



Diversidad de especies nativas de *Halomonas* con capacidad nitrificante aisladas de criaderos de *Litopenaeus vannamei*

Diversity of *Halomonas* native species to have nitrifying capability isolated from *Litopenaeus vannamei* farm

Silvana Pérez Tejada¹; Melissa Rojas Suárez¹; Gardenia Prado Chávarri²; David Zavaleta-Verde^{1,*}

1 Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Trujillo, Av. Juan Pablo II s/n – Ciudad Universitaria, Trujillo, Perú.

2 Universidad César Vallejo, Av. Larco 1770, Trujillo, Perú.

* Autor correspondiente: ezverde@unitru.edu.pe (D. Zavaleta-Verde).

ID ORCID de los autores

S. Pérez Tejada:  <https://orcid.org/0000-0001-6851-3943>

M. Rojas Suárez:  <https://orcid.org/0000-0002-3855-1989>

G. Prado Chávarri:  <https://orcid.org/0000-0002-2089-3200>

D. Zavaleta-Verde:  <https://orcid.org/0000-0003-0382-8420>

RESUMEN

El objetivo de la investigación fue identificar cuáles son las especies del género *Halomonas*, con capacidad nitrificante, aisladas de sedimentos de criaderos de *Litopenaeus vannamei* provenientes de langostineras de Tumbes-Perú. A partir del sedimento de 3 criaderos de langostinos en tiempo de cosecha, se obtuvo una muestra representativa, a la cual se realizó un pre-enriquecimiento en Caldo Marino por 48 horas, luego se cultivó en Agar Marino, hasta la observación de colonias características del género *Halomonas*. Los cultivos obtenidos fueron identificados fenotípicamente a nivel de especie, para luego evaluar su capacidad nitrificante según la metodología de Griess-llosvay. Como resultados se obtuvo el aislamiento de 5 cultivos bacterianos, dos identificados como *H. sulfidaeris* y 3 como *H. salina*; todos los cultivos evidenciaron capacidad de reducir el nitrato a nitrito eliminando el amonio del medio. Se concluye que en el sedimento de criaderos de *Litopenaeus vannamei* ubicadas en Tumbes-Perú, están presentes las especies *H. sulfidaeris* y *H. salina*, con capacidad nitrificante, que permiten la eliminación del amonio, la cual se desarrolla como una opción eficaz para el tratamiento de agua residuales salinas de amonio.

Palabras clave: *Halomonas sulfidaeris*; *Halomonas salina*; *Litopenaeus vannamei*; aguas residuales.

ABSTRACT

The objective of the research was to identify the species of the genus *Halomonas*, with nitrifying capacity, isolated from sediments of *Litopenaeus vannamei* farms from shrimp farms in Tumbes-Peru. From the sediment of 3 prawn farms at harvest time, a representative sample was obtained, to which a pre-enrichment was carried out in Marine Broth for 48 hours, then it was cultured in Marine Agar, until the observation of colonies characteristic of the genus *Halomonas*. The cultures obtained were identified phenotypically at the species level, to then evaluate their nitrifying capacity according to the Griess-llosvay methodology. As results, the isolation of 5 bacterial cultures was obtained, two identified as *H. sulfidaeris* and 3 as *H. salina*; All cultures showed the ability to reduce nitrate to nitrite by eliminating ammonium from the medium. It is concluded that in the sediment of *Litopenaeus vannamei* breeding sites located in Tumbes-Peru, the species *H. sulfidaeris* and *H. salina* are present, with nitrifying capacity, which allow the elimination of ammonium, which is developed as an effective option for the saline ammonium wastewater treatment.

Keywords: *Halomonas sulfidaeris*; *Halomonas salina*; *Litopenaeus vannamei*; sewage.

Recibido: 16-09-2023.

Aceptado: 11-12-2023.



Esta obra está publicada bajo la licencia [CC BY 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

INTRODUCCIÓN

Dentro del grupo de bacterias halófilas y halotolerantes se encuentran especies del género *Halomonas* (Le Borgne et al., 2008), bacterias Gram negativas, heterotróficas, de rápido crecimiento y tolerantes a los ambientes salinos (Kim et al., 2013). Según varias investigaciones realizadas se aislaron especies de *Halomonas* en plantas marinas (Bibi, 2016), lagos salinos (Singh et al., 2018; Ming et al., 2020; Mamani et al., 2019), llanura costera (Koh et al., 2017), sedimento del Océano Índico, (Qiu et al., 2021), suelo salino (Li et al., 2022; Gan et al., 2018), piscina de minerales (Romano et al., 2019), desiertos (Hintersatz et al., 2023; Patel, & Thaker, 2015), reservorios de petróleo (Mnif et al., 2009), efluentes provenientes del procesamiento del olivo (Liebgott et al., 2008), efluentes provenientes del procesamiento de licor (Yang et al., 2010), minas de sal (Cardinali-Rezende et al., 2016), criaderos de *Palaemon serratus* “camarones” (Xue et al., 2018), y de *Litopenaeus vannamei* (Kasan et al., 2017).

L. vannamei, conocido como “camarón blanco”, es nativo de la costa oriental del Océano Pacífico, México (ciudad de Sonora) hasta Perú (ciudad de Tumbes), se encuentran en hábitats marinos tropicales. En las etapas juvenil, adolescente, pre-adulta y adulta la desarrollan en estuarios, lagunas costeras y manglares, su tiempo de cosecha es entre 6 y 7 meses (FAO, 2006). Sin embargo, uno de los problemas principales que afecta la producción de estos, es la toxicidad debido a los residuos de alimentación y los desechos orgánicos que producen niveles altos de amonio en solución (Duan et al., 2021).

Una alternativa para el tratamiento de aguas residuales salinas de amonio es el uso de especies de los géneros bacterianos *Nitrosomonas*, *Nitroso-*

coccus, *Nitrococcus*, *Nitrospira* y *Nitrobacter* (Yuan et al., 2022; Paungfoo et al., 2007), por su capacidad nitrificante. En investigaciones se ha evaluado la actividad de *H. indigenus* (Sangnoi et al., 2017), *H. boliviensis* (Quillaguamán et al., 2004), *H. zhanjiangensis* (Chen et al., 2009), *H. campisalis* (Guo et al., 2013) así como también la halotolerancia de *H. salifodinae* con capacidad de nitrificación heterotrófica y desnitrificación aeróbica (Hu et al., 2022).

El tratamiento de aguas residuales generadas en los criaderos de *L. vannamei*, es dificultoso, debido a las condiciones extremas que da las concentraciones de sal, y que impiden la nitrificación de bacterias comunes (Sangnoi et al., 2017); en ese sentido, la aplicación de especies halófilas y halotolerantes es recomendado antes que el tratamiento físico-químico, que es una opción muy frecuente (Huan et al., 2021).

El amonio es un compuesto tóxico del nitrógeno causante de la disminución en la tasa de producción, en cuanto, a la densidad de *L. vannamei*; además la presencia de altas concentraciones de sal, disminuyen el rendimiento del proceso biológico para la eliminación del nitrógeno. Por tal motivo, es justificable haber realizado la investigación para el hallazgo de especies de *Halomonas* tolerantes a ambientes con altas concentraciones de sal, además de la capacidad nitrificante que presentan, siendo así eficaz para el tratamiento de aguas residuales salinas contaminadas con amonio.

El objetivo de la investigación fue identificar cuáles son las especies del género *Halomonas*, con capacidad nitrificante, aisladas de sedimentos de criaderos de *Litopenaeus vannamei* provenientes de langostineras de Tumbes-Perú.

MATERIAL Y MÉTODOS

Obtención de muestra

Se muestreo dos langostineras (EXAPAL SRL y MACORI SRL) ubicadas en la ciudad de Tumbes-Perú, en las cuales se realizó un muestreo dirigido, obteniéndose 3 muestras de sedimento, de 3 criaderos en tiempo de cosecha; de cada criadero se eligieron 5 puntos y se colectaron 50 g que luego se mezclaron para constituir una sola muestra. Los criaderos en promedio tuvieron un área de 3,4 ha cada uno, y registraron valores promedio de pH del agua $7,7 \pm 0,3$, pH del sedimento $7,2 \pm 1$, densidad poblacional 10 langostinos/m², porcentaje de salinidad de 26% y temperatura de $26,3 \pm 1$ °C (Guan et al., 2020). Las muestras fueron etiquetadas y transportadas al laboratorio en un cooler refrigerado a 4 °C.

Pre-enriquecimiento del sedimento muestreado

Se homogenizó la muestra y se agregaron 25 g (Vreeland, 2015) en un matraz con 250 mL de Caldo Marino estéril. Se incubaron a 20 ± 2 °C por 48 horas (Yang et al., 2010) a 120 rpm (Vreeland, 2015). Se realizó el mismo procedimiento con las demás muestras de cada criadero.

Aislamiento primario

Se realizaron diluciones en serie hasta 10^{-10} utilizando agua salina artificial (NaCl 5 %, p/v) (Guan et al., 2020). De las diluciones se inocularon por superficie en placa de Petri con Agar Marino, se incubaron (Memmert SN-55) a 30 °C por 2 días (Yang et al., 2010). Este procedimiento se realizó para cada una de las muestras.

Luego, se seleccionaron aquellas colonias con las siguientes características: pigmentación blanca, marrón claro, beige-crema, amarillo-anaranjado, con bordes circulares lisos, brillantes u opacas. A estas colonias se les realizó la técnica de gram, teniéndose en cuenta los siguientes criterios: bacilos Gram negativos, cortos o largos, rectos o curvos (Mata et al., 2002).

Se codificaron las colonias seleccionadas y se cultivaron por estría en placas de Petri estériles con Agar Marino al 10 % de salinidad con un pH de 8 ± 1 . Se incubaron a 30 °C por 48 horas. Se verificó la pureza mediante coloración Gram.

Identificación fenotípica de especies de

Halomonas

Los cultivos puros fueron cultivados en placas de Petri con Agar Marino al 1,9% de salinidad. Se incubaron a 30 °C por 48 horas. Se realizaron pruebas fenotípicas, siguiendo la metodología sugerida descrita en el Manual de Sistemática de

Arqueas y Bacterias Bergey's (Vreeland, 2015), tales como: reacción Gram, morfología, pigmentación, motilidad, producción de H₂S, catalasa, oxidasa, producción de ácidos a partir de glucosa, maltosa, manosa, sacarosa, galactosa, crecimiento en citrato, producción de indol, hidrólisis de urea, almidón, esculina, tween 80, ADN, rango de NaCl (% w/v) (Mata et al., 2002; Kaye et al., 2004).

Evaluación cualitativa de la capacidad nitrificante de las especies de *Halomonas*

Los cultivos de *Halomonas* aislados, fueron subcultivados en caldo péptido extracto de carne de vacuno al 10% de inóculo, e incubados a 30 °C y 150 rpm. Luego de 3 días de incubación, el consumo de amonio fue evaluado por el método de Griess-Llosvay. En 1 mL del medio de cultivo, se añadieron de 5-7 gotas del reactivo de nitrito. Una reacción positiva se evidenció por el cambio del color del medio a rosado (Sangnoi et al., 2017).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los ambientes salobres como es el caso de los criaderos de langostinos presentan las condiciones necesarias para el desarrollo de bacterias halófilas del género *Halomonas*, los cuales según estudios realizados (Abosamaha, et al., 2022; Agha et al., 2018), se identificaron estas especies en criaderos de *Litopenaeus vannamei*.

A partir de la muestra del sedimento de criaderos de *L. vannamei*, se aislaron 5 cultivos bacterianos. Identificados fenotípicamente, según las caracte-

rísticas presentadas en estudios científicos de investigación (Ye & Chen, 2021). Todos los cultivos aislados fueron bacilos Gram negativos, con características de colonias como: pigmentación beige-crema, bordes circulares lisos, brillantes en cultivos de 48 horas a 30 °C en agar Marino al 10% de salinidad.

Las características fenotípicas diferenciales de las especies de *Halomonas* aisladas, se describen en la Tabla 1.

Tabla 1

Características diferenciales fenotípicas de especies nativas de *Halomonas* aisladas de sedimento de las langostineras de Tumbes, Perú

Características	Especies Nativas				
	<i>H. sulfidaeris</i> Ha09	<i>H. sulfidaeris</i> Ha10	<i>H. salina</i> Ha33	<i>H. salina</i> Ha35	<i>H. salina</i> Ha38
Lugar de procedencia	Langostinera EXAPAL SRL	Langostinera EXAPAL SRL	Langostinera MACORI SRL	Langostinera MACORI SRL	Langostinera MACORI SRL
Motilidad	+	+	-	-	-
Oxidasa	+	+	+	+	+
Catalasa	+	+	+	+	+
Ureasa	-	-	+	+	+
Producción de H ₂ S	-	-	-	+	+
Indol	-	-	-	-	-
Citrato	-	-	-	-	-
Rango NaCl (% w/v)	0,5-25	0,5-25	0,5-15	0,5-15	0,5-15
Hidrólisis de					
Almidón	-	-	-	-	-
Tween 80	-	-	-	-	-
Esculina	-	-	-	-	-
DNA	-	-	-	-	-
Producción de ácidos a partir de					
Sacarosa	-	-	-	-	-
Glucosa	+	+	-	-	-
Maltosa	+	+	-	-	-
Manosa	+	+	-	-	-
Galactosa	+	+	-	-	-

+, positivo; -, negativo.

El género *Halomonas* es un grupo que se encuentra en ambientes con moderada a elevada concentraciones de sal (Ming et al., 2020; Manya et al., 2021). El crecimiento a diferentes concentraciones de NaCl permitió diferenciar las especies de *Halomonas*, en el caso de *H. sulfidaeris* crece en un rango de 0,5% - 24% de NaCl (Ahmad et al., 2023; Saito, 2019), los cultivos codificados como Ha09 y Ha10 presentaron crecimiento dentro de este rango. En el caso de *H. salina* su crecimiento tolera entre 0,5% - 15% de NaCl (Saito, 2019; Ahmad et al., 2023) rango en el cual crecieron los cultivos Ha33, Ha35, Ha38. También otras pruebas diferenciales que se evaluaron para identificar las especies de *H. sulfidaeris* y *H. salina* fueron necesarias para su diferenciación.

H. sulfidaeris presenta movilidad debido a la presencia de flagelos peritricos (Ahmad et al., 2023), como el caso de los cultivos aislados Ha09 y ha10 el cual presentaron estas características. *H. salina* no presenta movilidad, Ha33, Ha35 y Ha38 tienen esta característica.

En cuanto a la producción de ácidos a partir de azúcares como: sacarosa, glucosa, maltosa, manosa

y galactosa, la especie *H. sulfidaeris* produjo ácidos a partir de todos los azúcares excepto sacarosa (Qiu et al., 2021; Ahmad et al., 2023), mientras que la especie *H. salina* no presentó esta característica en ninguna de estos azúcares (Mata et al., 2002), lo cual, concuerda con los resultados obtenidos en la investigación.

En cuanto a la producción de H₂S para la especie de *H. salina* fue variable (Hintersatz et al., 2023), solo los cultivos Ha35 y Ha38 presentaron producción de H₂S.

Según estudios reportados algunas especies del género *Halomonas* presentan capacidad nitrificante (Lui et al., 2020). Se ha descrito que *H. sulfidaeris* y *H. salina* reducen nitrato a nitrito eliminando el amonio por lo cual presentan esta capacidad (Vreeland, 2015; Lui et al., 2020), corroborando los resultados obtenidos ya que todos los cultivos evaluados cualitativamente mostraron capacidad nitrificante.

Este estudio podría ayudar a desarrollar a las especies de *Halomonas* como opción para el tratamiento de aguas residuales salinas de amonio en langostineras de *L. vannamei*

CONCLUSIONES

Esta investigación ha reportado el aislamiento de las especies nativas del género *Halomonas*. Estas especies son *H. sulfidaeris* y *H. salina*, con capacidad nitrificante aisladas de sedimentos de criaderos de *Litopenaeus vannamei* ubicadas en Tumbes-Perú. Las dos especies presentaron características

fenotípicas del género, así como la confirmación de la capacidad nitrificante que determina que la eliminación del amonio la cual se desarrolla como una opción eficaz para el tratamiento de agua residuales salinas de amonio.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a las langostineras EXAPAL SRL y MACORI SRL ubicadas en la ciudad de Tumbes- Perú que permitieron la recolección de muestras.

Agradecen también a los revisores pares y a los editores de esta revista por sus comentarios, que ayudaron a mejorar este trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abosamaha, A., Williamson, M. P., & Gilmour, D. J. (2022). Utilization and accumulation of compatible solutes in *Halomonas pacifica*: A species of moderately halophilic bacteria isolated from a saline lake in South Libya. *Access Microbiology*, 4(5). <https://doi.org/10.1099/acmi.0.000359>
- Agha, M., Ennen, J. R., Bower, D. S., Nowakowski, A. J., Sweat, S. C., & Todd, B. D. (2018). Salinity tolerances and use of saline environments by freshwater turtles: Implications of sea level rise. *Biological Reviews*, 93(3), 1634–1648. <https://doi.org/10.1111/brv.12410>
- Ahmad, E., Sharma, S. K., Kashyap, A. S., Manzar, N., Sahu, P. K., Singh, U. B., Singh, H. V., & Sharma, P. K. (2023). Evaluation of osmotolerant potential of *Halomonas sulfidaeris* MV-19 isolated from a Mud Volcano. *Current Microbiology*, 80(4). <https://doi.org/10.1007/s00284-023-03202-6>
- Bibi, F., Yasir, M., Alvi, S., Azhar, E., Al-Ghamdi, A., Abuzenadah, A., Raouf, D., & Angelakis, E. (2017). '*Halomonas saudii*' sp. nov., a new bacterial species isolated from marine plant *Halocnemum strobilaceum*. *New Microbes and New Infections*, 15, 42–43. <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2016.11.007>
- Cardinali-Rezende, J., Nahat, R. A., Guzmán Moreno, C. W., Carreño Farfán, C. R., Silva, L. F., Taciro, M. K., & Gomez, J. G. (2016). Draft Genome Sequence of *Halomonas* sp. HG01, a Polyhydroxyalkanoate-Accumulating Strain Isolated from Peru. *Genome announcements*, 4(1), e01598-15. <https://doi.org/10.1128/genomeA.01598-15>
- Chen, Y. G., Zhang, Y. Q., Huang, H. Y., Klenk, H. P., Tang, S. K., Huang, K., Chen, Q. H., Cui, X. L., & Li, W. J. (2009). *Halomonas zhanjiangensis* sp. nov., a halophilic bacterium isolated from a sea urchin. *International Journal Of Systematic And Evolutionary Microbiology*, 59(11), 2888–2893. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.010173-0>

- FAO - Food and Agriculture Organization (2006). Programa de información de especies acuáticas. *Penaeus vannamei*. Programa de información de especies acuáticas. Texto de Briggs, M. In: Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO [en línea]. Roma. Recuperado 7 April 2006. Disponible en: http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Penaeus_vannamei/es#tcNA00EA
- Duan, Y., Xiong, D., Wang, Y., Li, H., Dong, H., & Zhang, J. (2021). Toxic effects of ammonia and thermal stress on the intestinal microbiota and transcriptomic and metabolomic responses of *Litopenaeus Vannamei*. *Science of The Total Environment*, *754*, 141867. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141867>
- Gaboyer, F., Vandenabeele-Trambouze, O., Cao, J., Ciobanu, M. C., Jebbar, M., Le Romancer, M., & Alain, K. (2014). Physiological features of *Halomonas lionensis* sp. nov., a novel bacterium isolated from a Mediterranean Sea sediment. *Research in microbiology*, *165*(7), 490–500. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2014.07.009>
- Gan, L., Long, X., Zhang, H., Hou, Y., Tian, J., Zhang, Y., & Tian, Y. (2018). *Halomonas saliphila* sp. nov., a moderately halophilic bacterium isolated from a saline soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *68*(4), 1153–1159. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.002644>
- Guan, T.-W., Lin, Y.-J., Ou, M.-Y., & Chen, K.-B. (2020). Isolation and diversity of sediment bacteria in the hypersaline aiding Lake, China. *PLOS ONE*, *15*(7). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0236006>
- Guo, Y., Zhou, X., Li, Y., Li, K., Wang, C., Liu, J., Yan, D., Liu, Y., Yang, D., & Xing, J. (2013). Heterotrophic nitrification and aerobic denitrification by a novel *Halomonas campisalis*. *Biotechnology letters*, *35*(12), 2045–2049. <https://doi.org/10.1007/s10529-013-1294-3>
- Hintersatz, C., Singh, S., Rojas, L. A., Kretzschmar, J., Wei, S. T.-S., Khambhati, K., Kutschke, S., Lehmann, F., Singh, V., Jain, R., & Pollmann, K. (2023). *Halomonas Gemina* sp. nov. and *Halomonas llamarensis* sp. nov., two siderophore-producing organisms isolated from high-altitude salars of the Atacama Desert. *Frontiers in Microbiology*, *14*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1194916>
- Hu, J., Yan, J., Wu, L., Bao, Y., Yu, D., & Li, J. (2022). Insight into halotolerance of a robust heterotrophic nitrifying and aerobic denitrifying bacterium *Halomonas salifodinae*. *Bioresource Technology*, *351*, 126925. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.126925>
- Huang, F., Pan, L., He, Z., Zhang, M., & Zhang, M. (2021). Heterotrophic nitrification-aerobic denitrification characteristics and antibiotic resistance of two bacterial consortia from *Marinomonas* and *Halomonas* with effective nitrogen removal in mariculture wastewater. *Journal of Environmental Management*, *279*, 111786. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.111786>
- Kasan, N. A., Ghazali, N. A., Ikhwanuddin, M., & Ibrahim, Z. (2017). Isolation of Potential Bacteria as Inoculum for Biofloc Formation in Pacific Whiteleg Shrimp, *Litopenaeus vannamei* Culture Ponds. *Pakistan journal of biological sciences: PJBs*, *20*(6), 306–313. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2017.306.313>
- Kaye, J. Z., Márquez, M. C., Ventosa, A., & Baross, J. A. (2004). *Halomonas neptunia* sp. nov., *Halomonas sulfidaeris* sp. nov., *Halomonas axialensis* sp. nov. and *Halomonas hydrothermalis* sp. nov.: halophilic bacteria isolated from deep-sea hydrothermal-vent environments. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, *54*(2), 499–511. <https://doi.org/10.1099/ijms.0.02799-0>
- Kim, K. K., Lee, J.-S., & Stevens, D. A. (2013). Microbiology and epidemiology of halomonas species. *Future Microbiology*, *8*(12), 1559–1573. <https://doi.org/10.2217/fmb.13.108>
- Kim, K. K., Jin, L., Yang, H. C., & Lee, S. T. (2007). *Halomonas gomseomensis* sp. nov., *Halomonas janggokensis* sp. nov., *Halomonas salaria* sp. nov. and *Halomonas denitrificans* sp. nov., moderately halophilic bacteria isolated from saline water. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, *57*(4), 675–681. <https://doi.org/10.1099/ijms.0.64767-0>
- Koh, H. W., Rani, S., Kim, S. J., Moon, E., Nam, S. W., Rhee, S. K., & Park, S. J. (2017). *Halomonas aestuarii* sp. nov., a moderately halophilic bacterium isolated from a tidal flat. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, *67*(11), 4298–4303. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.001824>
- Le Borgne, S., Paniagua, D., & Vazquez-Duhalt, R. (2008). Biodegradation of organic pollutants by halophilic bacteria and archaea. *Journal of molecular microbiology and biotechnology*, *15*(2-3), 74–92. <https://doi.org/10.1159/000121323>
- Lefebvre, O., & Moletta, R. (2006). Treatment of organic pollution in industrial saline wastewater: a literature review. *Water research*, *40*(20), 3671–3682. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2006.08.027>
- Li, Q., Zhang, Y., Juck, D., Fortin, N., Greer, C. W., & Tang, Q. (2010b). Phylogenetic analysis of bacterial communities in the shrimp and sea cucumber aquaculture environment in northern China by culturing and PCR-DGGE. *Aquaculture International*, *18*(6), 977–990. <https://doi.org/10.1007/s10499-009-9316-9>
- Li, X., Lu, H., Wang, Q., Yang, H., Yang, H., Wu, J., & Huang, H. (2022). *Halomonas binhaiensis* sp. nov., isolated from saline-alkali soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *72*(12). <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.005652>
- Liebgt, P. P., Labat, M., Amouric, A., Tholozan, J. L., & Lorquin, J. (2008). Tyrosol degradation via the homogenetic acid pathway in a newly isolated *Halomonas* strain from olive processing effluents. *Journal of Applied Microbiology*, *105*(6), 2084–2095. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2008.03925.x>
- Liu, Y., Ding, H., Sun, Y., Li, Y., & Lu, A. (2020). Genome analysis of a marine bacterium *Halomonas* sp. and its role in nitrate reduction under the influence of Photoelectrons. *Microorganisms*, *8*(10), 1529. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8101529>
- Mamani, J. I., Pacheco, K. B., Elorrieta, P., Romoacca, P., Castelan, H., Davila, S., Sierra, J. L., & Quispe-Ricalde, M. A. (2019). Draft Genome Sequence of *Halomonas elongata* MH25661 Isolated from a Saline Creek in the Andes of Peru. *Microbiology resource announcements*, *8*(1), e00934-18. <https://doi.org/10.1128/MRA.00934-18>
- Mata, J. A., Martínez-Cánovas, J., Quesada, E., & Béjar, V. (2002). A detailed phenotypic characterisation of the type strains of *Halomonas* species. *Systematic and applied microbiology*, *25*(3), 360–375. <https://doi.org/10.1078/0723-2020-00122>
- Manya, W. F., Lizárraga, W. C., Mormontoy, C. G., Taira, M. A., & Ramírez, P. S. (2021). Complete Genome Sequence of *Halomonas* sp. Strain SH5A2, a Dye-Degrading Halotolerant Bacterium Isolated from the Salinas and Aguada Blanca National Reserve in Perú. *Microbiology Resource Announcements*, *10*(2). <https://doi.org/10.1128/mra.01083-20>
- Ming, H., Ji, W., Li, M., Zhao, Z., Cheng, L., Niu, M., Zhang, L., Wang, Y., & Nie, G. (2020). *Halomonas lactosivorans* sp. nov., isolated from salt-lake sediment. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *70*(5), 3504–3512. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004209>
- Mnif, S., Chamkha, M., & Sayadi, S. (2009). Isolation and characterization of *Halomonas* sp. strain C2SS100, a hydrocarbon-degrading bacterium under hypersaline conditions. *Journal of applied microbiology*, *107*(3), 785–794. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04251.x>
- Patel, J. H., & Thaker, V. S. (2015). Whole genome sequencing of *Halomonas* sp. SUBG004 isolated from Little Rann of Kutch, a desert of India. *Genomics data*, *6*, 19–20. <https://doi.org/10.1016/j.gdata.2015.07.027>
- Paungfoo, C., Prasertsan, P., Burrell, P. C., Intrasingkha, N., & Blackall, L. L. (2007). Nitrifying bacterial communities in an aquaculture wastewater treatment system using fluorescence in situ hybridization (FISH), 16S rRNA gene cloning, and phylogenetic analysis. *Biotechnology and bioengineering*, *97*(4), 985–990. <https://doi.org/10.1002/bit.21270>

- Poli, A., Esposito, E., Orlando, P., Lama, L., Giordano, A., de Appolonia, F., Nicolaus, B., & Gambacorta, A. (2007). *Halomonas alkaliantarctica* sp. nov., isolated from saline lake Cape Russell in Antarctica, an alkaliphilic moderately halophilic, exopolysaccharide-producing bacterium. *Systematic and Applied Microbiology*, *30*(1), 31–38. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2006.03.003>.
- Purkhold, U., Pommerening-Röser, A., Juretschko, S., Schmid, M. C., Koops, H. P., & Wagner, M. (2000). Phylogeny of all recognized species of ammonia oxidizers based on comparative 16S rRNA and amoA sequence analysis: implications for molecular diversity surveys. *Applied and environmental microbiology*, *66*(12), 5368–5382. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.12.5368-5382.2000>
- Quillaguamán, J., Hatti-Kaul, R., Mattiasson, B., Alvarez, M. T., & Delgado, O. (2004). *Halomonas boliviensis* sp. nov., an alkalitolerant, moderate halophile isolated from soil around a Bolivian hypersaline lake. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, *54*(3), 721–725. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02800-0>
- Qiu, X., Yu, L., Cao, X., Wu, H., Xu, G., & Tang, X. (2021). *Halomonas sedimenti* sp. nov., a halotolerant bacterium isolated from deep-sea sediment of the Southwest Indian Ocean. *Current Microbiology*, *78*(4), 1662–1669. <https://doi.org/10.1007/s00284-021-02425-9>
- Romano, I., Abbate, M., Poli, A., & D'Orazio, L. (2019). Bio-cleaning of nitrate salt efflorescence on stone samples using extremophilic bacteria. *Scientific reports*, *9*(1), 1668. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-38187-x>
- Saito, M., Nishigata, A., Galipon, J., & Arakawa, K. (2019). Complete genome sequence of *Halomonas sulfidaeris* strain ESULFIDE1 isolated from a metal sulfide rock at a depth of 2200 meters, obtained using nanopore sequencing. *Microbiology Resource Announcements*, *8*(23). <https://doi.org/10.1128/mra.00327-19>
- Sangnoi, Y., Chankaew, S., & O-Thong, S. (2017). Indigenous *Halomonas* spp., the potential nitrifying bacteria for saline ammonium waste water treatment. *Pak J Biol Sci: PjBS*, *20*(1), 52–58. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2017.52.58>
- Singh, R. V., Sharma, H., Koul, A., & Babu, V. (2018). Exploring a broad spectrum nitrilase from moderately halophilic bacterium *Halomonas* sp. IIMB2797 isolated from saline lake. *Journal of basic microbiology*, *58*(10), 867–874. <https://doi.org/10.1002/jobm.201800168>
- Vreeland, R. H. (2015). *Halomonas*. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, 1–19. <https://doi.org/10.1002/9781118960608.gbm01190>
- Vreeland, R. H., Litchfield, C. D., Martin, E. L., & Elliot, E. (1980). *Halomonas elongata*, a New Genus and Species of Extremely Salt-Tolerant Bacteria. *Int. j. syst. Bacteriol.*, *30*(2), 485–495. <https://doi.org/10.1099/00207713-30-2-485>
- Xue, M., Wen, C. Q., Liu, L., Fang, B. Z., Salam, N., Huang, X. M., Liu, Y. F., Xiao, M., & Li, W. J. (2018). *Halomonas litopenaei* sp. nov., a moderately halophilic, exopolysaccharide-producing bacterium isolated from a shrimp hatchery. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, *68*(12), 3914–3921. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003090>
- Yang, C., Wang, Z., Li, Y., Niu, Y., Du, M., He, X., Ma, C., Tang, H., & Xu, P. (2010). Metabolic versatility of halotolerant and alkaliphilic strains of *Halomonas* isolated from alkaline black liquor. *Bioresource Technology*, *101*(17), 6778–6784. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.03.108>
- Yuan, D., Zheng, L., Liu, Y.-X., Cheng, H., Ding, A., Wang, X., Tan, Q., Wang, X., Xing, Y., Xie, E., Wu, H., Wang, S., & Zhu, G. (2022). Nitrifiers cooperate to produce nitrous oxide in plateau wetland sediments. *Environ. Sci. Technol.*, *57*(1), 810–821. <https://doi.org/10.1021/acs.est.2c06234>
- Ye, J.-W., & Chen, G.-Q. (2021). *Halomonas* as a chassis. *Essays Biochem*, *65*, 393–403. <https://doi.org/10.1042/ebc20200159>