



Aislamiento e identificación de bacterias ácido-lácticas del tracto digestivo de camarones silvestres con potencial probióticos para uso en acuicultura

Isolation and identification of lactic acid bacteria from the digestive tract of wild shrimp with probiotic potential for use in aquaculture

Ronald García-Camizán ^{1*}; David Edilberto Saldarriaga-Yacila ²; Uriel Rodríguez-Estrada ³; Heber Max Robles-Castillo ⁴

¹Escuela de Postgrado, Universidad Nacional de Trujillo, Av. Juan Pablo II s/n - Ciudad Universitaria, Trujillo, Perú.

²Facultad de Ingeniería Pesquera y Ciencias del Mar, Universidad Nacional de Tumbes, av. Universitaria s/n Pampa Grande, Tumbes, Perú

³Facultad de Biología, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Villahermosa, Tabasco México

⁴Facultad de Ciencias Biológicas, Escuela de Microbiología y Parasitología, Universidad Nacional de Trujillo, Av. Juan Pablo II s/n - Ciudad Universitaria, Trujillo, Perú

Ronald García-Camizán



<http://orcid.org/0000-0002-2717-2860>

David Edilberto Saldarriaga-Yacila



<http://orcid.org/0000-0002-4919-8607>

Uriel Rodríguez-Estrada



<http://orcid.org/0000-0003-2859-5205>

Heber Max Robles-Castillo



<https://orcid.org/0009-0009-1188-2209>

Artículo Original

Recibido: 25 de julio de 2025

Aceptado: 27 de noviembre de 2025

Resumen

Las bacterias ácido-lácticas (BAL) son microorganismos de interés en acuicultura por su capacidad para modular la microbiota intestinal y mejorar la resistencia frente a patógenos. Este estudio tuvo como objetivo aislar e identificar BAL del tracto digestivo de camarones silvestres (*Penaeus vannamei* y *Penaeus stylirostris*) recolectados en Puerto Pizarro (Tumbes, Perú), evaluando su potencial probiótico preliminar. Se emplearon medios selectivos MRS y TSA, tinción de Gram y amplificación del gen 16S rRNA mediante PCR. Se obtuvieron 23 aislamientos, predominando bacilos (56.25%), seguidos de cocobacilos (30.43%) y cocos (13.04%), con mayoría de reacción Gram positiva. El 100% de los bacilos amplificó el gen 16S rRNA. La identificación molecular evidenció afinidad con *Lactobacillus plantarum* y otros taxones con potencial aplicación probiótica. Los resultados sugieren que el tracto digestivo de camarones silvestres constituye una fuente promisoría de BAL aplicables en estrategias sostenibles de producción acuícola.

Palabras clave: bacterias ácido-lácticas, microbiota intestinal, probióticos acuícolas, *Penaeus vannamei*.

Abstract

Lactic acid bacteria (LAB) are microorganisms of increasing interest in aquaculture due to their capacity to modulate gut microbiota and enhance host resistance against pathogens. This study aimed to isolate and identify LAB from the digestive tract of wild shrimp (*Penaeus vannamei* and *Penaeus stylirostris*) collected in Puerto Pizarro (Tumbes, Peru), and to preliminarily evaluate their probiotic potential. Selective MRS and TSA media were used, followed by Gram staining and 16S rRNA gene amplification by PCR. A total of 23 bacterial isolates were obtained, predominantly bacilli (56.25%), followed by coccobacilli (30.43%) and cocci (13.04%), with most isolates showing Gram-positive reaction. All selected bacilli successfully amplified the 16S rRNA gene. Molecular identification revealed affinity with *Lactobacillus plantarum* and related taxa with probiotic potential. These findings indicate that the digestive tract of wild shrimp represents a promising source of LAB for sustainable aquaculture applications.

Keywords: lactic acid bacteria, gut microbiota, aquaculture probiotics, *Penaeus vannamei*.

*Autor para correspondencia: E. mail: rgarcia@untumbes.edu.pe

DOI: <http://dx.doi.org/10.17268/rebiol.2025.45.02.07>

Citar como:

García-Camizán, R., Saldarriaga-Yacila, D. E., Rodríguez-Estrada, U., & Robles-Castillo, H. M. (2025). Aislamiento e identificación de bacterias ácido-lácticas del tracto digestivo de camarones silvestres con potencial probiótico para uso en acuicultura. *REBIOL*, 45(2), 37–43.



1. Introducción

La acuicultura constituye uno de los sectores productivos de mayor crecimiento a nivel mundial, con una producción anual que supera los 6.4 millones de toneladas de langostino. Este crecimiento sostenido ha incrementado la demanda de alimento balanceado y la biomasa en sistemas de cultivo intensivo, generando desafíos asociados a costos de producción, sostenibilidad ambiental y control sanitario (Carvalho, 2009). En este contexto, la viabilidad económica de la actividad depende de la disponibilidad de insumos competitivos que mantengan la calidad nutricional sin comprometer la estabilidad del sistema productivo.

En las últimas décadas, la industria acuícola ha explorado alternativas biotecnológicas orientadas a optimizar la eficiencia productiva y reducir el uso de antibióticos (Chiou & Ogino, 1975; Decamp et al., 2006). Entre estas estrategias, el empleo de probióticos ha cobrado especial relevancia (Castañeda et al., 2018; Lazado & Caipang, 2014; Mohapatra et al., 2014). Diversos estudios han demostrado que bacterias benéficas, incluyendo bacterias ácido-lácticas (BAL) aisladas de peces y camarones, pueden modular la microbiota intestinal, inhibir patógenos mediante producción de compuestos antimicrobianos y estimular la respuesta inmune del hospedero (Hai, 2015; Reda et al., 2015; Pirarat et al., 2011; Lazado et al., 2011).

Los mecanismos probióticos incluyen producción de ácidos orgánicos, reducción del pH, generación de peróxido de hidrógeno y síntesis de enzimas digestivas como proteasas y lipasas, lo que mejora la digestibilidad de nutrientes y la calidad del agua al disminuir compuestos nitrogenados tóxicos (Zorriehzadra et al., 2017; Gullian, 2001). En sistemas de cultivo de camarón, especies del género *Bacillus* han mostrado efectos positivos sobre crecimiento, supervivencia y reducción de vibrios patógenos (Dalmin et al., 2001; Villamil & Martínez, 2009; Goswami et al., 2020).

En el Perú, la acuicultura se centra principalmente en *Oncorhynchus mykiss*, *Penaeus vannamei* y *Oreochromis niloticus*, entre otras especies, enfrentando limitaciones asociadas a enfermedades y altos costos del alimento balanceado (Dawood et al., 2020). En este escenario, la exploración de bacterias ácido-lácticas autóctonas del tracto digestivo de camarones silvestres representa una estrategia prometedora para el desarrollo de probióticos adaptados a condiciones locales y orientados a una acuicultura más sostenible.

2. Materiales y Métodos

Se colectaron 15 camarones silvestres en el canal de marea Puerto Rico, caleta Puerto Pizarro (Tumbes, Perú), utilizando una red tipo atarraya con abertura de malla de ½ pulgada. Los especímenes correspondieron a *Penaeus stylirostris* (n = 10) y *Penaeus vannamei* (n = 5).

Los ejemplares fueron pesados con balanza analítica y medidos con vernier digital. Posteriormente, bajo condiciones asépticas, se realizó la disección para la extracción del intestino, el cual fue depositado en microtubos estériles de 1.5 mL y codificado individualmente (S1–S10 para *P. stylirostris*; V1–V5 para *P. vannamei*).

Para el aislamiento bacteriano se emplearon medios selectivos de Man, Rogosa y Sharpe (MRS) y Tryptic Soy Agar (TSA). El caldo y agar MRS se prepararon según especificaciones del fabricante; para un volumen final de 200 mL se utilizaron 11.05 g de caldo MRS y 13.65 g de agar MRS, respectivamente. El medio TSA se preparó empleando 8 g para 200 mL. Todos los medios fueron suplementados con 2.5% de NaCl y esterilizados en autoclave a 121 °C durante 15 min.

Se adicionó 1 mL de caldo MRS a cada muestra intestinal y se incubó a 35 °C durante 24 h. Posteriormente, se realizó siembra por agotamiento en agar MRS e incubación bajo las mismas condiciones. Las colonias desarrolladas fueron evaluadas según características morfológicas (tamaño, forma, color y aspecto). Las colonias seleccionadas se purificaron en agar TSA mediante siembra por agotamiento, obteniéndose un total de 23 aislamientos bacterianos puros.

Las colonias purificadas fueron sometidas a tinción de Gram mediante cristal violeta (1 min), lugol (1 min), decoloración con alcohol-acetona (30 s) y safranina (1 min), con el fin de determinar su morfología y reacción Gram.

La extracción de ADN genómico se realizó siguiendo un protocolo interno del Laboratorio de Biología Molecular de la Facultad de Ingeniería Pesquera y Ciencias del Mar de la Universidad Nacional de Tumbes. La amplificación del gen 16S rRNA se efectuó utilizando los cebadores universales 27F y 1492R. La mezcla de reacción (25 µL) incluyó 2.5 µL de buffer 10X, 0.8 µL de MgCl₂ (50 mM), 0.5 µL de dNTPs (10 mM), 0.5 µL de cada cebador (10 µM), 0.1 µL de Platinum® Taq DNA Polymerase (0.5 U), 2 µL de ADN molde y agua ultrapura hasta completar el volumen final.

El programa de amplificación consistió en una predesnaturalización a 95 °C por 2 min; seguida de 40

ciclos de desnaturalización a 95 °C por 45 s, hibridación a 55 °C por 45 s y extensión a 72 °C por 105 s; con una extensión final a 72 °C durante 5 min.

Los productos de PCR fueron analizados mediante electroforesis en gel de agarosa al 1.5%, cargando 4 µL del producto amplificado mezclado con 1 µL de buffer de carga 6X y corriendo a 90 V.

3. Resultados

Aislamiento e identificación de bacterias y BAL

En la tabla 1, se observa el resultado de la tención gram, logrando obtener bacterias ácido lácticas del género *Bacillus*- (56,52%), cocobacilos (30,43%), cocos (13,04%), de la misma forma con la prueba bioquímica de catalasa (tiras), se logró identificar si son gram positivas o gram negativas de las cuales en *Bacillus* de logro obtener un 46,15% gram negativas y 53,85% de bacterias ácido lácticas, *Bacillus* gram positivas, de la misma forma un 42,85 de bacterias cocobacilos gram negativas y 57,15% de cocobacilos gram positivos, seguidamente en cocos gram negativos representaron un 33,3% y cocos gram positivos fue de 66,66% respectivamente

Tabla 1

Cepas de Bacterias ácido lácticas extraídas del tracto digestivo de langostinos silvestres.

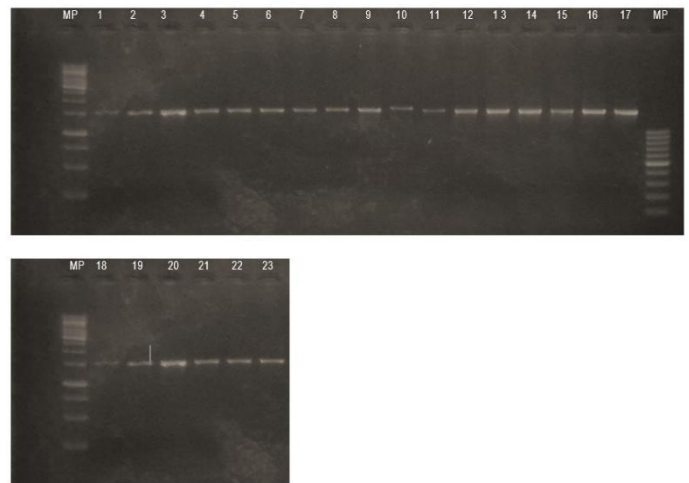
Código original	código en lamina	Resultado
S1	1	Bacilo (-)
S2	2	Bacilo (+)
S3	3	Bacilo (+)
S4	4	Bacilo (-)
S4	5	Cocobacilo (+)
S5	6	Coco (+)
S5	7	cocobacilo (-)
S5	8	Bacilo (+)
S6	9	Bacilo (-)
S6	10	Bacilo (-)
S6	11	cocobacilo (-)
S7	12	Cocobacilo (+)
S7	13	cocobacilo (-)
S8	14	coco (-)
S8	15	Bacilo (-)
S8	16	Cocobacilo (+)
V1	17	Bacilo (-)
V1	18	Bacilo (+)
V2	19	Bacilo (+)
V2	20	Bacilo (+)
V3	21	Bacilo (+)

V4	22	Coco (+)
V4	23	Cocobacilo (+)

Amplificación de las muestras de PCR con el Gen 16S sRNA

Después de la electroforesis en un transluminador se logró observar en el gel de agarosa se logra observar la amplificación de las 23 muestras de bacterias ácido lácticas con el gen 16S sRNA tal y como se muestra en la figura 1.

Figura 1. Amplificación de bacterias ácido lácticas con el gen 16S sRNA, extraídas del tracto digestivo de langostinos silvestres.



En la tabla 2, se observa las bacterias ácido lácticas aisladas aisladas del tracto digestivo de langostinos silvestres, las cuales se tiene 2 cepas de *Enterococcus hirae*, 1 de *Bacillus cereus*, 1 de *Enterococcus faecium*, 6 de *Enterococcus faecalis*, 1 de *Staphylococcus epidermidis*, 3 de *Lactobacillus plantarum*, *Cronobacter spp*, 1 de *Bacillus licheniformes*, 1 de *Lactobacillus brevis* y 5 cepas no identificadas

Tabla 2

Identificación de bacterias ácido lácticas en el programa: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>

N°	Cepa	Nombre	Link de ubicación
1	57-03- H11	<i>Enterococcus hirae</i>	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/KX752851.1?report=fasta
2	03BB102	<i>Bacillus cereus</i>	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/LC035131.1?report=fasta
3	57-03- H11	<i>Enterococcus hirae</i>	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/KX752851.1?report=fasta

		https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/
4	No identificada	Blast.cgi
		https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/FJ378687.1?report=fasta
5	HN-N32	<i>Enterococcus faecium</i>
		https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/KY697082.1?report=fasta
6	CP2	<i>Enterococcus faecalis</i>
		https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/HQ831381.1?report=fasta
7	Na15	<i>Enterococcus faecalis</i>
		https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/HQ805199.1?report=fasta
8	No identificada	Blast.cgi
9	No identificada	https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/
		https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/PP125153.1?report=fasta
1	Estafilococcus	
0	w15	<i>epidermidis</i>
1		https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/
1	No identificada	Blast.cgi
		https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/KY697082.1?report=fasta
1	Enterococcus	
2	CP2	<i>faecalis</i>
		https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/KY697082.1?report=fasta
1	Enterococcus	
3	CP2	<i>faecalis</i>
		https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/OL691141.1?report=fasta
1	Lactobacillus	
4	MYSVSA2	<i>plantarum</i>
		https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/OK271984.1?report=fasta
1	Enterococcus	
5	N1-M-100	<i>faecalis</i>
1		https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/
6	No identificada	Blast.cgi
1		https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/
7	No identificada	Blast.cgi
1		https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/
8	Cronobacter spp	Blast.cgi
		https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/JN998741.1?report=fasta
1	Bacillus	
9	SKA1220	<i>licheniformes</i>
		https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/OK021618.1?report=fasta
2	Lactobacillus	
0	122-5	<i>plantarum</i>
		https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/OP491971.1?report=fasta
2	Enterococcus	
1	CD-H-10	<i>faecalis</i>

		https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/LC271234.1?report=fasta
2	Lactobacillus	
2	LMT1-73	<i>brevis</i>
		https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/OQ656898.1?report=fasta
2	Lactobacillus	
3	B6	<i>plantarum</i>

4. Discusión

Los resultados obtenidos evidencian que el tracto digestivo de camarones silvestres constituye un reservorio relevante de bacterias con potencial uso probiótico en acuicultura. La Tabla 1 muestra que se recuperaron 23 aislamientos bacterianos a partir de 15 especímenes, con predominio de bacilos (56.25%), seguidos de cocobacilos (30.43%) y cocos (13.04%). Este patrón es consistente con reportes previos que recomiendan el aislamiento de bacterias intestinales autóctonas en peces y crustáceos silvestres como estrategia para identificar candidatos probióticos mejor adaptados al hospedero y al ambiente acuático (Hai, 2015; Reda et al., 2015; García, 2020). La prevalencia de morfotipos bacilares puede asociarse a la mayor plasticidad fisiológica y capacidad de colonización intestinal que presentan diversos grupos bacterianos utilizados en producción acuícola, lo cual los convierte en candidatos frecuentes para aplicaciones funcionales.

De acuerdo con la Tabla 2, la mayoría de los aislamientos presentó reacción Gram positiva, lo cual es congruente con el perfil clásico esperado para bacterias ácido-lácticas (BAL) y otros grupos bacterianos benéficos comúnmente empleados como probióticos. La proporción de Gram positivos observada en bacilos, cocobacilos y cocos respalda la pertinencia del uso del medio MRS como estrategia de selección inicial. En el marco de la acuicultura, los Gram positivos han sido vinculados con mecanismos de exclusión competitiva y antagonismo frente a patógenos mediante producción de compuestos antimicrobianos, así como por su participación en procesos digestivos a través de enzimas extracelulares (Zorriehzadra et al., 2017). No obstante, la presencia de aislamientos Gram negativos sugiere que el procedimiento de aislamiento recuperó microbiota

intestinal heterogénea, lo cual es esperable en organismos silvestres expuestos a variación ambiental y dietaria. En consecuencia, la confirmación taxonómica por secuenciación resulta indispensable para discriminar BAL estrictas de otros grupos funcionales.

La amplificación del gen 16S rRNA descrita en la Tabla 3 confirma la calidad del ADN obtenido y la viabilidad de la caracterización molecular de los aislamientos. El hecho de que el 100% de los bacilos seleccionados haya amplificado el fragmento esperado del 16S rRNA respalda la robustez del protocolo de extracción y del sistema de PCR empleado (cebadores 27F/1492R), lo cual es un requisito metodológico mínimo para estudios orientados a selección de cepas probióticas. En términos aplicados, la identificación molecular constituye un paso crítico, ya que permite asociar los aislamientos con taxones reportados como funcionales en acuicultura, así como descartar microorganismos potencialmente no deseables. Además, disponer de un amplicón adecuado facilita la posterior secuenciación, análisis filogenético y construcción de evidencia trazable sobre la identidad de las cepas, aspecto altamente valorado en revistas Q1.

La recuperación de cepas con perfil compatible con bacterias benéficas intestinales sugiere una aplicación potencial en estrategias sostenibles de producción acuícola, particularmente en sustitución parcial del uso de antibióticos y optimización de piensos. Diversos autores señalan que probióticos intestinales pueden contribuir a prevención y control de enfermedades, además de mejorar el aprovechamiento nutricional del alimento al producir enzimas como proteasas y lipasas (Zorriehzadra et al., 2017). En paralelo, las BAL pueden participar en biofermentación de insumos vegetales, favoreciendo la reducción de compuestos antinutricionales y la mejora de características fisicoquímicas del sustrato, lo cual resulta relevante en un contexto de incremento de costos y dependencia de ingredientes alternativos. En esa línea, se ha descrito que la disminución del pH y la aceleración de procesos de degradación de materia orgánica pueden contribuir indirectamente a la estabilidad del sistema

de cultivo y a la mejora de parámetros ambientales (Gullian, 2001; Villamil & Martínez, 2009).

Asimismo, se ha reportado que bacterias probióticas pueden asociarse con mejoras en crecimiento, supervivencia y digestibilidad en crustáceos (Yan, 2007), además de fortalecimiento del sistema inmune y mantenimiento de la calidad del agua y suelo (García, 2019). En conjunto, estos antecedentes sustentan que los aislamientos obtenidos constituyen candidatos pertinentes para una fase posterior de validación funcional.

Aunque los resultados respaldan el aislamiento y la caracterización preliminar, el estudio se limita a criterios morfológicos, tinción de Gram y amplificación del 16S rRNA. Para sustentar formalmente el carácter probiótico, se requieren ensayos complementarios (p. ej., antagonismo frente a patógenos, tolerancia a pH y sales biliares, actividad enzimática, adhesión y seguridad), así como la secuenciación del 16S rRNA para confirmar identidad taxonómica y comparar filogenéticamente con cepas reportadas.

5. Conclusiones

Se logró aislar y caracterizar preliminarmente bacterias del tracto digestivo de camarones silvestres, obteniéndose 23 aislamientos con predominio de morfotipos bacilares y mayor proporción de reacción Gram positiva, coherente con microorganismos benéficos candidatos a uso probiótico en acuicultura. Asimismo, la amplificación del gen 16S rRNA confirmó la factibilidad de su identificación molecular, constituyendo una base metodológica para la posterior secuenciación y caracterización filogenética.

Los hallazgos respaldan que el intestino de camarones silvestres puede ser una fuente promisoría de bacterias con potencial aplicación en estrategias sostenibles de producción, incluyendo biofermentación de insumos vegetales, optimización nutricional de piensos y soporte sanitario. Se recomienda complementar estos resultados con secuenciación, evaluación de antagonismo frente a patógenos relevantes y pruebas funcionales *in vitro* e *in vivo*.

6. Agradecimientos

A la Universidad Nacional de Tumbes, por su financiamiento de la Investigación y prestación de sus instalaciones

A la Universidad Nacional de Trujillo por sus instalaciones y la contribución del material Biológico.

Al Dr. Leocadio Malca Acuña, Dr. David Saldarriaga y al Dr. Uriel Rodríguez por su apoyo incondicional durante toda la ejecución del proyecto.

Al Dr. Heber Max Robles Castillo por brindar el apoyo con sus conocimientos y guía durante al estudio.

7. Contribución de los autores

RGC: Concepción y diseño del estudio, interpretación de resultados, redacción y revisión crítica del contenido, aprobación definitiva del manuscrito

DESY: Revisión de la versión final.

URE Análisis de resultados.

HMRC: Revisión de la versión final.

8. Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

9. Referencias Bibliográficas

- Akhter, N., Wu, B., Memon, A. M., & Mohsin, M. (2015). Probiotics and prebiotics associated with aquaculture: A review. *Fish & Shellfish Immunology*, 45(2), 733–741. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.05.038>
- Bidhan, D., Meena, D. K., Behera, B. K., Das, P., Mohapatra, P. K. D., & Sharma, A. P. (2014). Probiotics in fish and shellfish culture: Immunomodulatory and ecophysiological responses. *Fish Physiology and Biochemistry*, 40(3), 921–971. <https://doi.org/10.1007/s10695-013-9897-0>
- Carvalho, R. (2009). Fatos e figuras: Aqüicultura e consumo de carnes no Brasil e no mundo. *Panorama da Aquicultura*.
- Castañeda, A., Aguilar, J., Zatan, A., Toledo, O., Fera, M., & Castillo, D. (2018). Identificación molecular de bacterias ácido lácticas con propiedades probióticas aisladas del intestino posterior de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 20(4), 429–438. <https://doi.org/10.18271/ria.2018.420>
- Chiou, J. Y., & Ogino, C. (1975). Digestibility of starch in carp. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 41, 465–466. <https://doi.org/10.2331/suisan.41.465>
- Decamp, O., Moriarty, D. J. W., & Lavens, P. (2006). Probiotics for shrimp larviculture: Review of field data from Asia and Latin America. *Aquaculture Research*.
- Dawood, M. A. O., Amer, A. A., Elbially, Z. I., & Gouda, A. H. (2020). Effect of including triticale on growth performance, digestive enzyme activity, and growth-related genes of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 528, 735568. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735568>
- Espinoza, I., & Sorroza, L. (2017). *Uso y aplicación de probióticos en el cultivo de camarón y sus mecanismos en acción* [Trabajo académico]. Universidad Técnica de Machala. <http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/10511>
- García, R. (2019). *Efecto de la aplicación de un probiótico en el crecimiento, supervivencia y estado sanitario de Litopenaeus vannamei en etapa de precría* [Tesis de maestría, Universidad Nacional de Tumbes].
- García, R. (2020). Efecto del probiótico en el cultivo de *Litopenaeus vannamei* en etapa de precría. *Actas del Congreso Internacional de Investigación Científica*. Universidad Nacional de Tumbes.
- Gisbert, M., Castillo, M., Skalli, A., Andree, K., & Badiola, I. (2013). *Bacillus cereus* var. *toyoi* promotes growth and affects the histological organization and microbiota of the intestinal mucosa in rainbow trout fingerlings. *Journal of Animal Science*, 91, 5279–5288.
- Goswami, R., Shrivastav, A. K., Sharma, J. G., Tocher, D. R., & Chakrabarti, R. (2020). Growth and digestive enzyme activities of rohu (*Labeo rohita*) fed diets containing macrophytes and almond oil cake. *Animal Feed Science and Technology*, 263, 114456. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114456>
- Hai, N. V. (2015). The use of probiotics in aquaculture. *Journal of Applied Microbiology*, 119(4), 917–935. <https://doi.org/10.1111/jam.12886>
- Lazado, C. C., & Caipang, C. M. A. (2014). Mucosal immunity and probiotics in fish. *Fish & Shellfish Immunology*, 39(1), 78–89. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.04.015>

- Lazado, C. C., Caipang, C. M. A., Brinchmann, M. F., & Kiron, V. (2011). In vitro adherence of two candidate probiotics from Atlantic cod and their interference with the adhesion of two pathogenic bacteria. *Veterinary Microbiology*, 148(2–4), 252–259. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2010.08.024>
- López, E., Aguirre, G., & Vázquez, M. (2013). Probióticos, una herramienta en la producción pecuaria y acuícola. *Scientia Agropecuaria*.
- Maio, S., Han, B., Zhao, C., Hu, J., Zhu, J., Zhang, X., & Sun, L. (2019). Effects of dietary *Pediococcus acidilactici* GY2 single or combined with *Saccharomyces cerevisiae* or β -glucan on the growth, innate immune response, and disease resistance of *Macrobrachium rosenbergii*. *Fish & Shellfish Immunology*, 98, 68–76. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.12.038>
- Mohapatra, S., Chakraborty, T., Prusty, A. K., Pani Prasad, K., & Mohanta, K. N. (2014). Beneficial effects of dietary probiotics mixture on hemato-immunology and cell apoptosis of *Labeo rohita* fingerlings reared at higher water temperatures. *PLOS ONE*, 9(6), e100929. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0100929>
- Pirarat, N., Pinpimai, K., Endo, M., Katagiri, T., Ponpornpisit, A., Chansue, N., & Maita, M. (2011). Modulation of intestinal morphology and immunity in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Research in Veterinary Science*, 91(3), e92–e97. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2011.02.014>
- Reda, R. M., Selim, K. M., El-Sayed, H. M., & El-Hady, M. A. (2017). In vitro selection and identification of potential probiotics isolated from the gastrointestinal tract of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. <https://doi.org/10.1007/s12602-017-9314-6>
- Sihag, R. C., & Sharma, P. (2012). Probiotics: The new ecofriendly alternative measures of disease control for sustainable aquaculture. *Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 7(2), 72–103. <https://doi.org/10.3923/jfas.2012.72.103>
- Smith, R. R. (1971). A method for measuring digestibility and metabolizable energy of fish feeds. *The Progressive Fish-Culturist*, 33, 132–134. [https://doi.org/10.1577/1548-8640\(1971\)33<132:AMFMDA>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8640(1971)33<132:AMFMDA>2.0.CO;2)
- Zorriehzahra, M. J., Delshad, S. T., Adel, M., Tiwari, R., Karthik, K., Dhama, K., & Lazado, C. C. (2017). Probiotics as beneficial microbes in aquaculture: An update on their multiple modes of action. *Veterinary Quarterly*, 36(4), 228–241. <https://doi.org/10.1080/01652176.2016.1172132>