

## Biodegradación de colorante triazo Azul Directo 71 por bacterias de sedimentos del género *Bacillus* Biodegradation of Direct Blue 71 triazo dye by bacteria from sediments of the genus *Bacillus*

Alejandro Sergio Cruz Soto <sup>1</sup>  - Claudia Carolina Hernández Peña <sup>2</sup>  - Edith Flores Tavizón <sup>1</sup>   
Luis Gerardo Bernadac Villegas <sup>1</sup>  - Marisela Yadira Soto Padilla <sup>1</sup>  

<sup>1</sup> Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Instituto de Ingeniería y Tecnología. Ciudad Juárez, Chihuahua, México

<sup>2</sup> Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Instituto de Ciencias Biomédicas. Ciudad Juárez, Chihuahua, México

✉ Autora de correspondencia: [marisela.soto@uacj.mx](mailto:marisela.soto@uacj.mx)

Recepción: 12-10-21 / Aceptación: 06-12-21

© Nova Scientia, bajo licencia Creative Commons / ISSN 2007-0705

---

### Resumen

Los procesos de biorremediación para la degradación de colorantes provenientes de la industria textil han sido de gran interés, debido a su capacidad para descomponer los contaminantes sin generar productos tóxicos. El azul directo 71 contiene tres grupos azoicos N=N y una estructura aromática convirtiéndolo en un compuesto difícil de degradar. Se evaluó el potencial de degradación del colorante Azul Directo 71 por bacterias del género *Bacillus*. Se utilizaron bacterias aisladas de sedimentos de cuencas hidrológicas, las cuales se les realizó tinción Gram y observación por microscopía electrónica de barrido. La cinética de crecimiento y biodegradación se realizó en caldo nutritivo adicionado con 100 mgL<sup>-1</sup> de Azul Directo 71 incubándose a 37°C y 200 rpm por 5 días, se determinó el crecimiento por espectrofotometría a 600 nm y la biodegradación a 575 nm. El análisis filogenético de las cepas bacterianas se realizó amplificando la región del gen rRNA 16S. Se identificaron dos bacterias bacilares Gram positivo. El análisis filogenético identificó a la cepa ANCd110506 como *Bacillus anthracis* y a la cepa ANHg310511 como *Bacillus thuringensis*, con un índice de similitud del 97.6 % y 100 %, respectivamente. *Bacillus anthracis* presentó una biodegradación del 75.5 %, mientras que la cepa *Bacillus thuringensis* obtuvo una biodegradación del 67.9 % en 120 horas.

**Palabras clave:** *Bacillus anthracis*; *Bacillus thuringensis*; colorante azo; biorremediación; filogenia; microorganismos ambientales; contaminantes; Gram; cepas; cinética; descomposición; grupos azoicos

### Abstract

Bioremediation processes for the degradation of dyes from the textile industry have been of great interest, due to their capacity to decompose these contaminants without generating toxic products. Direct blue 71 contains three N=N azo groups and has an aromatic structure, making it a compound that is difficult to degrade. We evaluated the degradation potential of direct blue dye 71 by bacteria of the genus *Bacillus*. Bacteria isolated from sediments of hydrological basins were used, Gram staining and observation by scanning electron microscopy were performed. The kinetics of growth and biodegradation were performed in nutrient broth added with 100 mgL<sup>-1</sup> of direct blue 71 incubating at 37°C and 200 rpm for 5 days, growth was determined by spectrophotometry at 600 nm and biodegradation at 575 nm. Phylogenetic analysis of the bacterial strains was carried out by amplifying the 16S rRNA gene. Two bacillary bacteria Gram positive were identified. Phylogenetic analysis identified strain ANCd110506 as *Bacillus anthracis* and strain ANHg310511 as *Bacillus thuringensis*, with a similarity index of 97.6 % and 100 %, respectively. *Bacillus anthracis* presented a biodegradation of 75.5 %, while the *Bacillus thuringensis* strain obtained a biodegradation of 67.9 % in 120 hours.

**Keywords:** *Bacillus anthracis*; *Bacillus thuringensis*; azo dye; bioremediation; phylogeny; environmental microorganisms; contaminants; Gram; strains; kinetics; decomposition; azo groups

---

## 1. Introducción

En los últimos 10 años se han realizado diversas investigaciones sobre la aplicación de bacterias en el campo de la remediación de aguas residuales textiles que contienen colorantes. El uso de sistemas bacterianos para la degradación de contaminantes es de particular interés, debido a su facilidad de mantenimiento y una capacidad inherente para sobrevivir en condiciones estresantes y, aún en ellas poder descomponer colorantes en productos no tóxicos, lo cual se le atribuye a la presencia de varias enzimas oxido-reductoras para la biotransformación (Srinivasan y Sadasivam, 2018). La degradación bacteriana utiliza microorganismos de la zona de contaminación, se pueden usar bacterias endémicas o bacterias recolectadas de áreas con condiciones similares. La reducción de los contaminantes es provocada por la capacidad natural con la que cuentan diferentes microorganismos, para, poder transformar las moléculas tóxicas que se encuentran en el ambiente, en subproductos que no son dañinos para el ecosistema (Cortázar-Martínez et al., 2012). En la aplicación de bacterias en los tratamientos biológicos de agua residual de la industria textil se han utilizado cepas puras y consorcios bacterianos, se ha observado que los consorcios son beneficiosos ya que pueden generar conjuntamente tareas de degradación y desarrollar sinergias de actividades metabólicas, la desventaja que presenta la aplicación de cepas puras es que los resultados de degradación no son reproducibles como es el caso de sistemas puros (Holkar et al., 2016). El colorante azul directo 71 es utilizado en la industria textil, cuenta con tres grupos azoicos (N=N) en su estructura molecular, esta característica hace que se integre en el grupo de los colorantes azoicos directos y es similar a los colorantes ácidos porque contiene grupos de sales de sodio, y es generalmente un compuesto azo sulfurado. Se encuentra en el grupo de colorantes azoicos con una gran masa molecular (masa molar  $1029.87 \text{ gmol}^{-1}$ ), la fórmula molecular es  $\text{C}_{40} \text{H}_{23} \text{N}_7 \text{Na}_4 \text{O}_{13} \text{S}_4$  y su número de CAS es 4399-557-7, su estructura molecular aromática lo convierte en un compuesto orgánico complejo, difícil de degradar (Mirzaei et al., 2018; Morales-Guzmán y Melgoza-Alemán, 2009). El género *Bacillus* comprende más de 377 especies, se ha aplicado en numerosas ocasiones en la remoción de distintos colorantes del agua residual de la industria textil como sistema de tratamiento (Holkar et al., 2016; Neetha et al., 2018; Oturkar et al., 2011; Padmanaban et al., 2016; Paz et al., 2017; Sandesh et al., 2019). El presente trabajo se enfoca en la evaluación del potencial de bacterias aisladas de sedimentos en la biodegradación del colorante azo Azul Directo 71, identificando microorganismos potencialmente útiles en la biorremediación de aguas contaminadas con colorante textil.

## 2. Métodos

### ***Conservación y caracterización morfológica***

Las bacterias aplicadas en el presente estudio se aislaron de sedimentos de cuencas hidrológicas de los estados de Chihuahua y Michoacán (Arteaga, 2017; Hernández, 2017), los aislados se reactivaron en placas con agar nutritivo (Bioxon). Para realizar la caracterización morfológica de las bacterias se realizó tinción Gram y microscopía electrónica de barrido (SEM). Para ello, se realizó un cultivo celular de 24 horas y se centrifugó a 6000 rpm durante 10 min, el botón de células se lavó y se fijaron con 2 % de formaldehído, el secado se realizó por deshidratación usando acetona y alcohol etílico (Soto-Padilla et al., 2018).

### ***Caracterización filogenética***

Las cepas bacterianas se analizaron en el Centro de Biotecnología Genómica del Instituto Politécnico Nacional en Reynosa, Tamaulipas, México. Se realizó la amplificación por PCR utilizando los cebadores universales: 27F (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') y 1492R (5'-TACGGYTACCTTGTACGACTT-3') para fragmentos de 1500 pb de la región del gen rARN 16S. El programa de amplificación utilizado fue de 30 ciclos: desnaturalización a 95°C por 30", alineación 54°C por 30" y elongación a 72°C por 1 min. Se consultó el Centro Nacional para la Información Biotecnológica o National Center for Biotechnology Information (NCBI) para la comparación de las secuencias, las secuencias obtenidas se sometieron al análisis bioinformático con los programas: Finch TV, CLUSTALX 2.1, SEAVIEW y MEGA 4.0 (Soto-Padilla et al., 2014).

### ***Cinética de crecimiento microbiano***

La cinética de crecimiento para las dos cepas bacterianas a evaluar se realizó con caldo nutritivo (DIFCO) adicionados a una concentración del colorante Azul Directo 71 de 100 mgL<sup>-1</sup>. Posteriormente se inocularon con la cepa a evaluar al 10 % v/v. Se incubaron en un agitador orbital (222DS- LABNET) a 200 rpm a 37 °C durante 120 horas. Se tomaron muestras de 3 mL de medio de cultivo cada 2 horas durante las primeras 4 horas, posteriormente al tiempo de 8, 24, 32, 48, 72, 96 y finalizar con un muestreo de 120 horas. El crecimiento microbiano se evaluó por turbidimetría en el espectrofotómetro UV-Vis (Lambda25) a una longitud de onda de 600 nm (Panigatti et al., 2012).

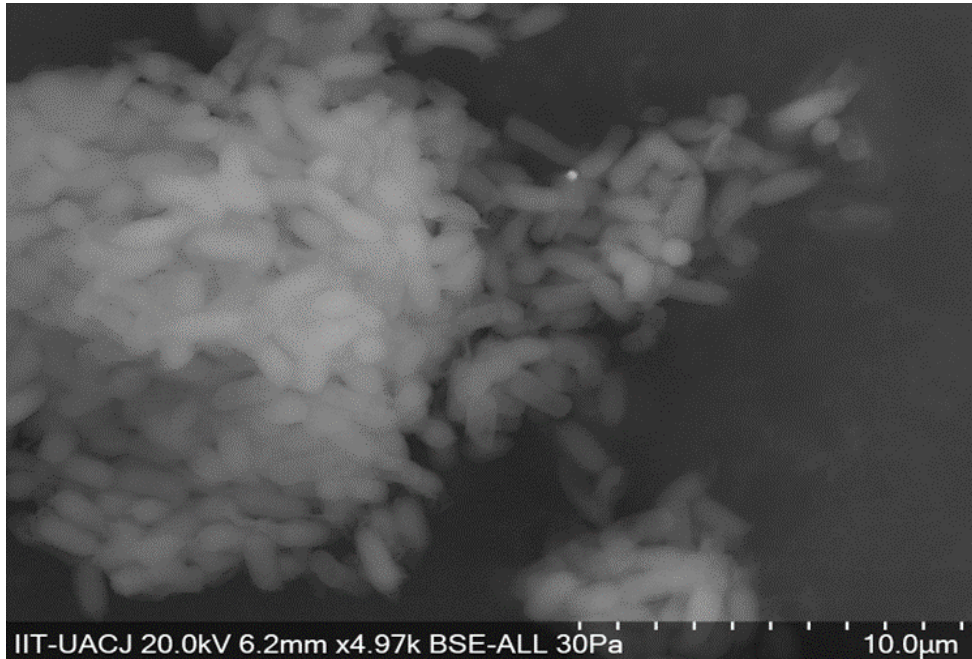
### ***Cinética de biodegradación de colorante Azul Directo 71***

Se evaluó la cinética de biodegradación del colorante por las bacterias, para ello se tomaron muestras de 5 mL del medio de cultivo cada 2 horas durante las primeras 4 horas, posteriormente al tiempo de 8, 24, 32, 48, 72, 96 y finalizar con un muestreo de 120 horas (Panigatti et al., 2012). Estas muestras se centrifugaron a 3500 rpm durante 10 minutos. La concentración del colorante Azul Directo 71 se determinó utilizando el método de espectrometría UV-Visible en el espectrofotómetro Lambda25 en una longitud de onda de 575 nm.

## **3. Resultados y discusión**

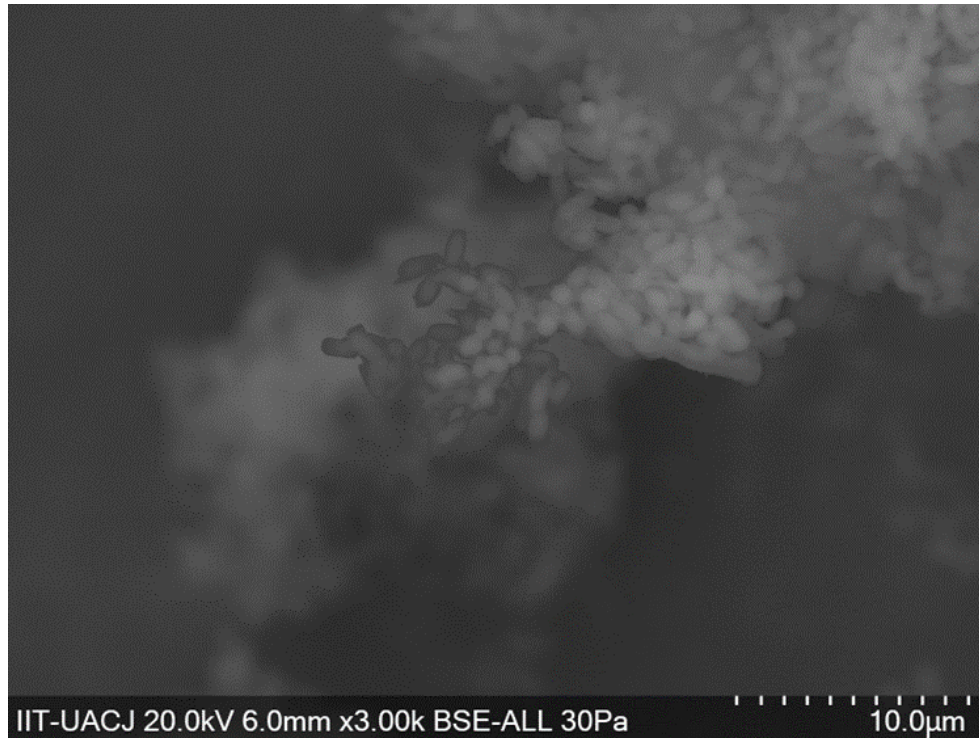
### **3.1. Caracterización morfológica**

En morfología macroscópica se identificaron colonias con forma circular, pequeñas de color blanco (ANCd115006), en el caso de la cepa ANHg315011 se observa la forma puntiforme, con borde ondulado y color blanco opaco. En imágenes obtenidas en el microscopio electrónico de barrido se puede identificar la morfología y características microscópicas de las cepas bacterianas estudiadas mostrada en la tabla 1 y en las figuras 1 y 2. Se observan células con forma de bacilo y la tinción Gram nos muestra células Gram positiva para las dos cepas estudiadas.



**Figura 1.** Imagen de alta resolución de colonias bacterianas de la cepa ANCd115006 tomada a 10.0μm por microscopio electrónico de barrido (SEM).

**Figure 1.** High resolution image of bacterial colonies of strain ANCd115006 taken at 10.0μm by scanning electron microscope (SEM).



**Figura 2.** Imagen de alta resolución de colonias bacterianas de la cepa ANHg315011 tomada a 10.0µm por microscopio electrónico de barrido (SEM).

**Figure 2.** High resolution image of bacterial colonies of strain ANHg315011 taken at 10.0µm by scanning electron microscope (SEM).

**Tabla 1.** Características microscópicas de cepas bacterianas.

**Table 1.** Microscopic characteristics of bacterial strains.

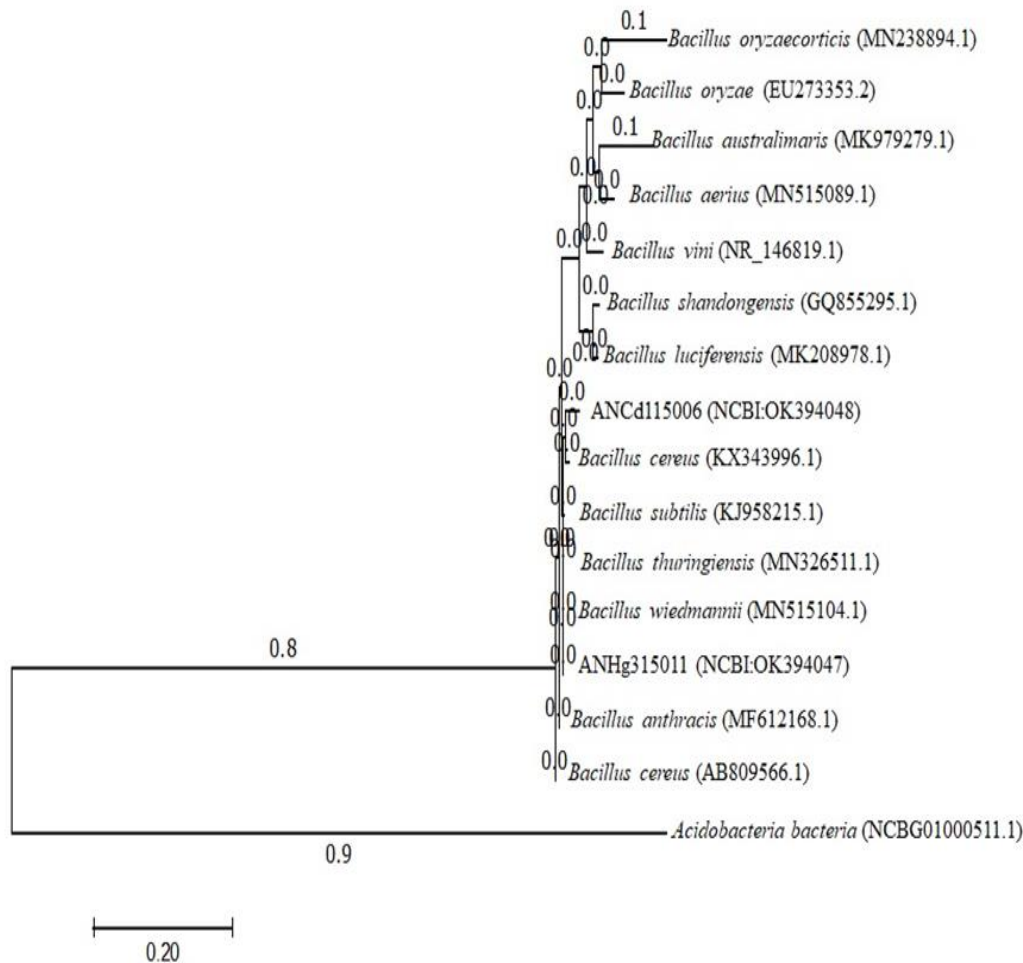
Cepa	Forma	Tinción Gram	Tamaño promedio (longitud)
ANCd115006	Bacilos	Gram +	1.71 µm
ANHg315011	Bacilos	Gram +	1.48 µm

En la base de datos del Centro Nacional de Información Biotecnológica existen reportadas alrededor de 300 especies de cepas bacterianas dentro del género *Bacillus*, destaca en diversas investigaciones su caracterización microscópica la forma de bacilos, presenta dentro de los resultados de la tinción Gram bacterias Gram positivas, Gram negativas y variables, los tamaños que se han reportado varían de 0.5 hasta 4.0 µm (Kosowski et al., 2014; Logan et al., 2004; Mukherjee y Rai, 2011; Nedashkovskaya et al., 2012; Yoon et al., 2004), lo que coincide con los parámetros reportados en nuestra investigación.

### 3.2. Caracterización filogenética

Las bacterias estudiadas se muestran en el árbol filogenético en el que se expresan las relaciones de similitud y disimilitud que existen en las cepas en estudio con especies del género *Bacillus* (figura 3), la cepa ANCd115006 se identificó que pertenece a la especie *Bacillus anthracis* con un porcentaje de similitud del 97.6 % y la cepa bacteriana ANHg315011 se identificó como la especie *Bacillus thuringiensis* con un 100 % de similitud. Las cepas estudiadas están relacionadas filogenéticamente con el género *Bacillus*, el cual se caracteriza por presentar especies reportada con la capacidad de degradar colorantes azoicos (Kumar et al., 2016; Lalnunhlmi y Krishnaswamy, 2016; Neetha et al., 2018; Oturkar et al., 2011). Kumar et al. (2016) identifica la aplicación de

bacterias *Bacillus cereus* en el proceso de biorremediación, de igual manera Olukanni et al. (2013) y Chen et al. (2015), reportan la aplicación de *Bacillus thuringiensis* en biodegradación de efluentes industriales.



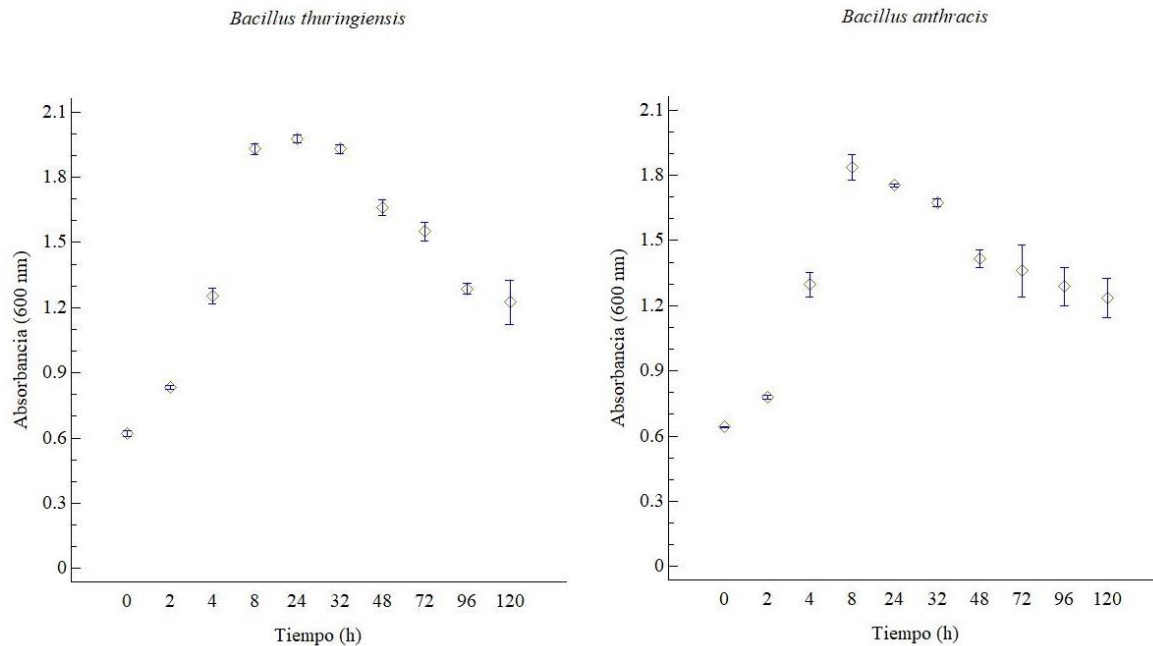
**Figura 3.** Árbol filogenético de las cepas bacterianas ANCd115006 y ANHg315011 generados por el Software Mega 7.0, se utilizó la cepa externa *Acidobacteria bacteria* (NCBG01000511.1).

**Figure 3.** Phylogenetic tree of the bacterial strains ANCd115006 and ANHg315011 generated by the Mega 7.0 Software, the external strain *Acidobacteria bacterium* (NCBG01000511.1) was used.

### 3.3. Cinética de crecimiento microbiano

En la figura 4 se observa la cinética de crecimiento de las cepas *Bacillus anthracis* y *Bacillus thuringiensis*, el análisis relaciona la densidad óptica a 600 nm con una absorbancia máxima en un tiempo de 8 horas para *Bacillus anthracis* y de 24 horas para *Bacillus thuringiensis*, así mismo se observa que el tiempo de adaptación no se percibe, visualizándose la etapa logarítmica durante las primeras 24 horas. En el análisis de las cinéticas de crecimiento de la bacteria *Bacillus anthracis* y remoción del colorante Azul Directo 71, podemos observar una relación entre la remoción del colorante conforme el crecimiento de la bacteria aumenta, concordando con investigaciones que relacionan los procesos de remoción de contaminantes en la etapa de crecimiento exponencial (Bankole et al., 2017; Manai et al., 2016).





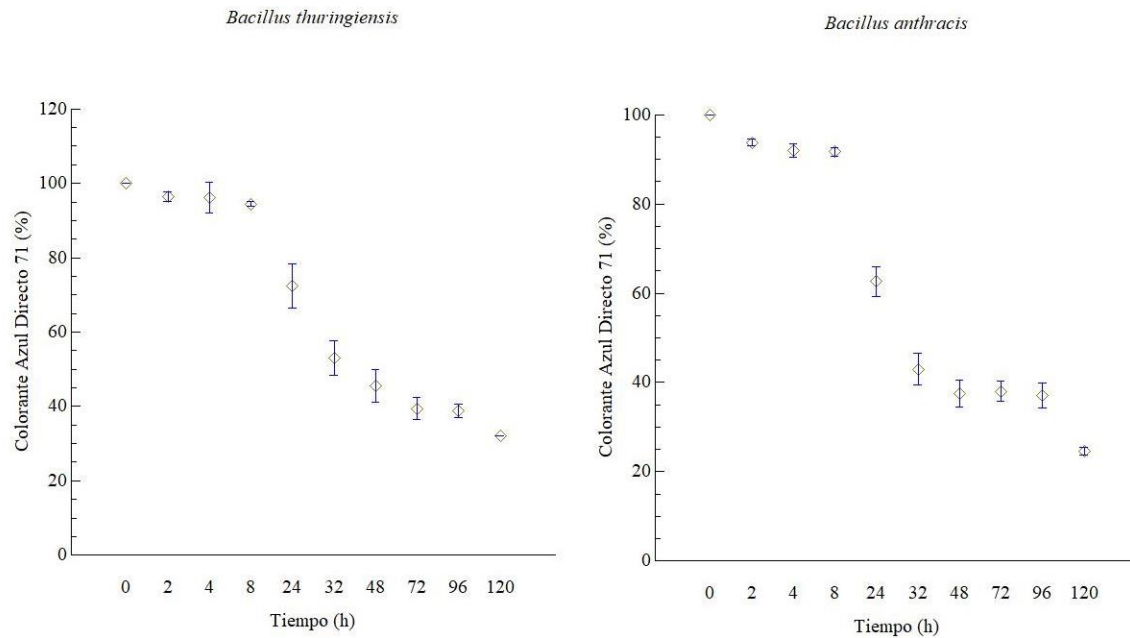
**Figura 4.** Cinética de crecimiento de las cepas bacterianas *Bacillus anthracis* (ANCd115006) y *Bacillus thuringiensis* (ANHg315011), evaluada por espectrofotometría a una absorbancia de 600 nm, mostradas en gráficas de medias con barras de error.

**Figure 4.** Growth kinetics of the bacterial strains *Bacillus anthracis* (ANCd115006) and *Bacillus thuringiensis* (ANHg315011), evaluated by spectrophotometry at an absorbance of 600 nm displayed in graphs of means with error bars.

### 3.4. Cinética de biodegradación de colorante Azul Directo 71

En la figura 5 se muestra el porcentaje residual del colorante Azul Directo 71 durante los tiempos de muestreo, en esta figura se observa el comportamiento del colorante residual en presencia de las cepas *Bacillus anthracis* y *Bacillus thuringiensis*, donde *Bacillus anthracis* muestra que a las 120 horas se encuentra el máximo porcentaje de remoción del colorante Azul Directo 71 con un valor del 75.5 %, lo que indica que aún durante la etapa estacionaria la cepa bacteriana sigue con la remoción del colorante Azul Directo 71, en menor proporción. En presencia de la bacteria *Bacillus thuringiensis*, se observa que el porcentaje del colorante Azul Directo 71 residual durante las primeras 48 horas alcanza aproximadamente el 50 % de remoción, después de las 48 horas la remoción se observa que alcanza un valor de 67.9 % en 120 horas.

Kumar et al. (2016) menciona la aplicación de bacterias del género *Bacillus* en procesos de biorremediación de colorantes azoicos, mostrando valores de degradación desde el 58.3% hasta el 90 % por diversas bacterias del género *Bacillus*. En el estudio de procesos de degradación microbiana del colorante triazo Azul Directo 71 se han utilizado bacterias aisladas del suelo, raíces y agua residual, mencionando los géneros *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* y *Bacillus*; así como cultivos mixtos de bacterias (Deepti y Monika, 2021; Hafshejani et al., 2014; Hefnawy et al., 2017; Jobby et al., 2019; Lalnunhlimi y Krishnaswamy, 2016; Zin et al., 2020). La especie de *Bacillus thuringiensis* ha sido reportada con valores entre el 80 y el 94 % en procesos de decoloración y biodegradación de colorantes azoicos como el Marrón ácido 14, Negro ácido 210, Violeta ácido 90, Amarillo ácido 42, Azul reactivo 13, Rojo reactivo 58 y Negro remazol B (Chen et al., 2015; Dave y Dave, 2009; Joshi et al., 2014; Olukanni et al., 2013), pero no se encuentra reportado para el colorante triazo Azul Directo 71.



**Figura 5.** Cinética de biodegradación del colorante Azul Directo 71 (% residual) por las cepas bacterianas *Bacillus anthracis* (ANCd115006) y *Bacillus thuringiensis* (ANHg315011) mostradas en gráficas de medias con barras de error.

**Figure 5.** Biodegradation kinetics of the Direct Blue 71 dye (residual %) by the bacterial strains *Bacillus anthracis* (ANCd115006) and *Bacillus thuringiensis* (ANHg315011) displayed in graphs of means with error bars.

La especie *Bacillus anthracis* no se ve reportada en procesos de biorremediación que involucren colorantes azoicos, pero sí se reporta en procesos de biorremediación de contaminantes de petróleo, metaloides y metales pesados (Ali et al., 2021; Bodo y Gimah, 2019; Elsilik et al., 2014; Shakoory et al., 2010). Rawat et al. (2016) reportan que la estructura química de los colorantes azoicos es determinante en la toxicidad desarrollada sobre los seres vivos, demostrando que los metabolitos formados después de la degradación del colorante son clave para comprender la eficacia de los microorganismos y los mecanismos de remoción de colorantes. Estudios realizados por Parshetti et al. (2006) indican toxicidad a concentraciones de colorantes mayores a 50 mgL<sup>-1</sup> de la cepa *Kocuria rosea*, ya que la tasa de decoloración disminuyó de un 100 % en 5 h a valores de 13 y 6 % a concentraciones de 70 y 100 mgL<sup>-1</sup>. Bankole et al. (2017) mencionan que la remoción microbiana del colorante se ve mejorada con la proliferación óptimas de las células que a su vez favorecen la formación de enzimas extracelulares necesarias para la biodegradación, de la misma manera mencionan la disminución de la eficiencia en la remoción de colorantes debido al aumento de la concentración de colorante aplicado.

#### 4. Conclusiones

La cinética de crecimiento de las cepas *Bacillus anthracis* y *Bacillus thuringiensis* se relaciona directamente con la cinética de remoción; la mayor remoción se desarrolla en la etapa exponencial de crecimiento bacteriano. La máxima remoción del colorante Azul Directo 71 se dio con la cepa de *Bacillus anthracis* con un 75.5 % a las 120 horas; la especie *Bacillus thuringiensis* presentó un valor cercano de 67.9 %, mostrando que las cepas del género *Bacillus* presentan capacidad de aplicación como sistema de tratamiento de agua residual de la industria textil.

#### 5. Información adicional

No.

## 6. Agradecimientos

Se agradece al Conacyt, México, por el apoyo para la realización del posgrado. De igual manera, se agradece al Laboratorio de Química Ambiental de la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, por el uso de los equipos.

## Información de los autores

Alejandro Sergio Cruz Soto <sup>1</sup>  [orcid.org/0000-0001-9729-9755](https://orcid.org/0000-0001-9729-9755)

Claudia Carolina Hernández Peña <sup>2</sup>  [orcid.org/0000-0002-5346-172X](https://orcid.org/0000-0002-5346-172X)

Edith Flores Tavizón <sup>1</sup>  [orcid.org/0000-0002-9450-6453](https://orcid.org/0000-0002-9450-6453)

Luis Gerardo Bernadac Villegas <sup>1</sup>  [orcid.org/0000-0002-4770-9960](https://orcid.org/0000-0002-4770-9960)

Marisela Yadira Soto Padilla <sup>1</sup>  [orcid.org/0000-0003-3102-7962](https://orcid.org/0000-0003-3102-7962)

## Contribución de los autores en el desarrollo del trabajo

Los autores declaran que contribuyeron por igual para la realización de esta investigación.

## Conflicto de interés

Los autores declaran que no existe conflicto de interés.

## Referencias

- Ali, J., Ali, F., Ahmad, I., Rafique, M., Munis, M. F. H., Hassan, S. W., ... y Chaudhary, H. J. (2021). Mechanistic elucidation of germination potential and growth of *Sesbania sesban* seedlings with *Bacillus anthracis* PM21 under heavy metals stress: An *in vitro* study. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 208, 111769. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111769>
- Arteaga, M. C. L. (2017). *Caracterización filogenética de bacterias metalófilas y metal resistentes, presentes en sedimentos de la presa Las Vírgenes y el río Conchos, Chihuahua, México*. [Tesis para obtener el grado de Maestra en Ingeniería Ambiental, Instituto de Ingeniería y Tecnología]. Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Ciudad Juárez, Chihuahua, México.
- Bankole, P. O., Adekunle, A. A., Obidi, O. F., Olukanni, O. D., y Govindwar, S. P. (2017). Degradation of indigo dye by a newly isolated yeast, *Diutina rugosa* from dye waste-water polluted soil. *Journal of environmental chemical engineering*, 5(5), 4639-4648. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2017.08.050>
- Bodo, T., y Gimah, B. G. (2019). Isolation and Identification of Microorganisms Associated with Bioremediation of Oil Spilled Site in Bodo West, Rivers State, Nigeria. *Journal of Geography, Environment and Earth Science International*, 21(3), 1-8. <https://doi.org/10.9734/jgeesi/2019/v21i330129>
- Chen, Z., Chen, H., Pan, X., Lin, Z., y Guan, X. (2015). Investigation of methylene blue biosorption and biodegradation by *Bacillus thuringiensis* 016. *Water, Air, & Soil Pollution*, 226(5), 1-8. <https://doi.org/10.1007/s11270-015-2417-3>
- Cortázar-Martínez, A., González-Ramírez, C. A., Coronel-Olivares, C., Escalante-Lozada, J. A., Castro-Rosas, J., y Villagómez-Ibarra, J. R. (2012). Biotecnología aplicada a la de-gradación de colorantes de la industria textil. *Universidad y ciencia*, 28(2), 187-199. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0186-29792012000200009&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0186-29792012000200009&script=sci_arttext)
- Dave, S. R., y Dave, R. H. (2009). Isolation and characterization of *Bacillus thuringiensis* for Acid red 119 dye decolourisation. *Bioresource technology*, 100(1), 249-253. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.05.019>
- Deepti, G., y Monika, G. (2021). Decolorization of dyes direct red 31 (dr 31); direct blue 71 (db 71) and direct. *Journal of Bio Innovation*, 10(3), 728-740. <https://doi.org/10.46344/JBINO.2021.v10i03.02>
- Elsilk, S. E., El-Shanshoury, A. E. R. R., y Ateya, P. S. (2014). Accumulation of some heavy metals by metal resistant avirulent *Bacillus anthracis* PS2010 isolated from Egypt. *African Journal of Microbiology Research*, 8(12), 1266-1276. <https://doi.org/10.5897/AJMR2013.6551>



- Hafshejani, M. K., Ogugbue, C. J., y Morad, N. (2014). Application of response surface methodology for optimization of decolorization and mineralization of triazo dye Direct Blue 71 by *Pseudomonas aeruginosa*. *3 Biotechnología*, 4(6), 605-619. <https://doi.org/10.1007/s13205013-0192-7>
- Hefnawy, M. A., Gharieb, M. M., Shaaban, M. T., y Soliman, A. M. (2017). Optimization of culture condition for enhanced decolorization of direct blue dye by *Aspergillus flavus* and *Penicillium canescens*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 7(02), 083-092. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2017.70210>
- Hernández, C. C. P. (2017). Identificación filogenética de bacterias metalófilas aisladas en sedimentos del Lago de Chapala y su aplicación en biorremediación. [Tesis para obtener el grado de Doctor en Ciencias Especialidad en Biotecnología]. Instituto Tecnológico de Sonora, Ciudad Obregón, Sonora, México.
- Holkar, C. R., Jadhav, A. J., Pinjari, D. V., Mahamuni, N. M., y Pandit, A. B. (2016). A critical review on textile wastewater treatments: possible approaches. *Journal of environmental management*, 182, 351-366. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.07.090>
- Jobby, R., Jha, P., Kudale, S., Kale, A., y Desai, N. (2019). Biodegradation of textile dye Direct Blue 71 using root nodulating *Rhizobium* sp. *Indian Journal of Experimental Biology*, 57, 532-539.
- Joshi, A. Y., Kothari, V. V., Kothari, C. R., Bhimani, H. D., y Kothari, R. K. (2014). Optimization of parameters for decolorization of a textile azo dye, Remazol Black B (RBB) by a newly isolated bacterium, *Bacillus thuringiensis* BYJ1. *African Journal of Microbiology Research*, 8(47), 3837-3849. <https://doi.org/10.5897/AJMR2014.7090>
- Kosowski, K., Schmidt, M., Pukall, R., Hause, G., Kämpfer, P., y Lechner, U. (2014). *Bacillus pervagus* sp. nov. and *Bacillus andreesenii* sp. nov., isolated from a composting reactor. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 64(Pt\_1), 88-94. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.054833-0>
- Kumar, S., Chaurasia, P., y Kumar, A. (2016). Isolation and characterization of microbial strains from textile industry effluents of Bhilwara, India: analysis with bioremediation. *J Chem Pharm Res*, 8(4), 143-150.
- Lalnunhlimi, S., y Krishnaswamy, V. (2016). Decolorization of azo dyes (Direct Blue 151 and Direct Red 31) by moderately alkaliphilic bacterial consortium. *Brazilian journal of microbiology*, 47, 39-46. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2015.11.013>
- Logan, N. A., Lebbe, L., Verhelst, A., Goris, J., Forsyth, G., Rodríguez-Díaz, M., Heyndrickx, M., y De Vos, P. (2004). *Bacillus shackletonii* sp. nov., from volcanic soil on Candlemas Island, South Sandwich archipelago. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54(2), 373-376. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02661-0>
- Manai, I., Miladi, B., El Mselmi, A., Smaali, I., Hassen, A. B., Hamdi, M., y Bouallagui, H. (2016). Industrial textile effluent decolourization in stirred and static batch cultures of a new fungal strain *Chaetomium globosum* IMA1 KJ472923. *Journal of Environmental Management*, 170, 8-14. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2015.12.038>
- Mirzaei, N., Mahvi, A. H., y Hossini, H. (2018). Equilibrium and kinetics studies of Direct blue 71 adsorption from aqueous solutions using modified zeolite. *Adsorption Science & Technology*, 36(1-2), 80-94. <https://doi.org/10.1177/0263617416684836>
- Morales-Guzmán, F., y Melgoza-Alemán, R. M. (2009). Tratamiento del colorante azo Rojo Directo 23 mediante reactores discontinuos secuenciados anaerobios/aerobios. *Información Tecnológica*, 20(1), 73-82. <https://doi.org/10.1612/inf.tecnol.4005it.08>
- Mukherjee, A. K., y Rai, S. K. (2011). A statistical approach for the enhanced production of alkaline protease showing fibrinolytic activity from a newly isolated Gram-negative *Bacillus* sp. strain AS-S20-I. *New Biotechnology*, 28(2), 182-189. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2010.11.003>
- Nedashkovskaya, O. I., Van Trappen, S., Frolova, G. M., y De Vos, P. (2012). *Bacillus berkeleyi* sp. nov., isolated from the sea urchin *Strongylocentrotus intermedius*. *Archives of Microbiology*, 194(3), 215-221. <https://doi.org/10.1007/s00203-011-0771-0>

- Neetha, J. N., Ujwal, P., Sandesh, K., Santhosh, H., y Girish, K. (2018). Aerobic biodegradation of acid blue-9 dye by *Bacillus fermus* isolated from *Annona reticulata*. *Environmental Technology & Innovation*, 11, 253-261. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2018.06.007>
- Olukanni, O. D., Osuntoki, A. A., Awotula, A. O., Kalyani, D. C., Gbenle, G. O., y Govindwar, S. P. (2013). Decolorization of dyehouse effluent and biodegradation of Congo red by *Bacillus thuringiensis* RUN1. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23(6), 843-849. <https://doi.org/10.4014/jmb.1211.11077>
- Oturkar, C. C., Nemade, H. N., Mulik, P. M., Patole, M. S., Hawaldar, R. R., y Gawai, K. R. (2011). Mechanistic investigation of decolorization and degradation of Reactive Red 120 by *Bacillus lentus* BI377. *Bioresource Technology*, 102(2), 758-764. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.08.094>
- Padmanaban, V. C., Geed, S. R., Achary, A., y Singh, R. S. (2016). Kinetic studies on degradation of Reactive Red 120 dye in immobilized packed bed reactor by *Bacillus cohnii* RAPT1. *Bioresource Technology*, 213, 39-43. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.02.126>
- Panigatti, M. C., Griffa, C., Boglione, R., Gentinetta, F., y Cassina, D. (2012). Uso de *Escherichia coli* para biorremediación de efluentes contaminados por cromo (VI). *Avances en Ciencias e Ingeniería*, 3(2), 11-24. [http://sgpwe.izt.uam.mx/files/users/uami/tvolke/12\\_E.coli-Biorremediacion.pdf](http://sgpwe.izt.uam.mx/files/users/uami/tvolke/12_E.coli-Biorremediacion.pdf)
- Parshetti, G., Kalme, S., Saratale, G., y Govindwar, S. (2006). Biodegradation of Malachite Green by *Kocuria rosea* MTCC 1532. *Acta Chimica Slovenica*, 53(4), 492-498. <http://acta-arhiv.chem-soc.si/53/53-4-492.pdf>
- Paz, A., Carballo, J., Pérez, M. J., y Domínguez, J. M. (2017). Biological treatment of model dyes and textile wastewaters. *Chemosphere*, 181, 168-177. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.04.046>
- Rawat, D., Mishra, V., y Sharma, R. S. (2016). Detoxification of azo dyes in the context of environmental processes. *Chemosphere*, 155, 591-605. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.04.068>
- Sandesh, K., Kumar, G., Chidananda, B., y Ujwal, P. (2019). Optimization of direct blue-14 dye degradation by *Bacillus fermus* (KX898362) an alkaliphilic plant endophyte and assessment of degraded metabolite toxicity. *Journal of Hazardous Materials*, 364, 742-751. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.10.074>
- Shakoori, F. R., Aziz, I., Rehman, A., y Shakoori, A. R. (2010). Isolation and characterization of arsenic reducing bacteria from industrial effluents and their potential use in bioremediation of wastewater. *Pakistan Journal of zoology*, 42(3), 331-338.
- Soto-Padilla, M. Y., Gortares-Moroyoqui, P., Cira-Chavez, L. A., y Estrada-Alvarado, M. I. (2018). Biochemical and molecular characterization of a native haloalkalophilic tolerant strain from the Texcoco Lake. *Polish Journal of Microbiology*, 67(3), 377. <https://doi.org/10.21307/pjm-2018-047>
- Soto-Padilla, M. Y., Valenzuela-Encinas, C., Dendooven, L., Marsch, R., Gortáres-Moroyoqui, P., y Estrada-Alvarado, M. I. (2014). Isolation and phylogenetic identification of soil haloalkaliphilic strains in the former Texcoco Lake. *International Journal of Environmental Health Research*, 24(1), 82-90. <https://doi.org/10.1080/09603123.2013.800957>
- Srinivasan, S., y Sadasivam, S. K. (2018). Exploring docking and aerobic-microaerophilic biodegradation of textile azo dye by bacterial systems. *Journal of Water Process Engineering*, 22, 180-191. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2018.02.004>
- Yoon, J. H., Kim, I. G., Kang, K. H., Oh, T. K., y Park, Y. H. (2004). *Bacillus hwajinpoensis* sp. nov. and an unnamed *Bacillus* genomospecies, novel members of Bacillus rRNA group 6 isolated from sea water of the East Sea and the Yellow Sea in Korea. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54(3), 803-808. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02678-0>
- Zin, K. M., Effendi Halmi, M. I., Abd Gani, S. S., Zaidan, U. H., Samsuri, A. W., y Abd Shukor, M. Y. (2020). Microbial Decolorization of Triazo Dye, Direct Blue 71: An Optimization Approach Using Response Surface Methodology (RSM) and Artificial Neural Network (ANN). *BioMed Research International*, 2020, 1-16. <https://doi.org/10.1155/2020/2734135>