letal Media (CL₅₀) de 80 ppm a las 48 horas. Estos hallazgos refuerzan la prometedora perspectiva de las saponinas como un método eficaz y de bajo impacto ambiental para el control de especies acuáticas no deseadas (Amambal Cholán & Vega Alarcón, 2017).

CAPITULO III

3.1 Materiales y Métodos

El presente estudio tiene un enfoque cuantitativo debido a que permite medir con precisión y objetividad la cantidad de saponina requerida para causar un efecto letal en los organismos estudiados (mejillón y camarón). Este enfoque implica la aplicación de diferentes concentraciones de saponina y el seguimiento de las respuestas biológicas en términos de mortalidad, recopilando datos numéricos que pueden someterse a análisis estadísticos para determinar de manera cuantitativa la concentración letal de la sustancia en cuestión. El enfoque cuantitativo garantiza una evaluación precisa de los efectos tóxicos y proporciona una base sólida para la toma de decisiones en cuanto a la seguridad y el manejo de estas especies marinas en un entorno científico y ambiental.

(Hernández et al., 2018), mencionan que el enfoque cuantitativo se basa en la adquisición y el examen de datos con el propósito de abordar interrogantes de investigación y verificar hipótesis previamente definidas. Este método se apoya en la cuantificación numérica, la enumeración y a menudo recurre al uso de técnicas estadísticas para identificar de manera precisa los patrones de comportamiento dentro de una población.

3.2 Tipo y diseño de Investigación

3.1.2 Tipo de investigación

Se decidió llevar a cabo una investigación cuantitativa, en el cual se describirán detalladamente las concentraciones de saponina utilizadas, así como los efectos observados en ambos organismos. La descripción de los resultados es esencial para entender la relación entre la concentración de saponina y la mortalidad de los organismos. Como argumentan (Plaza et al., 2019), este método hace uso de herramientas informáticas, estadísticas y matemáticas para obtener resultados precisos y se encuentra principalmente en las ciencias formales como la lógica, matemáticas, estadística y computación, aunque es menos común en las ciencias fácticas como la física, química, biología y economía.

3.3 Recolección de organismos (mejillones y camarones)

Se utilizaron 150 mejillones y 90 camarones, donde se tomó en cuenta a un grupo control y cinco grupos con tratamientos diferentes de saponina (ppm), las cuales fueron evaluadas en un lapso de 96 horas como lo indican las Tablas 3 y 4.

Cabe destacar que se tomó en consideración el tamaño de 10 mm y 20 mm \pm 1 mm para mejillones (Tabla 3). De la misma manera se consideró a los camarones, pero en relación a su peso \pm 0,1 g y se trabajaron con estos organismos que tengan un peso de 0,7 g y 3 g (Tabla 4). Adicionalmente, en dichas tablas se observan las distribuciones de los organismos para cada tratamiento.

Pastor (2019) manifiesta que la población y muestra son elementos disponibles o unidades de análisis que pertenecen al contexto específico en el que se lleva a cabo la investigación.

Tabla 3. Diseño experimental del bioensayo de toxicidad para de *Mytella strigata* (10 y 20 mm \pm 1 mm)

Tratamientos	Dosis (ppm)	Réplicas	Número de individuos observados
A (control)	0	3	10
B	0,4	3	10
C	0,6	3	10
D	0,8	3	10
E	1	3	10
F	1,2	3	10

Fuente: (Propia, 2023)

Tabla 4. Diseño experimental del bioensayo de toxicidad para *Litopenaeus vannamei* (0,7 - 3 g \pm 0,1 g)

Tratamientos	Dosis (ppm)	Réplicas	Número de camarones observados
A (control)	0	3	6
B	0,4	3	6
C	0,6	3	6
D	0,8	3	6
E	1	3	6
F	1,2	3	6

Fuente: (Propia, 2023)

3.4 Técnica y recolección de información

Para la recolección de información dentro de esta investigación se empleó la técnica de diarios y registros personales para documentar los efectos observados en los organismos expuestos, el objetivo principal del estudio es recopilar datos cuantitativos (organismos muertos) para determinar con precisión las concentraciones de saponina en las que se produce la letalidad en los mejillones y camarones, lo que implica mediciones numéricas y análisis estadísticos de resultados para llegar a conclusiones cuantitativas significativas.

3.5 Análisis estadísticos de los datos

3.1.5 Regresión lineal

En esta investigación las relaciones entre dosis y mortalidad para cada talla/peso se calcularon a través de análisis de regresión lineal con el propósito de establecer una relación cuantitativa entre la variable dependiente (porcentaje de mortalidad) y la variable independiente (concentración por tratamiento). Esto permite entender cómo varía la mortalidad en función de la concentración.

López y Fachelli (2016) describen a este método estadístico como el análisis de la conexión entre variables que se han medido utilizando una escala cuantitativa. Este análisis busca identificar una relación de dependencia entre estas variables, donde un conjunto se considera como variables criterio, dependientes o explicadas, y el otro conjunto se considera como variables predictivas, independientes o explicativas. En esencia, se trata de un enfoque estadístico que explora cómo las variables cuantitativas se relacionan entre sí, con algunas variables consideradas como resultado o dependientes, mientras que otras se utilizan para predecir o explicar esos resultados.

3.2.5 Prueba Probit

Los valores de concentración letal 50 (CL_{50}) para mejillones y camarones fueron obtenidos utilizando el software SPSS y aplicando el modelo Probit, se aplicó este modelo debido a que se basa en técnicas de probabilidad y puede estimar valores que siguen una distribución logarítmica de tolerancia. Transforma el porcentaje de organismos muertos en unidades Probit, lo que facilita un ajuste más preciso de la línea de regresión en relación con la concentración o el tiempo en unidades Probit. Esto es especialmente

relevante cuando se necesita estimar la concentración o el tiempo necesarios para lograr efectos específicos en la población, como la CL₅₀.

Un modelo Probit es una herramienta estadística que se utiliza para analizar y modelar la probabilidad de eventos binarios o categóricos en función de variables independientes, y se basa en la función de distribución acumulativa normal estándar (función Probit) para describir esta relación (Forero, 2018).

Es esencial utilizar ambos análisis para obtener una comprensión completa de la relación entre la concentración y la mortalidad en la investigación.

Para obtener su valor también se puede utilizar la siguiente ecuación logarítmica:

$$CL\ 50 = \frac{(X - B)}{A}$$

Donde:

CL 50 = Concentración de toxicidad

X = 5, 10 múltiplos de 5 en relación al tamaño de la muestra

A = el valor de la intersección de regresión

B = el valor de la variable de regresión

Bliss (1934) desarrolló el modelo Probit en la década de 1930, y contribuyó significativamente al campo de la estadística y la probabilidad. Su trabajo en el modelo Probit ha sido ampliamente utilizado en análisis de toxicidad y en estudios que involucran respuestas binarias o categóricas.

El modelo Probit se complementa a menudo con métodos estadísticos como el Método de Spearman-Kärber para calcular intervalos de confianza del 95% alrededor de la CL₅₀ y otros valores. El Método de Spearman-Kärber recopila los datos de supervivencia o mortalidad de organismos expuestos a diferentes concentraciones de una sustancia. Luego, se calcula la probabilidad de supervivencia o mortalidad para cada concentración y se ajusta una curva o realiza una regresión lineal. La CL₅₀ se estima como la concentración en la que la probabilidad de supervivencia o mortalidad alcanza el 50%, y se pueden calcular intervalos de confianza para evaluar la precisión de esta estimación. Este método es fundamental en la evaluación de la toxicidad de sustancias químicas y medicamentos (Kuswanto et al., 2020).

3.6 Análisis estadístico para resultados

Los resultados fueron tratados con el programa SPSS statistics 22 y se aplicaron los métodos de regresión lineal, análisis de varianza y modelo Probit para el cálculo de

concentración letal media (CI_{50}) de test de toxicidad a diferentes concentraciones de saponina para determinar una diferencia significativa entre las medias de dos grupos de acuerdo al establecimiento de la hipótesis de investigación. La prueba se realizó para un intervalo de confianza del 95 %.

El software SPSS (Statistical Product and Service Solutions) es una herramienta que ofrece un entorno de modelado estadístico eficiente, permitiendo el análisis de datos de diversos niveles de complejidad mediante técnicas analíticas probadas (Quezada, 2014).

3.7 Materiales y Equipos

3.1.7 Materiales

- Peceras de 4 litros (18 unidades) y de 16 litros (18 unidades).
- Calibrador digital
- Mangueras para aireadores
- Recipientes de plástico de 40 litros
- Piedras difusoras
- Canecas

3.2.7 Reactivos

- Saponina comercial (Proserur al 65%).
- Agua de mar filtrada (5 μ m)

3.3.7 Equipos

- Balanza digital
- Micropipeta
- Aireadores
- Salinómetro
- pHmetro

3.8 Ubicación del área de realización del estudio

La investigación se ejecutó en el laboratorio de Maricultura de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Técnica de Machala.

Ilustración 2. Ubicación del laboratorio de la Universidad Técnica de Machala

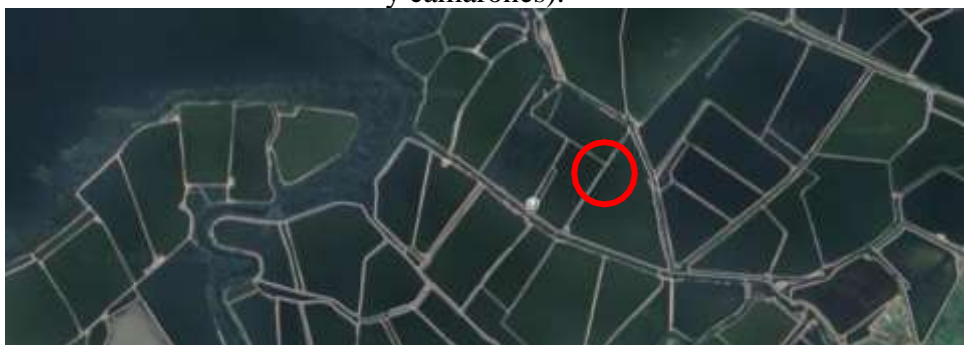


Fuente: (Google Maps, 2023)

3.9 Recolección de los organismos experimentales

La recolección de los mejillones y camarones se realizó en la granja camaronera Acuícola Camaroncorp, piscina #10 con un área de 6 hectáreas, ubicada en Puerto Grande, ciudad de Machala.

Ilustración 3. Ubicación de la granja en donde se recolectan los organismos (mejillones y camarones).



Fuente: (Google Maps, 2023)

3.10 Adquisición del agua de mar filtrada

El agua filtrada fue adquirida del Puerto Bolívar, del laboratorio de larvas Zarumalab S.A. Esta agua fue tratada por un filtro mecánico compuesto por arena, piedra pómez, carbón y conchilla, luego de este proceso pasa por una malla de 5 micras.

Ilustración 4. Ubicación del laboratorio para la obtención del agua de mar filtrada



Fuente: (Google Maps, 2023).

3.11 Diseño Experimental

3.11.1. Proceso previo a la experimentación

Previo a la fase experimental, se llevó a cabo un cuidadoso proceso de preparación donde se incluye la evaluación del tamaño y peso de los organismos seleccionados, donde uno de los parámetros críticos que consideramos para el monitoreo de las condiciones del medio ambiente fue la concentración de oxígeno disuelto (OD) en el agua.

Por lo cual, se llevó a cabo un proceso completo de preparación del agua de mar filtrada. Inicialmente, se recogió en el laboratorio de larvas "Zarumalab" y posteriormente se trasladó al laboratorio de "Maricultura" de la FCA. Antes de colocar los organismos en las peceras, el agua fue sometida a un proceso de saturación de oxígeno durante un período de 24 horas.

3.11.2. Toma de muestras del estudio experimental

En cuanto a la muestra de organismos (mejillones y camarones), fueron recolectados en la camaronera "Camaroncorp" y posteriormente trasladados al laboratorio de "Maricultura" de la FCA. En este proceso se llevó a cabo en 4 momentos diferentes. EL primero fue para la adquisición de mejillón, de $20 \text{ mm} \pm 1 \text{ mm}$, el segundo para obtener

mejillón de $10 \text{ mm} \pm 1 \text{ mm}$, el tercer momento se enfocó en obtener camarones con peso de $3 \text{ g} \pm 0.1 \text{ g}$ y el último momento fue para adquirir tallas de $0.7 \text{ g} \pm 0.1 \text{ g}$ en camarón. Para cada momento se trató de optimizar las condiciones del entorno de vida de los organismos por talla y peso, estos organismos fueron sometidos a un periodo de aclimatación de 24 horas en una espaciosa tina con suficiente agua, adicional a esto se utilizó aireadores para garantizar un buen suministro de oxígeno al medio. Este detallado procedimiento se llevó a cabo para asegurar que los organismos se encontraban en condiciones óptimas antes de la implementación de los tratamientos.

3.11.3. Preparación de saponina

Se utilizó saponina comercial y se realizó las diferentes disoluciones líquidas tomando en cuenta la ficha comercial del producto para ser agregada posteriormente en cada pecera, a la vez se consideró los parámetros físico- químicas del producto para mantenerla en óptimas condiciones.

Tabla 5. Características Físico-Químicas de saponina comercial

Parámetros	Resultados
Saponina	65% Mín
Humedad	$\leq 5\%$
pH	5.0 – 7.0
Capacidad de formación de espuma	160 – 190 mm
Tensión en la superficie	47 – 51 mN/m
Solubilidad en agua	50g -70g/100g agua
Apariencia	Polvo amarillo claro

Fuente: (PROSERSUR, 2021)

3.11.4. Preparación de tratamientos

Después de transferir tanto los organismos como la cantidad de agua requerida a cada pecera, se procedió a preparar la solución líquida de saponina en un recipiente de 600 ml. Dicha solución se conformó mediante la adición de 500 ml de agua tratada junto con 0.1 gramos de saponina al 65%, dando como resultado una concentración final de 130 ppm. Cabe destacar que en cada uno de los tratamientos se administraron diferentes dosis de esta solución tal como se describe más adelante.

3.11.5. Tratamientos utilizados en mejillón

En la Tabla 6, se describe la hoja de ruta con el que se lleva un control (observación) de los mejillones y su mortalidad al estar expuestos a las diferentes dosis de saponina.

Tabla 6. Trazabilidad de Tratamientos y Condiciones de Observación en mejillones (10 y 20 mm \pm 1 mm)

Tratamiento	Dosis ppm	Repetición	Organismos Observados	Cantidad de agua en cada pecera
A (control)	0	A1	10	3 litros
		A2	10	
		A3	10	
B	0,4	B1	10	3 litros
		B2	10	
		B3	10	
C	0,6	C1	10	3 litros
		C2	10	
		C3	10	
D	0,8	D1	10	3 litros
		D2	10	
		D3	10	
E	1,0	E1	10	3 litros
		E2	10	
		E3	10	
F	1,2	F1	10	3 litros
		F2	10	
		F3	10	

Fuente: (Propia, 2023)

3.11.6. Tratamientos utilizados en camarón *L. vannamei*

De la misma manera en la Tabla 7 se observa que se trabajó con una hoja de ruta con el objetivo de llevar un control de los camarones y determinar cuál es el efecto (mortalidad) al estar expuestos a las diferentes dosis de saponina.

Tabla 7. Trazabilidad de Tratamientos y Condiciones de Observación en camarón (0.7 - 3 g ± 0,1 g)

Tratamiento	Dosis ppm	Repetición	Organismos Observados	Cantidad de agua en cada pecera
A (control)	0	A1	6	8 litros
		A2	6	
		A3	6	
B	0,4	B1	6	8 litros
		B2	6	
		B3	6	
C	0,6	C1	6	8 litros
		C2	6	
		C3	6	
D	0,8	D1	6	8 litros
		D2	6	
		D3	6	
E	1,0	E1	6	8 litros
		E2	6	
		E3	6	
F	1,2	F1	6	8 litros
		F2	6	
		F3	6	

Fuente: (Propia, 2023)

3.12. Monitoreo de las condiciones experimentales

3.12.1. Ensayo de exposición aguda

Según la OECD (2012), un ensayo de exposición aguda se enfoca en evaluar los efectos inmediatos de una sustancia química o agente en organismos o sistemas biológicos después de una exposición breve y concentrada. En este proceso, se expone a los

organismos a la sustancia de prueba, de preferencia, durante un período de 96 horas. Durante este tiempo, se registran las tasas de mortalidad de los organismos acuáticos a intervalos de 24, 48, 72 y 96 horas

3.12.2. Test de Concentración

El uso de un ensayo de exposición aguda en esta investigación sobre la concentración de saponina en organismos como el mejillón y el camarón fue fundamental para comprender los efectos inmediatos y potencialmente letales de esta sustancia en estos organismos marinos, evaluadas en un lapso de 96 horas y expuestos a 5 diferentes concentraciones en 0,4 - 0,6 - 0,8 - 1 - 1,2 (ppm), y un grupo control a 0 ppm.

3.12.3. Optimización de la metodología Semi-estática para la evaluación de toxicidad

Los autores Salcedo y Pardo (2014), mencionan que, el uso del sistema semi-estático implica la renovación periódica del medio de ensayo.

En este estudio, hemos implementado una estrategia de renovación completa del medio cada 24 horas para mantener las condiciones óptimas para los organismos experimentales. Para preservar la integridad de la saponina, un componente clave en el experimento, hemos evitado la aireación, ya que esta podría volatilizar la saponina y afectar su efectividad. Este enfoque nos permite monitorear cuidadosamente los niveles de oxígeno disuelto, asegurando condiciones ideales para el bienestar de los organismos y la obtención de datos fiables sobre la toxicidad de la sustancia. Este método es crucial para evaluar la toxicidad de la exposición que enfrentan los organismos, facilitando la recopilación de datos sobre la CL_{50} y el desarrollo de este estudio.

4. CAPITULO IV

4.1. Resultados

4.1.1. Monitoreo de la concentración de oxígeno disuelto

4.1.1.1. Mejillones

En las Tablas 8 y 9 se muestran las concentraciones de OD en los diferentes tratamientos durante la ejecución del experimento, para mejillones de 20 y 10 mm, respectivamente. Se observa que, en el caso de mejillones de 20 mm, la concentración más alta y más baja de OD la tuvo el tratamiento A y C, respectivamente. Por otro lado, en el caso de los mejillones de 10 mm, la concentración de OD más alta la tuvo el tratamiento A, mientras que la concentración más baja se registró en el tratamiento D.

Tabla 8. Control de O.D. (O₂) en las peceras con mejillones de 20 mm ± 1mm

Tratamientos	Valor OD	Prom. D E
A(control)	5,23 ^a	±1,50
B	5,21 ^a	±0,99
C	4,91 ^a	±0,87
D	4,96 ^a	±1,16
E	5,08 ^a	±1,00
F	5,14 ^a	±0,79
\bar{x}	5,08	± 0,11

Fuente: (Propia, 2023).

***Nota:** Los superíndices similares indican que no hubo diferencia estadística significativa entre medios ($p < 0,05$).

Tabla 9. Concentración de Oxígeno disuelto (O₂) en las peceras con mejillones de 10 mm ± 1mm

Tratamiento	Valor OD	Prom. D E
A(control)	5,41 ^a	±1,15
B	5,27 ^a	±1,01
C	5,05 ^a	±1,07
D	5,02 ^a	±1,01
E	5,06 ^a	±1,05
F	5,18 ^a	±0,83
\bar{x}	5,16	± 0,13

Fuente: (Propia, 2023).

***Nota:** Los superíndices similares indican que no hubo diferencia estadística significativa entre medios (p<0,05).

4.1.1.2. Camarones

En las Tablas 10 y 11 se muestran las concentraciones de OD en los diferentes tratamientos durante la ejecución del experimento, para camarones de 0,7 g y 3 g respectivamente. Se observa que, en el caso de camarones de 0,7 g, la concentración más alta y más baja de OD la tuvo el tratamiento A y E, respectivamente. Por otro lado, en el caso de los camarones 3 g, la concentración de OD más alta la tuvo el tratamiento B, mientras que la concentración más baja se registró en el tratamiento C.

Tabla 10. Concentración de Oxígeno disuelto (OD) en las peceras con camarón de 0,7 g ± 0,1 g

Tratamiento	Valor OD	Prom. D E
A(control)	5,46 ^a	±1,16
B	5,28 ^a	±1,00
C	5,09 ^a	±0,98
D	5,15 ^a	± 1,04
E	5,28 ^a	± 1,12
F	5,21 ^a	± 0,86
\bar{x}	5,24	± 0,11

Fuente: (Propia, 2023).

***Nota:** Los superíndices similares indican que no hubo diferencia estadística significativa entre medios (p<0,05).

Tabla 11. Control de Oxígeno disuelto (OD) en las peceras con camarón *L. vannamei* de $3g \pm 0,1 g$

Tratamiento	Valor OD	Prom. DE
A(control)	5,23 ^a	± 1,01
B	5,24 ^a	± 1,02
C	5,02 ^a	± 0,88
D	5,13 ^a	± 1,02
E	5,13 ^a	± 1,08
F	5,13 ^a	± 1,00
\bar{x}	5,15	± 0,12

Fuente: (Propia, 2023)

***Nota:** Los superíndices similares indican que no hubo diferencia estadística significativa entre medios ($p < 0,05$).

4.2. Tasa de mortalidad de mejillones

La Tabla 12 muestra el porcentaje de mortalidad de los mejillones de 10 ± 1 mm, cuando son sometidos a diferentes dosis (tratamientos) de saponina durante 96 horas. Entonces, se observa lo siguiente:

- El tratamiento B expuesto a una dosis de saponina de 0,4 ppm presentó una mortalidad de 13,33%, 33,33%, 53,33% y 86,67%, a las 24, 48, 72 y 96 horas, respectivamente.
- En el tratamiento C está expuesto a una dosis de 0,6 ppm donde presentó una mortalidad de 21,11%, 46,67%, 76,67% y 100% a las a las 24, 48, 72 y 96 horas, respectivamente.
- En el tratamiento D está expuesto a una dosis de 0,8 ppm donde presentó una mortalidad de 46,67%, 63,33%, 93,33% y 100% a las a las 24, 48, 72 y 96 horas, respectivamente.
- En el tratamiento E está expuesto a una dosis de 1 ppm donde presentó una mortalidad de 56,67%, 83,33%, 100% y 100% a las a las 24, 48, 72 y 96 horas, respectivamente.
- En el tratamiento F está expuesto a una dosis de 1,2 ppm donde presentó una mortalidad de 66,67%, 100%, 100% y 100% a las a las 24, 48, 72 y 96 horas, respectivamente.

- El tratamiento A permanece con una constante 0 (cero) de individuos muertos lo que sirve como punto de referencia para comparar entre los diferentes tratamientos.

Tabla 12. Porcentaje de mortalidad (promedio \pm DE) de *Mytella strigata* (10 ± 1 mm) sometidos a diferentes dosis de saponinas durante 96 horas

% DE MORTALIDAD				
Tratamiento	Horas			
	24	48	72	96
A (control)	0	0	0	0
B	13,33 \pm 9,14 ^e	33,33 \pm 14,67 ^d	53,33 \pm 15,87 ^c	86,67 \pm 16,36 ^b
C	21,11 \pm 9,14 ^e	46,67 \pm 14,67 ^d	76,67 \pm 15,85 ^b	100 \pm 16,36 ^a
D	46,67 \pm 9,14 ^d	63,33 \pm 14,67 ^c	93,33 \pm 15,87 ^a	100 \pm 16,36 ^a
E	56,67 \pm 9,14 ^c	83,33 \pm 14,67 ^b	100 \pm 15,87 ^a	100 \pm 16,36 ^a
F	66,67 \pm 9,14 ^c	100 \pm 14,67 ^a	100 \pm 15,87 ^a	100 \pm 16,36 ^a

Fuente: (Propia, 2023)

***Nota:** Los superíndices diferentes, difieren estadísticamente en el % de mortalidad en relación a la dosis/tiempo.

La Tabla 13 indica el porcentaje de mortalidad de los mejillones de $20 \text{ mm} \pm 1 \text{ mm}$, cuando son sometidas a diferentes dosis de saponina durante 96 horas. Entonces se observa lo siguiente:

- El tratamiento B expuesto a una dosis de saponina de 0,4 ppm presentó una mortalidad de 0%, 13,33%, 43,33% y 76,67%, a las 24, 48, 72 y 96 horas, respectivamente.
- En el tratamiento C está expuesto a una dosis de 0,6 ppm donde presentó una mortalidad de 0%, 23,33%, 63,33% y 93,33% a las a las 24, 48, 72 y 96 horas, respectivamente.
- En el tratamiento D está expuesto a una dosis de 0,8 ppm donde presentó una mortalidad de 13,33%, 43,33%, 86,67% y 100% a las a las 24, 48, 72 y 96 horas, respectivamente.
- En el tratamiento E está expuesto a una dosis de 1 ppm donde presentó una mortalidad de 13,33%, 43,33%, 86,67% y 100% a las a las 24, 48, 72 y 96 horas, respectivamente.

- En el tratamiento F está expuesto a una dosis de 1,2 ppm donde presentó una mortalidad de 23,33%, 63,33%, 100% y 100% a las a las 24, 48, 72 y 96 horas, respectivamente.
- El tratamiento A permanece con una constante 0 (cero) de individuos muertos lo que sirve como punto de referencia para comparar entre los diferentes tratamientos.

Tabla 13. Porcentaje de mortalidad (promedio \pm DE) de *Mytella strigata* (20 mm \pm 1 mm) sometidos a diferentes dosis de saponinas durante 96 horas

% DE MORTALIDAD				
Tratamiento	Horas			
	24	48	72	96
A (control)	0	0	0	0
B	0	13,33 \pm 9,22 ^e	43,33 \pm 14,57 ^d	76,67 \pm 16,09 ^b
C	0	23,33 \pm 9,22 ^e	63,33 \pm 14,57 ^c	93,33 \pm 16,09 ^a
D	13,33 \pm 4,01 ^e	36,67 \pm 9,22 ^d	73,33 \pm 14,57 ^b	100 \pm 16,09 ^a
E	13,33 \pm 4,01 ^e	43,33 \pm 9,22 ^d	86,67 \pm 14,57 ^b	100 \pm 16,09 ^a
F	23,33 \pm 4,01 ^e	63,33 \pm 9,22 ^c	100 \pm 14,57 ^a	100 \pm 16,09 ^a

Fuente: (Propia, 2023).

***Nota:** Los superíndices diferentes, difieren estadísticamente en el % de mortalidad en relación a la dosis/tiempo.

4.3. Tasa de mortalidad de Camarones

La Tabla 14 muestra el porcentaje de mortalidad de los camarones de 0,7 \pm 0,1 g, cuando son sometidas a diferentes dosis de saponina durante 96 horas. Lo que demuestra, que los tratamientos B, C y D no muestran tasas de mortalidad al estar expuestas a dosis de 0.4, 0.6 y 0.8 ppm en un lapso de 96 horas.

El tratamiento E a dosis de 1 ppm no presentan mortalidad hasta las 72 horas mientras que a las 96 horas a dosis de 1,2 ppm presentan una mortalidad de 5,56%.

El tratamiento F no presenta muerte de los individuos dentro de 24 – 48 horas, por lo contrario, a las 72 horas presenta una mortalidad de 11,11% y las 96 horas el 27,78%.

El tratamiento A permanece con una constante 0 (cero) de individuos muertos lo que sirve como punto de referencia para comparar entre los diferentes tratamientos.

Tabla 14. Porcentaje de mortalidad (promedio \pm DE) de *Litopenaeus vannamei* ($0,7 \pm 0,1$ g) sometidos a diferentes dosis de saponinas durante 96 horas

% DE MORTALIDAD \pm DE				
Tratamiento	Horas			
	24	48	72	96
A (control)	0	0	0	0
B	0	0	0	0
C	0	0	0	0
D	0	0	0	0
E	0	0	0	5,56 \pm 4,53 ^b
F	0	0	11,11 \pm 1,85 ^b	27,78 \pm 4,53 ^a

Fuente: (Propia, 2023).

*Nota: Los superíndices diferentes, difieren estadísticamente en el % de mortalidad en relación a la dosis/tiempo.

La Tabla 15 muestra el porcentaje de mortalidad de los camarones de $3 \pm 0,1$ g, cuando son sometidas a diferentes dosis de saponina durante 96 horas, en cual se evidencia que no existió ningún organismo muerto y sobrevivieron el 100% de ellos, por lo tanto, no se obtiene el valor de la desviación estándar.

Tabla 15. Porcentaje de mortalidad (promedio \pm DE) de *Litopenaeus vannamei* ($3 \pm 0,1$ g) sometidos a diferentes dosis de saponinas durante 96 horas

% DE MORTALIDAD				
Tratamiento	Horas			
	24	48	72	96
A (control)	0	0	0	0
B	0	0	0	0
C	0	0	0	0
D	0	0	0	0
E	0	0	0	0
F	0	0	0	0

Fuente: (Propia, 2023).

4.4. Modelo Probit para la mortalidad de los organismos

Los valores de concentración letal media (CL₅₀) para mejillones y camarones fueron obtenidos aplicando el modelo Probit, el cual nos permite estimar cuál es la dosis que produce el 50% de mortalidad en la población.

4.4.1. Modelo Probit para mejillones *Mytella strigata*

La Tabla 16 presenta información sobre mortalidad de mejillones de 10 mm en relación con distintas concentraciones de saponina (en ppm), que han sido transformadas en logaritmo negativo de la concentración. Se observa que a medida que la concentración aumenta, el valor del logaritmo negativo disminuye, lo que refleja un incremento en la dosis. Los datos indican que, en concentraciones más elevadas (1,2 ppm) y un período de exposición de 96 horas, la saponina tiene un efecto letal más pronunciado en los organismos, llegando al 100% de mortalidad dentro de las 48 horas. Los valores de Probit también respaldan esta tendencia, sugiriendo una relación entre la concentración y la mortalidad.

Tabla 16. Datos Probit para *Mytella strigata* (10 mm ± 1 mm) sometidos a diferentes dosis de saponinas durante 96 horas.

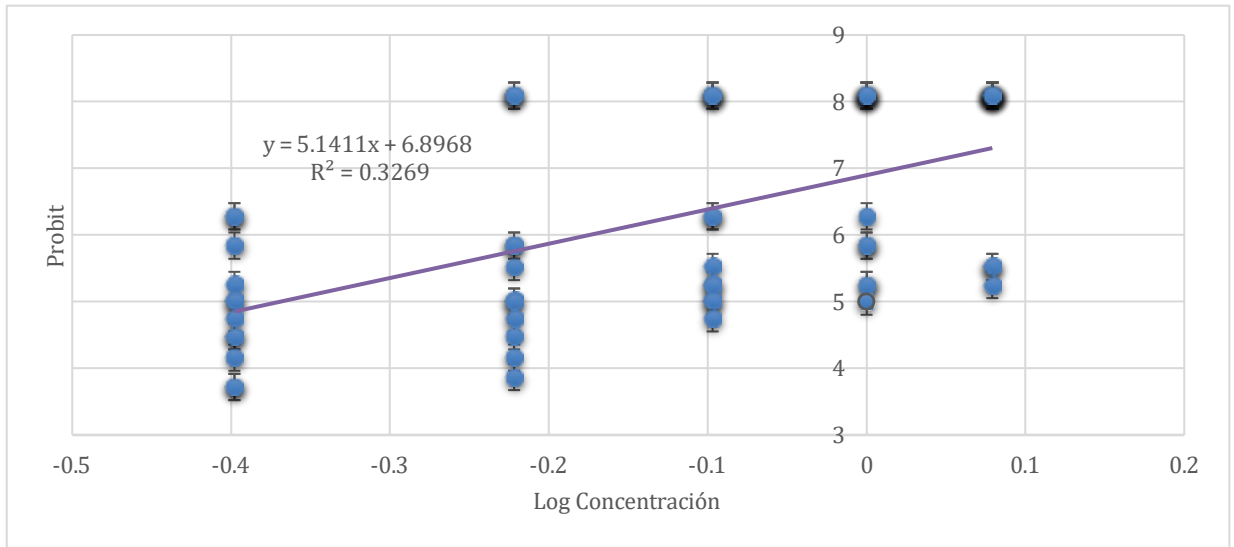
Dosis ppm	Log Concentración	24 h		48 h		72 h		96 h	
		% Mortalidad	Probit	% Mortalidad	Probit	% Mortalidad	Probit	% Mortalidad	Probit
0,4	-0,40	13	3,87	33	4,56	53	5,08	87	6,13
0,6	-0,22	21	4,19	47	4,92	77	5,74	100	7,33
0,8	-0,10	47	4,92	63	5,31	93	6,48	100	7,33
1	0,00	57	5,18	83	5,92	100	7,33	100	7,33
1,2	0,08	67	5,44	100	7,33	100	7,33	100	7,33

Fuente: (Propia, 2023).

La Ilustración 5 nos indica de manera gráfica que a medida que la concentración aumenta, el valor del logaritmo negativo disminuye, de esta forma se observa que a mayor dosis de la concentración de saponina es más letal en menos tiempo, en la figura se aprecia el dato de log concentración de 0,08 (1,2 ppm) se puede observar que su dato logarítmico es positivo teniendo un alcance máximo en dato probit de 7,33.

Ilustración 5. CL₅₀ durante el tiempo de exposición de 24 a 96 horas de saponina sobre

Mytella strigata (10 mm ± 1 mm)



Fuente: (Propia, 2023).

La Tabla 17 indica los valores de CL₅₀ en diferentes intervalos de tiempo, así como los intervalos mínimos y superiores de la dosis, estimados para exterminar la mitad de la población de mejillones de 10 mm, se observa que la concentración disminuye, por lo tanto, mientras la concentración de saponina sea más alta, menos tiempo se requiere para eliminar a la mitad de la población presente. En 24 horas de exposición el CL₅₀ de mejillones es de 0,9 ppm, mientras el tiempo de exposición aumenta a 96 horas la concentración disminuye a 0,09 ppm.

Tabla 17. CL₅₀ de saponina en diferentes intervalos de tiempo para *Mytella strigata* (10 mm ± 1 mm)

TIEMPO	LC ₅₀ ppm	LC ₅₀ SUPERIOR	LC ₅₀ INFERIOR
24	0,9	1,138	0,662
48	0,57	0,959	0,181
72	0,4	0,754	0,046
96	0,09	0,282	-0,102

Fuente: (Propia, 2023).

En la Tabla 18 se muestran los resultados de la relación entre la dosis de saponina, el tiempo de exposición, el porcentaje de mortalidad de los mejillones de 20 mm y el valor Probit correspondiente. Estos datos evidencian que la sustancia tiene un efecto letal en los organismos a concentraciones más altas y durante un período de exposición más prolongado (96 horas). Los valores Probit respaldan esta tendencia, lo que sugiere una relación creciente entre la concentración de la sustancia y la mortalidad de los organismos.

A través de datos Probit, se pudo observar que a medida pasa el tiempo hay aumento en la mortalidad. En el caso de una concentración de 1,2 ppm durante un periodo de exposición de 24 horas, se obtuvo un valor de 4,26, que representa el porcentaje de la población expuesta a la concentración. A medida que se incrementa el tiempo de exposición de la sustancia, el valor Probit aumenta, alcanzando un valor máximo de 7,33 cuando la mortalidad llega al 100% a las 72 horas.

Tabla 18. Datos Probit para *Mytella strigata* (20 mm) sometidos a diferentes dosis de saponinas durante 96 horas

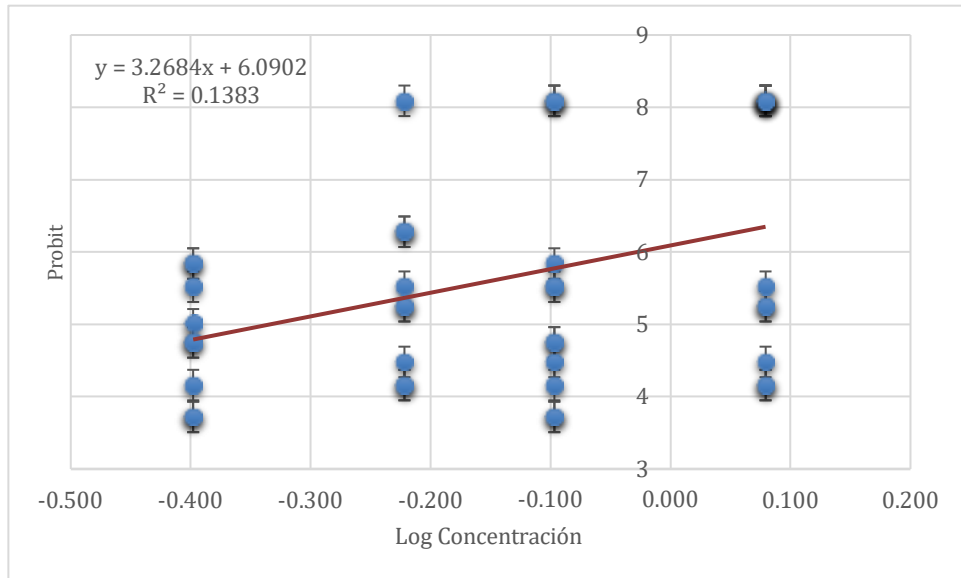
Dosis ppm	Log Concentración	24 h		48 h		72 h		96 h	
		% Mortalidad	Probit	% Mortalidad	Probit	% Mortalidad	Probit	% Mortalidad	Probit
0,4	-0,40	0	0	13	3,87	43	4,82	77	5,74
0,6	-0,22	0	0	23	4,26	63	5,33	93	6,48
0,8	-0,10	13	3,87	37	4,67	73	5,61	100	7,33
1	0,00	13	3,87	43	4,82	87	6,13	100	7,33
1,2	0,08	23	4,26	63	5,33	100	7,33	100	7,33

Fuente: (Propia, 2023).

La Ilustración 6 se representa el valor de la CL_{50} a 96 horas (95% de límites de confianza) representa la dosis a datos de log concentración, indica de manera gráfica que a medida que la concentración aumenta, el valor del logaritmo negativo disminuye. La dosis más alta de 1,2 a datos logarítmicos es 0,8 tienes como dato probit más alto de 7,33.

Ilustración 6. CL₅₀ durante el tiempo de exposición de 24 a 96 horas de saponina sobre

Mytella strigata (20 mm ± 1 mm)



Fuente: Propia (2023).

La Tabla 19 indica valores de CL₅₀ en diferentes intervalos de tiempo, así como los intervalos inferiores y superiores de la dosis que son estimados para exterminar la mitad de la población de mejillones de 20 mm, a medida que transcurre el tiempo, la concentración disminuye, por lo tanto, mientras la concentración de saponina sea más alta, menos tiempo se requiere para eliminar a la mitad de la población. En 24 horas de exposición el CL₅₀ de mejillones es de 2,89 ppm, mientras el tiempo de exposición aumenta a 96 horas la concentración disminuye a 0,23 ppm.

Tabla 19. CL₅₀ de saponina y límites de confianza mínimo y superior para *Mytella strigata* (20 mm)

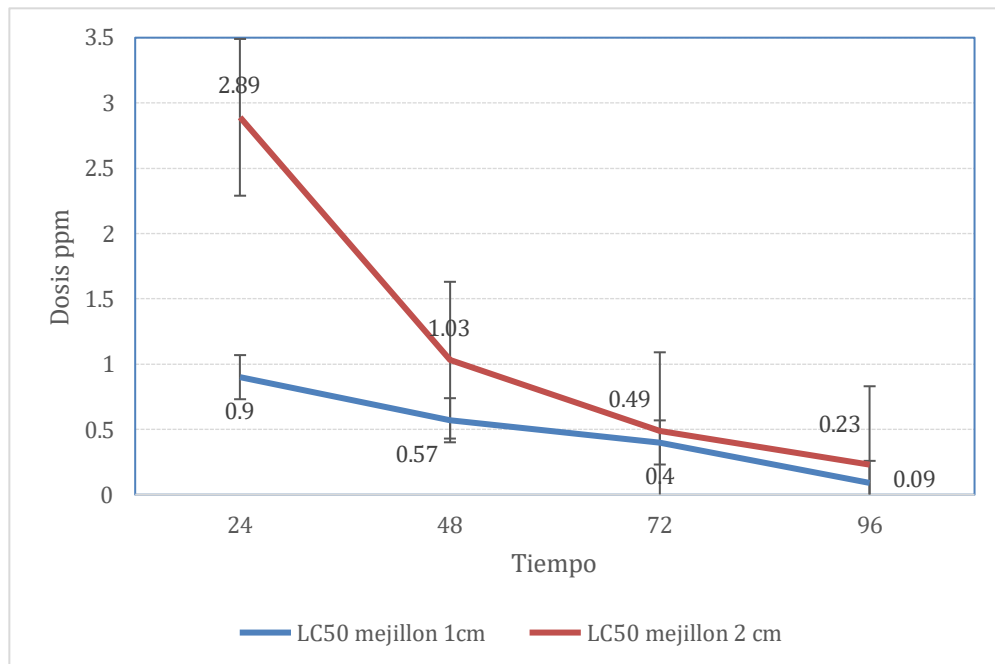
TIEMPO (horas)	LC₅₀ ppm	LC₅₀ SUPERIOR	LC₅₀ INFERIOR
24	2,89	2,971	2,809
48	1,03	1,230	0,830
72	0,49	0,832	0,148
96	0,23	0,488	-0,028

Fuente: (Propia, 2023).

En la Ilustración 7 se puede observar la curva de dosis respuesta (tiempo-dosis) al comparar la CL₅₀ de los mejillones de 10 y 20 mm, y fue a pesar de tener diferentes tamaños en un punto coinciden al tener una similar dosis de saponina para eliminar al

50% de su población, con valores de 0,4 ppm para mejillones de 10 mm y 0,49 ppm para mejillones de 20 mm en un tiempo de 72 horas.

Ilustración 7. Comparación de CL_{50} entre mejillones de 10 mm vs 20 mm \pm 0,1 mm en relación al tiempo (96 horas) y dosis (ppm) expuesta de saponina.



Fuente: (Propia, 2023).

4.4.2. Modelo Probit para camarones *Litopenaeus vannamei*

Los datos de la Tabla 20 sugieren que las dosis de 0,4 ppm, 0,6 ppm y 0,8 ppm no provocaron mortalidad significativa en los camarones de 0,7 gramos en los intervalos de tiempo analizados. Sin embargo, a dosis de 1 ppm y 1,2 ppm, se observa un aumento en la mortalidad a medida que pasa el tiempo, con una mayor probabilidad de mortalidad a dosis más altas y períodos de tiempo más largos.

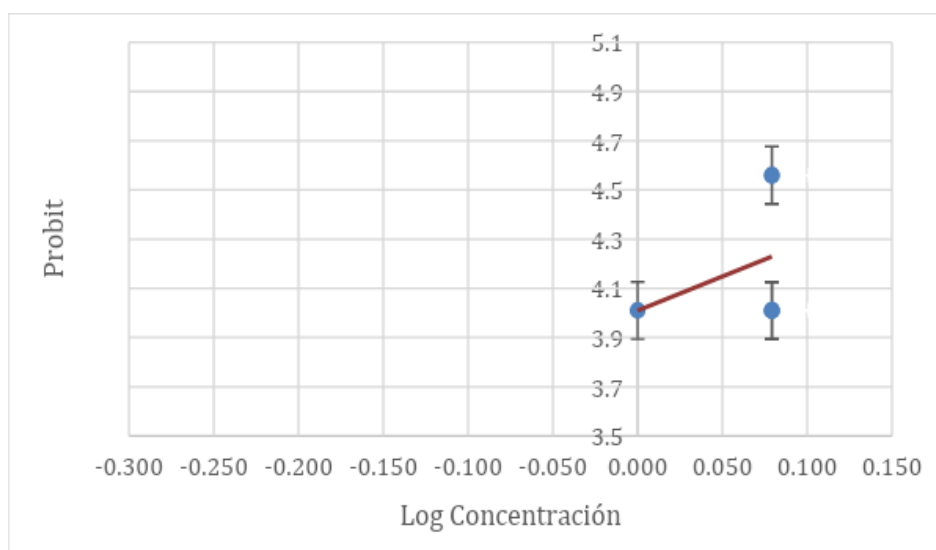
Tabla 20. Datos Probit para *Litopenaeus vannamei* (0,7 g) sometidos a diferentes dosis de saponinas durante 96 horas

Dosis ppm	Log Concentración	24 h		48 h		72 h		96 h	
		% Mortalidad	Probit	% Mortalidad	Probit	% Mortalidad	Probit	% Mortalidad	Probit
0,4	-0,40	0	0	0	0	0	0	0	0
0,6	-0,22	0	0	0	0	0	0	0	0
0,8	-0,10	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0,00	0	0	0	0	0	0	6	3,45
1,2	0,08	0	0	0	0	11	3,72	28	4,42

Fuente: (Propia, 2023).

En la Ilustración 8 se observa la exposición de *L. vannamei*, a las diferentes dosis de saponina, en donde se rescata la ausencia de mortalidad significativa en camarones de 0,7 g, ya que las dosis de 1 y 1,2 ppm equivale a 0,00 y 0,08 log concentración respectivamente, los resultados demuestran que a diferentes concentraciones se afecta la sobrevivencia de los camarones.

Ilustración 8. CL₅₀ durante el tiempo de exposición de 24 a 96 horas de saponina sobre *Litopenaeus vannamei* (0,7 g)



Fuente: Propia (2023).

La Tabla 21 indica valores de CL₅₀ juntos a datos CL₅₀ superior e inferior, en las primeras dos filas de periodo de tiempo 24 y 48 horas indica que no se observaron efectos letales en la población, mientras que en el periodo del tiempo de 72 y 96 horas su CL₅₀ es 2,48 ppm y 1,71 ppm respectivamente.

Tabla 21. CL₅₀ de saponina y límites de confianza mínimo y superior para *Litopenaeus vannamei* (0,7 g)

TIEMPO	LC₅₀	LC₅₀	LC₅₀
		SUPERIOR	INFERIOR
24	0	0,000	0,000
48	0	0,000	0,000
72	2,48	3,247	1,713
96	1,71	2,717	0,703

Fuente: (Propia, 2023).

Al no registrar mortalidad en *L. vannamei* de 3 g, no se realizaron análisis de varianza (ANOVA) ni se aplicó el modelo Probit.

5. CAPITULO V

5.1. Discusión

5.2. CL₅₀ para mejillones *Mytella strigata*

Gamboa (2008), menciona en su investigación donde aplicó saponina, que sirvió como controlador del mejillón cebra (*Dreissena polymorpha*) de un tamaño 1,3 cm viendo que tan efectivo era para la especie. Se demostró que las lematoxinas son letales para los mejillones cebra en concentraciones superiores a 15 ppm, mientras que concentraciones más bajas inhiben la capacidad de agruparse de los mejillones adultos. Este proceso tiene una toxicidad efectiva causando mortalidades en las especies como caracoles, mejillones u otros moluscos, lo que hace que las saponinas sean más efectivas en sus propiedades molusquicidas que son utilizadas como controlador/exterminador de esta plaga.

Amambal y Vega (2017), llevaron a cabo un estudio en el que evaluaron la capacidad de la saponina para controlar poblaciones de caracol del género *Lymnaea*. Aplicaron un proceso de fraccionamiento en Sistema Soxhlet, con la extracción de un concentrado crudo de saponinas a partir de los frutos de *Sapindus saponaria* L, este extracto crudo de saponinas fue sometido a liofilización para obtener un producto en forma de polvo y se diluyó a varias concentraciones diferentes para su posterior uso. Donde evaluaron la actividad molusquicida de este liofilizado observando una letalidad del 100% con una dosis de 320 ppm en 24 horas, mientras que este mismo porcentaje se demostró en 48 horas con una concentración de 220 ppm. Estos datos respaldan la eficacia de la saponina como agente molusquicida siendo una prometedora opción para el control de estos organismos no deseados en un medio de cultivo controlado.

Iannacone et al. (2013), evaluaron la toxicidad aguda de saponina proveniente de las hojas de *Agave americana*, *Furcraea andina* y frutos de *Sapindus saponaria* sobre el caracol (*Melanoide tuberculata*). Los caracoles se mantuvieron en acuarios de vidrio con una capacidad de 30 × 20 × 20 cm, donde fueron aclimatados durante una semana antes de llevar a cabo el bioensayo. Durante esta aclimatación, utilizaron agua filtrada con una abertura de 0,54 mm procedente de la laguna de origen y agua de grifo que había reposado durante 24 horas. Se evaluó la muerte del caracol *M. tuberculata* después de 24 horas de exposición, seguida de un período de recuperación en agua sin contaminantes a siete diferentes dosis (0, 0,1, 0,25, 0,5, 0,75, 1 y 2 ppm) provocando mortalidad. Lo que dio

como resultados valores de CL₅₀ de 1,01 ppm, 1,62 ppm y 1,72 para *A. americana*, *F. andina* y *S. saponaria* respectivamente.

El estudio realizado por Aparna (2011), exploró la toxicidad de diversos extractos de saponina provenientes de *Sapindus mukorossi* y *Terminalia chebula*. Este trabajo se llevó a cabo en caracoles del género *Lymnaea acuminata*, donde tomaron en cuenta el tiempo de exposición y la concentración del extracto. El análisis lo realizaron mediante cromatografía líquida de alta resolución, tanto en columna como en capa fina, revelando que el componente activo con propiedades molusquicidas es en *S. mukorossi*. Con una CL₅₀ a las 96 horas de 1,31 mg/L, mientras que en *T. chebula* es el ácido tánico con una CL₅₀ a las 96 horas de 1,64 mg/L. Estos resultados indican claramente que los efectos letales de las saponinas triterpénicas se intensifican a medida que el tiempo se prolongue. Estos resultados presentan similitudes significativas con las otras investigaciones previas en relación a la dosis de saponina y su efecto letal en mejillones. Al establecer una comparación entre los hallazgos presentes con la de los autores previos, se confirma que la toxicidad presente en las saponinas afecta de manera selectiva como moluscos y peces, mas no a crustáceos.

Ahora, en este estudio se detalla que para eliminar al 50% de su población, se necesita una concentración de 0,4 ppm para mejillones de 10 mm y 0,49 ppm para los de 20 mm en un periodo de 72 horas.

5.3. Efecto de la saponina en camarones *Litopenaeus vannamei*

Yasir et al. (2021), realizaron un bioensayo para probar la toxicidad de la saponina en tilapia del Nilo *Oreochromis niloticus* (8,0 cm ± 1,0 cm), considerada una plaga en cultivo de *Penaeus monodon* (6,1 cm ± 0,9 cm). Las dosis de saponina utilizadas fueron 100 (16,66 ppm) y 200 Kg/ha (33,33 ppm), con diferentes dosis de salinidad (5, 10, 15, 20, 30 y 35 ppt). El estudio utilizó una tina redonda con un diámetro de 55 cm y una altura de 45 cm, llenándola de agua hasta una altura de 40 cm (52 litros) con 3 tilapias del Nilo y 3 camarones gigantes utilizando un aireador para cada tratamiento, los resultados más óptimos se obtuvieron al trabajar con 10 - 14 ppt de salinidad con dosis de 200-100 kg/ha en un lapso de 220 a 320 minutos para una tasa de mortalidad al 100% la tilapia, mientras que para *P. monodon* no hubo presencia de mortalidad.

Además, se menciona que este resultado es importante porque demuestra que los camarones *L. vannamei* en sus dos pesos (0,7 y 3 g ± 0,1 g), tienen una afinidad o

tolerancia a la saponina similar a la observada en *P. monodon*. Esto implica que los camarones pueden interactuar con este producto sin tener un efecto colateral.

Urgilés y Osorio (2015), evaluaron la eficacia de piscicidas basados en saponinas, extraídas de hojas de té, en la eliminación de peces no deseados durante la preparación de piscinas en la producción de camarones. Realizaron ensayos específicos en piscina al aire libre, utilizando barbasco y Cerofish considerados piscicidas comerciales. Los resultados indicaron que el uso de saponinas (13,15 ppm) proveniente del té verde como piscicida orgánico fue efectivo para eliminar los peces no deseados en las piscinas sin causar impactos negativos significativos en el medio ambiente acuáticos. Demostraron que la mayoría de las saponinas no resultaron ser tóxicas para la *Artemia salina* incluso a concentraciones de hasta 1000 ppm.

Estos resultados concuerdan con los obtenidos en camarón de 0,7 g, el cual reflejó datos mínimos de mortalidad, esperando que exista la posibilidad de que factores externos puedan estar influyendo en sus tasas de mortalidad debido a su tamaño y vulnerabilidad y más no a la aplicación de la saponina.

6. CAPITULO VI

6.1. Conclusiones y Recomendaciones

6.1.1. Conclusiones

La investigación comprueba que la saponina es un agente molusquicida altamente efectivo, con valores de CL_{50} que demuestran su capacidad para causar una alta mortalidad en poblaciones de mejillones *Mytella strigata*. En particular, la saponina muestra una letalidad significativa en mejillones de 10 mm a concentraciones tan bajas como 0,09 ppm en 96 horas, lo que destaca su potencial en el control de estos organismos no deseados en ambientes acuícolas.

El estudio resalta la sensibilidad diferencial de los organismos estudiados, con mejillones y camarones mostrando respuestas distintas a la saponina. A pesar de tener diferentes tamaños, los mejillones de 10 mm y 20 mm exhibieron CL_{50} similares, mientras que los camarones de 0,7 gramos demostraron una mayor tolerancia. Estos hallazgos subrayan la importancia de considerar las características específicas de las especies y los tamaños al implementar estrategias de control.

La investigación demostró que la velocidad de mortalidad de los organismos está directamente relacionada con la concentración de saponina a la que están expuestos. Concentraciones más altas resultaron en una mortalidad más rápida, lo que se traduce en un menor tiempo requerido para alcanzar el 50% de mortalidad. Este aspecto es crucial para la gestión efectiva de poblaciones no deseadas, ya que permite ajustar la estrategia de control según los objetivos y las condiciones específicas del entorno acuático.

6.1.2 Recomendaciones

- Considerando los resultados positivos de mortalidad en mejillones al aplicar saponina, se recomienda realizar monitoreos más específicos de factores ambientales como temperatura, salinidad, recambio de agua o ciclo de vida, para determinar si existe una mayor y/o menor influencia en el control de mejillones al aplicar diferentes dosis de saponina.
- Invertir en tecnologías avanzadas de monitoreo que puedan detectar de manera temprana la presencia de especies invasoras, lo que facilitaría la toma de decisiones oportunas sobre la aplicación de saponina y reducirá la necesidad de altas concentraciones, por ejemplo, implementar cámaras subacuáticas y sensores de imagen para monitorear el comportamiento de las especies invasoras y evaluar la eficacia de las medidas de control. Estos dispositivos pueden proporcionar datos visuales en tiempo real.
- Implementar un programa de educación pública que sensibilice sobre los riesgos de las especies invasoras y promueva prácticas responsables en la acuicultura y el manejo de ecosistemas acuáticos.

7. Referencias

- Amambal Cholán, E., & Vega Alarcón, E. (2017). Efecto molusquicida del liofilizado de saponinas triterpénicas obtenidas de las cáscaras de los frutos de *Sapindus saponaria* L “choloque” frente a hospederos intermediarios de *Fasciola hepatica*. Cajamarca - Perú: Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo. Obtenido de <http://repositorio.upagu.edu.pe/bitstream/handle/UPAGU/464/FYB-008-2017.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Aparna Upadhyay, D. K. (2011). Molluscicidal activity of *Sapindus mukorossi* and *Terminalia chebula* against the freshwater snail *Lymnaea acuminata*. *Chemosphere*, 468 - 474. Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0045653510014712?via%3Dihub>
- Aquaculture, F. (2002). *FAO Fisheries & Aquaculture*. Obtenido de Programa de información de especies acuáticas - *Penaeus vannamei* (Boone, 1931). Programa de Información de Especies Acuáticas Oreochromis: http://www.revistaaquatic.com/aquatic/pdf/34_3.pdf
- Balseca Pico, N. (2019): Obtención y evaluación de saponinas hidrolizadas provenientes del Mojuelo de Quinoa Amarga (*Chenopodium quinoa*) a partir de una hidrólisis ácida.: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/13254>
- Bermudes-Lizárraga, J. F., Nieves-Soto, M., Medina-Jasso, M. A., Román-Reyes, J. C., Flores-Campaña, L. M., Ortega-Salas, A. A., & Piña-Valdez, P. (2017). Efecto de la temperatura y salinidad en el crecimiento larval de *Litopenaeus vannamei*. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 52(3), 611–615. <https://doi.org/10.4067/S0718-19572017000300016>
- Berrezueta-García, I. F., Bernal-Zambrano, J. J., & Lodeiros, C. (2021). Evaluación del mejillón *Mytella strigata* (Hanley, 1843) para su uso como complemento en el alimento de juveniles del camarón *Penaeus vannamei* Boone, 1931. <https://doi.org/10.5281/ZENODO.5752495>
- Bliss, C. (1934). The method of probits. *Science*, 38 - 39. Obtenido de <https://www.science.org/doi/10.1126/science.79.2037.38>
- Buele, P. (2021). Universidad Regional Autónoma de los Andes. [doi:https://doi.org/10.56931/pb.2021.11](https://doi.org/10.56931/pb.2021.11)
- Casanova, E., Rodeiro, I., & Ponce, L. (30 de Enero de 2023). Potencialidades como antivirales de compuestos de origen marino: una revisión. *Revista de Investigaciones Marinas*, 42, 67-92. doi:<https://doi.org/10.5281/zenodo.7407450>

- Cobo, R., & Pérez, L. (2018). Aspectos generales del cultivo y la genética del camarón blanco del Pacífico *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). *Revista Cubana de Investigaciones Pesqueras*, 18 - 23. Obtenido de <https://aquadocs.org/bitstream/handle/1834/15129/Raudel.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Coello, R. (Diciembre de 2015). Evaluación del efecto de la saponina extraída de la quinua (*Chenopodium quinoa*) sobre el crecimiento in vitro de *Cercospora fijiensis* y *Fusarium oxysporum* en el cultivo de banano (*Musa x paradisiaca*). *Repositorio D*. Obtenido de <https://repositorio.usfq.edu.ec/handle/23000/5640>
- Cordova, A. (2021). Determinación de la calidad microbiológica en mejillón (*Mytella strigata*) y agua del estero salado de la ciudad guayaquil. *Centro de Información Agraria*. <https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/CORDOVA%20PE%C3%91AFIEL%20ANDRES%20FERNANDO.pdf>
- Diarte, G., Escamilla, R., de la Cruz, G., Granados, S., & Álvarez, P. (2013). *Crecimiento y supervivencia del mejillón Mytella strigata (Bivalvia: Mytilidae) en cultivo suspendido en la Laguna Macapule, Sinaloa, México*. 3(23). <https://www.scielo.org.mx/pdf/hbio/v23n3/v23n3a10.pdf>
- Dután Navas, T., Sierra Sánchez, N., & Morales Ramos, F. (2022). *DSpace en ESPOL*. Retrieved from Beneficios de la depuración de moluscos bivalvos: evaluación y socialización: <http://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/53130>
- FAO. (2022). *Food and Agriculture Organization of the United Nations*. Obtenido de El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2022: <https://www.fao.org/documents/card/en/c/cc0461es>
- Fernández-Reiriz, M. J., Duarte, P., & Labarta, U. (2007). *Modelos de comportamiento alimentario en el mejillón de las rías de Galicia*. 1–284. <https://digital.csic.es/handle/10261/104170>
- Ferrufino Salazar, F. (2013). Dinámica de la población de fitoplancton en aguas a diferentes salinidades (30 S‰, 15 S‰, 0 S‰), utilizadas para el cultivo de camarones *Litopenaeus Vannamei* en etapa (juvenil). *Tesis (Ing. Acuicola)-Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León*. <http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/handle/123456789/5397>
- Forero, L. (2018). *Análisis Probit Generalizado*. Instituto Colombiano Agropecuario. Obtenido de <http://hdl.handle.net/20.500.12324/15584>
- Fundación Charles Darwin. (2023). Obtenido de *Mytella strigata*: <https://www.darwinfoundation.org/es/datazone/checklist?species=10403>

- Google Maps. (2023). *Google maps*. Obtenido de Universidad Técnica de Machala: [https://www.google.com/maps/place/Campus+Machala+\(UTMACH\)/@-3.2650119,-80.023663,13z/data=!4m10!1m2!2m1!1suniversidad+tecnica+de+machala!3m6!1s0x90330e430e19b6f3:0x660ca9da51d58556!8m2!3d-3.2650165!4d-79.9515687!15sCh51bml2ZXJzaWRhZCB0ZWNUaWNhIGRIIG1hY2hh](https://www.google.com/maps/place/Campus+Machala+(UTMACH)/@-3.2650119,-80.023663,13z/data=!4m10!1m2!2m1!1suniversidad+tecnica+de+machala!3m6!1s0x90330e430e19b6f3:0x660ca9da51d58556!8m2!3d-3.2650165!4d-79.9515687!15sCh51bml2ZXJzaWRhZCB0ZWNUaWNhIGRIIG1hY2hh)
- Harmsen, J. (2007). Measuring bioavailability: from a scientific approach to standard methods. *Environmental quality*, 1420 - 1428. doi:<https://doi.org/10.2134/jeq2006.0492>
- Hayes, E., & Landis, W. (2004). Regional ecological risk assessment of a near shore marine environment. *Human and Ecological Risk Assessment*, 299 - 325. doi:<https://doi.org/10.1080/10807030490438256>
- Hernández Sampieri., R., Fernández Collado, C., & Baptista Lucio, P. (2018). Metodología de la investigación. Edamsa Impresiones, 310 - 386. Obtenido de http://www.esup.edu.pe/descargas/dep_investigacion.Metodologia%20de%20la%20investigaci%C3%B3n%205ta%20Edici%C3%B3n.pdf.
- Iannacone , J., La Torre , M., Alvaríño, L., Cepeda, C., Ayala, H., & Argota, G. (2013). Toxicidad De Los Bioplaguicidas *Agave Americana*, *Furcraea Andina* (Asparagaceae) Y *Sapindus Saponaria* (Sapindaceae) Sobre El Caracol Invasor *Melanoides tuberculata* (Thiaridae). *Neotropical Helminthology*, 231 - 241.
- Integrated Taxonomic Information System . (2023). *Species Litopenaeus vannamei* . Obtenido de <https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt#null>
- Jiang, X., Hansen, H. C. B., Strobel, B. W., & Cedergreen, N. (2018). What is the aquatic toxicity of saponin-rich plant extracts used as biopesticides? *Environmental Pollution*, 236, 416–424. <https://doi.org/10.1016/J.ENVPOL.2018.01.058>
- Kuswanto, H., Balqis, N., Ohwada, H., & Toha, S. (2020). Modelling the change of white blood cell on colorectal cancer treatment using probit regression. *Electronic Journal of Applied Statistical Analysis*, 75 - 85. Obtenido de <http://sibaese.unisalento.it/index.php/ejasa/article/view/20238>
- Lara Espinoza, C., Rivera Dominguez, M., Astorga Cienfuegos, K., AcedoFélix, E., & Bermúdez , C. (2015). Desarrollo de camarón *Litopenaeus vannamei* en un sistema de cultivo intensivo con biofloc y nulo recambio en agua. *Electronica de acuicultura*, 1 - 13.
- López-Roldán, P., & Fachelli, S. (2016). Análisis de regresión. Metodología de la investigación social cuantitativa. Obtenido de <https://ddd.uab.cat/record/129382?ln=ca>
- Martinez-Porchas, M., Ezquerra-Brauer, M., Mendoza-Cano, F., Higuera, J. E., Vargas-Albores, F., & Martinez-Cordova, L. R. (2020). Effect of supplementing heterotrophic and

- photoautotrophic biofloc, on the production response, physiological condition and post-harvest quality of the whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Reports*. doi:<https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2019.100257>
- Maciej Serda, Becker, F. G., Cleary, M., Team, R. M., Holtermann, H., The, D., Agenda, N., Science, P., Sk, S. K., Hinnebusch, R., Hinnebusch A, R., Rabinovich, I., Olmert, Y., Uld, D. Q. G. L. Q., Ri, W. K. H. U., Lq, V., Frxqwu, W. K. H., Zklfk, E., Edvhg, L. v, ... ح فاطمی. (2013). Synteza i aktywność biologiczna nowych analogów tiosemikarbazonowych chelatorów żelaza. *Uniwersytet Śląski*, 7(1), 343–354. <https://doi.org/10.2/JQUERY.MIN.JS>
- Méndez Bernal, M. (2022). *Centro de Investigaciones biológicas del noroeste S.C.* Recuperado el 2022, de Identificación de la batería básica de proteínas involucradas en la formación de la concha de moluscos gasterópodos y bivalvos: <http://dspace.cibnor.mx:8080/handle/123456789/3128>
- Moghimpour, E., & Handali, S. (2015). Saponin: Properties, Methods of Evaluation and Applications. *Annual Research & Review in Biology*, 5(3), 207–220. <https://doi.org/10.9734/ARRB/2015/11674>
- Murillo Soriano , K. (2018). *Repositorio Universidad de Guayaquil*. Recuperado el 2022, de Sobrecaptura Y Supervivencia Del Mejillón (*Mytella strigata*), En El Estero Salado De Guayaquil (Puente Portete – Puente de la 17): <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/29737>
- Naspirán Jojoa, D., Fajardo Rosero, A., Ueno Fukura, M., & Collazos Lasso, L. (n.d.). Perspectivas de una producción sostenible en acuicultura multitrófica integrada (IMTA): una revisión. *Rev Med Vet Zoot*, 69(1). <https://doi.org/10.15446/rfmvz.v69n1.101539>
- OECD Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos . (2012). Fish Acute toxicity test 1992 . Obtenido de <http://www.oecd.org/chemicalsafety/risk-assessment/1948241.pdf>.
- Paredes, J. R., & Rodríguez Romero, J. S. (2020). Monitoreo de los parámetros de temperatura y pH para evaluar su efecto en la producción de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei* Boone, 1931) en San Luis La Herradura, La Paz. *Facultad Multidisciplinaria Paracentral > Ingeniería Agronómica*. <https://ri.ues.edu.sv/id/eprint/22090/>
- Pastor, B. (2019). Población y muestra. *Pueblo continente*, 245 - 247. Obtenido de <http://journal.upao.edu.pe/PuebloContinente/article/view/1269/1099>

- Plaza Zambrano, M., Bermeo Toledo, C., & Moreira, M. (2019). Metodología de la investigación. Ecuador: Colloquim. Obtenido de <http://colloquimbiblioteca.com/index.php/web/article/view/26>.
- Puente, E. (2009). Respuesta fisiológica del camarón blanco *Litopenaeus vannamei*, en condiciones simuladas de oxígeno, temperatura y salinidad. *Repositorio Digital IPN*. <https://www.repositoriodigital.ipn.mx/bitstream/123456789/14322/1/puentec2.pdf>
- PROSERSUR. (2021). *Saponina*. Obtenido de <https://prostersur.com/saponina/>
- Quezada, N. (2014). *Estadística con SPSS 2*. Lima: Macro.
- Quillay Dávila, M., Arana Arias, Y., Jaramillo, C., Cuenca Buele, S., Rojas de Astudillo, L., & Jaramillo Alcívar, V. (2017). Contenido de saponinas y actividad cicatrizante de *Cecropia peltata* y *Parthenium hysterophorus*. *Revista Cubana de Farmacia*, 51(3). Retrieved 2023, from Contenido de saponinas y actividad cicatrizante de *Cecropia peltata* y *Parthenium hysterophorus*: <https://revfarmacia.sld.cu/index.php/far/article/view/250/147>
- Re, A. D., Díaz, F., Sierra, E., & Gómez Jiménez, S. (2004). Consumo de oxígeno, excreción de amonio y capacidad osmorreguladora de *Litopenaeus stylirostris* (Stimpson) expuesto a diferentes combinaciones de temperatura y salinidad. *SciELO*, 30(3), 443-453. Retrieved 2023, from https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0185-38802004000400006&script=sci_arttext
- Riega, D. A. (2020). *Repositorio. UNITEC*. Retrieved 2022, from Impacto De La Tecnología De Alimentación Automática En El Cultivo De Camarón En Ecuador: <https://repositorio.unitec.edu/xmlui/bitstream/handle/123456789/9956/20811112-marzo2020-i02-pg.pdf?sequence=2&isAllowed=y>
- Salcedo Rodríguez, D. A., & Pardo González, W. C. (2014). Determinación De La Concentración Letal Media (Cl 50-48) Sobre *Daphnia Pulex* De Un Vertimiento Industrial De La Producción De Refrigerantes Para Vehículos Mediante Bioensayos. Bogotá: Universidad De La Salle. Obtenido de https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1977&context=ing_ambiental_sanitaria
- Siccha Sánchez, S. (2019). *Repositorio institucional ULADECH*. Recuperado el 2023, de Caracterización físico química del extracto fluido de *Maytenus Laevis* (Chuchuhuasi) y su toxicidad sobre *Artemia Salina*.: <https://hdl.handle.net/20.500.13032/7937>
- Signorelli, J. H. (2020). Moluscos bivalvos en los inexplorados abismos suratlánticos. *Instituto de Biología de Organismos Marinos (IBIOMAR)*, 29. Recuperado el 2023, de

- https://cienciahoy.org.ar/wp-content/uploads/Revista_169_Moluscos-bivalvos-en-los-inexplorados-abismos-suratla%CC%81nticos.pdf
- Suarez, A. G. (2022). Análisis microbiológico de bacterias marinas totales en el mejillón (*Mytilus edulis*) del estero hondo ubicado en el sector la pitahaya. *Repositorio Digital de La UTMACH*. <http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/18419/3/TTUACA-2022-IAC-DE00003.pdf>
- Trujillo, L. E., Rivera, L., Hardy, E., Llumiquinga, E. M., Garrido, F., Chávez, J. A., abril, V. H., & País-Chanfrau, J. M. (2017). Estrategias Naturales para Mejorar el Crecimiento y la Salud en los Cultivos Masivas de Camarón en Ecuador res in Ecuador. 2(2). <https://doi.org/10.21931/RB/2017.02.02.8>
- Urgilés Pineda, M., & Osorio Cevallos, V. (2015). Uso de un Piscicida Orgánico en la Preparación de Piscinas Camaroneras. Caso Ecuador. Doctoral dissertation, ESPOL. FIMCM: Acuicultura. Obtenido de <https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/56706/1/T-76830%20Urgil%c3%a9s%20Pineda.pdf>
- Valderrama Meza , J. S., & Rodríguez Torres, C. (2019). *Repositorio. UPB*. Retrieved 2023, from Analisis De Oxidacion Quimica Como Alternativa Para Eliminar El Sabor Del Agua Del Rio Surata: https://repository.upb.edu.co/bitstream/handle/20.500.11912/6390/digital_38720.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Xu, Z., Regenstein , J. M., Xie , D., Lu, W., Ren , X., Yuan, J., & Mao , L. (2018, junio). The oxidative stress and antioxidant responses of *Litopenaeus vannamei* to low temperature and air exposure. *Elseiver*, 72, 564 - 571. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.11.016>
- Yasir, J., Tresnati, J., Aprianto, R., Yanti, A., Bestari, A., & Tuwo, A. (2021). Effect of different doses of saponins and salinity on giant tiger prawn *Penaeus monodon* and Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Earth and Environmental Science*, <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/763/1/012021/pdf>. doi:10.1088/1755-1315/763/1/012021

ANEXOS



Ilustración 9. Mejillón de 10 mm expuesto a los diferentes tratamientos



Ilustración 10. Preparación de los diferentes tratamientos para camaron de 3 g.



Ilustración 11. Camarón de 3 g expuesto a diferentes tratamientos.



Ilustración 12. Camarones siendo llevados a sus peceras de tratamientos



Ilustración 13. Camarones de 0,7 g con 0% mortalidad en 48 horas expuestos a 0,8 ppm de saponina.



Ilustración 14. Muestras de la población de mejillones de 20 mm.



Ilustración 15. Camarón de 3 g en su tratamiento control 0 ppm.



Ilustración 16. 0% de letalidad en camarones de 3 g expuestos a dosis de ppm en 96 horas.

ANÁLISIS DE VARIANZA					
	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>
Regresión	1	15.68874964	15.68874964	13.0281772	0.036517633
Residuos	3	3.612650358	1.204216786		
Total	4	19.3014			

Ilustración 17. Análisis de varianza de mejillones de 20 mm.

ANÁLISIS DE VARIANZA					
	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>
Regresión	1	45.02167124	45.02167124	28.1621479	1.83052E-06
Residuos	58	92.72222209	1.598659002		
Total	59	137.7438933			

Ilustración 18. Análisis de varianza de mejillones de 10 mm.

ANÁLISIS DE VARIANZA					
	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>
Regresión	1	0.250012459	0.250012459	9.977303013	0.002516691
Residuos	58	1.453370976	0.02505812		
Total	59	1.703383435			

Ilustración 19. Análisis de varianza de camarones de 0,7 g.

Tratamientos	Repeticiones	DOSIS (ppm)	18-jul	19-jul		20-jul		21-jul	
			18:00	12:00	18:00	12:00	18:00	12:00	18:00
			pm	pm	pm	am	pm	pm	pm
A (control)	1	0	6,8	6,1	4,9	4,3	6,5	4,1	6,2
	2		6,9	6,2	4,5	4,1	6,2	4,1	6,1
	3		6,6	6,1	4,4	4,4	6,3	3,8	6,4
B	1	0,4	6,1	5,9	4,5	3,9	6	3,9	6,3
	2		6	5,4	4,3	4,1	5,8	4,1	5,9
	3		6,3	6,1	4,1	4,2	6,1	4,2	6,2
C	1	0,6	5,9	5,2	4,1	3,8	5,7	3,8	5,8
	2		5,9	5,1	4,3	4	5,7	4	5,6
	3		6,2	5,4	4	3,9	5,4	3,9	5,4
D	1	0,8	6,1	5,8	3,9	3,9	5,8	3,9	5,9
	2		5,7	5,2	4,2	3,8	5,5	3,8	5,6
	3		5,9	5,3	4,1	4,2	5,7	4,2	5,7
E	1	1	6,1	5,9	4	3,9	5,9	3,9	5,7
	2		6	5,6	3,8	4,1	5,8	4,1	5,9
	3		6,4	5,8	3,6	4,3	5,8	4,3	5,7
F	1	1,2	6,3	5	4,5	4,4	6	4,1	5,7
	2		6,3	5,1	4,6	4,5	5,9	4,5	5,9
	3		6,2	5,1	4,4	4,5	5,7	3,9	5,4
		Promedio	6,21	5,57	4,23	4,13	5,88	4,03	5,86
		Promedio tot	5,13						

Ilustración 20. Control de Oxígeno (O₂) en las peceras con mejillones de 20 mm

Tratamientos	Repeticiones	DOSIS (ppm)	24-jul	25-jul		26-jul		26-jul	
			15:00	10:00	17:00	10:00	17:00	10:00	17:00
			pm	am	pm	am	pm	am	pm
A (control)	1	0	6,4	4,9	6,3	4,7	6,2	4,1	6,2
	2		6,2	4,5	6,1	4,1	6,1	4,1	6,1
	3		6,1	4,4	6,2	4,4	6,3	3,8	6,4
B	1	0,4	6,3	4,5	6,3	4,1	5,9	3,9	6,3
	2		6,1	4,3	5,9	4,3	5,8	4,1	5,9
	3		5,9	4,1	6,2	4,2	6,1	4,2	6,2
C	1	0,6	6,2	4,1	5,8	3,8	5,7	3,8	5,8
	2		6,3	4,3	5,6	4,0	6,0	4,4	5,6
	3		6,0	4,0	6,1	3,9	5,4	3,9	5,4
D	1	0,8	6,1	3,9	5,9	3,8	5,8	3,9	5,9
	2		6,0	4,2	5,6	3,7	5,8	3,8	5,6
	3		5,9	4,1	5,7	4,2	5,7	4,2	5,7
E	1	1	5,8	4,0	6,0	3,9	5,9	3,9	5,7
	2		6,0	3,8	5,9	4,1	5,8	4,1	5,9
	3		6,2	3,6	5,9	3,9	5,8	4,3	5,7
F	1	1,2	5,9	4,5	5,7	4,4	6,0	4,1	5,7
	2		6,1	4,6	5,9	4,3	5,9	4,5	5,9
	3		5,8	4,6	5,8	4,2	5,7	3,9	5,4
		Promedio	6,07	4,24	5,94	4,11	5,88	4,06	5,86
		Promedio total	5,17						

Ilustración 21. Control de Oxígeno (O₂) en las peceras con mejillones de 20 mm

Tratamientos	Repeticiones	DOSIS (ppm)	7-ago	8-ago		9-ago		10-ago	
			18:00	12:00	18:00	12:00	18:00	12:00	18:00
			pm	pm	pm	am	pm	pm	pm
A (control)	1	0	6,8	6,6	4	4,3	6,1	4,5	6
	2		6,9	6,7	4,2	4,1	6,2	4,1	6,3
	3		6,7	6,1	4,1	4,4	6,3	3,8	6,4
B	1	0,4	6,5	6,9	3,6	3,9	6	3,9	6,1
	2		6,6	6,4	3,9	4,1	5,8	4,1	5,8
	3		6,3	6,7	3,8	4,2	6,1	4,2	6
C	1	0,6	6,9	6,2	3,6	3,8	5,7	3,8	5,7
	2		6,7	6,4	3,8	4	5,7	4	5,5
	3		6,5	6,4	3,7	3,9	5,4	3,9	5,4
D	1	0,8	6,4	6,8	3,9	3,9	5,8	3,9	5,9
	2		6,7	6,2	3,6	3,8	5,5	3,8	5,6
	3		6,8	6,3	3,5	4,2	5,7	4,2	5,7
E	1	1	6,5	6,9	3,8	3,9	5,9	3,9	5,7
	2		6,7	6,6	3,8	4,1	5,8	4,1	5,9
	3		6,8	6,8	3,6	4,3	5,8	4,3	5,7
F	1	1,2	6,6	6,5	3,5	4,4	5,1	4,1	5,7
	2		6,9	6,4	3,6	4,5	5,9	4,5	5,6
	3		6,7	6,3	3,8	4,5	5,5	4	5,4
		Promedio	6,8	6,5	3,7	4,13	5,88	4,43	5,86
		Promedio total	5,26						

Ilustración 22. Control de Oxígeno disuelto (O₂) en las peceras con camarón blanco de $3 \text{ g} \pm 0.1 \text{ g}$

Tratamientos	Repeticiones	DOSIS (ppm)	14-ago	15-ago		16-ago		17-ago	
			18:00	12:00	18:00	12:00	18:00	12:00	18:00
			pm	pm	pm	am	pm	pm	pm
A (control)	1	0	6,5	6,3	3,6	3,1	6,6	4,1	6,2
	2		6,7	6,4	3,4	3,1	6,7	4,1	6,1
	3		6,8	6,5	3,4	3,2	6,8	3,8	6,4
B	1	0,4	6,6	6,9	3,4	3,2	6,9	3,9	6,3
	2		6,4	6,4	3,4	3,4	6,8	4,1	5,9
	3		6,8	6,4	3,2	3,2	6,5	4,2	6,2
C	1	0,6	6,5	6,4	3,1	3,3	6,7	3,8	5,8
	2		6,3	6,5	3	3,2	6,7	4	5,6
	3		6,4	6,4	3,1	3	6,4	3,9	5,4
D	1	0,8	6,6	6,6	2,9	3,1	6,8	3,9	5,9
	2		6,7	6,7	3,2	3,1	6,5	3,8	5,6
	3		6,9	6,5	3,1	3,2	6,7	4,2	5,7
E	1	1	6,6	6,6	3	3	6,9	3,9	5,7
	2		6,3	6,5	3,2	3,4	6,8	4,1	5,9
	3		6,2	6,8	2,7	3,3	6,8	4,3	5,7
F	1	1,2	6,8	6,4	3,5	3,2	6,4	4,1	5,7
	2		6,5	6,1	3,2	3,4	6,9	4,5	5,9
	3		6,4	6,1	3,1	3,5	6,8	3,9	5,4
		Promedio	6,21	5,7	4,2	4,1	5,8	4,1	5,8
		Promedio total	5,31						

Ilustración 23. Control de Oxígeno disuelto (O₂) en las peceras con camarón blanco de $0,7 \text{ g} \pm 0.1 \text{ g}$