

Impacto de la melaza y el silicato sobre bacterias del género *Bacillus* y *Vibrio* en sedimentos acuícolas: Un análisis metagenómico comparativo

Impact of molasses and silicate on bacteria of the genus *Bacillus* and *Vibrio* in aquaculture sediments: A comparative metagenomic analysis

Rodrigo Saavedra¹; Ruth Vasquez¹; Lita Sorroza^{1*}

¹ Laboratorio de Microbiología, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Técnica de Machala, Av. Panamericana km 5 ½ Vía a Pasaje, Machala, Ecuador.

* Autor correspondiente: rsaavedra2@utmachala.edu.ec (R. Saavedra).

ID ORCID de los autores

R. Saavedra: <https://orcid.org/0009-0004-9224-1801>

R. Vasquez: <https://orcid.org/0009-0009-6137-267X>

L. Sorroza <https://orcid.org/0000-0002-8829-0414>

RESUMEN

La gestión de comunidades microbianas en sistemas acuícolas es fundamental para mantener la sanidad del ambiente y favorecer la producción sostenible. En particular, bacterias del género *Bacillus* presentan propiedades benéficas, mientras que *Vibrio* incluye especies patógenas que afectan negativamente la salud de los cultivos. Este estudio evaluó el efecto de la melaza y el silicato sobre la composición bacteriana del sedimento, enfocándose en la abundancia relativa de ambos géneros. Se recolectaron sedimentos en tres sitios de Puerto Hualtaco, Ecuador (compuerta de camaronera, manglar virgen y muelle), y se sometieron a tratamientos con melaza (84 mg/L), silicato (34 mg/L) y un control sin insumos. Las comunidades bacterianas fueron analizadas mediante secuenciación metagenómica. Los resultados mostraron que *Bacillus* fue más abundante en los controles del manglar y muelle, pero disminuyó en los tratamientos; solo en la compuerta camaronera se observó un ligero aumento. En cambio, *Vibrio* incrementó en todos los tratamientos, lo que sugiere que estos insumos favorecen su proliferación. También se detectaron cambios en otros géneros bacterianos, reflejando la influencia de los nutrientes sobre la microbiota. Este estudio aporta evidencia sobre el impacto de ciertos insumos en la estructura microbiana del sedimento, subrayando la necesidad de estrategias que promuevan bacterias benéficas en acuicultura.

Palabras clave: acuicultura; comunidades bacterianas; insumos; proliferación; secuenciación,

ABSTRACT

The management of microbial communities in aquaculture systems is essential for maintaining environmental health and promoting sustainable production. *Bacillus* bacteria exhibit beneficial properties, while *Vibrio* includes pathogenic species that negatively affect crop health. This study evaluated the effect of molasses and silicate on the bacterial composition of sediment, focusing on the relative abundance of both genera. Sediments were collected from three sites in Puerto Hualtaco, Ecuador (shrimp farm gate, virgin mangrove, and dock) and treated with molasses (84 mg/L), silicate (34 mg/L), and a control without inputs. Bacterial communities were analyzed using metagenomic sequencing. Results showed that *Bacillus* was more abundant in the mangrove and dock controls; but decreased across treatments; only at the shrimp farm gate was a slight increase observed. In contrast, *Vibrio* increased across all treatments, suggesting that these inputs promote its proliferation. Changes were also detected in other bacterial genera, reflecting the influence of nutrients on microbiota. This study provides evidence of the impact of certain inputs on the microbial structure of the sediment, highlighting the need for strategies that promote beneficial bacteria in aquaculture.

Keywords: aquaculture; bacterial communities; inputs; proliferation; sequencing.

Recibido: 14-01-2025.

Aceptado: 10-05-2025.



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

INTRODUCCIÓN

La acuicultura se ha consolidado como una de las actividades productivas de más rápido crecimiento a nivel mundial, posicionándose como una alternativa clave para satisfacer la creciente demanda global de productos del mar en el futuro (Chan et al., 2024). En este contexto, el cultivo de camarón adquiere una importancia especial en países como Ecuador, reconocido como uno de los principales exportadores a nivel mundial. El aumento sostenido en los niveles de producción ha convertido a este sector en uno de los pilares de mayor crecimiento dentro de la economía nacional (Viera-Romero et al., 2024). Sin embargo, esta intensificación de las prácticas acuícolas ha implicado un mayor uso de insumos como la melaza y el silicato, utilizados como fuentes de carbono y nutrientes esenciales para la proliferación de productividad natural y bacterias benéficas, en especial aquellas del género *Bacillus* (Shi et al., 2024).

En la industria acuícola ecuatoriana, se ha difundido la creencia de que insumos como la melaza y el silicato favorecen la bioestimulación y la proliferación de bacterias benéficas del género *Bacillus*, conocidas por sus propiedades probióticas. Al mismo tiempo, se presume que estos insumos contribuyen a reducir la presencia de bacterias patógenas del género *Vibrio*, asociadas a enfermedades como la necrosis hepatopancreática aguda (AHPND), responsable de elevadas tasas de mortalidad en los cultivos de camarón (Ma et al., 2024). Sin embargo, la evidencia científica que respalde esta creencia es limitada, particularmente en estudios que utilicen metodologías avanzadas como el análisis metagenómico, capaces de ofrecer una visión integral de las comunidades microbianas. Además, se desconoce si los efectos de estos insumos son exclusivos de los sedimentos de piscinas camaroneras o si se replican en entornos alejados de las actividades acuícolas. La falta de información detallada sobre el impacto real de estos insumos plantea interrogantes sobre su efectividad para proliferar bacterias benéficas del género *Bacillus* y sobre su posible influencia en las dinámicas microbianas de diferentes entornos acuáticos.

Existen escasos estudios donde se investigue específicamente el impacto de la melaza y el silicato en la bioestimulación de bacterias del género *Bacillus* en los sedimentos acuícolas. No obstante, algunas investigaciones han explorado su efecto en

otros sistemas de cultivo. Alfiansah et al. (2022) reportaron que la adición de melaza y silicato favorece el crecimiento de bacterias beneficiosas, como las del género *Bacillus*, en cultivos de camarón (*Litopenaeus vannamei*) realizados en tanques. De manera similar, Lima et al. (2021) encontraron que en un sistema biofloc multitrófico con ostras (*Crassostrea gigas*) y camarón blanco (*L. vannamei*), estos insumos promovieron la proliferación de *Bacillus* spp. y redujeron significativamente la presencia de patógenos como *Vibrio*. Además, Kim et al. (2022) y Waiho et al. (2023) utilizaron análisis metagenómicos para estudiar la diversidad microbiana en cultivos de camarón en sistemas biofloc con la aplicación de estos insumos, destacando una disminución significativa en la abundancia de *Vibrio*.

Este estudio es clave para entender cómo la melaza y el silicato influyen en la proliferación de bacterias beneficiosas del género *Bacillus* y en la dinámica de bacterias patógenas como *Vibrio*, que afectan a las especies de cultivo. Aunque investigaciones previas han evaluado el impacto de estos insumos, aún no se han realizado análisis metagenómicos que capten la complejidad y diversidad microbiana de los sedimentos acuícolas. En el contexto de la industria camaronera ecuatoriana, que abarca más de 250.000 hectáreas de cultivo, el uso de estos insumos se ha intensificado significativamente (Alvarado-Barrera et al., 2024). Los hallazgos de este estudio podrían ofrecer evidencia científica para validar o cuestionar las prácticas actuales, proporcionando a los productores herramientas para tomar decisiones adecuadas sobre el uso de insumos en sus sistemas de cultivo.

Este estudio tiene como objetivo analizar, mediante herramientas metagenómicas, el impacto de la melaza y el silicato en las comunidades microbianas de los sedimentos de piscinas camaroneras, con énfasis en el crecimiento de bacterias beneficiosas del género *Bacillus* y bacterias patógenas como *Vibrio*. Se evaluará su influencia mediante un diseño experimental que incluye un grupo tratado con estos insumos y un grupo control sin aditivos. Además, se evaluarán los efectos observados en los sedimentos acuícolas con los de zonas no influenciadas por actividades acuícolas, como manglares vírgenes y áreas cercanas a muelles, para determinar si los efectos de los nutrientes son específicos de los sistemas acuícolas o si se replican en otros entornos.

METODOLOGÍA

Área de estudio

El estudio se llevó a cabo en la zona de manglar de Puerto Hualtaco, ubicada en Huaquillas, provincia de El Oro, Ecuador, cerca de la frontera con Perú (Figura 1). Este sitio es reconocido por su importante actividad camaronera, marítima comercial y por la presencia de ecosistemas de manglar conservados.

Recolección de muestras

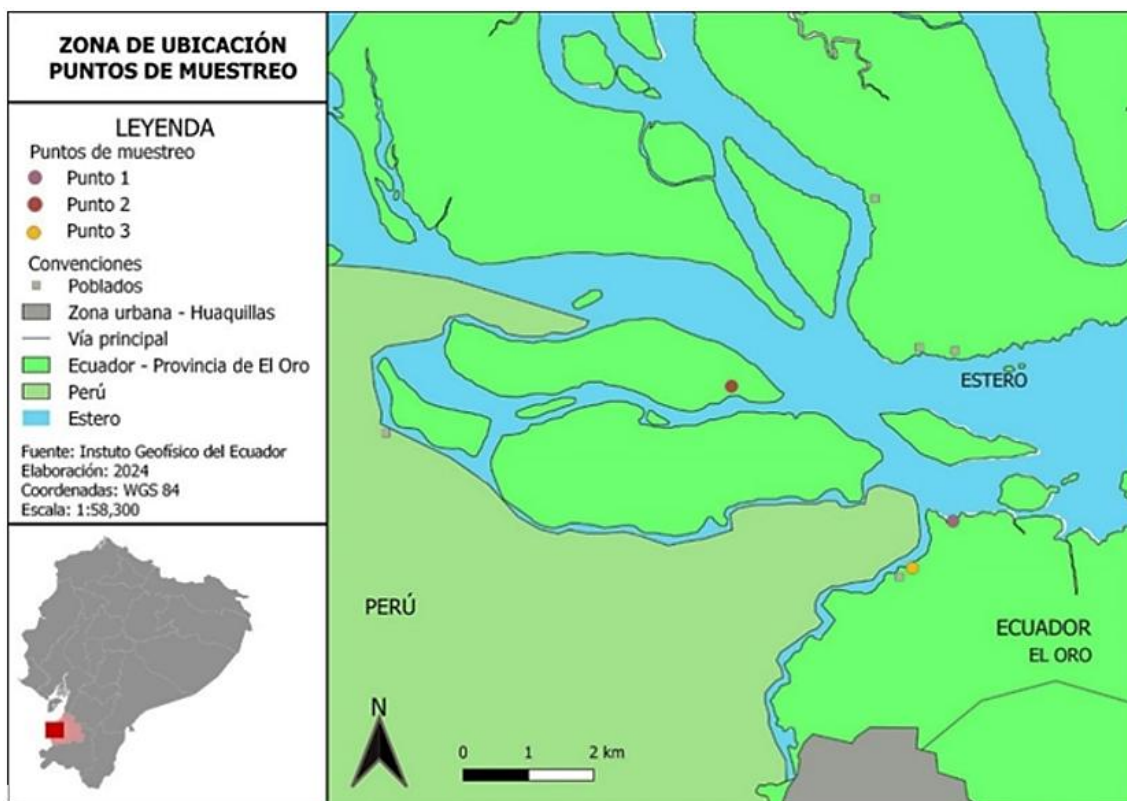
Se recolectaron muestras de sedimento en tres

puntos representativos (Tabla 1). Para la recolección de las muestras, se utilizó la técnica de puntos sospechosos descrita por Thomas et al. (2020). Las muestras se extrajeron a una profundidad de 10 cm del sedimento con una draga Ekman y se colocaron en bolsas Ziploc, las cuales se etiquetaron y conservaron en una nevera corcho a 10 °C. Posteriormente, las muestras se trasladaron al Laboratorio de Microbiología en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Machala.

Tabla 1

Descripción de los puntos de donde se extrajo cada una de las muestras.

ID	Sitio	Descripción	Coordenadas
P1	Compuerta de camaronera	Este punto fue elegido debido a la gran cantidad de sedimentos acumulados como resultado de la actividad acuícola en la zona.	3°26'29.39"S, 80°13'4.66"W
P2	Manglar virgen	Este punto está alejado de la influencia directa de actividades humanas y acuícolas. Representa un ecosistema relativamente prístino, permitiendo un contraste con los puntos intervenidos y proporcionando una referencia natural para las comunidades microbianas presentes en los sedimentos.	3°25'22.08"S, 80°14'54.74"W
P3	Muelle	Este punto representa una zona de tránsito pesquero y comercial, refleja un área afectada por actividades humanas y el tráfico de embarcaciones.	3°26'52.91"S, 80°13'24.86"W

**Figura 1** Mapa de los puntos de muestreo.

En cada uno de los puntos muestreados se midieron los siguientes parámetros:

- pH del sedimento, medido con un multiparámetro Hanna HI9813-51.
- Salinidad del agua, evaluada con un refractómetro Hanna HI96822.

En el laboratorio, se determinó el porcentaje de materia orgánica de cada muestra de sedimento utilizando el método de Walkley-Black.

Diseño experimental

En el laboratorio, cada muestra se dividió en dos recipientes de 12 litros (control y tratamiento), dando lugar a seis unidades experimentales. El sedimento se colocó en cada recipiente a una altura de 10 cm y se cubrió con 5 cm de agua de la zona de muestreo, manteniendo una aireación constante.

- Control: Sin nutrientes.
- Tratamiento: Se añadieron 84 mg/L de melaza y 34 mg/L de silicato, las cuales son dosis

aproximadas a las aplicadas en el campo acuícola.

Los nutrientes se añadieron cada tres días. Al séptimo día, se recolectaron 100 g de sedimento de cada recipiente, tanto de los tratamientos como de los controles, para realizar el análisis metagenómico.

Análisis metagenómico

El análisis metagenómico se realizó mediante la secuenciación de alto rendimiento (HTS) del amplicón del ARNr 16S. Para ello, se utilizaron aproximadamente 1 g de cada muestra, que fueron lavadas con una solución estéril de NaCl al 2% para eliminar impurezas externas. Posteriormente, las muestras se maceraron y se obtuvieron alícuotas. Las alícuotas (500 µl) de cada muestra se transfirieron a tubos crioviales de 2 ml, se sometieron a congelación instantánea en nitrógeno líquido (-196 °C) y se almacenaron a -80 °C. Los

macerados se procesaron para la extracción de ADN genómico (ADNg) utilizando el kit ZymoBiomics DNA Microprep (Zymo Research, Irvine, CA, EE. UU.).

La calidad y concentración del ADNg se evaluaron mediante un espectrofotómetro de barrido UV-Vis NanoDrop One (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA), asegurando un índice de pureza (A260/280) entre 1,8 y 2,0. Una alícuota de 20 µl de ADNg se diluyó en agua ultrapura libre de ADNasa antes de enviarse a Novogene Incorporation (Beijing, China) para la amplificación de la región V3-V4 del gen 16S rRNA mediante los cebadores 341F/806R. La

construcción de la biblioteca de amplicones y la secuenciación se realizaron en la plataforma Illumina NovaSeq 6000 P250.

Las secuencias generadas se procesaron utilizando el algoritmo Divisive Amplicon Denoising Algorithm 2 (DADA2), que permitió filtrar, denoizar y fusionar las secuencias de amplicones. Asimismo, se eliminaron las secuencias quiméricas y se generó una tabla de variantes de secuencias de amplicones (ASVs). La asignación taxonómica se realizó utilizando la base de datos pública SILVA v138 (<https://www.arb-silva.de>), que permitió identificar las secuencias a nivel de género.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 2 muestra los resultados de los parámetros ambientales medidos en cada uno de los puntos de muestreo.

Tabla 2

Parámetros ambientales medidos en cada punto de muestreo

ID	Sitio	pH	Salinidad (‰)	MO (%)
P1	Compuerta de Camaronera	5,3 ± 0,1	21 ± 2	2,23 ± 0,19
P2	Manglar virgen	6,1 ± 0,1	24 ± 2	1,79 ± 0,25
P3	Muelle	6,1 ± 0,1	19 ± 2	1,53 ± 0,21

Nota: % MO (Porcentaje de materia orgánica).

Resultados de los análisis metagenómicos a nivel de género

En este estudio, se identificó la presencia del género *Desulfobulbus* en todos los puntos de muestreo (Figura 2), lo que refleja su capacidad de

adaptación a diversos entornos acuáticos. Según Fiard et al. (2022) y Barilo et al. (2024), este género desempeña un papel crucial en los sedimentos, ya que participa activamente en la descomposición de materia orgánica y en los ciclos del azufre. Estas funciones son esenciales para el reciclaje de nutrientes y el equilibrio de los ecosistemas acuáticos, especialmente en ambientes ricos en materia orgánica y nutrientes disponibles.

El género *Desulfosarcina* también fue identificado en todos los puntos de muestreo (Figura 2), demostrando su relevancia en los procesos biogeoquímicos de los sedimentos acuáticos. Li et al. (2021) menciona que este género desempeña un papel esencial en la reducción de sulfatos, un proceso clave para la degradación de materia orgánica en ambientes anaeróbicos. Su alta presencia en los ecosistemas marinos está estrechamente vinculada con los niveles de nutrientes presentes en la zona.

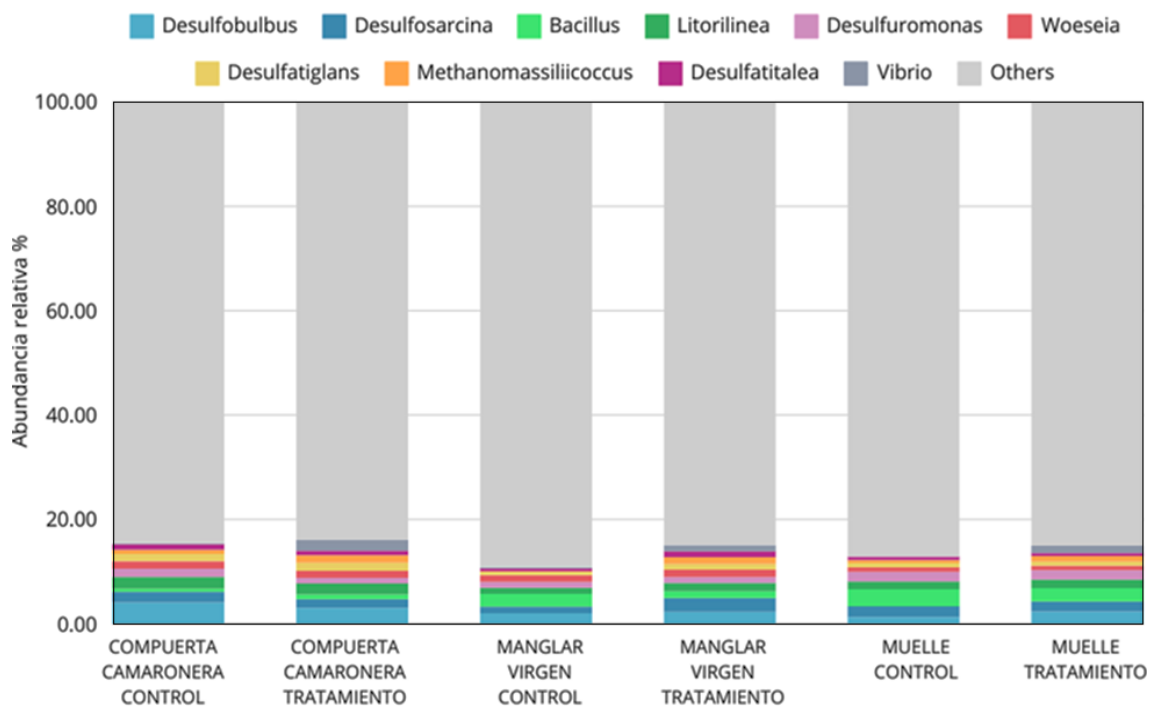


Figura 2. Abundancia relativa de las comunidades bacterianas a nivel de Género.

El género *Bacillus* mostró su mayor abundancia en el muelle control (3,26%) y manglar control (2,46%). Sin embargo, se observó una reducción significativa de su abundancia en los tratamientos (muelle: 2,59% y manglar: 1,36%). En contraste, en la compuerta camaronesa, la abundancia en el tratamiento (0,93%) fue ligeramente mayor al control (0,61%). Esta reducción en los tratamientos del manglar y muelle podría explicarse por la competencia por espacio y nutrientes entre *Bacillus* y otros grupos bacterianos, como sugieren Knipe et al. (2021), Soto-Marfileño et al. (2024) y Liu et al. (2022).

Por otro lado, el leve incremento observado en el tratamiento de la compuerta camaronesa podría estar relacionado con la elevada presencia de materia orgánica en este sitio (Tabla 2). Según Bravo et al. (2023), el género *Bacillus* destaca por su capacidad para aprovechar de manera eficiente el carbono orgánico. En este contexto, la combinación de una alta carga orgánica en la zona con los insumos aplicados incrementó significativamente la disponibilidad de nutrientes, lo que redujo la competencia por recursos con otros géneros bacterianos y favoreció un crecimiento más sostenido de *Bacillus* (Tabla 3).

El género *Litorilinea* es un grupo bacteriano conocido por su capacidad fermentativa y por desempeñar un rol importante en las interacciones microbianas dentro de los sedimentos de manglar. En particular, participa en la descomposición anaeróbica de materia orgánica y en procesos de reducción de compuestos como el azufre. Estas características funcionales explican su mayor abundancia en zonas como las compuertas camaronesas (Tabla 3), un ambiente con una alta disponibilidad de materia orgánica y nutrientes (Jamon-Haon et al., 2024).

Los géneros *Desulfuromonas* y *Desulfatiglans* fueron identificados en todos los puntos de muestreo. Según Costa et al. (2022), estos grupos bacterianos son reductores de sulfatos, por lo tanto, participan en el ciclo del azufre, un proceso crucial en los ecosistemas de manglar, dado que estos ambientes son anaeróbicos y ricos en materia orgánica y sulfatos. Estas bacterias contribuyen a la alta productividad del ecosistema al actuar como descomponedores primarios de la materia orgánica. Los resultados sugieren que la

abundancia de estas bacterias en las zonas estudiadas está relacionada con la disponibilidad de nutrientes, lo que crea un ambiente favorable para su crecimiento.

El género *Woeseia* es quimioheterotrófico y anaerobio facultativo, conocido por su capacidad para degradar materia orgánica; participa activamente en el ciclo del carbono, nitrógeno y azufre. Su abundancia en los ecosistemas se asocia principalmente con la alta disponibilidad de nutrientes (Bacosa et al., 2018; Qian et al., 2024). En cuanto al género *Methanomassiliicoccus*, este desempeña un papel crucial en el ciclo del carbono, ya que produce metano a partir de compuestos metilados mediante la oxidación de dihidrógeno. La alta disponibilidad de nutrientes y materia orgánica en los sedimentos contribuye significativamente a este proceso, ya que este grupo bacteriano utiliza compuestos como el dióxido de carbono (CO₂) y el hidrógeno (H₂) como sustratos para la producción de metano (Cozannet et al., 2021).

El género *Desulfatitalea* agrupa bacterias anaeróbicas que juegan un papel crucial en los ciclos biogeoquímicos de ambientes con altos niveles de azufre. Estas bacterias son capaces de reducir sulfatos, lo que favorece la descomposición de materia orgánica y el reciclaje de nutrientes en dichos ecosistemas. Además, algunas especies de *Desulfatitalea* cuentan con el gen *nirFA*, lo que les permite participar en la reducción disimilatoria de nitrato a amonio, ampliando su versatilidad metabólica y su capacidad de adaptación a diferentes condiciones ambientales. Esta flexibilidad les permite prosperar en entornos con abundante azufre y carbono (Muwawa et al., 2021; Liu et al., 2022).

Finalmente, el género *Vibrio*, ampliamente reconocido por su papel como patógeno en la acuicultura, presentó un aumento significativo en los tratamientos, lo que representa un hallazgo notable y de gran relevancia. En la compuerta camaronesa, la abundancia relativa de *Vibrio* en el tratamiento alcanzó el 2,07%, lo que representa un incremento de más de diez veces respecto al control (0,19%). Un patrón similar se observó en el manglar virgen (1,12% en el tratamiento frente a 0,13% en el control) y en el muelle (1,36% en el tratamiento frente a 0,04% en el control).

Tabla 3

Porcentajes de abundancia relativa de los principales géneros bacterianos identificados en los 3 puntos de muestreo

Géneros bacterianos	Compuerta Camaronera Control	Compuerta Camaronera Tratamiento	Manglar Virgen Control	Manglar Virgen Tratamiento	Muelle Control	Muelle Tratamiento
<i>Desulfobulbus</i>	4,11	3,07	2,04	2,29	1,33	2,36
<i>Desulfosarcina</i>	2,02	1,64	1,26	2,61	2,03	1,9
<i>Bacillus</i>	0,61	0,93	2,46	1,36	3,26	2,59
<i>Litorilinea</i>	2,22	2,08	1,14	1,59	1,47	1,64
<i>Desulfuromonas</i>	1,59	1,08	1,14	1,13	1,9	1,81
<i>Woeseia</i>	1,46	1,35	1,26	1,35	0,79	0,8
<i>Desulfatiglans</i>	1,42	1,59	0,61	1,16	0,88	0,82
<i>Methanomassiliicoccus</i>	0,77	1,4	0,14	1,27	0,55	1,06
<i>Desulfatitalea</i>	1,07	0,87	0,59	1,17	0,64	0,62
<i>Vibrio</i>	0,19	2,07	0,13	1,12	0,04	1,36
Otros	84,54	83,92	89,23	84,95	87,11	85,04

Este incremento no parece estar relacionado con la presencia de materia orgánica, tal como lo sugieren estudios previos de Leite et al. (2020) y Möller et al. (2020), ya que este parámetro se mantuvo constante entre los controles y los tratamientos en todos los puntos muestreados (Tabla 2). Estos resultados son especialmente relevantes porque indican que la adición de nutrientes, como melaza y silicato, puede ser un factor determinante en la proliferación de *Vibrio*, independientemente del contenido de MO en los sedimentos. Este fenómeno podría explicarse por la composición química de los insumos añadidos, que incluyen carbono, calcio,

magnesio, hierro y silicio, los cuales favorecen el crecimiento de este género. Estudios previos, como el de Castro & Lagos (2022), han documentado que la combinación de estos nutrientes genera condiciones óptimas para el desarrollo de *Vibrio*, con concentraciones que alcanzan hasta 10^5 - 10^6 UFC/ml. Sin embargo, los resultados de este estudio evidencian un incremento significativamente mayor, lo que subraya la sensibilidad del ecosistema microbiano a la introducción de estos insumos en comparación con lo reportado en investigaciones previas.

CONCLUSIONES

La melaza y el silicato tienen un efecto limitado en la proliferación de bacterias beneficiosas del género *Bacillus*. El ligero aumento observado en la abundancia de este grupo bacteriano parece estar relacionado principalmente con la alta presencia de materia orgánica en los sedimentos, que, junto con los insumos añadidos, generó un entorno más favorable para su desarrollo al reducir la competencia bacteriana. Sin embargo, el género *Vibrio*, potencialmente patógeno en acuicultura, mostró un crecimiento significativo en todos los tratamientos, lo que sugiere que los insumos proporcionan condiciones óptimas para la proliferación de este grupo bacteriano.

Además, se observó que estos efectos no se limitan exclusivamente a los sedimentos acuícolas, sino que también se presentan en áreas alejadas de esta actividad, lo que representa un riesgo tanto para los organismos de cultivo como para el medio ambiente.

El análisis metagenómico reveló que, además de *Bacillus* y *Vibrio*, otros géneros bacterianos también respondieron a estos nutrientes, reflejando la complejidad y sensibilidad de las comunidades microbianas frente a los insumos adicionados. Este aspecto subraya la importancia de entender las interacciones microbianas en los ecosistemas acuáticos y su respuesta a las prácticas acuícolas.

Se recomienda evaluar el efecto de otros insumos de origen natural o biotecnológico que estimulen de forma selectiva la proliferación de bacterias benéficas sin promover el crecimiento de patógenos. Asimismo, estudios más prolongados y con mayor número de réplicas permitirían comprender mejor la dinámica microbiana a lo largo del tiempo y en diferentes condiciones ambientales, lo cual es clave para diseñar estrategias sostenibles y seguras en acuicultura.

AGRADECIMIENTOS

Al Ing. Oscar Samuel Vásquez Balcázar, por su valiosa colaboración en el presente estudio. Su apoyo fue fundamental al ofrecer el transporte marítimo para la recolección de las muestras y el transporte terrestre desde la zona de manglar

hasta el laboratorio de Microbiología. Además, agradecemos profundamente la provisión de los insumos utilizados en esta investigación, los cuales fueron esenciales para el desarrollo de nuestro trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alfiansah, Y. R., Harder, J., Slater, M. J., & Gärdes, A. (2022). Addition of Molasses Ameliorates Water and Bio-Floc Quality in Shrimp Pond Water. *Tropical Life Sciences Research*, 33(1), 121. <https://doi.org/10.21315/TLSR2022.33.1.8>
- Alvarado-Barrera, L., Félix-Zambrano, M., Zambrano-Sánchez, R., & Chávez-Naranjo, M. (2024). Exportación del camarón y su impacto a la economía ecuatoriana en el periodo 2019-2023. *593 Digital Publisher CEIT*, 9(5), 190-199. <https://doi.org/https://doi.org/10.33386/593dp.2024.5.2581>
- Bacosa, H. P., Erdner, D. L., Rosenheim, B. E., Shetty, P., Seitz, K. W., Baker, B. J., & Liu, Z. (2018). Hydrocarbon degradation and response of seafloor sediment bacterial community in the northern Gulf of Mexico to light Louisiana sweet crude oil. *The ISME Journal*, 12(10), 2532-2543. <https://doi.org/10.1038/S41396-018-0190-1>
- Barilo, A., Engelen, A., Wilken, S., Bouwmeester, H., & Muyzer, G. (2024). Shifts in sulphur-cycling bacteria in the rhizobiome support the adaptation of *Caulerpa* prolifera to elevated sulphide levels. *Frontiers in Marine Science*, 11, 1445441. <https://doi.org/10.3389/FMARS.2024.1445441>
- Castro, I., & Lagos, L. (2022). *Análisis in vitro del efecto de insumos acuícolas sobre la abundancia de Vibrio parahaemolyticus durante la preparación de piscinas* [Escuela Superior Politécnica del Litoral]. <http://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/52736>
- Chan, H. L., Cai, J., & Leung, P. S. (2024). Aquaculture production and diversification: What causes what? *Aquaculture*, 583, 740626. <https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2024.740626>
- Costa, G. M. da, Costa, S. S., Barauna, R. A., Castilho, B. P., Pinheiro, I. C., Silva, A., Schaan, A. P., Ribeiro-dos-Santos, Á. K. C., & Graças, D. A. das. (2022). Human activities impact microbial communities of Amazon Mangroves. *BioRxiv*, 2022.08.03.501699. <https://doi.org/10.1101/2022.08.03.501699>
- Cozannet, M., Borrel, G., Roussel, E., Moalic, Y., Allieux, M., Sanvoisin, A., Toffin, L., & Alain, K. (2021). New Insights into the Ecology and Physiology of Methanomassiliicoccales from Terrestrial and Aquatic Environments. *Microorganisms*, 9(1), 1-31. <https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS9010030>
- Fiard, M., Cuny, P., Sylvi, L., Hubas, C., Jézéquel, R., Lamy, D., Walcker, R., El Houssainy, A., Heimbürger-Boavida, L. E., Robinet, T., Bihannic, I., Gilbert, F., Michaud, E., Dirberg, G., & Militon, C. (2022). Mangrove microbiota along the urban-to-

- rural gradient of the Cayenne estuary (French Guiana, South America): Drivers and potential bioindicators. *Science of The Total Environment*, 807, 150667. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150667>
- Jamon-Haon, E., Cuny, P., Rossi, A., Sylvi, L., Fiard, M., & Milton, C. (2024). Global Biogeography of Prokaryotes in Mangrove Sediments: Spatial Patterns and Ecological Insights from 16S rDNA Metabarcoding. *BioRxiv*, 2024.12.19.629522. <https://doi.org/10.1101/2024.12.19.629522>
- Kim, S. K., Song, J., Rajeev, M., Kim, S. K., Kang, I., Jang, I. K., & Cho, J. C. (2022). Exploring bacterioplankton communities and their temporal dynamics in the rearing water of a biofloc-based shrimp (*Litopenaeus vannamei*) aquaculture system. *Frontiers in Microbiology*, 13, 995699. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.995699>
- Knipe, H., Temperton, B., Lange, A., Bass, D., & Tyler, C. (2021). Probiotics and competitive exclusion of pathogens in shrimp aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 13(1), 324–352. <https://doi.org/10.1111/RAQ.12477>
- Leite, J. S., Melo, C. S. B., & Nunes, A. J. P. (2020). Utilization of rice byproducts as carbon sources in high-density culture of the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 49. <https://doi.org/10.37496/RBZ4920190039>
- Li, M., Fang, A., Yu, X., Zhang, K., He, Z., Wang, C., Peng, Y., Xiao, F., Yang, T., Zhang, W., Zheng, X., Zhong, Q., Liu, X., & Yan, Q. (2021). Microbially-driven sulfur cycling microbial communities in different mangrove sediments. *Chemosphere*, 273, 128597. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128597>
- Lima, P. C. M., Silva, A. E. M., Silva, D. A., Silva, S. M. B. C., Brito, L. O., & Gálvez, A. O. (2021). Effect of stocking density of *Crassostrea* sp. in a multitrophic biofloc system with *Litopenaeus vannamei* in nursery. *Aquaculture*, 530, 735913. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735913>
- Liu, G.-H., Liu, D.-Q., Wang, P., Chen, Q.-Q., Che, J., Wang, J., Li, W.-J., & Zhou, S. (2022). Temperature Drives the Assembly of *Bacillus* Community in Mangrove Ecosystem. *Science of The Total Environment*, 846, 157496. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.157496>
- Liu, J., Li, Y., Duan, D., Peng, G., Li, P., Lei, P., Zhong, H., Tsui, M. T. K., & Pan, K. (2022). Effects and mechanisms of organic matter regulating the methylmercury dynamics in mangrove sediments. *Journal of Hazardous Materials*, 432, 128690. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.128690>
- Ma, Q., Zhao, G., Liu, J., Chen, I. T., Wei, Y., Liang, M., Dai, P., Nuez-Ortin, W. G., & Xu, H. (2024). Effects of a phytobiotic-based additive on the growth, hepatopancreas health, intestinal microbiota, and *Vibrio parahaemolyticus* resistance of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Frontiers in Immunology*, 15, 1368444. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1368444>
- Möller, L., Kreikemeyer, B., Luo, Z. H., Jost, G., & Labrenz, M. (2020). Impact of coastal aquaculture operation systems in Hainan island (China) on the relative abundance and community structure of *Vibrio* in adjacent coastal systems. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 233, 106542. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2019.106542>
- Monzón-Atienza, L., Bravo, J., Serradell, A., Montero, D., Gómez-Mercader, A., & Acosta, F. (2023). Current Status of Probiotics in European Sea Bass Aquaculture as One Important Mediterranean and Atlantic Commercial Species: A Review. *Animals* 2023, Vol. 13, Page 2369, 13(14), 2369. <https://doi.org/10.3390/ANI13142369>
- Muwawa, E. M., Obieze, C. C., Makonde, H. M., Jefwa, J. M., Kahindi, J. H. P., & Khasa, D. P. (2021). 16S rRNA gene amplicon-based metagenomic analysis of bacterial communities in the rhizospheres of selected mangrove species from Mida Creek and Gazi Bay, Kenya. *PLoS ONE*, 16(3), e0248485. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0248485>
- Qian, Z., Li, Y., Pratush, A., Kan, J., Gu, J. D., Peng, T., Huang, T., & Hu, Z. (2024). A comparative analysis of the microbial communities and functional genes of the nitrogen cycling in mangroves of China, Indian and Malaysia. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 190, 105767. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2024.105767>
- Shi, Y. W., Niu, X. X., Yang, H. M., Chu, M., Wang, N., Bao, H. F., Zhan, F. Q., Yang, R., & Lou, K. (2024). Optimization of the fermentation media and growth conditions of *Bacillus velezensis* BHZ-29 using a Plackett–Burman design experiment combined with response surface methodology. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1355369. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1355369>
- Soto-Marfileño, K. A., Molina Garza, Z. J., Flores, R. G., Molina-Garza, V. M., Ibarra-Gómez, J. C., Gil, B. G., & Galaviz-Silva, L. (2024). Genomic Characterization of *Bacillus pumilus* Sonora, a Strain with Inhibitory Activity against *Vibrio parahaemolyticus*-AHPND and Probiotic Candidate for Shrimp Aquaculture. *Microorganisms*, 12(8), 1623. <https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS12081623>
- Thomas, D., Schütze, B., Heinze, W. M., & Steinmetz, Z. (2020). Sample Preparation Techniques for the Analysis of Microplastics in Soil—A Review. *Sustainability*, 12(21), 9074. <https://doi.org/10.3390/SU12219074>
- Viera-Romero, A. M., Diemont, S. A. W., Selfa, T. L., & Luzadis, V. A. (2024). The sustainability of shrimp aquaculture: An emergy-based case study in the Gulf of Guayaquil thirty years later. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 194, 114326. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2024.114326>
- Waiho, K., Razak, M. S. A., Rahman, M. Z. A., Zaid, Z., Ikhwanuddin, M., Fazhan, H., Shu-Chien, A. C., Lau, N. S., Azmie, G., Ishak, A. N., Syahnon, M., & Kasan, N. A. (2023). A metagenomic comparison of clearwater, probiotic, and Rapid BFTM on Pacific whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei* cultures. *PeerJ*, 11, e15758. <https://doi.org/10.7717/PEERJ.15758>