

Aplicación de extracto de *Yucca schidigera* y su efecto en la concentración de amonio en agua

Application of *Yucca schidigera* extract and its effect on the ammonia concentration in water

Santacruz-Reyes, R.A.¹

Resumen

Este estudio investigó el potencial y la eficacia del extracto de *Yucca schidigera* (YUPE) para la reducción de amonio en agua. Un experimento de dosis-respuesta se llevó a cabo para determinar el efecto de diferentes concentraciones de YUPE a 0, 18, 36 y 72 mg/L sobre nitrógeno amoniacal total (TAN) a concentraciones de 0, 1, 3 y 5 mg/L. El análisis mostró que a altas dosis de YUPE se observó mayor reducción de TAN. Del mismo modo, un aumento en el tiempo transcurrido también aumentó la reducción de TAN. La fracción de TAN reducida en cada intervalo de tiempo transcurrido indicó que la reducción de TAN fue más alta durante 12-24 h, y disminuyó después a intervalos de 12 h, presumiblemente debido al agotamiento de la eficacia de YUPE. Sus implicaciones y utilidad en procesos de manejo en granjas acuícolas se discuten.

Palabras clave: *Yucca schidigera*; acuicultura; reducción de amonio, calidad de agua

Abstract

This study investigates the potential and effectiveness of *Yucca schidigera* extract (YUPE) for ammonia reduction in freshwater. A dose-response experiment was conducted to determine the effect of different concentrations of YUPE at 0, 18, 36 and 72 mg/L on total ammonia nitrogen (TAN) at 0, 1, 3 and 5 mg/L. The effectiveness analysis showed that at higher YUPE concentrations, higher TAN reduction was observed. Likewise, an increase in elapsed time also increased TAN reduction. The fraction of reduced TAN at each elapsed time showed that TAN reduction was highest during 12-24 h, and decreased thereafter at 12 h interval presumably due to exhaustion of YUPE's efficacy. YUPE's applicability during management in aquaculture farms is discussed.

Keywords: *Yucca schidigera*; aquaculture; ammonia reduction; water quality

¹ Roberto Santacruz Reyes. Ph.D. Docente Escuela de Acuicultura, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Técnica de Machala, Machala, El Oro, Ecuador. Av. Panamericana km 4,5 vía a Pasaje, Granja Santa Inés, e-mail: santacruz.reyes@gmail.com ; rsantacruz@utmachala.edu.ec

Introducción

En un sistema de producción acuícola, el amonio procede de la excreción de los animales acuáticos como producto final del metabolismo de las proteínas (1), y de la mineralización del nitrógeno orgánico en las heces, alimento no consumido, y materia orgánica (2). El amonio puede ser tóxico a bajas concentraciones en el medio ambiente acuático, tanto así que, una concentración de amonio no ionizado de 0,5 mg/L ya puede ser perjudicial tanto para peces como crustáceos (3, 4). A pesar de que el amonio puede convertirse en nitrito, su producto oxidativo intermedio, el nitrito sigue siendo tóxico para los animales acuáticos (5). Por lo tanto, los niveles de amonio deben ser controlados y mantenerse a un mínimo en cualquier ambiente acuícola.

La *Yucca schidigera*, una planta originaria del suroeste de EE.UU. y México, ha despertado el interés en operaciones ganaderas y granjas avícolas debido a la capacidad de su extracto para absorber amonio (6). El extracto de *Y. schidigera* ha sido utilizado con éxito para controlar la acumulación de amonio en instalaciones de estabulación de animales, así como para reducir la concentración de amonio y el olor fecal en los excrementos animales (7, 8, 9).

A pesar de que el extracto de *Y. schidigera* se podría utilizar en la acuicultura de la misma manera como se lo ha hecho en la cría de animales terrestres, pocos estudios se han realizado sobre su potencial uso en acuicultura. En la literatura científica existen referencias que el extracto de *Y. schidigera* se ha utilizado como un aditivo en piensos para peces con el fin de mejorar el metabolismo del nitrógeno/proteínas y así reducir la excreción de amonio (10, 11, 12, 13, 14). También se ha utilizado para reducir el amonio en el agua y mejorar tanto la supervivencia como el rendimiento de los animales cultivados (14, 15, 16). En el estudio de Tidwell et al. (14), 96 h después de la adición de extracto de *Y. schidigera* a concentraciones de 4,3, 43 y 430 mg/L a acuarios de 30 L que contenían 2 mg/L de nitrógeno amoniacal total (TAN), 10%, 80% y 82% del TAN presente fue reducido, respectivamente. En este experimento, no se colocaron organismos bioacuáticos en los acuarios. En una prueba de campo de 100 días, Sarkar (15, 16) agregó extracto de *Y. schidigera* a una concentración de 6 mg/L cada 15 días a estanques para el cultivo peces de agua dulce y de camarón, con lo que al final de la prueba se obtuvo una reducción de 58-60% en la concentración de TAN al compararse con el control.

Los estudios antes mencionados han demostrado que el extracto de *Y. schidigera* es capaz de reducir el amonio en el agua, pero su eficacia no ha sido cuantificada. La mayoría de los estudios mencionados fueron realizados en sistemas abiertos, en los que el ingreso de amonio debido a los animales en cultivo podría variar tanto entre los tratamientos como en la duración de los ensayos, como por ejemplo en el estudio de Sarkar (15, 16). Por otra parte, la disminución de TAN también podría verse interferida por la conversión microbiana de amonio a nitrito y después a nitrato. Considerando la poca información existente, en la presente investigación se realizó un experimento

controlado de dosis-respuesta con el fin de cuantificar la capacidad del extracto de *Y. schidigera* en la reducción de amonio.

Metodología

Diseño experimental

Se preparó una solución stock teórica de 1000 mg/L de nitrógeno amoniacal total (TAN) disolviendo 38,2 g de NH₄Cl (grado reactivo, Merck) en un litro de agua doble destilada. A partir de esta solución madre, las concentraciones deseadas de TAN se prepararon por dilución adicional con agua doble destilada. Un producto comercial en forma líquida que contiene 30% de extracto de *Yucca schidigera* (denominado en lo sucesivo como YUPE) se utilizó en este estudio.

Doscientos ml de soluciones con una concentración de TAN a 1, 3 y 5 mg/L fueron vertidas en matraces de 250 ml, e inmediatamente YUPE a concentraciones de 18, 36 y 72 mg/L fue adicionado. Agua sin adición de YUPE sirvió como control. Cada combinación de tratamiento fue por triplicado. El experimento se llevó a cabo en una sala termocontrolada a 26 ± 1 °C. Se recogieron muestras de agua en intervalos de 12 h hasta 96 h. Después de la primera toma de muestras (0 h), el agua experimental de cada matraz conteniendo TAN + YUPE se distribuyó en 1.450 tubos Eppendorf de 2 mL, teniendo en cuenta el número de muestreos subsiguientes y los parámetros a medir. Esto con la finalidad de evitar en lo posible cualquier tipo de contaminación, el crecimiento de bacterias, o la pérdida de amonio por volatilización. TAN, nitrito (N-NO₂) y nitrato (N-NO₃) se midieron de acuerdo con métodos estándar (17) utilizando espectrofotómetro (serie U, modelo U-2001, Hitachi, Tokio, Japón). Durante el tiempo del experimento no se detectó nitrito o nitrato en ninguno de los intervalos de muestreo, por lo tanto sólo los datos relacionados con TAN se incluyeron en los resultados.

Análisis estadístico

Todas las pruebas estadísticas se realizaron con el software SAS, versión 9 del sistema SAS para Windows, Copyright (2002). SAS Institute, Inc., Cary, NC, EE.UU..

Análisis de la eficacia

Tres parámetros se obtuvieron a partir de los datos de TAN medidos para examinar tanto el progreso como la eficacia en la reducción de amonio por YUPE. Estos fueron la reducción de la concentración de TAN (RTAN), la fracción de RTAN en la concentración de TAN inicial (FRTAN), y la velocidad de reducción de RTAN (SPTAN):

$$RTAN = iT - tT \quad [1]$$

$$FRTAN = RTAN / iT \quad [2]$$

$$SPTAN = RTAN / t \quad [3]$$

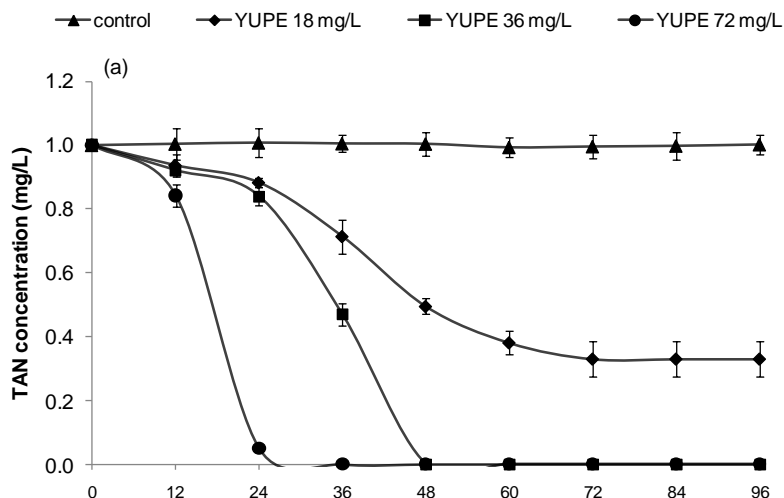
Donde iT (mg/L) es la concentración inicial de TAN o la concentración de TAN a las 0 h, tT (mg/L) es la concentración de TAN en cualquier tiempo de muestreo, y t el tiempo transcurrido en horas.

Estos tres parámetros derivados se sometieron a un ANOVA de tres vías con interacciones. Después de que los tres factores principales se pusieron a prueba: concentración de YUPE, la concentración inicial de TAN, y el tiempo transcurrido, se realizó una prueba de rango múltiple de Duncan (DMRT) para comparar estos parámetros dentro de los diversos niveles de cada factor principal. Los datos de FRTAN por estar expresados en porcentajes se transformaron mediante la raíz cuadrada del arcoseno antes del ANOVA (18, 19). La significancia estadística se examinó en $p \leq 0,05$ para todas las pruebas.

Resultados y Discusión

Reducción de TAN por YUPE

En términos generales se observó que YUPE redujo TAN siguiendo un ligero patrón sigmoide: la reducción de TAN fue inicialmente lenta entre las 0 y 12 h, se aceleró entre las 12 y 36 h, desacelerando entre las 36 y 72 h, y disminuyendo después de las 72 h; de manera que, tanto la concentración inicial de TAN y YUPE afectaron la reducción de TAN hasta alcanzar su máxima eficacia (Figura 1).



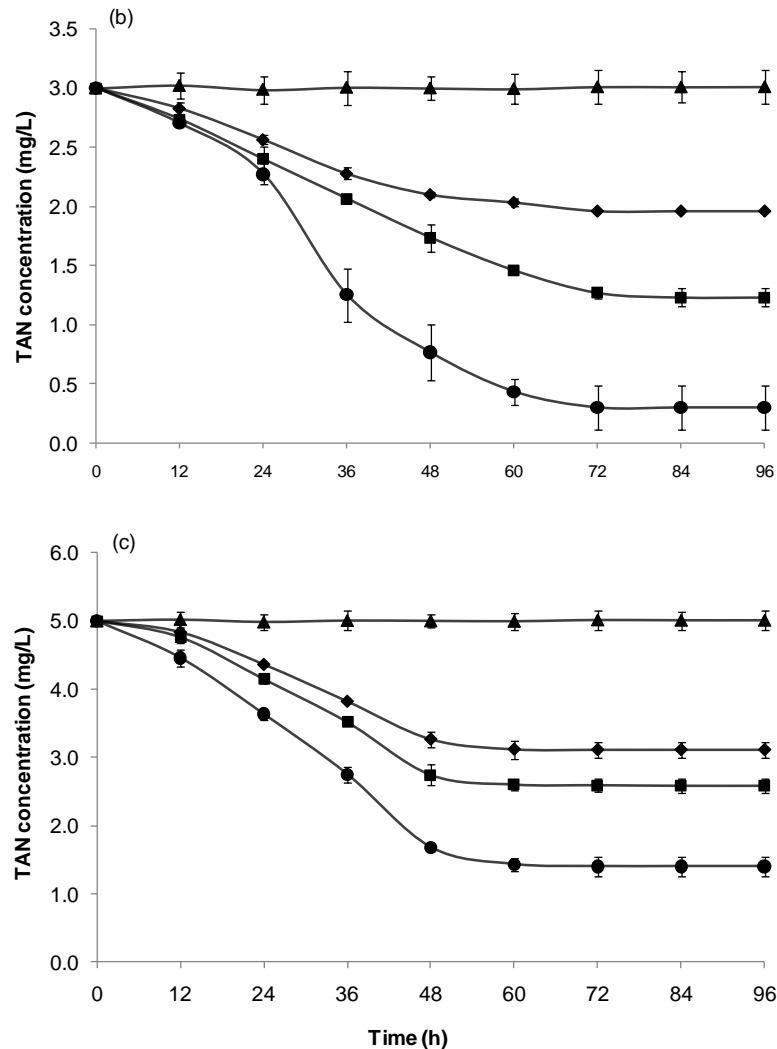


Fig. 1. Efecto de la aplicación de extracto de *Yucca schidigera* (YUPE) a 0 (control), 18, 36 y 72 mg/L en la concentración (promedio \pm desviación estándar) de nitrógeno amoniacal total (TAN) a concentraciones de: (a) 1 mg/L, (b) 3 mg/L, y (c) 5 mg/L durante 96 h.

Como se esperaba, los datos mostraron que cuanto mayor era la concentración de YUPE, más rápido y en mayor proporción se redujo la concentración de TAN. Por ejemplo, cuando la concentración inicial de TAN fue de 1 mg/L y YUPE se adicionó a 36 mg/L, TAN se redujo a 0 mg/L a las 48 h. Sin embargo, cuando YUPE se adicionó a 72 mg/L, casi todo el TAN presente se redujo a las 24 h (Fig. 1).

Por otro lado, cuanto mayor era la concentración de TAN inicial, más lenta era la actividad de YUPE en la reducción de TAN. Cuando TAN inicial fue de 1 mg/L, YUPE a ≥ 36 mg/L pudo reducir TAN a 0 mg/L en 36 h. Mientras que con un TAN inicial de 3 mg/L, YUPE a 72 mg/L llegó a reducir TAN a 0,3 mg/L a las 72 h. Al aumentar la concentración de TAN inicial a 5 mg/L, YUPE a 72 mg/L pudo reducir TAN a alrededor

de 1,4 mg/L a las 72 h (Fig. 1). YUPE fue capaz de reducir concentraciones iniciales de TAN de 1, 3 y 5 mg/L hasta 0,669 mg/L, 1,037 mg/L y 1,891 mg/L, respectivamente cuando se añadió a una concentración de 18 mg/L (Tabla 1). Por otro lado, considerando concentraciones iniciales de TAN a 1, 3 y 5 mg/L, la adición de YUPE a 72 mg/L redujo hasta 99,80%, 90,00% y 71,96% de TAN presente, respectivamente (Tabla 1).

Tabla 1. Cantidad y porcentajes de nitrógeno amoniacal total (TAN) reducido al final del experimento (96 h) cuando diferentes concentraciones de TAN estuvieron bajo el efecto de diferentes concentraciones de extracto de *Yucca schidigera* (YUPE).

	Nitrógeno Amoniacal Total (TAN) mg/L								
	1			3			5		
	YUPE mg/L			YUPE mg/L			YUPE mg/L		
	18	36	72	18	36	72	18	36	72
TAN final	0,331	0,002	0,002	1,963	1,231	0,300	3,109	2,583	1,402
Desviación Estándar	0,054	0,000	0,000	0,037	0,083	0,121	0,117	0,105	0,138
TAN reducido	0,669	0,998	0,998	1,037	1,769	2,700	1,891	2,417	3,598
% TAN reducido	66,90	99,80	99,80	34,57	58,97	90,00	37,82	48,34	71,96

Eficacia de YUPE en la reducción de TAN

A pesar de utilizar diferentes concentraciones iniciales de TAN y YUPE, los resultados estadísticos mostraron que no hubo ningún cambio en la concentración de TAN después de 72 h. Por lo tanto, sólo el tiempo en el que YUPE actúa en la reducción de TAN fue tomado para el análisis de su eficacia. De igual manera, los datos de TAN y YUPE a 0 mg/L tampoco se utilizaron.

En general, los promedios de RTAN, FRTAN y SPTAN fueron diferentes entre las tres concentraciones iniciales de TAN. RTAN y SPTAN aumentaron con la concentración inicial TAN, mientras que se observó lo contrario en el FRTAN. De igual manera, los valores de RTAN, FRTAN y SPTAN fueron diferentes en proporción a las concentraciones de YUPE. Los valores observados para los tres parámetros aumentaron en proporción directa con el aumento en la concentración de YUPE. El valor de SPTAN aumentó de manera significativa a su máximo a las 36-48 horas y luego disminuye. Todas las interacciones entre los efectos principales se encontraron significativas (Tabla 2).

Tabla 2. Efectos de la concentración inicial de nitrógeno total amoniacal (iTAN), extracto de *Yucca schidigera* (YUPE) y el tiempo transcurrido en el promedio (\pm desviación estándar) de la reducción de la concentración de TAN (RTAN), la fracción de RTAN en la concentración de TAN inicial (FRTAN), y la velocidad de reducción de RTAN (SPTAN). Nota: Promedios con superíndices diferentes indican diferencia estadística ($p \leq 0,05$). Los efectos de las interacciones en RTAN, FRTAN, y SPTAN se expresan como probabilidad de ser significativo, altamente significativo en este caso cuando ($Pr > F$) $< 0,0001$.

Parámetros	RTAN (mg/L)	FRTAN (%)	SPTAN (mg/L h)
iTAN (iT) (mg/L)			
1	0,683 ^c (0.361)	68,3 ^a (36.1)	0,013 ^c (0.008)
3	1,334 ^b (0.803)	44,5 ^b (26.8)	0,026 ^b (0.011)
5	2,000 ^a (1.041)	40,0 ^c (20.8)	0,039 ^a (0.016)
YUPE (Y) (mg/L)			
18	0,883 ^c (0.600)	32,9 ^c (19.1)	0,017 ^c (0.009)
36	1,254 ^b (0.757)	49,8 ^b (30.7)	0,023 ^b (0.011)
72	1,881 ^a (1.135)	70,1 ^a (30.1)	0,038 ^a (0.018)
Tiempo (T) (h)			
12	0,258 ^f (0.253)	8,6 ^f (5.2)	0,022 ^f (0.021)
24	0,645 ^e (0.339)	26,5 ^e (25.1)	0,027 ^d (0.014)
36	1,136 ^d (0.610)	43,8 ^d (24.1)	0,032 ^b (0.017)
48	1,598 ^c (0.902)	60,6 ^c (25.8)	0,033 ^a (0.019)
60	1,721 ^b (0.936)	65,1 ^b (24.8)	0,029 ^c (0.016)
72	1,781 ^a (0.938)	67,4 ^a (24.3)	0,025 ^e (0.013)
Interacción (Pr>F)			
iT x Y	<0,0001	<0,0001	<0,0001
iT x T	<0,0001	<0,0001	<0,0001
T x Y	<0,0001	<0,0001	<0,0001
iT x Y x T	<0,0001	<0,0001	<0,0001

Si bien es cierto, estudios anteriores han reportado la capacidad de YUPE para reducir TAN (14, 15, 16), los resultados aquí presentados aportan con la cuantificación de la eficacia de YUPE en la reducción de TAN en el agua. Tidwell et al. (14) reportó que 96 h después de la adición de extracto de *Y. schidigera* a 4,3, 43 y 430 mg/L en acuarios

de 30 L que contenían 2 mg/L de TAN, 10%, 80% y 82% de ese TAN se redujo. Los resultados de la presente investigación ofrecen un escenario más amplio ya que concentraciones de TAN más altas fueron utilizadas (Tabla 1), y además se demuestra que se puede reducir TAN en porcentajes similares, pero utilizando YUPE a más bajas concentraciones (72 mg/L) que las utilizadas por los autores antes mencionados. La presente investigación también demostró que la eficacia de YUPE en reducir TAN varía con la concentración inicial de TAN, la concentración de YUPE, y el tiempo transcurrido, así como sus interacciones (Tabla 2). La FRTAN en cada intervalo de muestreo indicó que la reducción de TAN ($26,5\% - 8,6\% = 17,9\%$) fue mayor durante las 12-24 h, y se redujo a partir de entonces en cada intervalo de 12 h, de 17,3% a las 36 horas a 2,3% a las 72 h. Después de las 72 h, no se observó reducción significativa de TAN. Esta tendencia en disminuir la reducción de TAN en cada intervalo de 12 h, se podría atribuir al agotamiento de la eficacia de YUPE.

Los mecanismos de cómo YUPE reduce amonio aún no son claras (20, 21, 22), pero varias hipótesis sobre su modo de acción se han formulado. Investigaciones anteriores indicaron que la reducción de TAN por YUPE podría ser debido a la captación de amonio por componentes de YUPE, o por la conversión del amonio a nitrito y nitrato por medio de YUPE (20, 21). Los resultados del presente estudio descartan la posibilidad de "conversión de amonio" ya que no se detectó nitrito y nitrato durante todo el experimento. Además, la nitrificación microbiana también fue prácticamente controlada, ya que para la preparación de las soluciones de amonio se utilizó agua doble destilada (cero nutrientes). De igual manera, la contaminación microbiana fue reducida al mínimo al transferir las soluciones experimentales a tubos Eppendorf herméticamente sellados. Aunque los resultados aquí presentados favorecen la hipótesis de la "captación" de amonio, los componentes de YUPE responsables de esta reacción aún no se han investigado. Estudios previos han indicado que tanto las saponinas (20, 21, 22) como los glico-componentes o glicoproteínas (9, 23) en YUPE podrían estar involucrados en la reducción de amonio. Sin embargo, el componente exacto y en qué medida es responsable de ésta reacción de "captación" no se ha identificado.

Los tratamientos químicos más comúnmente utilizados para reducir el amonio en instalaciones acuícolas son zeolitas y formalina (24). Las zeolitas tienen capacidad de intercambio catiónico, y se ha encontrado que pueden absorber alrededor de 9 mg TAN/g en experimentos con soluciones de sales de amonio en agua destilada (25, 26). Sin embargo, en el agua de los estanques con la presencia de más cationes, la capacidad de la zeolita para eliminar el amonio será mucho menor, y se requiere por lo tanto de mayores cantidades de zeolita para reducir el amonio (24). La aplicación de formalina en concentraciones de 5-10 mg/L ha demostrado reducir las concentraciones de amonio en un 50% o más tanto en experimentos de laboratorio como en estanques (26). Sin embargo, la formalina es tóxica para los animales acuáticos, y en dosis ≥ 15 mg/L puede matar fitoplancton, lo que posteriormente puede causar el agotamiento del oxígeno en los estanques para acuicultura.

Conclusiones y Recomendaciones

YUPE es de origen natural, y no causa efectos negativos en estanques de cultivo de peces de agua dulce y de camarones (15, 16); y al ser utilizado para la reducción de amonio no presentaría problemas como los mencionados al emplear otras alternativas (zeolitas, formalina). YUPE posee la etiqueta GRAS (generalmente reconocido como seguro) otorgada por la FDA de los Estados Unidos de América (27), por lo que es inofensivo para los usuarios y amigable con el medioambiente. Por lo tanto, el uso de YUPE puede ser recomendado para el manejo de la calidad del agua (reducción de amonio) en acuicultura.

Referencias

1. P.J. Walsh, P.A. Wright. "Nitrogen Metabolism and Excretion". CRC Press. 1995. Florida, USA.
2. Y. Avnimelech, G. Ritvo. "Shrimp and fishpond soils: processes and management". Aquaculture Vol. 220. 2003. pp. 549-567.
3. J.R. Tomasso. "Toxicity of nitrogenous wastes to aquaculture animals". Reviews in Fisheries Science Vol. 24. 1994. pp. 291-314.
4. J. van Rijn, M. Shilo, T. Bejerano, S. Nizan. "The effect of inorganic nitrogen on microorganisms and fish in fishponds". S. Sarig, H. Rosenthal, Eds. Research in Modern Aquaculture: Proceedings of the 3rd Status Seminar. 1990. Special Publication of European Aquaculture Society. Vol. 11, EAS, Oostende, Belgium. pp. 3-27.
5. W.M. Lewis, D.P. Morris. "Toxicity of nitrite to fish: a review". Transactions of the American Fisheries Society Vol. 115. pp. 183-195.
6. D.R. Headon, G. Walsh. "*Yucca schidigera* extracts and ammonia control". E. Collins, C. Boon, Eds. Int. Livestock Environment Symp. IV. ASAE. 1993. St. Joseph, MI. pp. 686-693.
7. A.N. Hristov, T.A. McAllister, F.H. van Herk, K.-J. Cheng, C.J. Newbold, P.R. Cheeke. "Effect of *Yucca schidigera* on ruminal fermentation and nutrient digestion in heifers". Journal of Animal Science Vol. 77. 1999. pp. 2554-2563.
8. G.F. Killeen, C.R. Connolly, G.A. Walsh, C.F. Duffy, D.R. Headon, R.F. Power. "The effects of dietary supplementation with *Yucca schidigera* extract or fractions thereof on nitrogen metabolism and gastrointestinal fermentation processes in the rat". Journal of the Science of Food and Agriculture Vol. 76. 1998. pp. 91-99.

9. R.J. Wallace, L. Arthaud, C.J. Newbold. "Influence of *Yucca schidigera* extract on ruminal ammonia concentrations and ruminal microorganisms". Applied and Environmental Microbiology Vol. 60. 1994. pp. 1762-1767.
10. D.M.S. El-Saidy, M.M.A. Gaber. "Effect of *Yucca schidigera* on water quality and growth performance of Nile tilapia (*O. niloticus* L) fingerlings". Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries Vol. 8. 2004. pp. 33-50.
11. G. Francis. "Effects of butanol extract from *Yucca schidigera* powder on growth and metabolism in common carp (*Cyprinus carpio* L.)". Effects of low dietary levels of saponins on two common culture fish –common carp (*Cyprinus carpio* L.) and Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). 2001. Ph.D. thesis. University of Hohenheim, Germany, 160 pp.
12. M.M.A. Gaber. "The Effects of plant-protein based diets supplemented with *Yucca* on growth, digestibility, and chemical composition of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*, L) fingerlings. Journal of the World Aquaculture Society Vol. 37. 2006. pp. 74-81.
13. A.M. Kelly, C.C. Kohler. "Effects of *Yucca schidigera* extract on growth, nitrogen retention, ammonia excretion, and toxicity in channel catfish *Ictalurus punctatus* and hybrid tilapia *O. mossambicus* X *O. niloticus*". Journal of the World Aquaculture Society Vol. 34. 2003. pp. 156-161.
14. J.H. Tidwell, C.D. Webster, J.A. Clark, D.H. Yancey. "Effects of *Yucca schidigera* extract on water quality and fish growth in recirculating-water aquaculture systems". The Progressive Fish-Culturist Vol. 54. 1992. pp. 196-201.
15. S.K. Sarkar. "Role of plant glycocomponents (De-Odorase) on water parameters in fish ponds". Journal of Environmental Biology Vol. 20. 1999a. pp. 131-134.
16. S.K. Sarkar. "Role of plant glycocomponents (De-Odorase) on freshwater prawn, *Macrobrachium malcolmsonii* in ponds". Journal of Environmental Biology Vol. 20. 1999b. pp. 299-301.
17. APHA. "Standard methods for the examination of water and wastewater". 20th Ed. American Public Health Association, American Water Works Association and Water Environment Federation. 1998. Washington, USA.
18. W.M. Ray, Y.H. Chien, C.H. Chen. "Comparison of probit analysis versus arcsine square root transformation of LC50 estimation". Aquacultural Engineering Vol. 15. pp. 193-207.
19. R.R. Sokal, E.J. Rohlf. "Biometry", 3rd Ed. 1995. W.H. Freeman, San Francisco, CA, USA.

20. P.R. Cheeke. "Biological effects of feed and forage saponins and their impact on animal production". G.R. Waller, Y. Yamasaki, Eds. Saponins Used in Food and Agriculture. 1996. Plenum Press, New York, pp. 377-386.
21. D.R. Headon, K.A. Dawson. "*Yucca* extract controls atmospheric ammonia levels". Feedstuffs Vol. 62. 1990. pp. 2-4.
22. H.P.S. Makkar, E.M. Aregheore, K. Becker. "Effects of saponins and plant extracts containing saponins on the recovery of ammonia during urea ammoniation of wheat straw and fermentation kinetics of the treated straw". Journal of Agricultural Science Vol. 132. 1999. pp. 313-321.
23. D.R. Headon, K. Buggle, A. Nelson, G. Killeen. "Glycofractions of the *Yucca* plant and their role in ammonia control". T.P. Lyons, Ed. Biotechnology in the Feed Industry. 1991. Alltech Technical Publications, Nicholasville, KY. pp. 95-108.
24. C.E. Boyd, C.S. Tucker. "Pond Aquaculture Water Quality Management". Kluwer Academic Publishers. 1998. Boston, MA, USA.
25. L.L. Marking, T.D. Bills. "Factors affecting the efficiency of clinoptilolite for removing ammonia from water". The Progressive Fish-Culturist Vol. 44. 1982. pp. 187-189.
26. S. Chiayvareesajja, C.E. Boyd. "Effects of zeolite, formalin, bacterial augmentation, and aeration on total ammonia nitrogen concentrations". Aquaculture Vol. 116. 1993. pp. 33-45.
27. S. Piacente, C. Pizza, W. Oleszek. "Saponins and phenolics of *Yucca schidigera* Roez!: Chemistry and bioactivity". Phytochemistry Reviews Vol. 4. 2005. pp. 177-190.