



INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO CEARÁ
IFCE *CAMPUS* MARACANAÚ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENERGIAS RENOVÁVEIS

FERNANDO GIL MESQUITA DE FREITAS GONÇALVES

BIOPROSPECÇÃO DA MICROBIOTA DE BIVALVES PERFURADORES DE MADEIRA (*Neoteredo reynei*) COMO POSSÍVEL FONTE DE ENZIMAS DEGRADANTES DO COMPLEXO LIGNOCELULÓSICO VISANDO A PRODUÇÃO DE ETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO

MARACANAÚ

2025

FERNANDO GIL MESQUITA DE FREITAS GONÇALVES

BIOPROSPECÇÃO DA MICROBIOTA DE BIVALVES PERFURADORES DE MADEIRA
(*Neoteredo reynei*) COMO POSSÍVEL FONTE DE ENZIMAS DEGRADANTES DO
COMPLEXO LIGNOCELULÓSICO VISANDO A PRODUÇÃO DE ETANOL DE
SEGUNDA GERAÇÃO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Energias Renováveis – PPGER, do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE) - *Campus Maracanaú*, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre. Área de concentração: Bioquímica e Meio Ambiente.

Orientador: Prof. Dr. João Carlos da Costa Assunção.

MARACANAÚ

2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Instituto Federal do Ceará - IFCE
Sistema de Bibliotecas - SIBI

Ficha catalográfica elaborada pelo SIBI/IFCE, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- G635b Gonçalves, Fernando Gil Mesquita de Freitas.
 BIOPROSPECÇÃO DA MICROBIOTA DE BIVALVES PERFURADORES DE MADEIRA
 (Neoteredo reynei) COMO POSSÍVEL FONTE DE ENZIMAS DEGRADANTES DO COMPLEXO
 LIGNOCELULÓSICO VISANDO A PRODUÇÃO DE ETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO / Fernando Gil
 Mesquita de Freitas Gonçalves. - 2025.
 134 f. : il. color.
- Dissertação (Mestrado) - Instituto Federal do Ceará, Mestrado em Energias Renováveis, Campus
 Maracanaú, 2025.
 Orientação: Profa. Dra. João Carlos da Costa Assunção.
1. Bioprospecção. 2. Enzimas Celulolíticas. 3. Neoteredo reynei. 4. Bioetanol 2G. 5. Biomassa
 Lignocelulósica. I. Título.

CDD 620.91

FERNANDO GIL MESQUITA DE FREITAS GONÇALVES

BIOPROSPECÇÃO DA MICROBIOTA DE BIVALVES PERFURADORES DE MADEIRA
(*Neoteredo reynei*) COMO POSSÍVEL FONTE DE ENZIMAS DEGRADANTES DO
COMPLEXO LIGNOCELULÓSICO VISANDO A PRODUÇÃO DE ETANOL DE
SEGUNDA GERAÇÃO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Energias Renováveis – PPGER, do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE) - *Campus* Maracanaú, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre. Área de concentração: Bioquímica e Meio Ambiente.

Orientador: Prof. Dr. João Carlos da Costa Assunção.

Aprovado (a) em: 12 /12 / 2025.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. João Carlos da Costa Assunção (Orientador)

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE) – *Campus* Maracanaú

Prof. Dr. Franklin Aragão Gondim

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE) - *Campus* Maracanaú

Prof. Dr. Aluísio Marques da Fonseca

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB)

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a minha esposa Isadora Marques de Sena, pelo apoio e companheirismo.

À minha família, pelo amor incondicional, paciência e apoio em todos os momentos dessa jornada.

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. João Carlos da Costa Assunção, pela orientação técnica rigorosa, confiança, incentivo e dedicação durante todo o desenvolvimento desta pesquisa.

A todos os professores e colegas do Programa de Pós-Graduação em Energias Renováveis (PPGER) do IFCE, meu reconhecimento por cada contribuição, direta ou indireta.

Ao Ecomuseu Natural do Mangue, pela acolhida durante as coletas e pelo compromisso com a preservação ambiental. Às equipes dos laboratórios LAQAMB (IFCE) e LARGEN (UFC), pela estrutura e apoio nos experimentos, em especial a Prof^a. Dr. Vânia Maria Maciel Melo e Prof^a Dra. Denise Cavalcante Hissa. Por fim, a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização desta dissertação, meu muito obrigado.

“Conseguimos respirar, beber e comer com conforto porque milhões de organismos e centenas de processos operam para manter um ambiente habitável, mas tendemos a considerar os serviços da natureza como garantidos porque não pagamos pela maioria deles.” (Odum, Eugene P., (1975).

RESUMO

A crescente demanda por fontes de energia renováveis e a necessidade de reduzir emissões de gases de efeito estufa impulsionam o desenvolvimento do bioetanol de segunda geração (2G), obtido a partir de biomassas lignocelulósicas e resíduos agroindustriais, sem competição direta com a produção de alimentos. Entretanto, a recalcitrância estrutural da biomassa vegetal e o alto custo dos coquetéis enzimáticos ainda representam gargalos tecnológicos relevantes. Neste contexto, esta dissertação teve como objetivo investigar o potencial biotecnológico da microbiota simbiótica visceral do molusco marinho xilófago *Neoteredo reynei* (família Teredinidae) como fonte alternativa de microrganismos lignocelulolíticos aplicáveis à produção de etanol 2G. Os espécimes foram coletados no manguezal da Sabiaguaba, em Fortaleza–CE, ambiente estuarino caracterizado por intensa degradação natural de madeira. A metodologia incluiu a coleta e identificação do molusco hospedeiro, o isolamento da microbiota visceral em meios seletivos enriquecidos com celulose e bagaço de cana-de-açúcar, cultivo em meios sólidos e líquidos, avaliação qualitativa da atividade hidrolítica por cromatografia em camada delgada (CCD) e identificação molecular das linhagens por sequenciamento do gene 16S rRNA. Os resultados evidenciaram duas linhagens bacterianas com atividade lignocelulolítica, identificadas como pertencentes aos gêneros *Bacillus* e *Lysinibacillus*. As análises cromatográficas confirmaram a hidrólise da biomassa, com liberação de glicose, xilose e arabinose, indicando a degradação de celulose e hemicelulose. Embora a identificação molecular tenha apresentado alta similaridade, a limitação do marcador 16S rRNA impediu a confirmação em nível de espécie. Os resultados indicam elevado potencial biotecnológico dessas linhagens para aplicações futuras em biorrefinarias sustentáveis de etanol 2G industriais nacionais.

Palavras-chave: Bioprospecção; Enzimas Celulolíticas; *Neoteredo reynei*; Bioetanol 2G; Biomassa Lignocelulósica.

ABSTRACT

The increasing demand for renewable energy sources and the need to reduce greenhouse gas emissions have driven the development of second-generation (2G) bioethanol, produced from lignocellulosic biomass and agro-industrial residues without direct competition with food production. However, the structural recalcitrance of plant biomass and the high costs associated with conventional enzymatic cocktails remain significant technological bottlenecks. In this context, this dissertation aimed to investigate the biotechnological potential of the visceral symbiotic microbiota of the wood-boring marine mollusk *Neoteredo reynei* (family Teredinidae) as an alternative source of lignocellulolytic microorganisms applicable to 2G ethanol production. Specimens were collected in the Sabiaguaba mangrove, Fortaleza–CE, a coastal estuarine environment characterized by intense natural wood degradation. The methodology comprised the collection and identification of the host mollusk, isolation of the visceral microbiota in selective media enriched with cellulose and sugarcane bagasse, cultivation in solid and liquid media, qualitative evaluation of hydrolytic activity by thin-layer chromatography (TLC), and molecular identification of bacterial strains through sequencing of the 16S rRNA gene. The results revealed two bacterial strains exhibiting lignocellulolytic activity, identified as belonging to the genera *Bacillus* and *Lysinibacillus*. Chromatographic analyses confirmed biomass hydrolysis, evidenced by the release of glucose, xylose, and arabinose, indicating the degradation of cellulose and hemicellulose fractions. Although molecular identification showed high sequence similarity, the limitations of the 16S rRNA marker prevented species-level confirmation. Overall, the findings indicate a high biotechnological potential of these strains for future applications in sustainable industrial 2G ethanol biorefineries.

Keywords: Bioprospecting; Cellulolytic Enzymes; *Neoteredo reynei*; 2G Bioethanol; Lignocellulosic Biomass.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 — Produção Industrial de Etanol / Álcool com Cana-de-Açúcar.....	23
Figura 2 — Processo de produção do bioetanol.....	26
Figura 3 — Representação estrutural da celulose.....	27
Figura 4 — Componentes da fração hemicelulose.....	28
Figura 5 — Estrutura molecular da lignina.....	29
Figura 6 — Esquema representando fibrilas, microfibrilas e celulose na parede celular de vegetais.....	31
Figura 7 — Alterações estruturais na microfibrila de cana-de-açúcar causadas pelo pré-tratamento com ácido diluído, seguidas pela hidrólise enzimática da celulose.	32
Figura 8 — Relações filogenéticas de <i>Pholadoidea</i>	37
Figura 9 — Exemplares de <i>teredinídeos</i>	39
Figura 10 — Morfologia externa de um <i>Teredinídeo</i>	40
Figura 11 — Coleta de <i>Neoteredo reynei</i> no Estuário Coroa Grande, Rio de Janeiro, Brasil..	41
Figura 12 — Morfologia externa de <i>Neoteredo reynei</i>	42
Figura 13 — Anatomia geral dos Teredinidae, evidenciando a disposição dos órgãos internos e das estruturas musculares principais.....	43
Figura 14 — Região posterior de <i>Bankia</i> e <i>Neoteredo</i> , destacando a morfologia das paletas e dos sifões retráteis.....	44
Figura 15 — Múltiplos genes codificando glicosil hidrolases.....	46
Figura 16 — Mapa de localização.....	48
Figura 17 — Manguezal da Sabiaguaba (Fortaleza-CE)	50
Figura 18 — Seleção dos troncos em campo e extração do molusco.....	52
Figura 19 — Estruturas morfológicas externas e internas de <i>Neoteredo reynei</i> (Bartsch, 1920)	52
Figura 20 — Preparo para o processamento do molusco.....	55
Figura 21 — Identificação das estruturas morfológicas para identificação taxonômica.....	62
Figura 22 — Crescimento das colônias bacterianas em placas de petri	65
Figura 23 — Amostras em meio líquido incubadas em shake.....	66
Figura 24 — Replicação das colônias com morfologia distintas.....	67
Figura 25 — Crescimento e caracterização morfológica preliminar das Cepas BRR_42 e BRR_44.....	68

Figura 26 — Crescimento das colônias bacterianas em placa de petri e em erlenmeyer.....	69
Figura 27 — Alterações morfológicas em fibras de cana-de-açúcar sob degradação bacteriana.....	71
Figura 28 — Morfologia de <i>Lysinibacillus ssp.</i> observada por MEV.....	72
Figura 29 — Morfologia de <i>Bacillus ssp.</i> observada por MEV.....	73
Figura 30 — Cromatografia em camada delgada.....	75
Figura 31 — Segundo teste da CCD com quatro padrões e quatro amostras.....	77
Figura 32 — CCD de açúcares padrões e amostras.....	79
Figura 33 — Eletroforese das amostras BRR42 e BRR44.....	82
Figura 34 — Fluxograma do processo.....	84
Figura 35 — Análise com o software CodonCode Aligner®.....	85

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 — Diagnóstico conclusivo.....	63
Tabela 2 — Valores de distância percorrida (D_c) e fator de retenção (R_f) dos padrões e amostras obtidos na cromatografia em camada delgada.....	80
Tabela 3 — Resultado do sequenciamento da amostra BRR_42_ok.....	86
Tabela 4 — Resultado do sequenciamento da amostra BRR_44_ok.....	87

LISTA DE SIGLAS

17 ODS	17 Objetivos de Desenvolvimento Sustentável
1G	Primeira Geração
2G	Segunda Geração
AA 10	Auxiliary Activity Family 10
ANP	Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis
BR	Bacteria Replicação (designação interna das amostras)
BRR	Bacteria Replicação de Replicação (designação interna das amostras)
CBMs	Carbohydrate-Binding Modules
CBP	Processo Consolidado
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
GEE	Gases do Efeito Estufa
IFCE	Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará
LAQAMB	Laboratório de química analítica e microbiologia ambiental
LARGEN	Laboratório de Recursos Genéticos
LPMOs	Lytic Polysaccharide Monooxygenase
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
ODS	Objetivos de Desenvolvimento Sustentável
ONU	Organização das Nações Unidas
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
rRNA	Ácido Ribonucleico Ribossômico
SSF	Sacarificação E Fermentação Simultânea
TAE	Tampão Tris-Acetato-EDTA (usado em eletroforese)
UFC	Universidade Federal do Ceará

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
D_c	Distância percorrida pelo soluto
D_s	Distância percorrida pela frente do solvente
®	Marca registrada
°C	Grau Celsius
cm	Centímetros
g	Grama
g/L	Gramas por litro
mL	Mililitro
pb	Pares de Bases
R_f	Fator de Retenção (em cromatografia)
v/v	Volume por Volume
λ	Comprimento de onda (em espectroscopia)
μL	Microlitro
μm	Micrometro

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
1.1	Objetivos.....	15
1.1.1	<i>Objetivo Geral.....</i>	15
1.1.2	<i>Objetivo Específico.....</i>	15
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1	Demanda Energética Global.....	17
2.1.1	<i>Demanda Energética Global e Pressões Ambientais.....</i>	18
2.1.2	<i>Estado e Políticas Energéticas no Brasil.....</i>	20
2.1.3	<i>Limitações da Produção Atual de Bioetanol.....</i>	22
2.1.4	<i>Biocombustíveis de Segunda Geração e o Potencial da Biomassa Lignocelulósica.....</i>	24
2.2	O Complexo Enzimático Lignocelulolítico.....	33
2.2.1	<i>Mecanismo de Ação e Sinergia Bioquímica.....</i>	33
2.2.2.	<i>Endoglucanases, Celobio-Hidrolases e a Quebra Sequencial.....</i>	33
2.2.3.	<i>O Gargalo da β-Glicosidase e as Inovações em Engenharia de Proteínas.....</i>	34
2.2.4.	<i>A Revolução Catalítica das LPMOs.....</i>	34
2.2.5	<i>Oportunidades Biotecnológicas e Perspectivas Industriais.....</i>	35
2.3	Bioprospecção e Aplicações Biotecnológicas.....	35
2.4	Moluscos Xilotréptico Teredinidae.....	36
2.5	Microbiota Associada aos Teredinidae e os Mecanismos Enzimáticos para Degradação Lignocelulósica.....	45
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	48
3.1	Local de Coleta.....	48
3.2	Procedimentos de Coleta, Identificação e Caracterização de <i>Neoteredo reynei</i> (Bartsch, 1920)	51
3.3	Material e Reagentes Utilizados no Processamento das Amostras.....	54

3.4	Cromatografia em Camada Delgada (CCD).....	56
3.5	Extração de DNA Genômico Bacteriano.....	56
3.6	Amplificação do Gene 16S rRNA.....	57
3.7	Sequenciamento e Análise Molecular.....	58
3.8	Sequenciamento Sanger.....	58
3.9	Análises Microscópicas.....	59
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	61
4.1	Identificação Taxonômica do Molusco Hospedeiro (<i>Neoteredo reynei</i>)	61
4.2	Processamento das Amostras.....	64
4.3	Cultivo Microbiológico e Enriquecimento em Biomassa Lignocelulósica.....	64
4.4	Análise Microscópica Óptica das Amostras.....	69
4.5	Análises Morfológicas por Eletrônica de Varredura (MEV).....	70
4.6	Identificação Qualitativa.....	74
4.7	Extração e Amplificação de DNA Bacteriano.....	81
4.8	Análise de Sequências de DNA Bacteriano no CodonCode Aligner®.....	83
4.9	Discussão Integrada dos Resultados.....	89
5	CONCLUSÃO.....	92
	REFERÊNCIAS.....	94
	ANEXO A — AUTORIZAÇÃO PARA ATIVIDADES COM FINALIDADE CIENTÍFICA. SISTEMA DE AUTORIZAÇÃO E INFORMAÇÃO EM BIODIVERSIDADE - SISBIO.....	108
	ANEXO B — CHAVE PARA AS ESPÉCIES DE TEREDINIDAE REGISTRADAS NO LITORAL SUDESTE DO BRASIL (Müller e Lana 1986)	113
	ANEXO C — CODONCODE ALIGNER: TRABALHO SEQUENCE, BRR_42_ok e BRR_44_ok.....	119

ANEXO D — ARTIGO PUBLICADO: POTENCIAL GÊNICO DA BACTÉRIA <i>Teredinibacter turnerae</i> MEDIANTE A SUA REPOSTA MOLECULAR PARA DEGRADAÇÃO DE CELULOSE COMO FOMENTO PARA BIOPROCESSOS.....	127
ANEXO E — ARTIGO PUBLICADO: PROTEÍNAS PUTATIVAS COM DOMÍNIOS CATALÍTICOS MULTIFUNCIONAIS CELAB ORIUNDO DA EXPRESSÃO GENÔMICA DA BACTERIANO SIMBIÓTICO VISCERAIS DE INVERTEBRADO MARINHO XILOTRÉPTICO.....	128
ANEXO F — ARTIGO PUBLICADO: <i>Bacillus spp.</i> E <i>Lysinibacillus spp.</i> COMO CANDIDATOS À DEGRADAÇÃO LIGNOCELULÓSICA EM TEREDINIDAE: EVIDÊNCIAS, LACUNAS E PERSPECTIVAS BIOTECNOLÓGICAS.....	129

1 INTRODUÇÃO

A intensificação da crise ambiental global, expressa pelo aumento das emissões de gases de efeito estufa, pela degradação acelerada dos ecossistemas e pela exploração insustentável de recursos não renováveis, evidencia os limites estruturais do modelo energético baseado em combustíveis fósseis. Nesse cenário, as mudanças climáticas ultrapassam a dimensão ambiental e passam a configurar um desafio econômico e civilizatório, exigindo a reestruturação das matrizes energéticas em direção a fontes renováveis, de baixo carbono e socialmente sustentáveis (Veiga, 2019; United Nations, 2015; Starling; Borges; Squeff, 2025).

Inserido nesse contexto, o Brasil ocupa posição estratégica na transição energética global em função de sua trajetória histórica no uso de biocombustíveis, iniciada com o Programa Nacional do Álcool (Proálcool). O etanol de primeira geração (1G), produzido majoritariamente a partir da cana-de-açúcar, consolidou-se como alternativa relevante aos combustíveis fósseis, porém sua expansão é limitada pela dependência de matéria-prima alimentar, pela competição pelo uso do solo e por restrições territoriais. Diante desses desafios, o bioetanol de segunda geração (2G), obtido a partir de biomassa lignocelulósica, emerge como alternativa tecnológica sustentável, ao permitir o aproveitamento de resíduos agroindustriais, a ampliação da base de matérias-primas e a redução das emissões líquidas de carbono (Andrade; Carvalho; Souza, 2009; Dunham; Bomtempo; Fleck, 2011; Costa *et al.* 2021; Broda *et al.* 2022). Essa transição tem sido observada especialmente em países líderes do setor, como Brasil, Estados Unidos e membros da União Europeia, que concentram investimentos em pesquisa, desenvolvimento e implantação de biorrefinarias baseadas em resíduos lignocelulósicos (Broda *et al.* 2022; Araujo, 2022; Starling; Borges; Squeff, 2025).

A biomassa lignocelulósica, composta principalmente por celulose, hemicelulose e lignina, representa o recurso renovável mais abundante do planeta, com produção anual estimada em mais de 200 bilhões de toneladas (Manisha; Yadav, 2017; Himmel *et al.* 2007). Apesar de conferir rigidez estrutural às plantas, essa matriz polimérica apresenta elevada recalcitrância à degradação enzimática, configurando o principal gargalo tecnológico na produção de etanol de segunda geração (Pendse; Deshmukh; Pande, 2023; Fernandes, 2021). Nesse contexto, o pré-tratamento constitui etapa essencial para a desestruturação da parede celular e a exposição dos polissacarídeos, podendo envolver abordagens físicas, químicas ou biológicas, com destaque para os processos organossolve e alcalino, que promovem a remoção

parcial da lignina e aumentam a digestibilidade da celulose (Soares, Patrocínio e Silva, 2017; Machado, 2022; Araujo, 2022).

Mesmo após o pré-tratamento, a hidrólise da biomassa depende de enzimas celulolíticas eficientes, como endoglucanases, exoglucanases e β -glicosidases, que atuam de forma sinérgica na liberação de açúcares fermentescíveis. Embora microrganismos terrestres, como *Trichoderma reesei* e *Bacillus subtilis*, tenham proporcionado avanços significativos, as enzimas comerciais ainda apresentam limitações relacionadas à estabilidade térmica, à tolerância a inibidores e aos custos de produção. Diante disso, a prospecção de novos sistemas enzimáticos em microrganismos adaptados a ambientes extremos ou ricos em biomassa lignocelulósica consolidou-se como uma das frentes mais promissoras da biotecnologia (Costa et al., 2021; da Silva et al. 2019; Rubin, 2008; Dimitrova; Deshmukhb; Pandec, 2025; Fu et al. 2024; Ríos-Alvarado et al. 2024).

Nesse contexto, ecossistemas marinhos e estuarinos configuram-se como reservatórios ainda pouco explorados de biodiversidade microbiana, especialmente em ambientes de degradação natural da madeira, como os manguezais tropicais. Destacam-se nesses habitats os bivalves perfuradores da família Teredinidae, cuja dieta baseada em madeira submersa resulta de adaptações especializadas e de uma associação simbiótica íntima com bactérias intracelulares do gênero *Teredinibacter*, localizadas na glândula branquial. Essas bactérias desempenham papel central na degradação dos polissacarídeos estruturais da madeira, conferindo aos Teredinidae elevada capacidade de utilização da biomassa lignocelulósica e evidenciando o potencial biotecnológico da microbiota simbiótica associada a esses moluscos (Turner, 1966; Distel; Beaudoin; Morrill, 2002; Trindade-Silva et al. 2009; Brito et al. 2018).

Essas bactérias endossimbiontes apresentam um repertório expressivo de genes envolvidos na degradação de polissacarídeos vegetais, incluindo famílias de glicosil-hidrolases (GHs), monooxigenases líticas de polissacarídeos (LPMOs; famílias AA9 e AA10) e oxidoredutases associadas à modificação da lignina (Yang et al., 2009; Fowler et al., 2019; Zhou et al. 2019). Em particular, *Teredinibacter turnerae* tem sido amplamente investigada em estudos genômicos e funcionais, que revelaram enzimas multifuncionais, como a CelAB, e sistemas de secreção extracelular por vesículas de membrana, potencialmente envolvidos na hidrólise da celulose (Ekborg et al. 2007; Gasser et al. 2024). Estudos recentes reforçam esse potencial ao demonstrar elevada expressão de genes celulolíticos em resposta a substratos lignocelulósicos, bem como diversidade enzimática associada a microrganismos simbióticos de

Neoteredo reynei, indicando aplicação promissora em biorrefinarias de etanol 2G (Gonçalves *et al.* 2024; Brito *et al.* 2018; Ferreira *et al.* 2019).

A exploração dessa biodiversidade apresenta relevância científica e estratégica ao alinhar-se aos princípios da bioeconomia circular e à valorização de resíduos agroindustriais abundantes no Brasil, como bagaço e palha de cana-de-açúcar e resíduos do milho, contribuindo para a agregação de valor a subprodutos agrícolas e para a redução da poluição associada ao descarte inadequado (Talwar *et al.* 2024; Pendse; Deshmukh; Pande, 2023; Araujo, 2022). A integração de processos enzimáticos inovadores, provenientes de microrganismos marinhos, com tecnologias de pré-tratamento e fermentação pode viabilizar uma nova geração de biorrefinarias sustentáveis, com elevada eficiência energética e baixo impacto ambiental (Broda *et al.* 2022; Vasić *et al.* 2021). Em escala global, a adoção dessas tecnologias contribui diretamente para o cumprimento dos objetivos para o desenvolvimento sustentável da Agenda 2030, configurando a biotecnologia microbiana aplicada à bioenergia como um dos principais vetores da transição energética contemporânea (United Nations, 2015; Ipea, 2018; Grangeia; Santos; Lazaro, 2022).

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo Geral

Analisar o potencial biotecnológico de microrganismos lignocelulolíticos associados à microbiota visceral de moluscos bivalves da família Teredinidae, por meio do isolamento, avaliação qualitativa da atividade hidrolítica e identificação taxonômica, visando à sua aplicação prospectiva em processos de conversão de biomassa lignocelulósica para a produção de etanol de segunda geração.

1.1.2 Objetivo Específico

- Isolar e identificar molecularmente (16S rRNA) as linhagens bacterianas celulolíticas da microbiota visceral do molusco marinho bivalves da família Teredinidae.
- Caracterizar morfolologicamente e por cultivo seletivo em substratos lignocelulósicos as linhagens isoladas, com foco nos gêneros *Bacillus* e *Lysinibacillus*.

- Avaliar qualitativamente a capacidade hidrolítica das linhagens na degradação de polissacarídeos (celulose e hemicelulose), mediante a detecção de açúcares redutores por cromatografia em camada delgada (CCD).
- Inferir o potencial biotecnológico das linhagens bacterianas identificadas para a produção de bioetanol de segunda geração (2G), correlacionando os resultados taxonômicos e funcionais com a literatura científica.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Demanda Energética Global

O crescimento populacional, o desenvolvimento econômico e a modernização dos sistemas produtivos têm provocado um aumento expressivo da demanda mundial por energia, especialmente por fontes que conciliem segurança de suprimento, baixo custo e sustentabilidade ambiental. Estima-se que o consumo global de energia aumente, em média, 3% ao ano até 2030, impulsionado pelo crescimento das economias emergentes e pela urbanização acelerada. Esse cenário de expansão, embora essencial para o desenvolvimento econômico e social, tem intensificado a pressão sobre os recursos naturais e agravado a crise climática global, resultante da queima intensiva de combustíveis fósseis (United Nations, 2015; Broda *et al.* 2022; Santos, *et al.* 2025).

A dependência histórica de carvão, petróleo e gás natural consolidou um modelo energético altamente intensivo em carbono, responsável por mais de dois terços das emissões globais de gases de efeito estufa (GEE). Tais emissões têm contribuído para o aumento da temperatura média do planeta, alterações nos regimes de precipitação, derretimento das calotas polares e ocorrência cada vez mais frequente de eventos climáticos extremos (United Nations, 2015; Veiga, 2019). Como consequência, a questão energética deixou de ser apenas um desafio técnico ou econômico, tornando-se um problema civilizatório que exige uma transição estrutural rumo a uma economia de baixo carbono (Santos *et al.* 2022; Santos *et al.* 2025).

Nesse contexto, a transição energética global baseia-se na substituição gradual das fontes fósseis por alternativas renováveis, como energia solar, eólica, hidrelétrica e biomassa. Essas tecnologias têm se mostrado fundamentais para reduzir emissões, diversificar a matriz e promover maior segurança energética, especialmente em países com alta dependência de importações de petróleo. Os biocombustíveis, em particular, destacam-se por sua capacidade de integrar inovação tecnológica, geração de emprego rural e mitigação de emissões, sendo reconhecidos como vetores estratégicos para o cumprimento das metas climáticas do Acordo de Paris (Broda *et al.* 2022; Talwar *et al.* 2024).

A incorporação crescente das fontes renováveis na matriz mundial está diretamente relacionada à agenda global de sustentabilidade, expressa nos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) da Organização das Nações Unidas, especialmente os ODS 7 (Energia limpa e acessível), 9 (Indústria, inovação e infraestrutura), 12 (Consumo e produção responsáveis) e

13 (Ação contra a mudança global do clima) (United Nations, 2015; IPEA, 2018). A transição para uma economia descarbonizada requer, portanto, não apenas o avanço tecnológico, mas também uma profunda reestruturação das políticas energéticas e produtivas, de modo a garantir justiça socioambiental e inclusão econômica (Pendse; Deshmukh; Pande, 2023; Silva *et al.* 2025).

Dessa forma, a demanda energética global contemporânea reflete um paradoxo: de um lado, a necessidade crescente de energia para sustentar o desenvolvimento e, de outro, a urgência em reduzir os impactos ambientais decorrentes de seu uso. A superação desse desafio depende da capacidade dos países em alinhar crescimento econômico, segurança energética e sustentabilidade, consolidando um modelo de desenvolvimento pautado na eficiência, na inovação e na transição para fontes renováveis de baixo carbono (Veiga, 2019; Talwar *et al.* 2024; Santos *et al.* 2025).

2. 1. 1. Demanda Energética Global e Pressões Ambientais

O uso intensivo de combustíveis fósseis, base histórica do desenvolvimento industrial, tem provocado consequências ambientais irreversíveis. O aumento das concentrações de dióxido de carbono (CO₂) e metano na atmosfera está associado não apenas ao aquecimento global, mas também a processos de desertificação, elevação do nível do mar e perda da biodiversidade, comprometendo áreas agrícolas produtivas e intensificando vulnerabilidades socioeconômicas. Essa realidade reforça a urgência de adotar modelos energéticos sustentáveis que superem a dependência de recursos poluentes, reposicionando o debate energético como questão ambiental e civilizatória (Santos *et al.* 2022; Talwar *et al.* 2024; Santos *et al.* 2025).

Nesse cenário, o Brasil apresenta vantagens estratégicas devido à abundância de recursos naturais e ao histórico de políticas públicas voltadas à diversificação da matriz energética. Atualmente, cerca de 46% da matriz nacional é composta por fontes renováveis, proporção significativamente superior à média global (Brasil, 2021; Silva *et al.* 2025).

Tal condição confere ao país um papel central na transição energética mundial, sobretudo no avanço de tecnologias de biocombustíveis de segunda geração, que conciliam mitigação de emissões com menor impacto sobre terras agrícolas, reforçando a relevância da inovação na busca pela neutralidade de carbono (Talwar *et al.* 2024; Silva *et al.* 2025).

Ainda assim, a crise climática global exige mais do que uma mudança tecnológica. O crescimento contínuo da demanda energética global, associado às pressões ambientais, impõe

uma transição de baixo carbono que deve ser compreendida como processo político, econômico e social. A expansão de fontes renováveis, como eólica e solar, tem sido frequentemente impulsionada por dinâmicas mercadológicas que priorizam retorno financeiro rápido e atendimento à demanda externa, mas negligenciam critérios de sustentabilidade socioambiental (Veiga, 2019; Sampaio, 2024; Santos *et al.* 2025).

Essa crítica se evidencia no conceito de neoextrativismo, no qual a substituição de tecnologias não altera a lógica estrutural de exploração. Embora a matriz energética mude de fósseis para renováveis, mantém-se o padrão histórico de concentração de capital e espoliação territorial, marginalizando comunidades locais e aprofundando desigualdades. Nessa perspectiva, a transição energética, quando guiada pelo mercado e não pela justiça social, configura-se como uma transição energética injusta (Sampaio, 2024; Silva *et al.* 2025).

Ao mesmo tempo, a literatura recente argumenta que as mudanças climáticas transformaram a transição energética de uma opção estratégica em um imperativo global. O avanço acelerado da exploração de combustíveis fósseis, aliado ao aumento exponencial do consumo, impõe limites planetários que já não podem ser ignorados. Nesse sentido, a reorganização da demanda energética global exige não apenas descarbonização tecnológica, mas também uma reestruturação profunda dos paradigmas econômicos e geopolíticos que sustentam a atual ordem energética (Santos *et al.* 2022; Santos *et al.* 2025; Silva *et al.* 2025).

Como resposta, surgem propostas de abordagem integrada, a exemplo dessa “descarbonização sistêmica adaptativa”. Estruturada em três pilares interdependentes — expansão das energias renováveis, tecnologias de captura e uso de carbono (CCS, BECCS e CCUS) e eficiência energética —, essa perspectiva evidencia que o sucesso da transição depende de articulação entre inovação tecnológica, preservação da biodiversidade e inclusão socioeconômica. Quando aplicada ao contexto brasileiro, essa visão mostra-se especialmente promissora, visto que o país já combina experiência em energias renováveis e potencial para liderar o avanço dos biocombustíveis de segunda geração (Brasil, 2021; Santos *et al.* 2025; Silva *et al.* 2025; Talwar *et al.* 2024).

No entanto, a concretização dessa transição exige também uma transformação institucional. A experiência internacional demonstra que países capazes de articular governança multiescalar, marcos regulatórios estáveis e instrumentos de financiamento verde alcançam resultados mais consistentes em seus processos de descarbonização. Nesse sentido, é imperativo que soluções tecnológicas sejam acompanhadas de políticas públicas eficazes e de uma governança que garanta previsibilidade aos investidores, ao mesmo tempo em que assegure a

distribuição equitativa dos benefícios energéticos e ambientais (Veiga, 2019; Silva *et al.* 2025; Santos *et al.* 2025).

A questão da justiça energética, portanto, emerge como dimensão central da transição. A expansão indiscriminada de parques eólicos no semiárido nordestino, por exemplo, revela como os custos sociais e territoriais podem ser deslocados para populações vulneráveis quando prevalece o interesse mercadológico. Essa experiência reforça a necessidade de que o processo de descarbonização não se limite a indicadores de eficiência energética ou metas de redução de emissões, mas incorpore critérios de equidade social e de respeito às comunidades impactadas (Sampaio, 2024).

Ao articular as contribuições de diferentes autores, torna-se claro que a transição energética não pode ser reduzida a um fenômeno técnico ou econômico. Ela deve ser compreendida como um processo multidimensional que envolve escolhas políticas, disputas territoriais e redefinições de modelos de desenvolvimento. O Brasil, com sua matriz energética singular e seu potencial em biocombustíveis de segunda geração, possui condições de contribuir de forma significativa para esse processo. Contudo, o desafio consiste em evitar que tais avanços se convertam em mera reprodução da lógica neoextrativista que já se mostrou insustentável no passado (Santos *et al.* 2022; Santos *et al.* 2025; Silva *et al.* 2025).

Assim, o debate sobre a Demanda Energética Global e as Pressões Ambientais aponta para um paradoxo central: enquanto a transição energética é apresentada como solução à crise climática, sua implementação muitas vezes reforça desigualdades e reproduz injustiças históricas. Superar esse dilema exige uma mudança de perspectiva que combine inovação tecnológica, governança inclusiva e justiça socioambiental. Somente nesse horizonte será possível alinhar energias renováveis, preservação ambiental e desenvolvimento social, de modo que a produção de biocombustíveis de segunda geração se insira em um projeto de transição realmente justa e sustentável.

2.1.2. Estado e Políticas Energéticas no Brasil

A trajetória da matriz energética brasileira está diretamente associada ao papel estratégico do Estado na formulação de políticas públicas de longo prazo, tendo o Programa Nacional do Alcool (Pró-Alcool), instituído em 1975, como marco central. Criado em resposta à crise internacional do petróleo, o programa buscou reduzir a dependência de combustíveis fósseis por meio do aproveitamento do potencial renovável da cana-de-açúcar, ancorando-se

em uma base tecnológica e institucional previamente consolidada. Essa experiência evidencia o Estado como indutor e organizador da inovação energética, ao articular planejamento, investimento e regulação setorial (Dunham, Bomtempo, Fleck, 2011; Starling; Borges, Squeff, 2025).

O êxito inicial do Pró-Álcool esteve vinculado ao Sistema de Produção e Inovação Sucroalcooleiro (SPIS), que acumulava, desde o século XIX, experiências em modernização agrícola e industrial. A noção de dependência de trajetória (path dependence) demonstra como a intervenção estatal se apoiou em um histórico de acumulação tecnológica, viabilizando a escalabilidade da política em consonância com as urgências energéticas do período (Dunham, Bomtempo; Fleck, 2011).

Apesar de seus avanços, o Pró-Álcool consolidou uma estrutura concentradora, favorecendo grandes conglomerados industriais e limitando a democratização do acesso aos incentivos públicos. Essa dinâmica revela o tensionamento recorrente entre eficiência produtiva em larga escala e os objetivos socioambientais de uma transição energética justa, desafio ainda presente nas políticas contemporâneas (United Nations, 2015; Grangeia, Santos, Lazaro, 2022).

Com a redução dos subsídios estatais e a estabilização dos preços do petróleo nas décadas de 1980 e 1990, o programa entrou em retração, expondo a vulnerabilidade de políticas excessivamente dependentes de conjunturas econômicas internacionais. Ainda assim, o etanol manteve-se como ativo estratégico, sobretudo em função de sua elevada eficiência energética, superior à de outros biocombustíveis amplamente utilizados (Andrade, Carvalho, Souza, 2009; Brasil, 2021).

No contexto das reorientações recentes da política energética brasileira, o etanol foi reposicionado como instrumento central no enfrentamento das mudanças climáticas, com destaque para o RenovaBio (Lei nº 13.576/2017). Esse marco regulatório sinaliza a transição de um modelo intervencionista para um sistema mais descentralizado, baseado em metas de descarbonização e certificações, reforçando o protagonismo do Estado brasileiro na governança energética internacional (Grangeia, Santos e Lazaro, 2022; Starling; Borges; Squeff, 2025; Brasil, 2021).

Não obstante, persistem desafios relacionados à concentração produtiva, uma vez que os incentivos públicos continuam a beneficiar majoritariamente grandes corporações. A descentralização produtiva e a inovação regionalizada emergem, portanto, como elementos essenciais para alinhar a transição energética às dimensões de justiça social e territorial (United Nations, 2015; Grangeia, Santos, Lazaro, 2022).

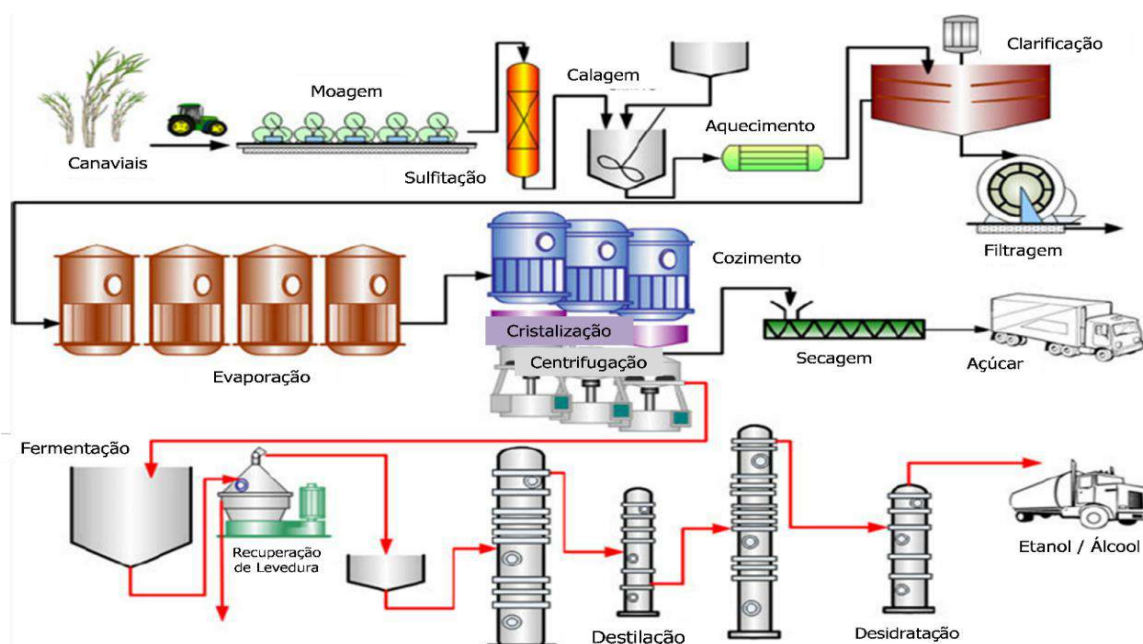
A análise histórica do Pró-Álcool e de suas ressignificações contemporâneas revela que o Estado brasileiro atua como mediador entre pressões globais, conjunturas econômicas e demandas sociais internas. Embora tenha demonstrado capacidade de liderança em inovação energética, permanece o desafio de democratizar os benefícios dessa trajetória. A consolidação de uma matriz baseada em biocombustíveis de segunda geração dependerá, assim, não apenas de avanços tecnológicos, mas de uma governança estatal comprometida com equidade social e sustentabilidade ambiental (Andrade; Carvalho; Souza, 2009; Dunham, Bomtempo, Fleck, 2011; Starling, Borges, Squeff, 2025).

2.1.3. Limitações da produção atual de bioetanol

A produção de etanol a partir da cana-de-açúcar consolidou-se no Brasil como um processo biotecnológico estratégico, sustentado pela rota de primeira geração (1G), baseada na fermentação da sacarose extraída do caldo da cana. Esse modelo apresenta alta eficiência técnica e energética, superando alternativas como o etanol de milho, o que conferiu ao país vantagens comparativas na matriz energética global e reforçou sua liderança em biocombustíveis. Contudo, apesar de sua relevância histórica e ambiental, associada à redução de emissões em relação à gasolina, o sistema produtivo também expõe contradições ligadas à expansão da monocultura, à pressão sobre ecossistemas e à concentração fundiária. Assim, embora a rota 1G represente um marco para a transição energética, seus limites socioambientais e mercadológicos tornam-se evidentes, servindo de ponto de partida para o desenvolvimento de tecnologias de segunda geração (2G), voltadas ao aproveitamento integral da biomassa e à busca por maior sustentabilidade (Dunham, Bomtempo, Fleck, 2011; Saraiva *et al.* 2024).

A figura 1 ilustra, de forma esquemática, as principais etapas do processo industrial de produção de etanol e açúcar a partir da cana-de-açúcar. O fluxograma evidencia a integração entre as rotas produtivas, que se iniciam com a colheita e moagem da cana, passando pelas etapas de tratamento do caldo, evaporação e cristalização, responsáveis pela obtenção do açúcar. Paralelamente, o caldo fermentescível segue para o processo de fermentação alcoólica, onde microrganismos do gênero *Saccharomyces* convertem açúcares em etanol, posteriormente purificado por destilação e desidratação. Esse modelo industrial representa um exemplo de biorrefinaria integrada, no qual o aproveitamento da biomassa é maximizado, permitindo a cogeração de energia, a recuperação de subprodutos e a redução dos impactos ambientais associados ao setor sucroenergético (Soares, Patrocínio e Silva, 2017; Saraiva *et al.* 2024).

Figura 1 — Produção Industrial de Etanol / Álcool com Cana-de-Açúcar



Fonte: CBIE (2020) Adaptada

O processo se inicia com a colheita da cana-de-açúcar, que pode ser mecanizada ou manual, seguida pelo preparo mecânico, que envolve lavagem, picagem e desfibramento. A extração do caldo ocorre em moendas, separando o líquido açucarado do bagaço, que é posteriormente utilizado na cogeração de energia (Bazoti, 2017).

Após a extração, o caldo bruto passa por etapas de correção de pH, aquecimento e clarificação, com o objetivo de remover impurezas que possam prejudicar a fermentação. A seguir, realiza-se a fermentação alcoólica, conduzida por leveduras do gênero *Saccharomyces cerevisiae*, que convertem a sacarose em etanol e dióxido de carbono. A fermentação é geralmente realizada em sistema contínuo ou semi-contínuo, em temperaturas controladas entre 30 °C e 35 °C, atingindo teores alcoólicos entre 7% e 12% (v/v) (Takahashi, 1997).

O vinho alcoólico resultante da fermentação é encaminhado para a destilação fracionada, onde ocorre a separação do etanol da água e de subprodutos. O etanol obtido pode ser comercializado nas formas hidratada (~96% v/v) ou anidra (~99,6% v/v), esta última comumente utilizada em misturas com gasolina (Hasner *et al.* 2015).

Os subprodutos oriundos do processamento da cana-de-açúcar vêm ganhando destaque no contexto da valorização integral da biomassa. A vinhaça, efluente líquido rico em potássio e matéria orgânica, tem sido amplamente utilizada na agricultura por meio da fertirrigação, contribuindo para o reaproveitamento de nutrientes no solo e a redução do uso de fertilizantes

minerais. No processo fermentativo, as leveduras empregadas na conversão dos açúcares em etanol são, em grande parte, reaproveitadas após etapas de separação, reativação e controle microbiológico, promovendo eficiência econômica e ambiental (Soares; Patrocínio; Silva, 2017).

Dentre os subprodutos sólidos, o bagaço da cana-de-açúcar se destaca não apenas como fonte de energia térmica e elétrica nas usinas, mas também como matéria-prima estratégica para a produção de etanol de segunda geração (2G). Estudos apontam que esse resíduo lignocelulósico apresenta elevado potencial biotecnológico, sendo convertido em etanol por meio de processos avançados de pré-tratamento e hidrólise enzimática, agregando valor ao que antes era considerado rejeito. A utilização do bagaço para a produção de etanol 2G tem sido reconhecida por seus benefícios econômicos, sociais e ambientais, além de contribuir para a diversificação da matriz energética e a mitigação da necessidade de expansão agrícola (Soares; Patrocínio; Silva, 2017; Santos, 2022; Martins *et al.* 2014).

Esse modelo de produção apresenta um balanço energético positivo, com emissões de carbono relativamente baixas em comparação aos combustíveis fósseis. Por esses motivos, o etanol de cana-de-açúcar destaca-se como um biocombustível estratégico para a transição energética brasileira e global (Saraiva *et al.* 2024).

O bioetanol de primeira geração (1G), produzido a partir da cana-de-açúcar e do milho, apresenta limitações estruturais como o uso intensivo do solo, competição com a produção de alimentos e vulnerabilidade às mudanças climáticas. Esses desafios tornam o modelo 1G socioambientalmente questionável em larga escala (Fernandes, 2021; Araujo, 2022).

Além disso, esse modelo possui baixa eficiência de conversão energética, o que motiva a busca por tecnologias mais avançadas e sustentáveis. Os custos operacionais e os impactos indiretos do modelo 1G acentuam a necessidade de inovação (Vasić *et al.* 2021).

2.1.4. Biocombustíveis de Segunda Geração e o Potencial da Biomassa Lignocelulósica

A biomassa lignocelulósica, formada principalmente por celulose, hemicelulose e lignina, desponta como uma das alternativas mais promissoras e sustentáveis para a produção de etanol de segunda geração (2G), sobretudo pelo aproveitamento de resíduos agroindustriais como o bagaço e a palha da cana-de-açúcar. A celulose e a hemicelulose são polímeros ricos em açúcares fermentescíveis, porém encontram-se rigidamente associados à lignina, um

polímero aromático recalcitrante que confere resistência estrutural à biomassa e dificulta sua conversão (Ogeda, 2011; Cordeiro, 2016; Machado, 2022).

A etapa de pré-tratamento é fundamental para viabilizar o acesso a esses açúcares, sendo aplicados métodos físico-químicos como explosão a vapor, ácido diluído, alcalino e organossolve. Esses processos têm como objetivo romper a matriz lignocelulósica, solubilizar a hemicelulose e reduzir a cristalinidade da celulose, tornando-a mais acessível às enzimas hidrolíticas (Ogeda, 2011; Soares, Patrocínio e Silva, 2017; Machado, 2022). Em geral, a eficiência do pré-tratamento influencia diretamente o rendimento da sacarificação enzimática e o custo final do bioetanol 2G (Araujo, 2022; Fernandes, 2021).

Após o pré-tratamento, ocorre a hidrólise enzimática, em que complexos enzimáticos compostos por celulasas, hemicelulasas e β -glicosidases quebram os polímeros estruturais em monossacarídeos, os quais são posteriormente convertidos em etanol por meio da fermentação. Essa etapa requer microrganismos especializados ou geneticamente modificados, capazes de fermentar hexoses e pentoses, aumentando o aproveitamento total dos açúcares disponíveis (Martins *et al.* 2014; Costa *et al.* 2021).

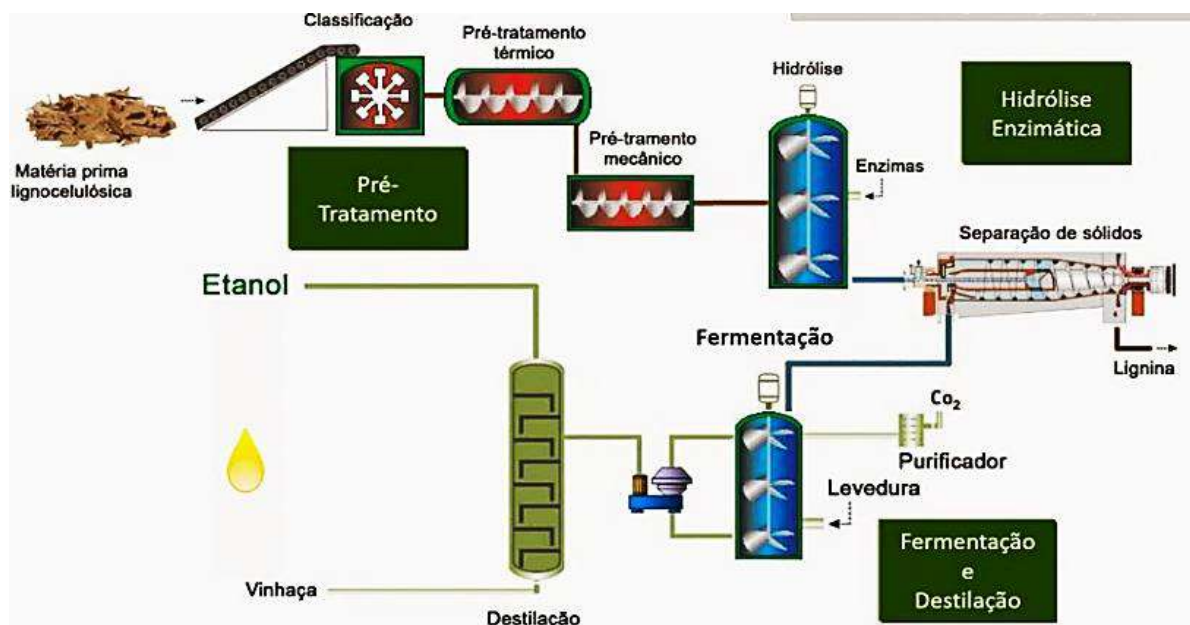
Apesar dos avanços tecnológicos, a produção de etanol 2G ainda enfrenta desafios relacionados ao alto custo dos pré-tratamentos e das enzimas, à recalcitrância da biomassa e à eficiência das linhagens fermentativas. Contudo, o desenvolvimento de novos sistemas enzimáticos derivados de microrganismos adaptados a ambientes ricos em lignocelulose, como fungos e bactérias dos gêneros *Bacillus*, *Lysinibacillus* e *Teredinibacter*, que tem contribuído para melhorar a degradação da biomassa e reduzir custos de processo (Brito *et al.* 2018; Gonçalves *et al.* 2024; Gasser *et al.* 2024).

Assim, o etanol de segunda geração representa uma rota tecnológica estratégica para o setor sucroenergético, pois combina inovação científica, aproveitamento de resíduos agroindustriais e mitigação de impactos ambientais. Ao valorizar subprodutos como o bagaço e a palha da cana-de-açúcar, o Brasil fortalece sua posição na transição para uma economia de baixo carbono, alinhando-se às metas globais de sustentabilidade energética e ambiental (Costa *et al.* 2021; Broda *et al.* 2022; Araujo, 2022).

Na figura 2, apresenta-se o fluxograma do processo de produção de etanol de segunda geração (2G) a partir de biomassa lignocelulósica. Inicialmente, a biomassa é submetida a um pré-tratamento físico e/ou químico para desorganizar sua estrutura e expor os polissacarídeos. Em seguida, enzimas específicas catalisam a hidrólise da celulose e hemicelulose, liberando monossacarídeos fermentescíveis. Os resíduos sólidos ricos em lignina são separados, podendo

ser reaproveitados energeticamente. Os açúcares obtidos são então fermentados por microrganismos, como leveduras, resultando em etanol, que é purificado por destilação para posterior uso como biocombustível (Soares; Patrocínio; Silva, 2017).

Figura 2 - Processo de produção do bioetanol.



Fonte: Barros e Blum (2018). Adaptado.

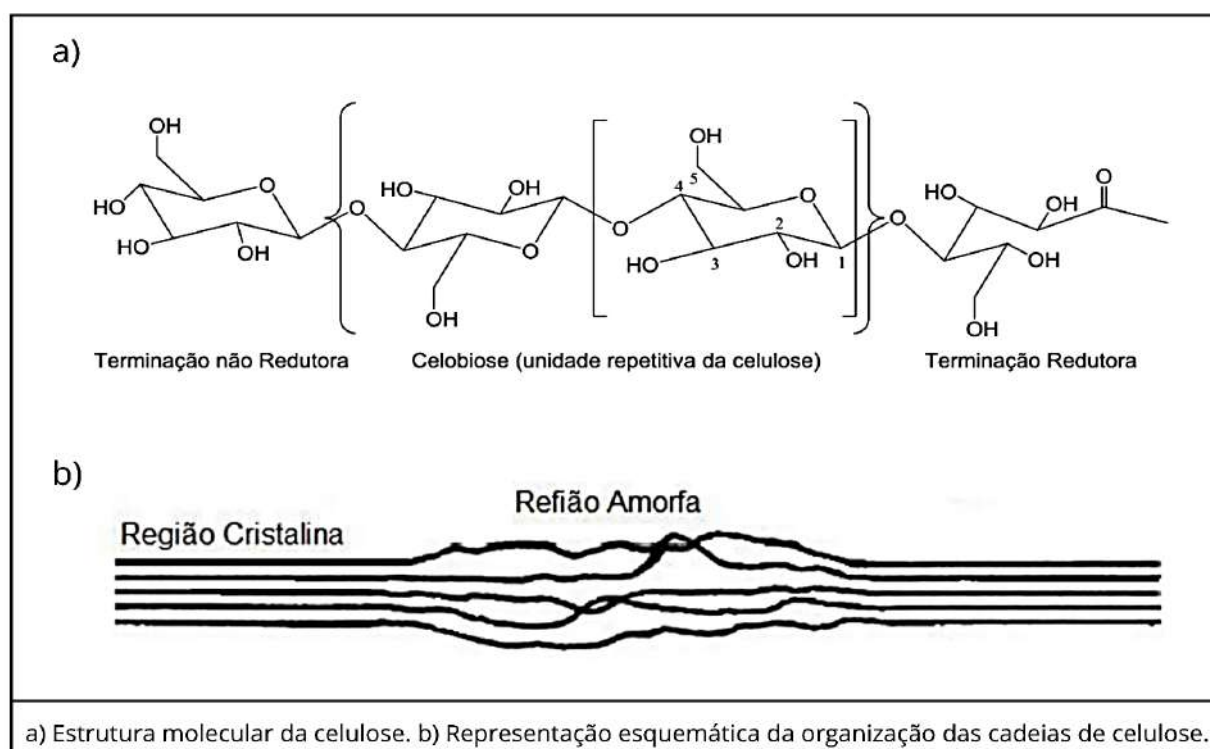
A celulose é um polissacarídeo linear constituído por unidades repetidas de β -D-glicose unidas por ligações glicosídicas β -1,4, formando longas cadeias que se organizam em estruturas fibrosas de alta estabilidade (Palit e Das, 2024; Gonçalves *et al.* 2024). Esse arranjo confere à celulose um carácter semicristalino, composto por regiões cristalinas — altamente ordenadas — intercaladas por zonas amorfas menos organizadas. Nas regiões cristalinas, as cadeias de glicose encontram-se paralelamente alinhadas, interligadas por extensas redes de pontes de hidrogênio intra e intermoleculares, o que resulta em uma estrutura densa e mecanicamente resistente. Já nas regiões amorfas, as cadeias apresentam maior espaçamento e mobilidade, permitindo maior interação com reagentes químicos e enzimas (Ogeda, 2011; Cordeiro, 2016; Gonçalves *et al.* 2024).

A formação de microfibrilas e fibrilas é uma das características mais marcantes da celulose vegetal. Diversas cadeias lineares se associam por meio de interações hidrofóbicas e ligações de hidrogênio, formando microfibrilas de diâmetro nanométrico, que posteriormente se organizam em fibrilas maiores, compondo a estrutura de sustentação da parede celular das plantas. Essa arquitetura hierárquica garante alta resistência à tração e insolubilidade em

solventes comuns, propriedades essenciais para a função estrutural da celulose nos tecidos vegetais. No entanto, essa mesma rigidez estrutural é a principal responsável por sua recalcitrância, dificultando o acesso de agentes químicos e biológicos aos sítios de clivagem glicosídica (Cordeiro, 2016; Gonçalves, Santos, Assunção, 2025).

Devido a essa recalcitrância, a conversão da celulose em açúcares fermentescíveis requer etapas prévias de pré-tratamento e hidrólise enzimática. O pré-tratamento busca romper a organização das microfibrilas, reduzir o grau de cristalinidade e remover a lignina e a hemicelulose associadas, aumentando a superfície acessível para a ação das enzimas hidrolíticas. A eficiência desses processos depende diretamente da estrutura cristalina inicial da celulose e da intensidade das ligações intercadeias, fatores que variam conforme a origem botânica da biomassa. Assim, compreender a organização molecular e supramolecular da celulose é essencial para o desenvolvimento de estratégias biotecnológicas de desconstrução mais eficazes, permitindo a otimização da produção de açúcares fermentescíveis e, consequentemente, de biocombustíveis de segunda geração (Ogeda, 2011; Cordeiro, 2016).

Figura 3 - Representação estrutural da celulose

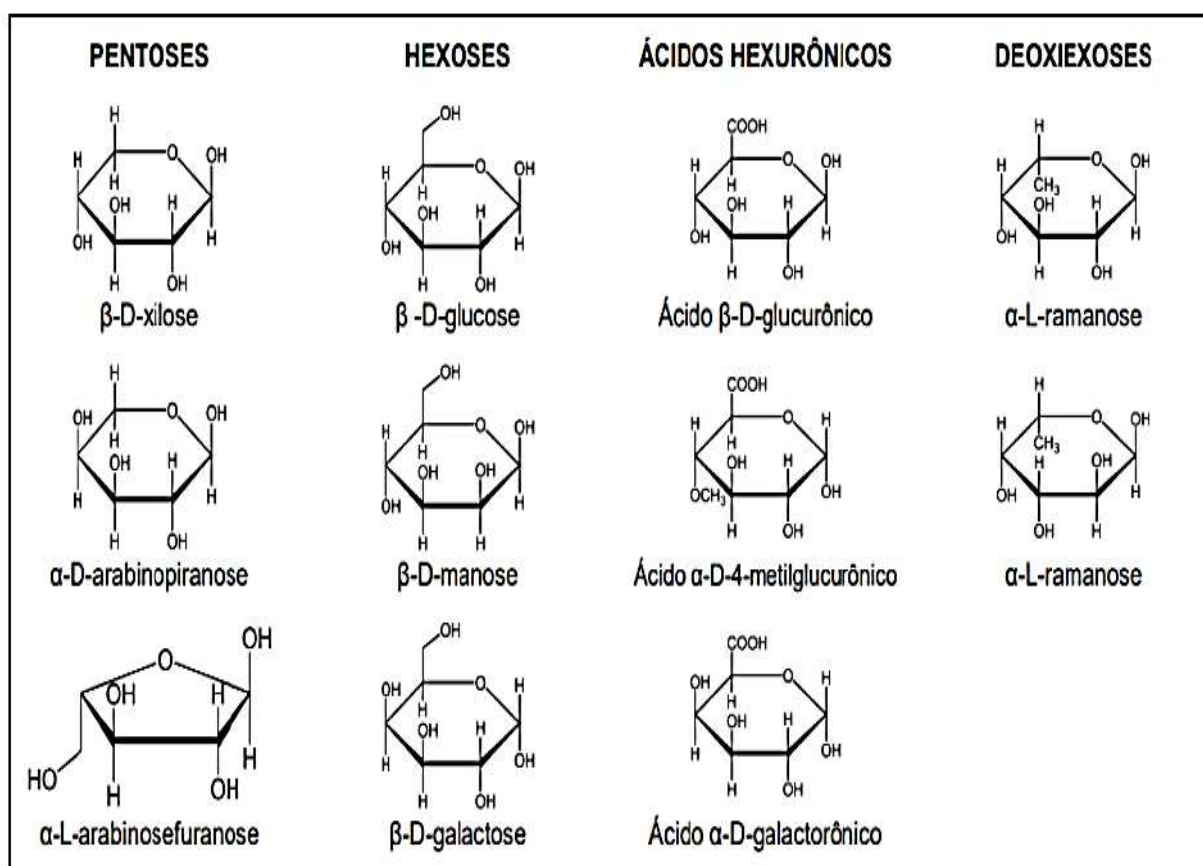


Fonte: Klemm *et al.* (2005); Gurgel, (2010) *Apud.* Cordeiro (2016) Adaptado.

A hemicelulose, por sua vez, é um heteropolímero de menor peso molecular e de cadeia ramificada, composto por vários tipos de monossacarídeos como xilose, arabinose, manose,

galactose e glicose, além de ácidos urônicos demonstrados na figura 4. Quimicamente, difere da celulose por apresentar uma estrutura amorfa, de fácil solubilização e mais susceptível à degradação química e enzimática. Essa macromolécula envolve a superfície das microfibrilas de celulose, contribuindo para a coesão da parede celular e oferecendo suporte estrutural complementar. (Cordeiro, 2016)

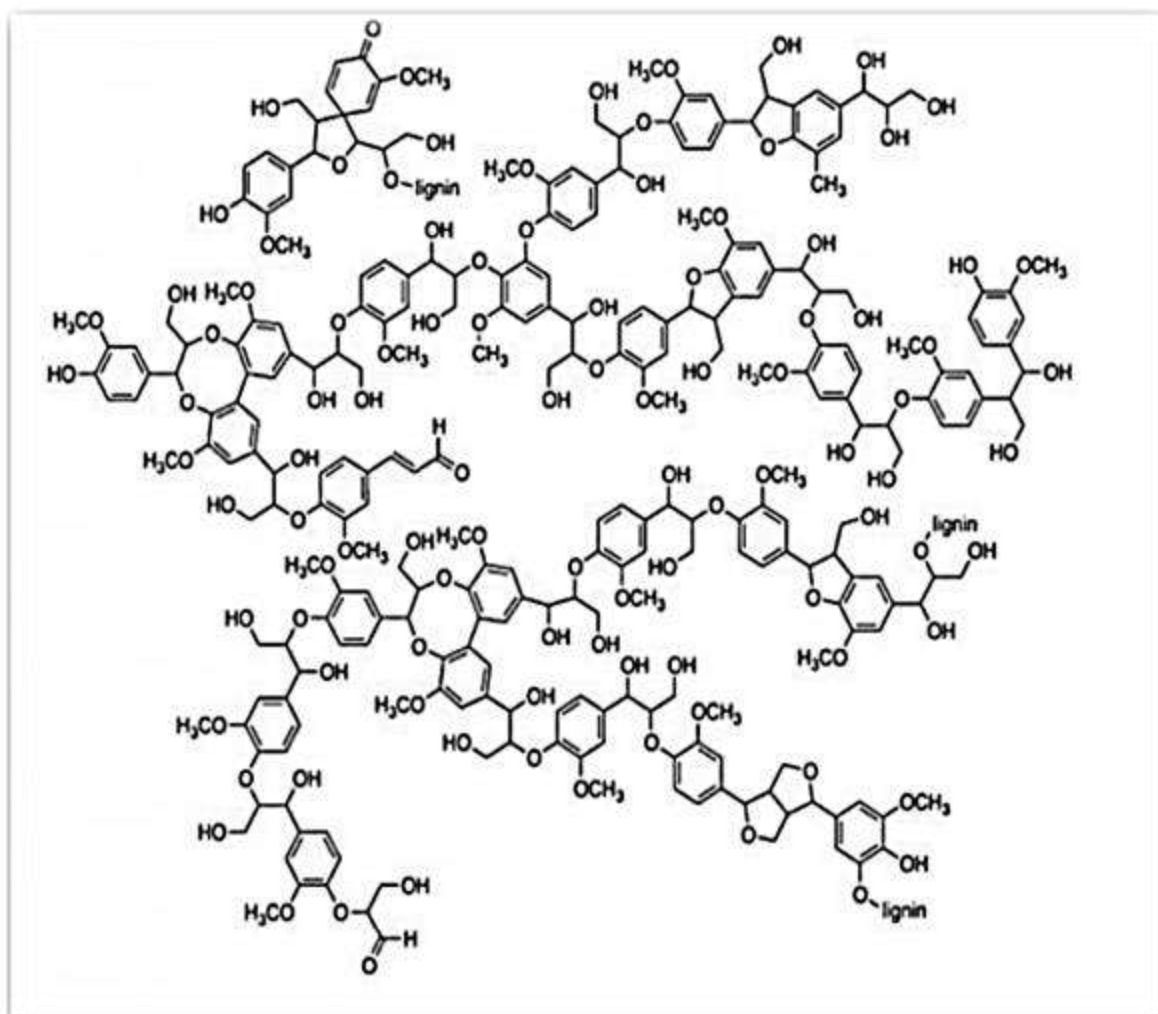
Figura 4 — Componentes da fração hemicelulose



Fonte: Morais (2005) Adaptado.

Já a lignina, figura 5, é uma substância complexa de natureza aromática, composta por unidades fenilpropanóides originadas dos álcoois p-cumarílico, coniferílico e sinapílico. Trata-se de um polímero tridimensional reticulado, altamente resistente à degradação, que atua como uma matriz hidrofóbica envolvendo a celulose e a hemicelulose. Suas ligações éter e carbono-carbono formam uma barreira protetora contra a ação de ácidos e enzimas, dificultando o acesso aos carboidratos estruturais. Embora não seja fermentescível, a lignina possui alto valor energético e é considerada um subproduto valioso da biorrefinaria (Ogeda, 2011;Cordeiro, 2016; Machado, 2022).

Figura 5 — Estrutura molecular da lignina.



Fonte: Menezes *et al.* (2022) Adaptado.

A produção de etanol de segunda geração (2G) inicia-se com o pré-tratamento químico da biomassa lignocelulósica, usualmente palha ou bagaço de cana-de-açúcar. Este processo visa fragmentar a matriz composta por celulose, hemicelulose e lignina, facilitando o acesso enzimático subsequente. Métodos como organossolve, autohidrólise ácida ou alcalina e explosão a vapor são amplamente empregados, promovendo remoção parcial da lignina, solubilização da hemicelulose e redução da cristalinidade da celulose. Esses efeitos aumentam a porosidade da biomassa, incrementando a eficiência na sacarificação enzimática (Santos Vicente *et al.*, 2024; Gonçalves, Santos, Assunção, 2025).

Após o pré-tratamento, realiza-se a hidrólise enzimática por meio de coquetéis multienzimáticos (celulases, hemicelulases e β -glicosidases), que degradam os polissacarídeos em açúcares fermentáveis, tais como glicose e xilose. No contexto brasileiro, avanços

destacam-se pela produção nacional de enzimas. Outros enfoques incluem o uso de consórcios microbianos e de celulosíssimos, complexos enzimáticos que combinam atividades oxidativas e hidrolíticas, otimizando a degradação lignocelulósica (Murakami et al., 2020; Medeiros et al., 2023; Correia et al., 2024).

A fermentação representa a etapa final, na qual açúcares são metabolizados por microrganismos, como *Saccharomyces cerevisiae* (para hexoses) e cepas adaptadas para xilose ou coquetéis de leveduras e bactérias. Plantas-piloto que empregam estratégias integradas, como a sacarificação e fermentação simultânea (SSF) ou o processo consolidado (CBP), incrementaram a extração de açúcares em até 120% sem expandir a área agrícola. Apesar desse progresso, os custos enzimáticos ainda representam um dos principais entraves econômicos para a viabilidade em larga escala (Medeiros et al., 2023; Correia et al., 2024).

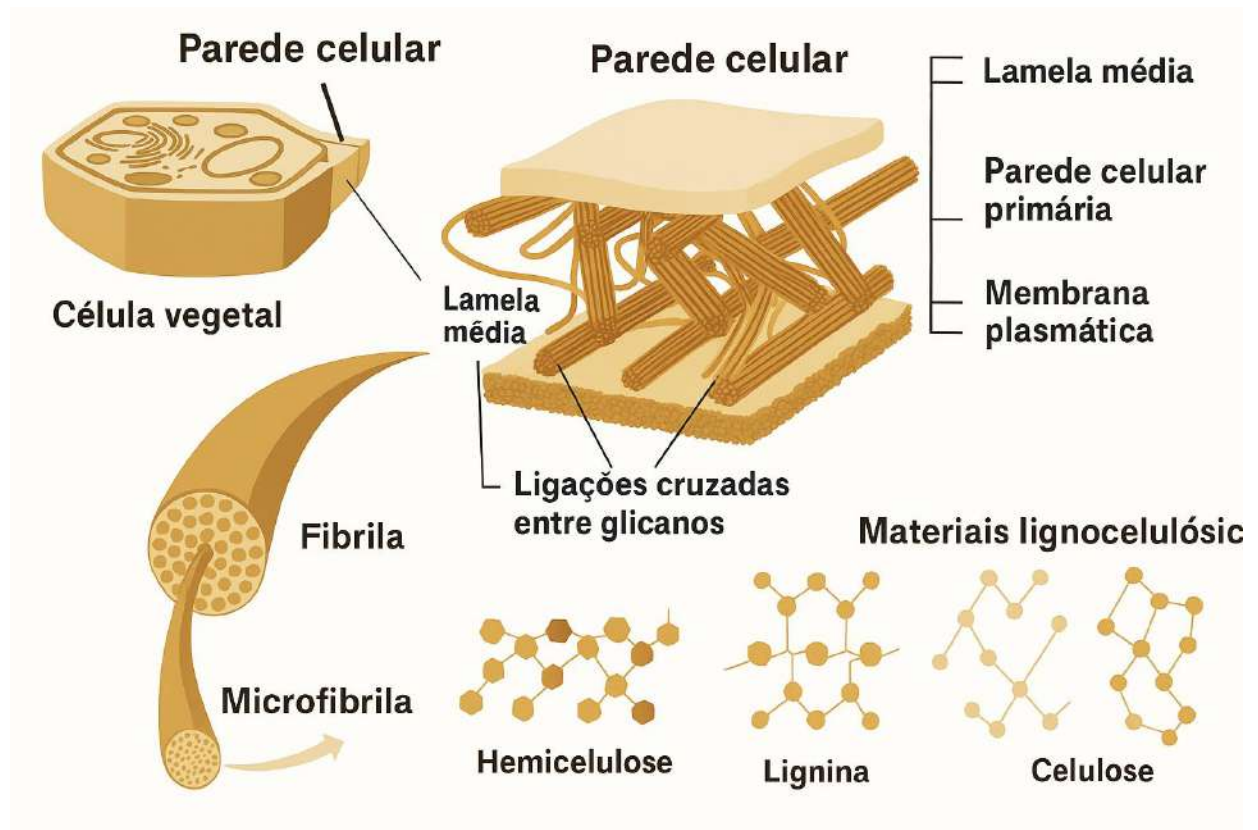
Entre os pré-tratamentos mais promissores está o organossolve, aplicado com êxito em diversas biomassas. O uso de enzimas como endoglucanases e xilanases é essencial para a degradação dos polímeros vegetais, enquanto as β -glicosidases atuam na conversão de oligossacarídeos em monossacarídeos, promovendo maior eficiência do processo. A integração de ferramentas de bioinformática e engenharia genética tem permitido a identificação, otimização e expressão de enzimas com maior atividade e estabilidade, ampliando a eficiência da hidrólise da biomassa. (Manisha; Yadav, 2017; Araujo, 2022; Azevedo et al., 2025).

A parede celular das plantas, especialmente em gramíneas como a cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.), apresenta uma estrutura altamente organizada e complexa, composta por uma rede de fibrilas de celulose dispostas em microfibrilas, as quais estão rigidamente embebidas em uma matriz amorfa formada por hemicelulose e lignina. A celulose, um polissacarídeo de glicose com ligações β -1,4, organiza-se de forma cristalina, formando microfibrilas que conferem alta resistência mecânica à parede celular. A hemicelulose atua como um agente de ligação entre as microfibrilas e a lignina, promovendo coesão estrutural. Já a lignina, um polímero fenólico tridimensional, possui caráter hidrofóbico e função de barreira física e química, dificultando o acesso enzimático às regiões ricas em carboidratos (Cordeiro, 2016; Qiao et al. 2022; Gonçalves et al. 2024).

Essa estrutura compacta e heterogênea, conhecida como recalcitrância lignocelulósica, representa um dos principais entraves à conversão eficiente da biomassa vegetal em açúcares fermentescíveis. Por isso, o conhecimento detalhado da arquitetura da parede celular, como caracterizado na figura 6, é essencial para o desenvolvimento de tecnologias de pré-tratamento mais eficazes, capazes de romper essas barreiras estruturais, remover parcialmente a lignina e

aumentar a acessibilidade da celulose às enzimas hidrolíticas. Nesse contexto, é destacado a importância de estratégias direcionadas, que considerem as particularidades da composição e da organização da biomassa, visando otimizar a liberação de açúcares e, consequentemente, a eficiência do processo de produção de etanol de segunda geração (Cordeiro, 2016; Qiao *et al.* 2022)

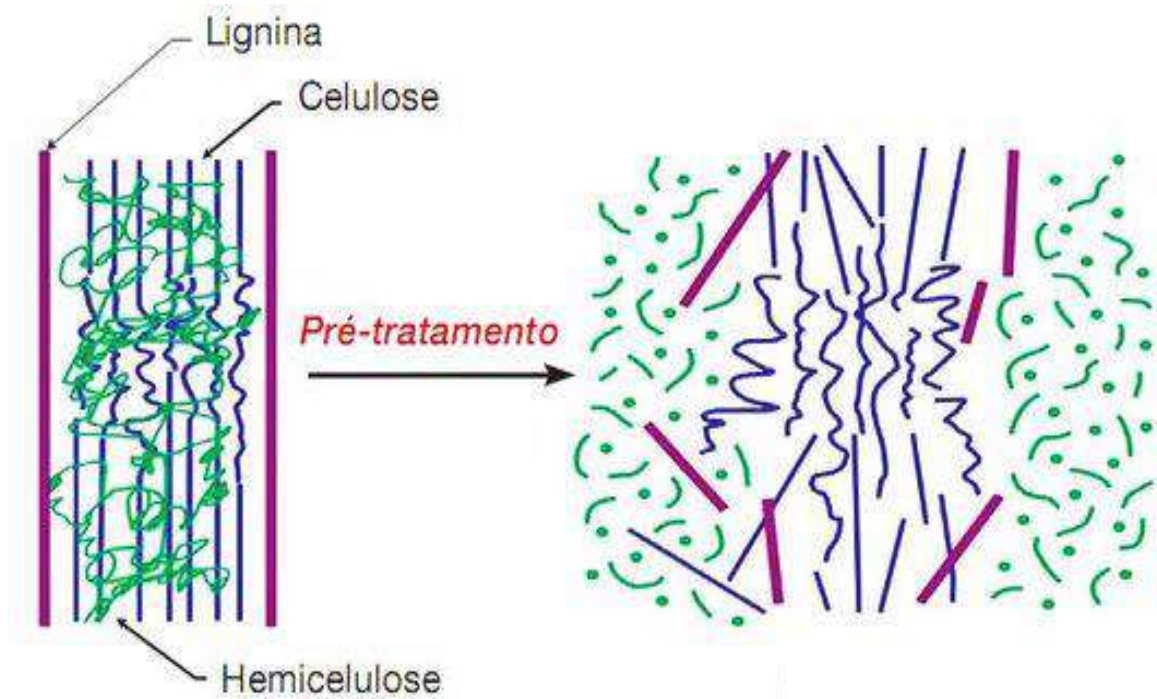
Figura 6 — Esquema representando fibrilas, microfibrilas e celulose na parede celular de vegetais.



Fonte: Alexander Silberman *Institute of Life Sciences* (2015). Adaptado

Durante o pré-tratamento com ácido diluído, ocorrem alterações significativas na microfibrila de celulose, como a remoção parcial da lignina e a solubilização de frações hemicelulósicas, o que expõe a celulose cristalina às enzimas celulolíticas. Essas alterações estruturais são determinantes para aumentar a eficiência da hidrólise enzimática subsequente, otimizando o rendimento da conversão da biomassa em açúcares fermentáveis, demonstrado na figura 7 (Gonçalves, Santos, Assunção, 2025).

Figura 7 — Alterações estruturais na microfibrila de cana-de-açúcar causadas pelo pré-tratamento com ácido diluído, seguidas pela hidrólise enzimática da celulose.



Fonte: US DOE (2007) *apud* Camara e Mauricio (2012). Adaptada.

O uso de enzimas como endoglucanases, xilanases e β -glicosidases é essencial para a degradação eficiente dos polímeros vegetais. A integração de ferramentas de bioinformática e engenharia genética tem potencializado o rendimento dessas enzimas (Manisha; Yadav, 2017; Azevedo *et al.* 2025).

Recentemente, cepas de microrganismos como *Paenibacillus*, *Bacillus* e *Teredinibacter turnerae* têm demonstrado alto potencial para produção de enzimas lignocelulolíticas. Neste sentido destaca-se a capacidade taxonômica e funcional de cepas do gênero *Bacillus* na hidrólise de substratos lignocelulósicos. (Ghio *et al.* 2012; Dobrzyński *et al.* 2023; Gonçalves *et al.* 2024; Gasser *et al.* 2024)

T. turnerae, em especial, possui genes adaptados à degradação de celulose e secreção de vesículas contendo enzimas ativas, tornando-se uma fonte valiosa para bioprocessos. A bioprospecção dessa bactéria revelou também sua capacidade de produzir sideróforos e compostos antimicrobianos (Trindade-Silva *et al.* 2009; Brito *et al.* 2018; Stravoravdis *et al.* 2021; Gonçalves, Santos, Assunção, 2025).

2.2 O Complexo Enzimático Lignocelulolítico

A conversão da biomassa lignocelulósica em açúcares fermentáveis, etapa crítica para a produção de bioetanol de segunda geração (2G), é limitada pela recalcitrância estrutural do substrato (Araujo, 2022; Martins *et al.* 2014). A superação deste desafio industrial repousa na otimização da hidrólise enzimática, um processo catalisado por um coquetel sinérgico de enzimas, primariamente as hidrolases de polissacarídeos (GHs) e as oxidoreutases (AAs), que compõem o sistema de Enzimas Ativas em Carboidratos (CAZymes) (Manisha; Yadav *et al.* 2017; Gonçalves *et al.* 2024; Gonçalves, Santos, Assunção, 2025).

2.2.1. Mecanismo de Ação e Sinergia Bioquímica

A desconstrução da celulose, o polímero mais abundante, é um desafio biológico devido à sua estrutura semicristalina e alta estabilidade molecular (Araujo, 2022; Bazoti, 2017). A eficiência industrial da produção de açúcares a partir da celulose requer a superação dessa recalcitrância estrutural (Martins *et al.* 2014; Santos, 2022).

Em sistemas biológicos de degradação, como em microrganismos de nichos especializados, a hidrólise da celulose não é realizada por uma única enzima, mas sim pela ação coordenada e sinérgica de um complexo enzimático tripartite, que opera em sequência para despolimerizar o substrato de forma completa (Manisha; Yadav, 2017). Essa complexidade reflete a necessidade de mecanismos distintos para atacar as diferentes regiões do polímero.

2.2.2. Endoglucanases, Celobio-Hidrolases e a Quebra Sequencial

As Endoglucanases (*endo*-1,4- β -glucanases, predominantemente da Família GH9) iniciam o processo por meio da clivagem aleatória das ligações glicosídicas internas nas regiões amorfas da celulose (Schröder *et al.*, 2018). Estruturalmente, muitas destas enzimas apresentam um domínio de ligação a carboidratos (CBM) anexado, que facilita a adsorção da enzima à matriz lignocelulósica, otimizando o contato enzima-substrato, um requisito de engenharia crucial para a eficiência de reatores (Konar *et al.*, 2022; Gonçalves *et al.*, 2024; Gonçalves, Santos, Assunção, 2025).

Subsequentemente, as celobio-hidrolases (ou exoglucanases) atuam nas extremidades das cadeias, liberando celobiose. A β -glicosidase (BGL), por sua vez, é a enzima terminal,

responsável por hidrolisar a celobiose em glicose (Costa *et al.* 2021). A sinergia entre estas três classes é indispensável, uma vez que a ausência ou baixa eficiência de uma delas compromete o rendimento global da sacarificação.

2.2.3. O Gargalo da β -Glicosidase e as Inovações em Engenharia de Proteínas

A β -glicosidase (BGL) é o principal ponto de estrangulamento bioquímico do processo. A enzima sofre severa retroinibição pela glicose (seu produto), resultando em uma desaceleração da hidrólise e exigindo altas dosagens enzimáticas para compensar a perda de atividade em escala industrial (da Silva *et al.* 2019; Gonçalves, Santos, Assunção, 2025).

A inovação biotecnológica tem se concentrado na superação desta limitação através da engenharia de proteínas e da bioprospecção direcionada. Pesquisas recentes utilizam abordagens integradas de bioinformática e engenharia genética para desenvolver variantes de BGLs com aumento da tolerância à inibição por glicose e ao etanol (Azevedo *et al.* 2025). Tais aprimoramentos são vitais, especialmente em processos como a Sacarificação e Fermentação Simultâneas (SSF), onde a enzima deve operar em um ambiente contendo elevadas concentrações de inibidores (da Silva *et al.* 2019; Bazoti, 2017).

2.2.4. A Revolução Catalítica das LPMOs

Um avanço significativo no entendimento da deconstrução lignocelulósica é o reconhecimento das Oxigenases de Polissacarídeos de Ligação Lítica (LPMOs), classificadas nas famílias AA (ex: AA9 e AA10). Estas enzimas de natureza oxidativa dependem de oxigênio e de um agente redutor para realizar a clivagem oxidativa das cadeias de celulose, atacando regiões cristalinas que são menos acessíveis às hidrolases tradicionais (Fowler *et al.* 2019; Zhou *et al.* 2019; Gonçalves, Santos, Assunção, 2025).

A inclusão de LPMOs nos coquetéis enzimáticos industriais permite uma ação sinérgica otimizada, pois a quebra oxidativa cria novas extremidades de cadeia, aumentando a área de superfície acessível para as endo e exoglucanases. A bioprospecção em nichos especializados, como o endossimbionte *Teredinibacter turnerae* (isolado de bivalves perfuradores de madeira), foi crucial para a descoberta e caracterização de LPMOs da família AA10 (Fowler *et al.* 2019), demonstrando o potencial de microrganismos de ambientes extremos na busca por catalisadores de alto desempenho (Gonçalves, Santos, Assunção, 2025).

2.2.5 Oportunidades Biotecnológicas e Perspectivas Industriais

A pesquisa por novas enzimas lignocelulolíticas não se restringe apenas à melhoria da atividade catalítica, mas também à estabilidade funcional em condições operacionais severas (Manisha; Yadav, 2017). Microrganismos de ambientes únicos, como comunidades celulolíticas em reatores de biogás e, notavelmente, a microbiota associada a sistemas simbióticos (como os bivalves *Teredinidae*), são alvos estratégicos de bioprospecção (Dimitrova; Deshmukhb; Pandec, 2025).

O isolamento e a caracterização de enzimas desses nichos fornecem linhagens com atributos desejáveis, como a alta capacidade hidrolítica já observada em gêneros como *Bacillus* e *Lysinibacillus* isolados de ambientes de intensa degradação de biomassa (Ríos-Alvarado *et al.* 2024; Ghio *et al.* 2012). A identificação desses microrganismos e a posterior clonagem e expressão heteróloga de seus genes enzimáticos constituem a base para a formulação de coquetéis enzimáticos de nova geração, essenciais para a sustentabilidade e a viabilidade econômica do etanol 2G (Fu *et al.* 2024).

Ademais, a descoberta de mecanismos de secreção não convencionais, como a liberação de enzimas em vesículas de membrana por certos simbiontes (Gasser *et al.* 2024), sinaliza novas rotas para a entrega eficiente de enzimas em meio industrial, sublinhando a importância da pesquisa básica para a inovação aplicada em bioprocessos.

2.3 Bioprospecção e aplicações biotecnológicas

A bioprospecção caracteriza-se pela investigação sistemática da biodiversidade com o propósito de identificar organismos, genes, enzimas e metabólitos que apresentem potencial para aplicações biotecnológicas em diferentes setores, como saúde, energia e agricultura. Por se fundamentar no aproveitamento sustentável da natureza, esta abordagem emergiu como componente central da bioeconomia, visto que intenciona gerar inovação científica, tecnológica e, simultaneamente, valorizar recursos naturais com responsabilidade socioambiental (Gonçalves *et al.* 2024; Gonçalves, Santos, Assunção, 2025).

O oceano, com sua imensa diversidade microbiana, é reconhecido como um cenário promissor para descoberta de catalisadores biológicos com características funcionais inéditas, como resistência à salinidade, alta pressão e temperaturas extremas. Técnicas de cultivo,

complementadas por métodos independentes de cultura como a metagenômica, têm permitido identificar enzimas úteis em processos industriais sob condições sustentáveis (Rodrigues e De Carvalho, 2022, Gonçalves, Santos, Assunção, 2025).

Rodrigues e de Carvalho (2022) destacam avanços em técnicas de alto rendimento para triagem enzimática, incluindo microreatores e plataformas miniaturizadas que aceleram o teste de viabilidade e a adaptação ao ambiente industrial. Estratégias híbridas que combinam cultivo em laboratório, co-culturas e metagenômica operam de maneira complementar, aumentando significativamente o potencial de exploração de microrganismos “não cultiváveis” (menos de 1 % sob métodos tradicionais) (Trindade-Silva *et al.* 2009; Rodrigues e De Carvalho, 2022; Gonçalves *et al.* 2024).

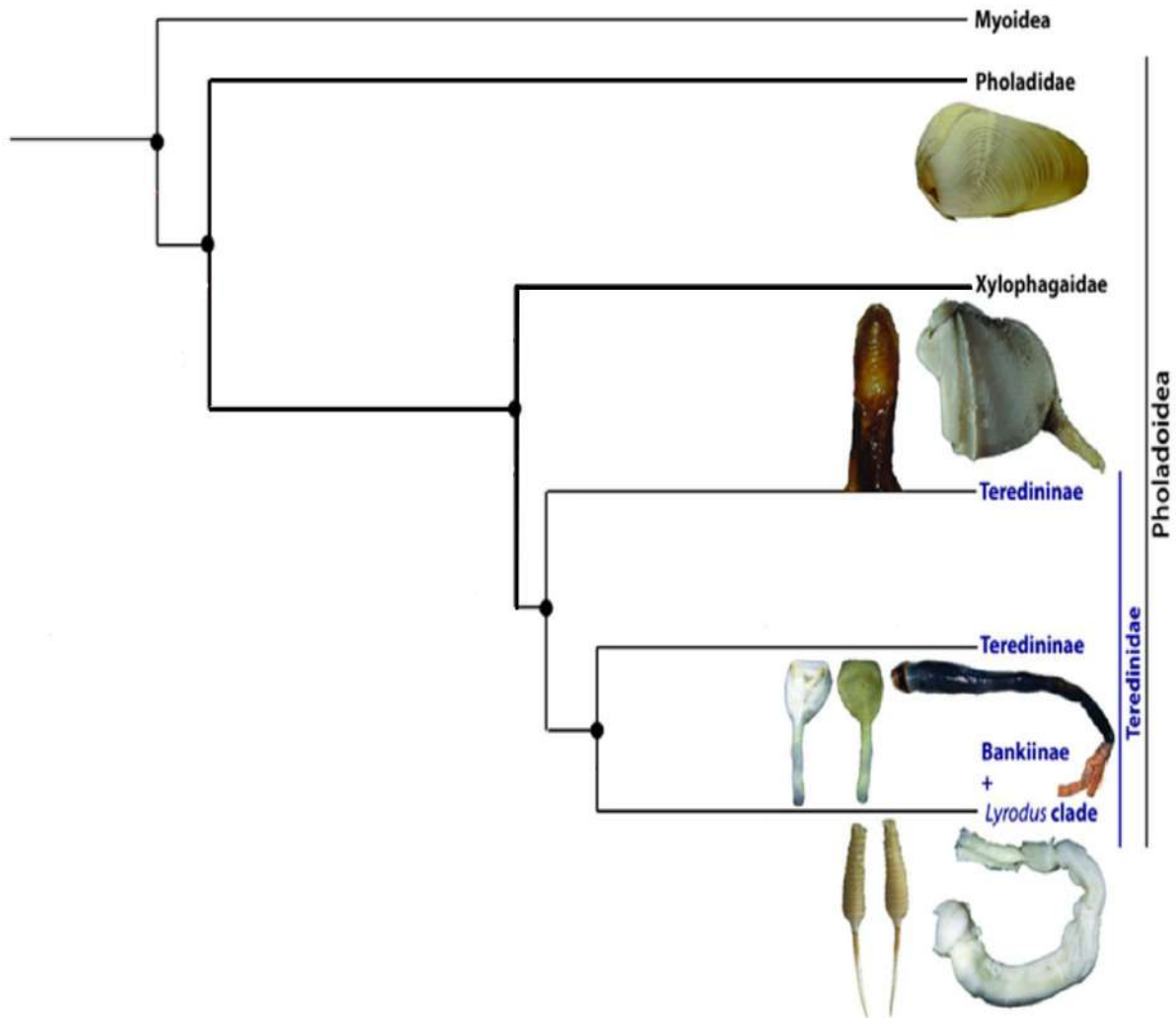
2.4. Moluscos xilotréptico Teredinidae

A família Teredinidae (Rafinesque, 1815) compreende moluscos bivalves marinhos extremamente especializados na perfuração (*xilotrepia*) e no consumo (*xilotrofia*) de madeira submersa. Popularmente conhecidos como “turus”, “gusanos” ou “shipworms”, esses organismos apresentam um notável grau de adaptação morfológica e fisiológica ao seu nicho ecológico singular. Seu corpo é longo, cilíndrico e vermiforme, com conchas pequenas e reduzidas, localizadas na extremidade anterior e modificadas em estruturas escavadoras providas de dentículos. Essas conchas funcionam como verdadeiras brocas biológicas, permitindo a perfuração de substratos lignificados como troncos, raízes e embarcações de madeira. A raspagem contínua do substrato é acompanhada da secreção de substâncias que auxiliam na fixação e na escavação, o que possibilita a construção de túneis onde o animal se abriga e se alimenta (Turner, 1966; De-Carli e Manzi-Decarli, 2012, Gonçalves, Santos, Assunção, 2025).

Além das adaptações morfológicas, os teredinídeos apresentam um sistema fisiológico altamente especializado para a digestão da madeira, um substrato naturalmente pobre em nitrogênio e difícil de degradar. As partículas lignocelulósicas ingeridas passam por um trato digestivo simplificado, mas altamente eficiente, graças à associação simbiótica com microrganismos presentes em glândulas branquiais e no trato digestivo. Essa relação simbiótica é fundamental para a nutrição dos teredinídeos, pois permite a degradação de celulose e hemicelulose, fornecendo açúcares assimiláveis. Assim, a família Teredinidae constitui um exemplo clássico de coevolução entre animais marinhos e micro-organismos, representando um

modelo biológico de grande interesse para estudos em ecologia, biotecnologia e bioprospecção de enzimas lignocelulolíticas (Turner, 1966; De-Carli e Manzi-Decarli, 2012).

Figura 8 — Relações filogenéticas de *Pholadoidea*



Os táxons terminais ilustrados representam: *Martesia striata* (Pholadidae), *Xylopholas* sp. (Xylophagaidae), *Neoteredo reynei* [= *Teredora reynei*] e *Kuphus* sp. (Teredininae), *Bankia gouldi* e *Bankia martensi* (Bankiinae). A árvore evidencia a divisão entre **Teredininae** (paletas não segmentadas) e **Bankiinae** (paletas segmentadas), além da relação de parentesco com Xylophagaidae e Pholadidae dentro da superfamília Pholadoidea.

Fonte: Robin *et al.* (2018). Adaptado.

Na figura 8, estão representadas as relações filogenéticas da superfamília Pholadoidea, baseadas na filogenia molecular proposta por Distel, Beaudoin e Morrill (2002) e posteriormente revisadas e adaptadas por Robin *et al.* (2018). Essa análise combina dados morfológicos e moleculares para esclarecer a posição sistemática das principais linhagens de bivalves perfuradores de substratos duros, incluindo as famílias Pholadidae, Xylophagaidae e

Teredinidae, todas pertencentes à ordem Myoida (Distel, Beaudoin e Morrill, 2002; Robin *et al.* 2018).

A topologia apresentada evidencia que os Pholadidae (representados na figura 8 por *Martesia striata*) ocupam uma posição basal dentro de Pholadoidea, sendo considerados o grupo-irmão mais próximo dos Teredinidae. Essa relação apoia a hipótese clássica de Turner (1966), segundo a qual os teredinídeos derivam de um ancestral foloideano perfurador, possivelmente semelhante ao gênero fóssil *Teredina*, que já apresentava conchas teredoides e tubos calcificados aderidos às valvas (Turner, 1966; Robin *et al.* 2018).

O clado que inclui *Xylophagaidae* (representado por *Xylopholas sp.* na figura) aparece como uma linhagem intermediária, compartilhando com os teredinídeos a capacidade de perfurar madeira, mas diferindo por não formar tubos calcários completos e por possuir uma fisiologia digestiva menos especializada para a digestão de lignocelulose (Li *et al.* 2022).

Dentro de Teredinidae, observa-se a separação em duas subfamílias principais, de acordo com Turner (1966) e confirmadas molecularmente por Distel *et al.* (2002). A primeira subfamília são os Teredininae, caracterizada por paletas não segmentadas e pela presença de espécies como *Neoteredo reynei* (*Teredora reynei*), e *Kuphus sp.* — este último representando um grupo basal e altamente derivado, com hábitos endossimbióticos e tubos calcificados maciços. A outra subfamília trata-se da Bankiinae, que inclui gêneros com paletas segmentadas ou cônicas, como *Bankia gouldi* e *Bankia martensi*, agrupados juntamente com o clado de Lyrodus, conhecido por suas paletas com cápsulas periostracais marrons e estrutura intermediária entre as duas linhagens (Turner, 1966; Distel *et al.* 2002; Robin *et al.* 2018).

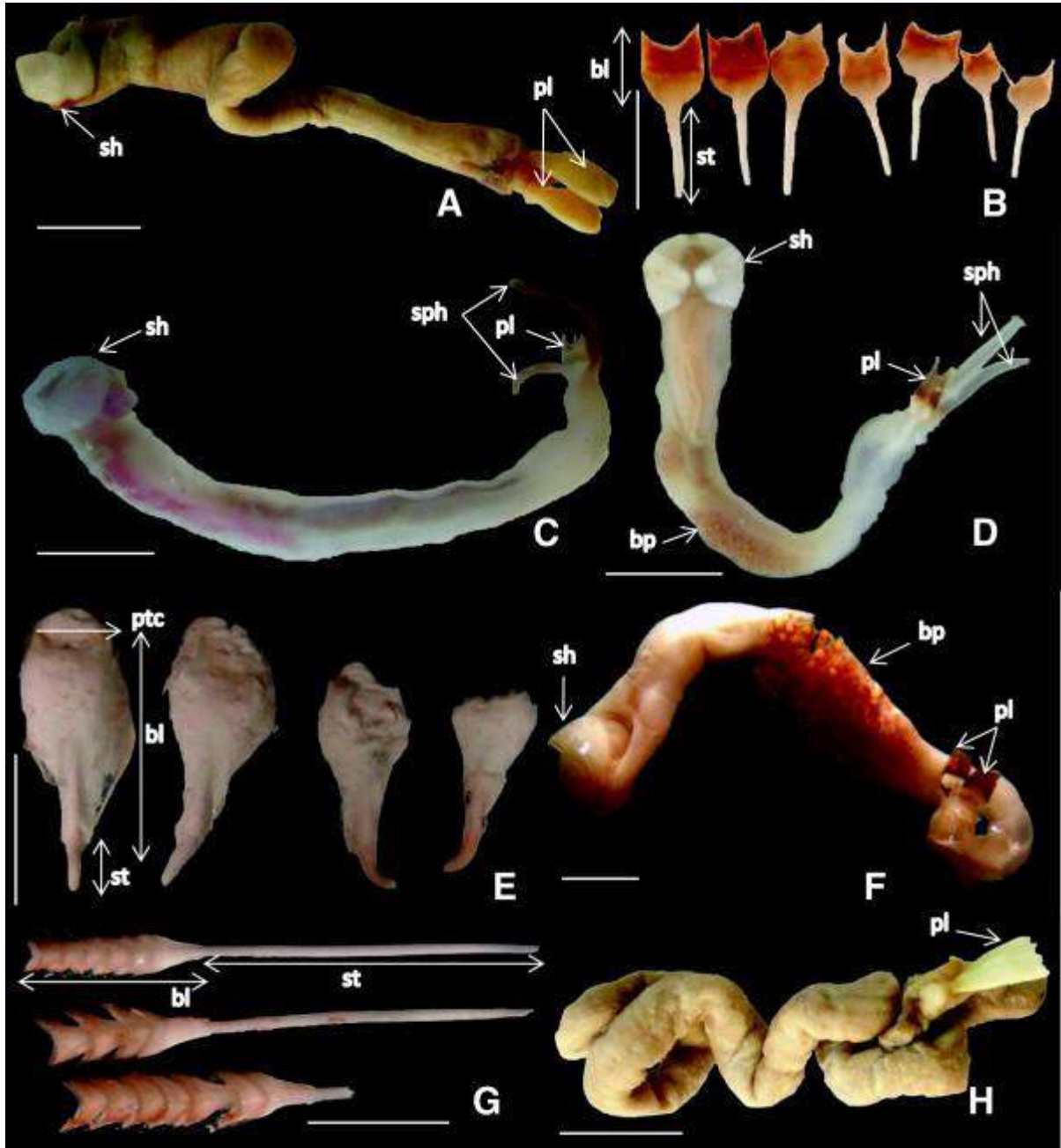
Essa distinção filogenética reflete diferenças profundas na morfologia das paletas, estratégias reprodutivas e tipos de larvas, sendo os Teredininae caracterizados por espécies que retêm os jovens até o estágio veliger tardio, enquanto os Bankiinae apresentam larvas planctônicas e fertilização externa (Turner, 1966; Distel *et al.* 2017).

A análise filogenômica recente de Li *et al.* (2022), baseada em genomas mitocondriais completos, reforça essas relações e demonstra modos contrastantes de evolução genômica entre Teredinidae e Xylophagaidae, evidenciando que ambas as famílias formam linhagens irmãs, mas com trajetórias evolutivas distintas na adaptação à xilofagia marinha (Turner, 1966; Li *et al.* 2022).

Em síntese, a figura 9 sintetiza a evolução convergente dos bivalves perfuradores dentro de Pholadoidea, ilustrando a passagem de formas foloideanas ancestrais para as linhagens mais derivadas de Teredinidae, altamente especializadas na escavação e colonização de substratos

lenhosos submersos — um exemplo clássico de coevolução funcional e morfológica entre moluscos e madeira marinha (Turner, 1966; Distel *et al.* 2002; Li *et al.* 2022).

Figura 9 — Exemplos de *teredinídeos*

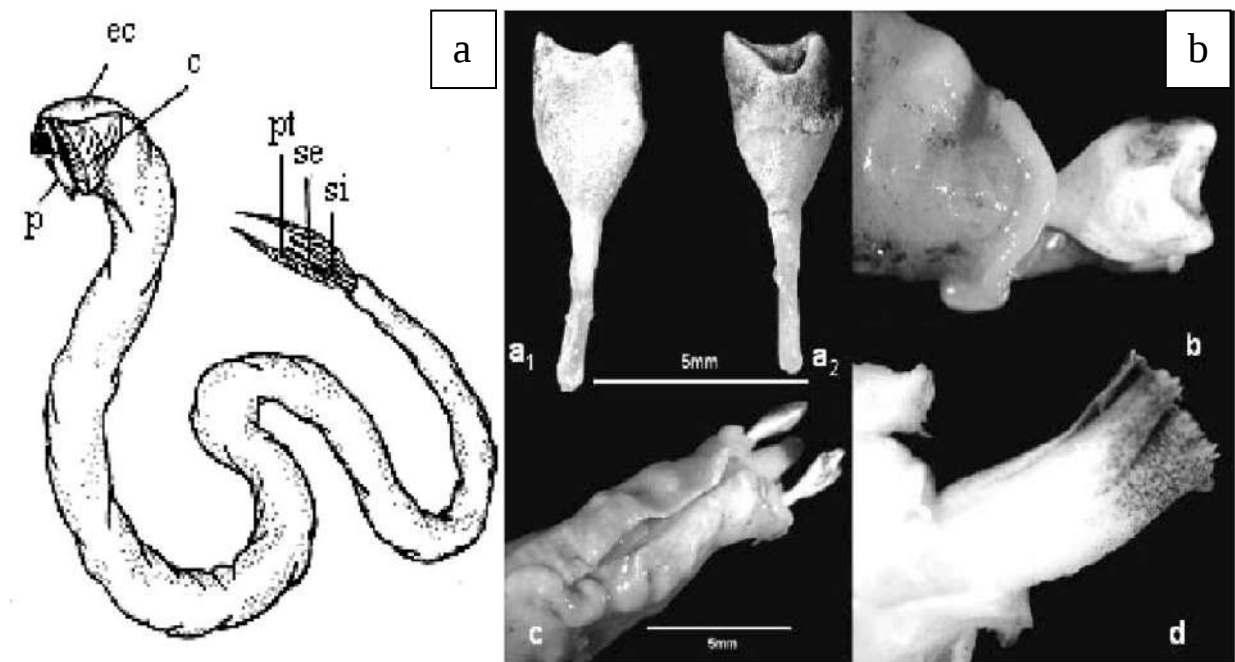


Espécimes e paletes de teredinídeos coletados nos levantamentos de campo. Espécimes e paletes de teredinídeos coletados nos levantamentos de campo: **A)** espécime preservado de *Nototerodo norvegica*; **B)** paletes de *Teredo bartschi*; **C)** espécime fresco de *Teredo navalis*; **D)** espécime fresco de *Lyrodus pedicellatus* (forma atlântica); **E)** paletes de *Psiloteredo megotara*; **F)** espécime preservado de *L. pedicellatus* (forma mediterrânea); **G)** paletes de *Bankia carinata*; **H)** espécime preservado de *Teredothyra dominicensis*. Barra de escala: espécimes completos = 1 cm; paletes = 5 mm; sh-concha; pl-palheta; sp-sifão; bl-lâmina; st-haste; pt-perióstraco; bp-bolsa de cria.

Fonte: Borges, L.M., Merckelbach, L.M., Sampaio, Í. *et al.* (2014). Adaptado.

A escavação da madeira ocorre por meio das valvas providas de dentículos que raspam e trituram o substrato, formando galerias que são revestidas internamente por um tubo calcário secretado pelo manto. Na extremidade posterior encontram-se os sífões, que projetam-se para fora da madeira e estão associados a paletas calcárias que atuam como válvulas protetoras, impedindo a entrada de predadores e a desidratação durante marés baixas (Müller, 2004; Brito *et al.* 2018).

Figura 10 — Morfologia externa de um Teredinídeo



(a) Desenho esquemático de um *Teredinídeo*, indicando as principais estruturas externas (modificado de Clench e Turner, 1946) - ec: escudo cefálico; p: pé; c: concha; pt: placas; se: sífão exalante; si: sífões inalantes. (b) Estruturas externas de *Neoterredo reynei* - a1: face externa da placa; a2: face interna da placa; b: placas calciformes; c: dobras camudas chamadas lapelas; d: detalhes dos sífões.

Fonte: Vidal e Rocha-Barreira, (2009). Adaptado.

A anatomia interna dos *Teredinídeos* revela adaptações notáveis, como o coração posicionado anteriormente, estômago globular, canal anal extenso, brânquias especializadas e intestino longo. Nas brânquias estão localizadas bactérias simbióticas intracelulares (principalmente gamaproteobactérias do gênero *Teredinibacter*), que são responsáveis pela produção das principais enzimas hidrolíticas utilizadas na digestão da madeira, incluindo endoglucanases, xilanases e acetilxilanesterases (Brito *et al.* 2018; Li *et al.* 2022).

Além das bactérias, estudos recentes identificaram fungos filamentosos simbióticos no trato digestório de *Neoterredo reynei*, com alto potencial para decompor celulose e lignina, reforçando a complexidade funcional do sistema digestivo desses bivalves (Ferreira *et al.* 2019).

Esses microrganismos atuam de forma sinérgica, liberando açúcares simples que são absorvidos pelo hospedeiro, o que confere aos *Teredinídeos* uma notável eficiência na degradação de madeira em ambientes marinhos.

Figura 11 — Coleta de *Neoteredo reynei* no Estuário Coroa Grande, Rio de Janeiro, Brasil



a) *Neoteredo reynei* em sua galeria. b) Retirada do *Neoteredo reynei*.

Fonte: www.labbmar.ufc.br/coletas [s.d.]. Adaptado.

Ecologicamente, os *Teredinídeos* desempenham papel crucial na ciclagem de carbono em ecossistemas costeiros, especialmente em manguezais, onde contribuem para a decomposição da madeira e a liberação de nutrientes. Em contrapartida, causam significativos prejuízos econômicos por deteriorarem estruturas submersas de madeira, como embarcações, píeres e estacas (Romano *et al.* 2020; Carmo-Santos *et al.* 2023).

No Brasil, a diversidade de Teredinidae é ampla e abrange praticamente todo o litoral, desde ambientes tropicais até regiões de águas frias. São conhecidas ao menos 26 espécies, distribuídas entre os gêneros *Bankia*, *Lyrodus*, *Neoteredo*, *Nausitora* e *Teredo*. No estuário do rio Acaraú, no Ceará, foram registradas oito espécies, incluindo novos registros estaduais de *Teredo cf. bartschi*, *Bankia gouldi* e *Lyrodus cf. bipartitus*, esta última considerada possivelmente exótica (De-Carli e Manzi-Decarli, 2012; Carmo-Santos *et al.* 2023).

A distribuição das espécies está relacionada principalmente à heterogeneidade do habitat, à salinidade e ao grau de inundação vertical nos manguezais. Espécies como *Nausitora fusticula* e *Neoteredo reynei* demonstram grande plasticidade ecológica, o que as torna

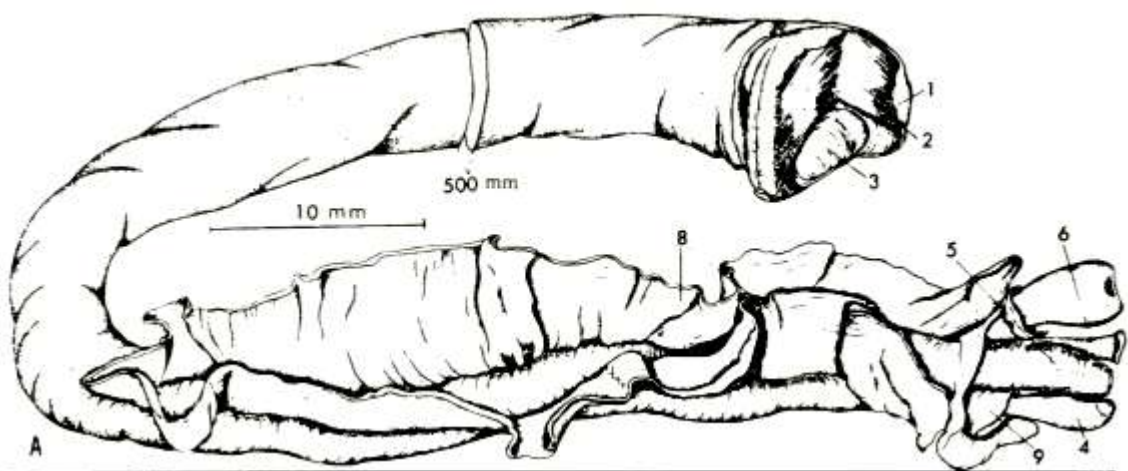
resilientes em ambientes estuarinos com amplas variações físico-químicas (Carmo-Santos *et al.* 2023).

2.4.1 Classificação e morfologia da família Teredinidae

A família Teredinidae (Mollusca: Bivalvia), popularmente conhecida como “turus-de-pau” ou “shipworms”, compreende um grupo de moluscos bivalves altamente especializados na perfuração e colonização de madeira submersa (Turner, 1966). Filogeneticamente, os teredinídeos pertencem à subordem Pholadina, da ordem Myoida, e mantêm relação próxima com a família Pholadidae, compartilhando ancestrais comuns, embora apresentem profundas modificações estruturais associadas ao hábito xilófago (Turner, 1966; Romano *et al.* 2020).

As conchas dos Teredinidae são reduzidas e localizadas na porção anterior do corpo, que assume forma alongada e vermiforme. Essas conchas, dotadas de sulcos radiais e denticulos microscópicos, atuam como instrumentos perfuradores, raspando a madeira por meio de movimentos alternados dos músculos adutores, possibilitando a progressiva escavação do substrato (Turner, 1966; Nair e Saraswathy, 1971). O pé é pequeno, discóide e truncado, funcionando como estrutura de fixação durante a perfuração, enquanto o corpo permanece protegido pelo tubo escavado e revestido por uma camada calcificada secretada pelo manto (Turner, 1966; Nair e Saraswathy, 1971; Romano *et al.* 2020).

Figura 12 — Morfologia externa de *Neoteredo reynei*.

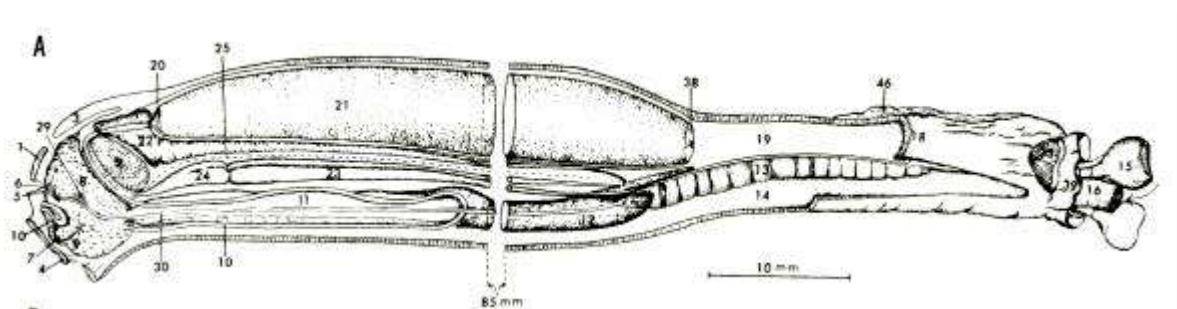


Fonte: Turner (1966). Adaptado.

A figura 12 apresenta a morfologia externa de *Neoteredo reynei*, evidenciando o corpo alongado e a posição anterior das conchas, seguidas pelos sífios e paletas na região terminal. Observa-se que o comprimento corporal pode ultrapassar 50 cm, o que reflete a extensão das galerias escavadas na madeira (Turner, 1966).

Na extremidade posterior, os teredinídeos apresentam um par de sífios retráteis, cuja abertura é protegida por estruturas calcificadas denominadas paletas. Essas paletas funcionam como válvulas de fechamento do túnel, evitando a entrada de partículas e predadores quando o animal se retrai. A morfologia das paletas, incluindo o formato da lâmina, a ornamentação periostracal e a estrutura do pedúnculo, constitui um dos principais caracteres utilizados na classificação genérica e específica da família (Turner, 1966; Distel; Beaudoin; Morrill, 2002).

Figura 13 — Anatomia geral dos Teredinidae, evidenciando a disposição dos órgãos internos e das estruturas musculares principais.



A. *Neoteredo reynei* (Bartsch), de Paramaribo, Surinam.

Chaves para os Números

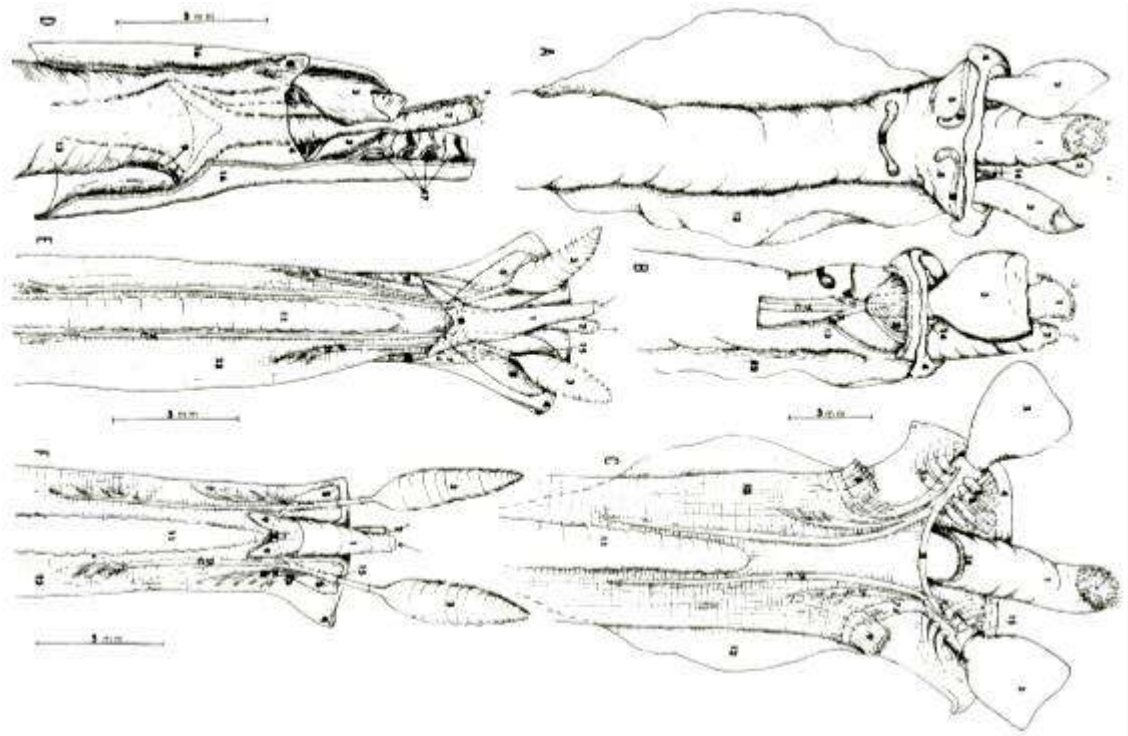
1. Músculo adutor anterior	9. Glândulas digestivas	17. Sífio exalante (ou exorrente) — situado atrás da paleta em A	25. Cavidade pericárdica (indicada pela linha tracejada)
2. Músculo adutor posterior	10. Intestino	18. Manto	29. Brânquia anterior
3. Capuz cefálico	11. Ceco	19. Cavidade epibrânquial	30. Sulco alimentar
4. Pé	12. Gônadas (localizadas posteriormente ao ceco e à glândula digestiva)	20. Ânus (com aberturas ampliadas)	33. Músculo protator das paletas
5. Boca	13. Brânquia	21. Canal anal (preenchido com fezes)	38. Músculo de fechamento posterior do canal anal
6. Palpos labiais	14. Cavidade infrabrânquial	22. Rim (envolvendo o intestino em A)	39. Colar do manto envolvendo os sífios e as paletas
7. Saco do estilo cristalino	15. Paleta	23. Aurícula (ou átrio do coração)	44. Papilas na superfície dorsal
8. Estômago (amplamente coberto pela glândula digestiva)	16. Sífio inalante (ou incorrente)	24. Ventriculo	46. Lóbulos dorsais

Fonte: Turner (1966). Adaptado

A anatomia interna e as principais estruturas viscerais são demonstradas na figura 13, que ilustra o arranjo dos músculos adutores, da cavidade do manto e da disposição dos órgãos digestivos. Nessa representação, é possível observar o alongamento do tubo visceral e o posicionamento posterior das glândulas branquiais, onde se localizam as bactérias

endossimbióticas responsáveis pela digestão de compostos lignocelulósicos (Trindade-Silva *et al.* 2009; Romano *et al.* 2020).

Figura 14 — Região posterior de *Bankia* e *Neoteredo*, destacando a morfologia das paletas e dos sífons retráteis.



Desenhos semidiagramáticos da musculatura dos sífons e das paletas de três gêneros, mostrando a semelhança básica dentro da família

A – C. *Neoteredo reynei* (Bartsch), coletado na foz do Rio Nickerie, ao norte de Nieuw Nickerie, Distrito de Nickerie, Suriname.

A. Vista ventral da extremidade posterior do animal antes da dissecação, mostrando as terminações dos músculos que se fixam ao tubo. Os lóbulos dorsais foram abertos lateralmente.

B. Vista lateral esquerda da extremidade posterior, com uma seção do manto removida para revelar os músculos das paletas.

C. Vista ventral da extremidade posterior, aberta por uma incisão longitudinal mediana e estendida. Os músculos retratores dos sífons (9) inserem-se medialmente e precisaram ser cortados para permitir a abertura do animal e a disposição dos três músculos retratores das paletas. O colar das paletas também foi removido para mostrar os músculos retratores acessórios das paletas (5a), que não são encontrados em outros gêneros examinados.

D. Espécime mal preservado de *Nototerredo edax* (Hedley), proveniente de Mombaça, Quênia, mostrando a extremidade do tubo calcário com as câmaras concêntricas (concamerations) que são adicionadas conforme necessário, permitindo o ajuste das paletas. O músculo retrator do sífão (9), que se desprende da lateral do tubo, é semelhante ao observado em *Bankia gouldi* (Bartsch).

E. *Bankia gouldi* (Bartsch), coletado em Gulfport, Mississippi. Vista ventral da extremidade posterior do animal (dissecado como em C), mostrando as inserções laterais dos músculos retratores dos sífons, a semelhança dos músculos retratores das paletas com os de *N. reynei* e *B. setacea*, e os grandes músculos protatores das paletas.

F. *Bankia setacea* (Tiyon), coletado em Street Car Reef, Redondo, Palos Verdes, Condado de Los Angeles, Califórnia. Dissecação conforme C e E, mostrando os músculos retratores dos sífons pareados, porém com inserção mais central, e os músculos protatores das paletas de menor porte.

Fonte: Turner (1966). Adaptado

A figura 14 mostra detalhes da região posterior e das paletas, estruturas que apresentam grande variação morfológica entre os gêneros (*Teredo*, *Bankia*, *Lyrodus*, *Neoteredo*). A forma

e ornamentação das paletas são características taxonômicas essenciais para a identificação das espécies (Turner, 1966).

Outros caracteres morfológicos relevantes incluem o formato e ornamentação das conchas, a disposição dos côndilos dorsais e ventrais, a estrutura da glândula branquial e o tipo de revestimento calcário do tubo escavado (Trindade-Silva *et al.* 2009; Romano *et al.* 2020).

O gênero *Neoteredo*, em especial *Neoteredo reynei*, apresenta paletas em forma de lança e glândulas branquiais volumosas, frequentemente associadas a simbiontes celulolíticos — característica de importância biotecnológica por fornecer enzimas envolvidas na degradação de lignocelulose (Trindade-Silva *et al.* 2009; Gonçalves *et al.* 2024; Gonçalves, Santos, Assunção, 2025).

A morfologia funcional dos Teredinidae — adaptada à perfuração, fixação e digestão parcial da madeira — representa um notável exemplo de convergência evolutiva entre bivalves marinhos e organismos xilófagos terrestres, justificando a denominação de “térmitas do mar” (Turner, 1966; Romano *et al.* 2020).

2.5 Microbiota associada aos Teredinidae e os Mecanismos enzimáticos para degradação lignocelulósica

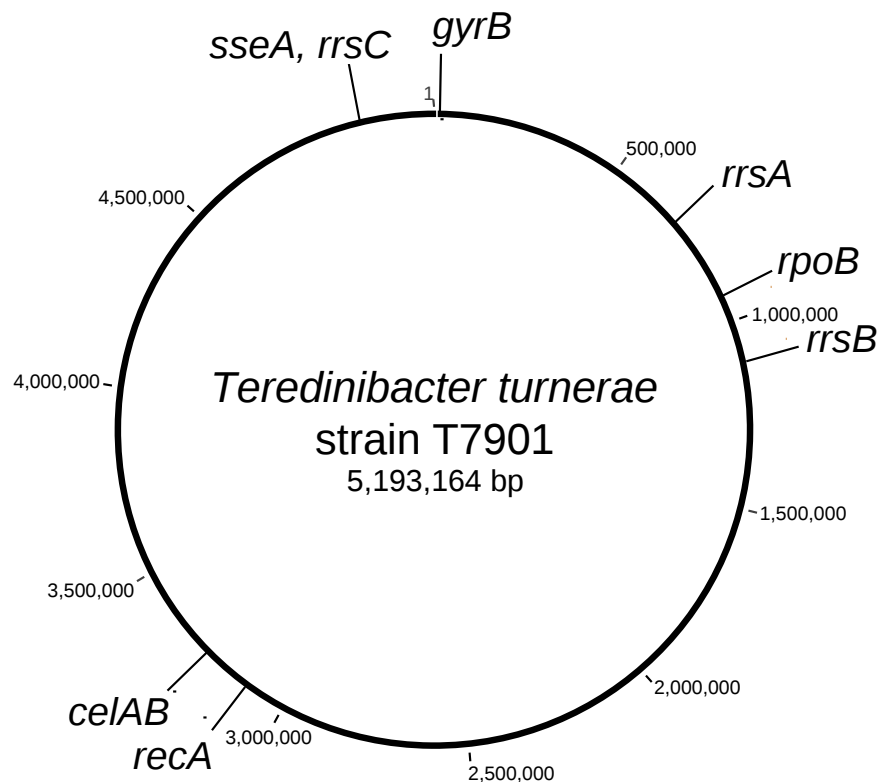
Nos ambientes bentônicos dos ecossistemas marinhos tropicais, particularmente em substratos lenhosos submersos, manifesta-se uma simbiose altamente especializada envolvendo o bivalve *Neoteredo reynei* (família Teredinidae) e uma microbiota adaptada a condições oligotróficas. Esta associação simbiótica permite a degradação eficiente de madeira, promovida principalmente pela ação de microrganismos presentes no ceco gástrico e nas glândulas digestivas do animal hospedeiro (Stravoravdis *et al.* 2021; Gonçalves, Santos, Assunção, 2025).

Entre os simbiontes microbianos, destaca-se *Teredinibacter turnerae*, uma gamaproteobactéria que sintetiza um conjunto diversificado de enzimas celulolíticas, incluindo endoglucanases, celobiohidrolases e β -glicosidases. Essas enzimas são responsáveis pela despolimerização da celulose e hemicelulose presentes no substrato lenhoso, conferindo à bactéria papel central na nutrição do hospedeiro. Adicionalmente, *T. turnerae* exibe propriedades fixadoras de nitrogênio e capacidade de biossíntese de metabólitos secundários com potenciais efeitos antimicrobianos (Ghio *et al.* 2012; Stravoravdis *et al.* 2021; Pringgenies *et al.* 2024).

A microbiota associada a *N. reynei*, localizada especialmente nas brânquias, glândulas digestivas e trato intestinal, é composta por bactérias endossimbióticas com notável plasticidade metabólica. Entre essas, *Teredinibacter turnerae* se destaca por ser cultivável em laboratório, possuir genoma sequenciado e apresentar características de interesse industrial. Estudos genômicos revelam que a cepa T7901, por exemplo, codifica uma variedade de enzimas celulolíticas, incluindo celobiohidrolases (EC 3.2.1.91), β -1,4-endoglucanases (EC 3.2.1.4) e β -glicosidases (EC 3.2.1.21), responsáveis pela quebra sinérgica da celulose cristalina (Yang *et al.* 2009; Trindade-Silva *et al.* 2009; Ekborg *et al.* 2007; Gonçalves *et al.* 2024).

A presença de domínios de ligação a carboidratos (CBMs) e de monooxigenases de polissacarídeos líticos (LPMOs) da família AA10 potencializa a atuação dessas enzimas, rompendo as barreiras estruturais da celulose com maior eficiência. Estudos como o de Fowler *et al.* (2019) demonstram que essas enzimas apresentam atividade sinérgica com os CBMs e atuam em diferentes posições da cadeia celulósica, promovendo maior rendimento na liberação de açúcares (Fowler *et al.* 2019; Zhou *et al.* 2019, Gonçalves, Santos, Assunção, 2025).

Figura 15 — Múltiplos genes codificando glicosil hidrolases



Fonte: Altamia *et al.* (2014). Adaptado

Além das enzimas hidrolíticas clássicas, *T. turnerae* apresenta mecanismos redox por meio de LPMOs, que realizam clivagens oxidativas nas ligações β -1,4-glicosídicas, ampliando a acessibilidade do substrato às demais enzimas. Esses sistemas enzimáticos apresentam modularidade e adaptabilidade, funcionando em sinergia com proteínas como sideróforos, como a turnerbactina, cuja biossíntese é regulada por genes da família TonB. Tais sistemas indicam não apenas uma função catabólica, mas também ecológica, possibilitando a sobrevivência simbiótica em ambientes carentes de ferro e nitrogênio (Naka; Haygood, 2023; Gonçalves *et al.* 2024).

O papel simbiótico dessa microbiota transcende a degradação da madeira como nicho alimentar. A associação com *N. reynei* configura um microambiente especializado onde bactérias endossimbióticas evoluíram mecanismos eficientes para a mineralização de biomassa lenhosa em condições marinhas oligotróficas. A exploração metagenômica dessas comunidades têm revelado agrupamentos gênicos conservados e diversidade funcional compatível com aplicações industriais, desde a produção de etanol 2G até biopolímeros e agentes bioativos com funções antibacterianas e antifúngicas (Brito, 2018; Wang *et al.* 2013; Trindade-Silva *et al.* 2009).

Portanto, a microbiota associada a *N. reynei*, com destaque para o clado *Teredinibacter*, constitui um reservatório genético e funcional com elevado potencial biotecnológico. A integração de abordagens ômicas — genômica, transcriptômica e proteômica — aliada à engenharia de processos pode catalisar a aplicação prática desses sistemas simbióticos em cadeias produtivas sustentáveis, especialmente na biorrefinaria de resíduos lignocelulósicos. A continuidade de pesquisas voltadas à expressão e caracterização funcional dessas enzimas é estratégica para consolidar esse modelo natural como plataforma tecnológica no enfrentamento dos desafios energéticos contemporâneos (Himmel *et al.* 2007; Rubin, 2008; Gonçalves *et al.* 2024).

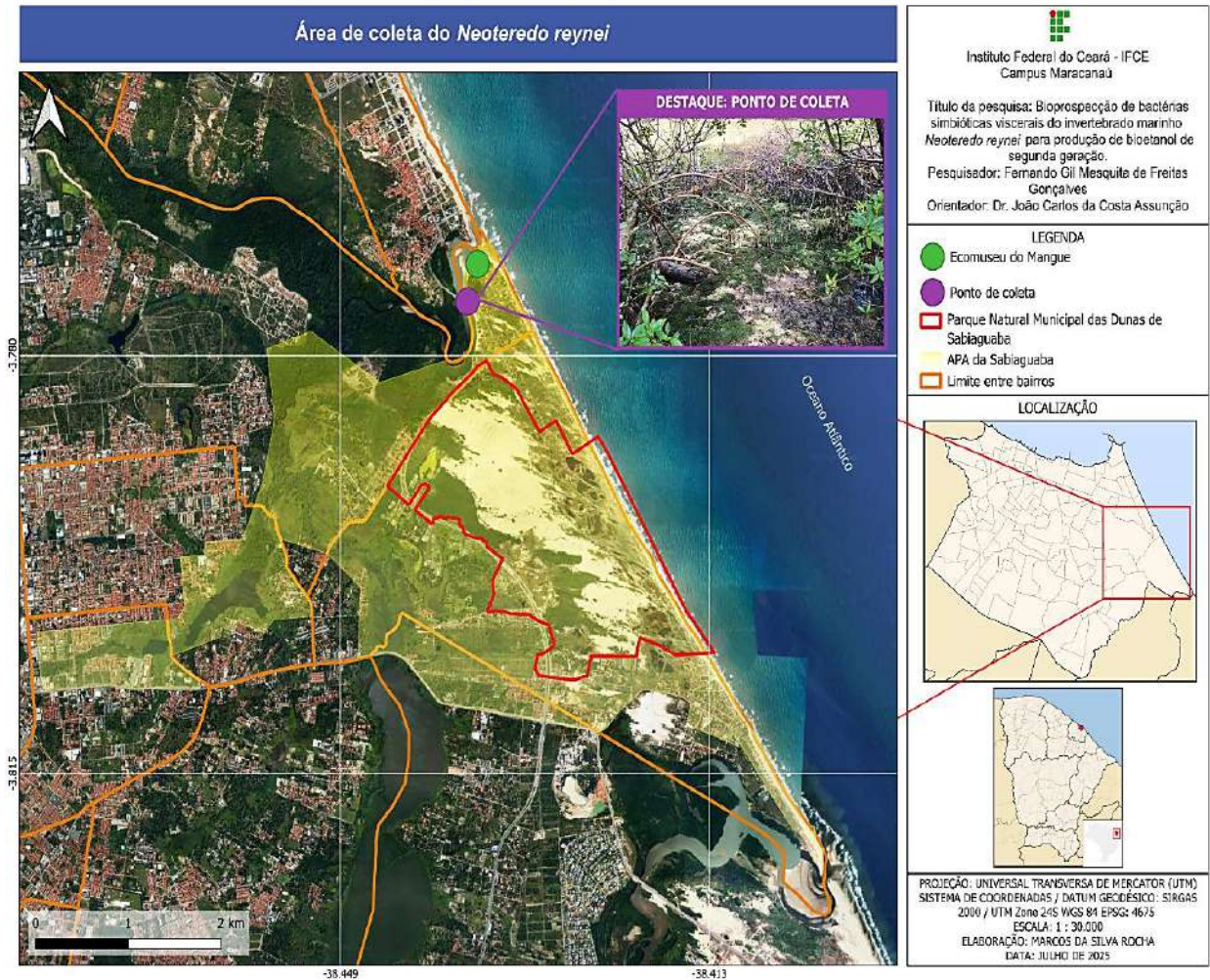
Recentemente, cepas de microrganismos como *Paenibacillus sp*, *Bacillus ssp* e *Teredinibacter turnerae* têm demonstrado alto potencial para produção de enzimas lignocelulolíticas. Destaca-se também a capacidade taxonômica e funcional de cepas do gênero *Bacillus* na hidrólise de substratos lignocelulósicos (Ghio *et al.* 2012; Dobrzyński *et al.* 2023; Gonçalves *et al.* 2024; Gasser *et al.* 2024).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Local de Coleta

As coletas do molusco perfurador de madeira *Neoteredo reynei* foram realizadas na Região Metropolitana de Fortaleza, Ceará, área caracterizada pela ampla ocorrência de ecossistemas de manguezal e por registros prévios da presença desse bivalve. A partir de uma prospecção inicial em diferentes áreas estuarinas, definiu-se como área de estudo o manguezal da Sabaguaba, localizado no setor leste do município de Fortaleza – CE. O ponto de coleta encontra-se nas coordenadas geográficas 03°46'30.9"S e 38°26'02.7"W, conforme detalhado no mapa de localização (Figura 16), que evidencia a inserção da área em um contexto costeiro-estuarino diretamente influenciado pelo Oceano Atlântico e por sistemas lagunares adjacentes.

Figura 16 — Mapa de localização



Fonte: Autor (2025).

O mapa apresentado destaca de forma integrada a localização regional e local da área de estudo, permitindo visualizar a relação espacial entre o ponto de coleta, o Ecomuseu Natural do Mangue, os limites da Área de Proteção Ambiental (APA) da Sabiaguaba e o Parque Natural Municipal das Dunas de Sabiaguaba. Observa-se que o ponto amostral está inserido em uma zona de manguezal bem preservada, com elevada disponibilidade de madeira submersa, condição ecológica favorável à ocorrência de *N. reynei*. A representação cartográfica também evidencia a proximidade com áreas urbanizadas, reforçando a importância do local como espaço de interface entre conservação ambiental e pressão antrópica, aspecto relevante para a interpretação ecológica e biotecnológica dos dados obtidos.

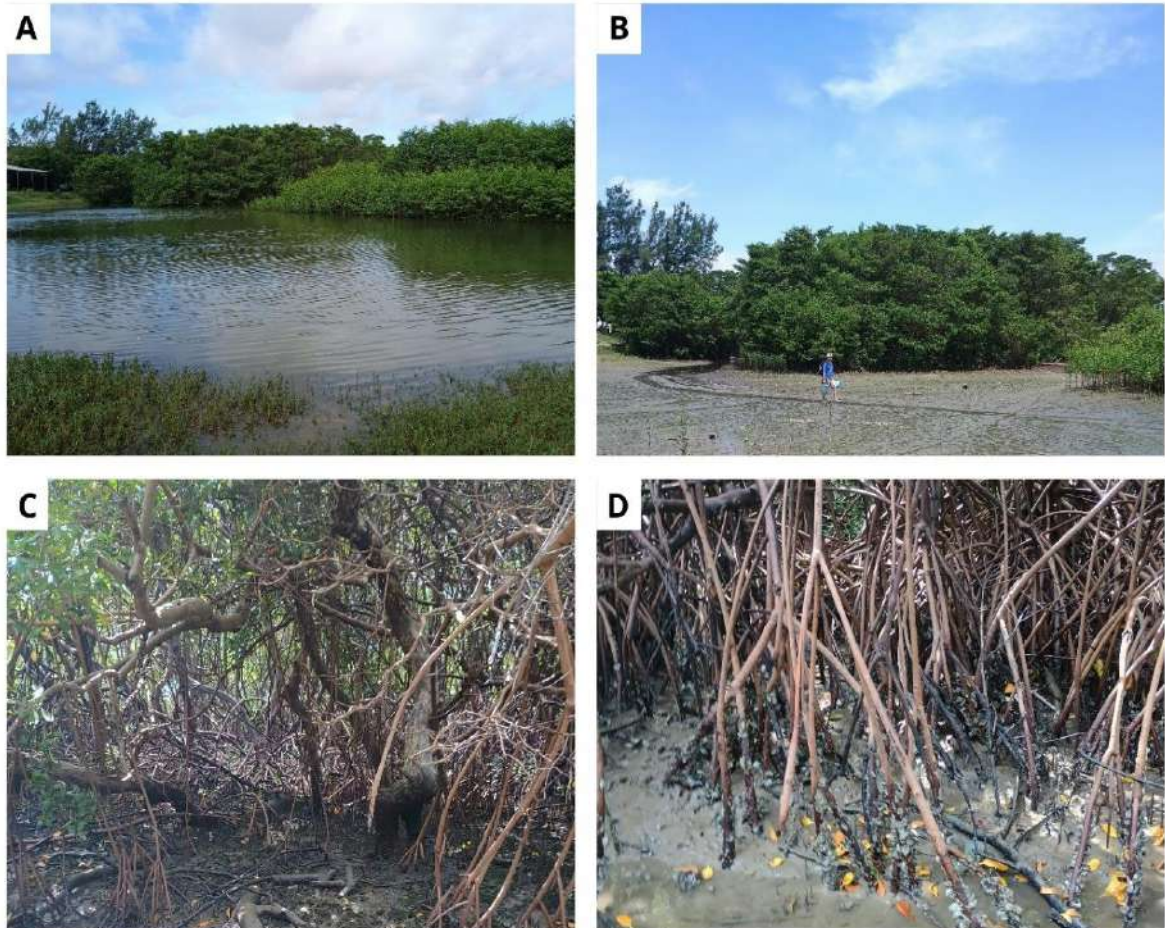
A escolha deste área de coleta também se fundamenta em critérios legais, ambientais e socioculturais. O Ecomuseu Natural do Mangue, situado nas proximidades do ponto amostral, é reconhecido como patrimônio histórico, cultural e natural do município de Fortaleza, conforme a Lei Municipal nº 11.053/2020, e está inserido em uma vila tradicional de pescadores. Além disso, toda a área integra a APA da Sabiaguaba, criada pelo Decreto nº 11.987, de 20 de fevereiro de 2006, em consonância com a Lei nº 9.985/2000, que institui o Sistema Nacional de Unidades de Conservação (SNUC). Nesse contexto, a realização das coletas nessa localidade contribui não apenas para a prospecção científica de microrganismos simbióticos associados a *N. reynei*, mas também para a valorização do patrimônio genético e para o fortalecimento de estratégias de conservação da biodiversidade dos manguezais cearenses.

Foram coletados dois espécimes do molusco bivalve xilófago da família Teredinidae, sob autorização do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO) nº 90788-1 (Anexo A), tendo como guia o Sr. Rusty Sá Barreto, idealizador e Diretor do Ecomuseu Natural do Mangue. O número reduzido de indivíduos está em consonância com abordagens exploratórias adotadas por Trindade-Silva *et al.* (2009), Brito *et al.* (2018) e Brito (2018) em estudos prévios sobre a microbiota simbiótica de *Neoteredo reynei*, nos quais a caracterização microbiana se baseia na análise qualitativa e funcional de amostras individuais ou combinadas, especialmente em contextos de coleta em áreas ambientalmente protegidas.

A escolha desse sítio baseou-se na sua representatividade ecológica, caracterizada por um manguezal intertidal, com ocorrência natural de madeira submersa (*lenhagem coarse woody debris* – CWD), reconhecida como substrato preferencial de Teredinidae (Borges *et al.* 2014; Carmo-Santos *et al.* 2023). Esses organismos apresentam papel essencial na degradação de biomassa lignocelulósica no ambiente marinho, processo que guarda paralelos bioquímicos

com os sistemas enzimáticos aplicados à produção de etanol de segunda geração (Himmel *et al.* 2007; Broda *et al.* 2022; Gasser *et al.* 2024).

Figura 17 — Manguezal da Sabiaguaba (Fortaleza–CE)



Fonte: Autor (2025).

As imagens retratam o ecossistema de manguezal localizado na região da Sabiaguaba, Fortaleza–CE, área de coleta dos espécimes de bivalves da família *Teredinidae*. Nas fotografias observam-se as formações típicas desse ambiente estuarino, com vegetação dominada por espécies caracterizadas pela presença de raízes aéreas e pneumatóforos adaptados à inundação periódica.

As partes superiores (A e B) evidenciam a zona de transição entre o manguezal e o estuário, com substrato lodoso e influência de maré, enquanto as partes inferiores (C e D) mostram detalhes das raízes e do solo saturado, onde se encontram troncos submersos que servem de abrigo para os *Teredinidae*.

A seleção dos troncos para coleta baseou-se na inspeção visual de madeira submersa em estado avançado de decomposição, priorizando-se aqueles que apresentavam indícios de colonização por bivalves perfuradores, identificados pela presença de galerias calcarizadas. A confirmação da colonização foi realizada por meio de corte longitudinal dos troncos com auxílio de facão, procedimento que permitiu a visualização direta das galerias internas (Figura 18). As amostras de madeira colonizada foram então coletadas manualmente durante a maré baixa, acondicionadas em sacos plásticos limpos e transportadas sob refrigeração para o laboratório, onde os espécimes foram cuidadosamente extraídos, identificados morfológicamente segundo Turner (1966) e De-Carli e Manzi-Decarli (2012), e preservados em etanol 95–100 % para análises genéticas.

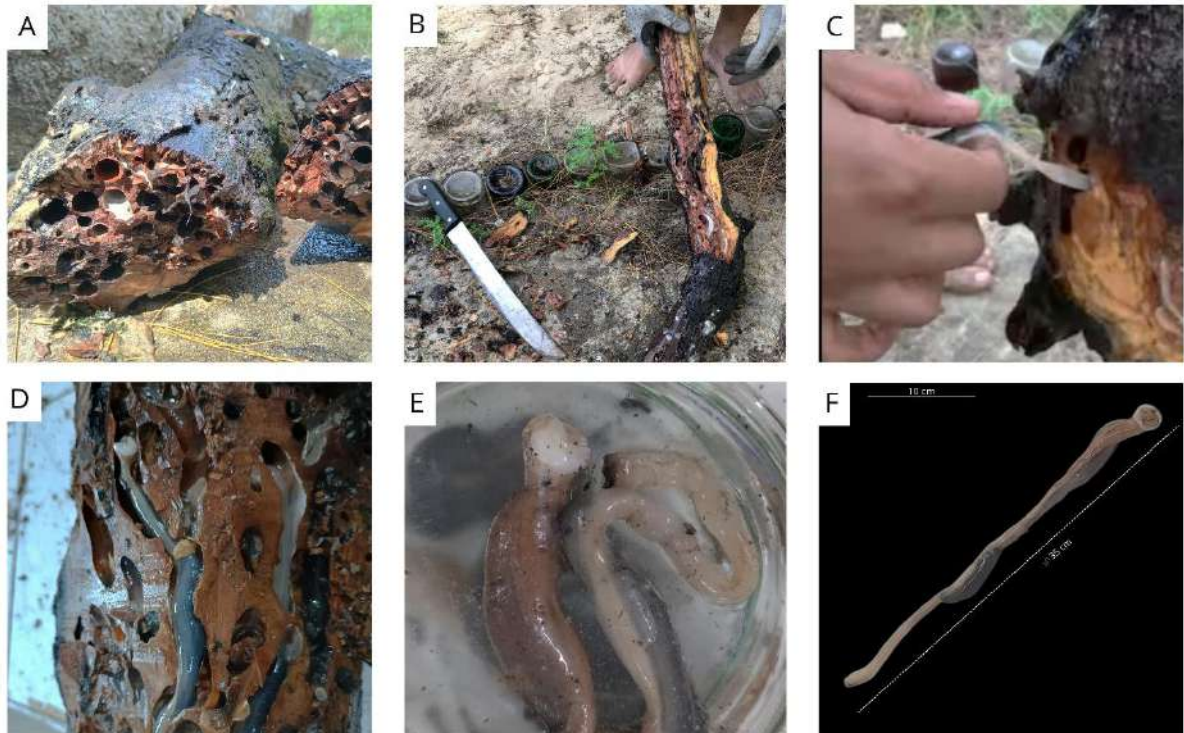
Os indivíduos foram retirados cuidadosamente de sua galeria utilizando ferramentas como facão, e pança histológica a fim de não causar danos ao corpo do molusco. Todos os processamentos e análises das amostras foram realizados no Laboratório de Química Analítica e Microbiologia Ambiental - LAQAMB no Bloco didático I do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará - IFCE campus de Maracanaú.

3.2 Procedimentos de Coleta, Identificação e Caracterização de *Neoteredo reynei* (Bartsch, 1920)

O estudo foi realizado em um manguezal caracterizado pela presença de madeiras caídas, as quais apresentavam extensas galerias típicas de moluscos da família Teredinidae. A etapa inicial consistiu nos primeiros cortes das madeiras depositadas no manguezal, onde indicavam-se a ocorrência de moluscos, embora em estágio inicial de crescimento e de tamanho reduzido. Posteriormente, foram coletados dois troncos com aproximadamente 30 cm de diâmetro, que apresentavam galerias de cerca de 1,5 cm de diâmetro, internamente recobertas por depósitos calcários produzidos pelo molusco simbiote.

Os troncos foram levados a um ambiente laboratorial a fim e mantidos em água do mar, coletado no local da extração, sob em temperatura ambiente (entre 28°C a 30 °C). A partir dos troncos que apresentavam galerias, foi possível extrair exemplares do molusco da família Teredinidae.

Figura 18 – Seleção dos troncos em campo e extração do molusco



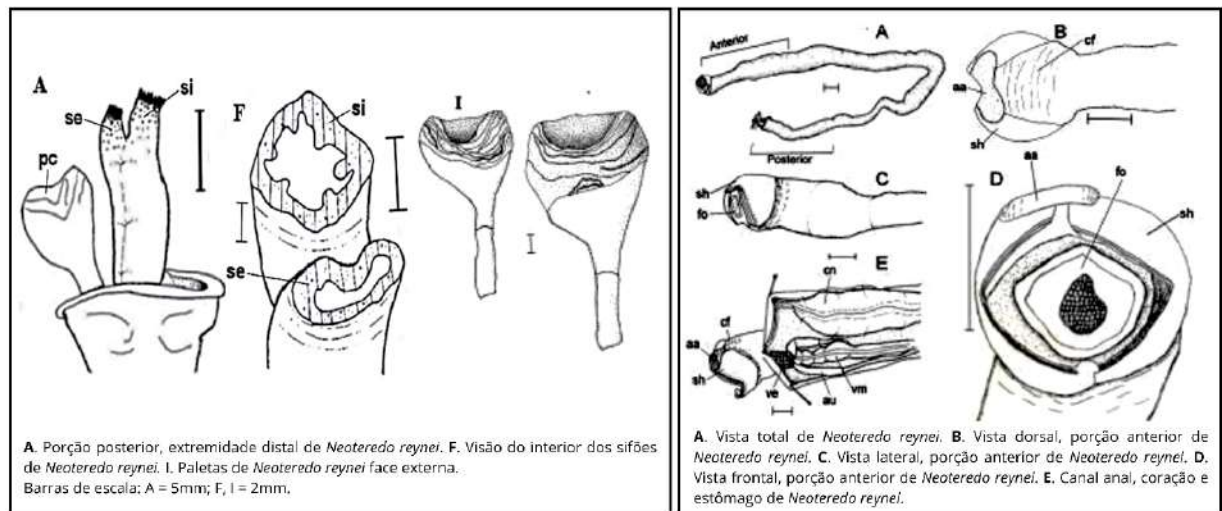
Fonte: Autor (2025).

A figura 18 apresenta o processo de coleta e extração de espécimes de *Neoterredo reynei* (Bartsch, 1920) em ambiente de manguezal. As seções transversais dos troncos (A, B) evidenciam galerias cilíndricas paralelas, com diâmetros entre 1 e 2 cm, típicas do padrão de escavação da espécie. O corte longitudinal (B) revela galerias alongadas revestidas por depósitos calcários brancos, resultantes da secreção do manto do molusco, responsável pela formação do tubo calcário protetor (Turner, 1966; Müller; Lana, 1986).

A imagem (C) mostra o procedimento de abertura manual dos troncos realizado em campo, com o objetivo de acessar as galerias internas e verificar a presença de exemplares vivos. Nas imagens inferiores (D–F), observam-se moluscos ainda inseridos em seus tubos calcificados e o processo de extração e acondicionamento em laboratório, evidenciando a metodologia empregada na obtenção do material biológico (Vidal e Rocha-Barreira, 2009).

Na imagem (E), nota-se o corpo alongado e vermiforme do molusco, com coloração entre bege e rosada, e o manto espesso e translúcido recobrendo parcialmente as valvas brancas anteriores e as paletas calcárias posteriores. A imagem (F) apresenta o exemplar completo extraído, com cerca de 35 cm de comprimento, destacando a região anterior globosa (valvas) e a posterior expandida com sifões e lapelas dorsais, características diagnósticas de *Neoterredo reynei* (De-Carli; Manzi-De-Carli, 2012; Müller; Lana, 1986; Turner, 1966).

Figura 19 – Estruturas morfológicas externas e internas de *Neoteredo reynei* (Bartsch, 1920)



Fonte: Bartsch (1920) Adaptado

De acordo com a chave taxonômica clássica de Müller e Lana (1986), *Neoteredo reynei* distingue-se de outros Teredinidae por apresentar paletas sólidas, não segmentadas e simétricas, cuja lâmina calcária é espatuliforme, com face externa convexa e levemente deprimida distalmente, e face interna côncava e lisa. O pedúnculo é curto e robusto, inserido lateralmente no manto, enquanto o perióstraco é fino, castanho a marrom-escuro, recobrindo aproximadamente a metade distal da lâmina e podendo estar ausente em exemplares adultos desgastados (Müller; Lana, 1986; Turner, 1966; De-Carli; Manzi-De-Carli, 2012).

Os sifões são unidos em quase toda a sua extensão, exceto na extremidade distal, e apresentam intensa pigmentação marrom, característica marcante da espécie. O sifão exalante exibe bordas internas margeadas por numerosas papilas, enquanto o sifão inalante é ligeiramente menor e provido de tentáculos curtos, estruturas relacionadas à filtragem e à movimentação da água no interior do tubo calcário (Vidal e Rocha-Barreira, 2009; De-Carli, 2013).

Outro caráter diagnóstico essencial, também ressaltado por Müller e Lana (1986), é a presença de duas dobras carnosas dorsais na região posterior do manto, denominadas lapelas dorsais, além de um ceco longo e ventral, geralmente distendido e repleto de detritos lenhosos, indicando o alto grau de especialização trófica e o papel ecológico da espécie na degradação de madeira submersa (Müller; Lana, 1986; De-Carli, Manzi-De-Carli, 2012; Turner, 1966).

Portanto a identificação taxonômica dos espécimes de *Neoteredo reynei* foi realizada com base em caracteres morfológicos diagnósticos, conforme a taxonomia clássica de

Teredinidae. Estudos prévios empregaram a análise de estruturas como paletes, sifão e características anatômicas do trato digestivo, reconhecendo *N. reynei* como a única espécie do gênero é facilmente distinguível por suas particularidades morfológicas (Trindade-Silva *et al.* 2009; Brito *et al.* 2018; Brito, 2018).

3.3 Material e Reagentes Utilizados no Processamento das Amostras

O preparo das amostras biológicas foi conduzido com base em metodologias previamente descritas para o estudo da microbiota simbiótica associada a Teredinidae, com adaptações pontuais adequadas às condições experimentais deste trabalho (Trindade-Silva *et al.* 2009; Brito *et al.* 2018; Altamia *et al.* 2020). Os espécimes de *Neoteredo reynei* foram removidos manualmente de troncos de madeira submersos e em decomposição, os quais foram seccionados em camadas sucessivas, da região cortical em direção ao centro do lenho, até a identificação de galerias calcarizadas características da atividade perfuradora desses bivalves. A extração dos organismos foi realizada cuidadosamente com auxílio de pinça estéril, visando preservar a integridade dos tecidos e minimizar a contaminação externa, conforme abordagens clássicas adotadas em estudos com Teredinidae (Trindade-Silva *et al.* 2009; Brito *et al.* 2018).

Após a extração, os indivíduos foram transferidos para placas de Petri previamente higienizadas, lacradas e acondicionadas em recipientes isotérmicos sob refrigeração até o processamento laboratorial. No laboratório, os fragmentos de madeira associados aos organismos foram completamente removidos antes da dissecação, procedimento amplamente recomendado para evitar interferências da microbiota exógena presente no substrato lenhoso (Brito *et al.* 2018; Altamia *et al.* 2020).

Os tecidos viscerais foram então submetidos à maceração mecânica, realizada em temperatura ambiente de 26°C a 30°C, utilizando almofariz e pistilo previamente higienizados e autoclavados. Todo o procedimento foi realizado em uma cabine de segurança biológica Classe II, garantindo um ambiente com baixo risco de contaminação (Figura 20).

Diferentemente de protocolos descritos na literatura que empregam maceração criogênica com nitrogênio líquido para preservação de ácidos nucleicos e ruptura celular mais agressiva, como observado em análises genômicas e metagenômicas da microbiota simbiótica (Yang *et al.* 2009; Altamia *et al.* 2020), neste estudo optou-se por uma adaptação metodológica sem o uso de nitrogênio líquido. Essa escolha visou preservar a viabilidade microbiana para análises funcionais subsequentes, mantendo coerência com abordagens voltadas ao isolamento

e caracterização de microrganismos cultiváveis associadas aos Teredinidae (Trindade-Silva *et al.* 2009; Brito *et al.* 2018). O material macerado foi posteriormente destinado às etapas de enriquecimento, isolamento e caracterização microbiológica, conforme os objetivos experimentais estabelecidos.

Figura 20 — Preparo para o processamento do molusco.



A. Visualização do espécime intacto após coleta. B. Realização da assepsia externa em ambiente de biossegurança. C. Dissecção do tecido visceral. D. Fragmentação e maceração dos tecidos viscerais com almofariz e pistilo.
Fonte: Autor (2025)

Para o cultivo microbiano e os testes de coloração, foram empregados os seguintes meios de cultura e reagentes: meio Caldo A1 (MEIO A1 – Caldo, Fr. 500 g, Biológica®), meio Ágar Nutriente (Biológica®) e o antifúngico Cicloheximida (Actidione) PUREX 1 g, utilizado para inibir o crescimento de fungos durante o isolamento bacteriano (Trindade-Silva *et al.* 2009; Brito *et al.* 2018).

As amostras bacterianas foram cultivadas em placas de Petri de 90 × 20 mm, contendo aproximadamente 20 mL de meio Ágar Nutriente. Adicionalmente, os cultivos em meio líquido foram incubados em incubadora orbital (shaker) a 30 °C e 150 rpm, durante o período de crescimento bacteriano.

Também foi utilizado o azul de metileno a 1% (1 g de cloreto de metiltionínio dissolvido em 100 mL de água destilada) e o kit para coloração de Gram (Conjunto para Coloração de Gram CX 4 un × 500 mL, Interlab®), aplicado nas análises morfotintoriais das cepas.

3.4 Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

A detecção qualitativa dos açúcares redutores provenientes da hidrólise enzimática foi realizada por cromatografia em camada delgada (CCD), de acordo com o protocolo adaptado de Adolfo Lutz (1985) Ogeda (2011) e Cordeiro (2016). Utilizaram-se placas cromatográficas de sílica gel 60 F254 (Merck®), cortadas em dimensões de 10x10cm e ativadas em estufa a 105 °C por 30 min antes da aplicação das amostras (Instituto Adolfo Lutz, 1985; Ogeda, 2011; Cordeiro, 2016).

A fase móvel foi composta por n-butanol: ácido acético: água (2:1:1, v/v/v). Após o desenvolvimento, as placas foram secas em capela de exaustão e submetidas à revelação com solução de anilina-ftalato, seguida de aquecimento a 110 °C por 10 min, para evidenciar as manchas correspondentes aos açúcares redutores (Instituto Adolfo Lutz, 1985; Ogeda, 2011).

Foram utilizados como padrões de referência forma a Celobiose-D (PUREX 25 g, código C05733RA, EXODO), Glicose anidra (Dextrose) PA (Fr. 500 g, DINÂMICA), Xilose D-puríssima (Fr. 100 g, DINÂMICA) e Arabinose L(+) (PUREX Fr. 25 g, código A06274RA, EXODO).

Os valores de distância percorrida (D_c) e fator de retenção (R_f) foram calculados para cada padrão e amostra, possibilitando a comparação direta dos perfis cromatográficos e a identificação dos monossacarídeos liberados durante a hidrólise (Instituto Adolfo Lutz, 1985; Ogeda, 2011; Cordeiro, 2016).

3.5 Extração de DNA Genômico Bacteriano

A extração do DNA genômico das cepas bacterianas isoladas (BRR_42 e BRR_44) foi realizada a partir de culturas puras cultivadas em meio Ágar Nutriente a 30 °C por 24 h. Uma

colônia isolada foi transferida para microtubos estéreis contendo 500 µL de tampão TE (Tris-HCl 10 mM; EDTA 1mM, pH 8,0) e submetida à lise celular por aquecimento a 95 °C por 10 min (de Boer *et al.* 2010; Wydro; Burbach; Schmid; Tebbe, 2016; Bieñ; Malinowska, 2022).

Após centrifugação a 10.000 rpm por 5 min, o sobrenadante contendo o DNA foi transferido para um novo microtubo e armazenado a -20 °C até o momento do uso. A pureza e a concentração do DNA foram avaliadas por espectrofotometria (260/280 nm) em microplaca NanoDrop™ (Thermo Fisher Scientific®) (Boer *et al.* 2010; Wydro; Burbach; Schmid; Tebbe, 2016; Bieñ; Malinowska, 2022).

Em algumas amostras, nas quais o protocolo inicial não resultou em DNA com concentração ou pureza adequadas, aplicou-se o protocolo de extração por fenol-clorofórmio, com adição de tampão de lise (Tris-HCl 50 mM; SDS 1 %; EDTA 25 mM), seguido de extração sequencial com fenol:clorofórmio:álcool isoamílico (25:24:1) e precipitação com etanol absoluto (Fujiyoshi; Muto-Fujita; Maruyama, 2020).

O processo de extração do DNA foi realizado no Laboratório de Recursos Genéticos (LARGEN) da Universidade Federal do Ceará (UFC), sob orientação da Prof^a Dr^a Denise Cavalcante Hissa. As análises moleculares foram realizadas por empresa especializada (BPI Biotecnologia). Em algumas amostras, como a BRR_42, observaram-se perfis de sobreposição nos resultados, o que motivou a repetição das análises, conforme critérios técnicos adotados para assegurar a confiabilidade dos dados.

3.6 Amplificação do Gene 16S rRNA

A amplificação da região do gene 16S rRNA foi realizada no LARGEN–UFC por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR), utilizando o termociclador Veriti® 96-Well (Applied Biosystems). Foram empregados os primers universais 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') e 1492R (5'-GGTACCTTGTTACGACTT-3'), os quais foram desenhados a partir de regiões altamente conservadas do gene 16S rRNA bacteriano, permitindo a amplificação de aproximadamente 1.500 pb do gene. Esses primers são amplamente utilizados em estudos de identificação taxonômica e caracterização de microbiotas simbióticas, incluindo trabalhos com bivalves perfuradores de madeira, por sua elevada cobertura taxonômica e confiabilidade (Trindade-Silva *et al.* 2009; Brito *et al.* 2018; Altamia *et al.* 2020; Boer *et al.* 2010; Wydro; Burbach; Schmid; Tebbe, 2016; Fujiyoshi; Muto-Fujita; Maruyama, 2020).

As reações foram preparadas em volume final de 25 µL, contendo, 12,5 µL de Master Mix 2× (Thermo Fisher Scientific®), 1 µL de cada primer (10 µM), 2 µL de DNA genômico (10–50 ng), 8,5 µL de água livre de nucleases. O programa de amplificação consistiu em desnaturação inicial: 95 °C por 5 min com 35 ciclos de desnaturação: 95 °C por 30 s, anelamento: 55 °C por 30 s, extensão: 72 °C por 1 min e extensão final: 72 °C por 7 min (Walker *et al.* 2015; Fujiyoshi; Muto-Fujita; Maruyama, 2020; Strader, Betz, 2021).

Os produtos de PCR foram analisados por eletroforese em gel de agarose a 1,5 % (m/v), em tampão TAE 1×, corados com GelRed® (Biotium®) e visualizados sob luz UV em transiluminador. O marcador de peso molecular utilizado foi o DNA Ladder de 1 kb (Thermo Fisher Scientific®) (de Boer *et al.* 2010; Wydro; Burbach; Schmid; Tebbe, 2016; Bień; Malinowska, 2022).

Os fragmentos amplificados (~1.500 pb) foram posteriormente purificados utilizando o Kit ExoSAP-IT™ PCR Product Cleanup (Applied Biosystems), conforme protocolo do fabricante, para remoção de primers e nucleotídeos residuais (Vishnivetskaya *et al.* 2014; Fujiyoshi; Muto-Fujita; Maruyama, 2020).

3.7 Sequenciamento e Análise Molecular

O protocolo aplicado foi o BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems), seguido de precipitação por etanol/EDTA/acetato de sódio conforme instruções do fabricante. O sequenciamento automático foi conduzido por eletroforese capilar no equipamento ABI 3730xl Genetic Analyzer (Applied Biosystems).

As amostras de PCR foram previamente avaliadas em gel de agarose 2 %, coradas com GelRed® e visualizadas sob luz ultravioleta. A análise dos eletroferogramas foi realizada utilizando os softwares Chromas Lite e Geneious 4.8.3, para inspeção de qualidade e edição das sequências.

As amostras sequenciadas (BRR_42_ok e BRR_44_ok) apresentaram similaridade de 100 % com espécies dos gêneros *Bacillus* e *Lysinibacillus*, conforme relatado nos resultados obtidos e confirmados no LARGEN - UFC.

3.8 Sequenciamento Sanger e Análise Bioinformática

O sequenciamento Sanger das amostras bacterianas purificadas foi realizado pela empresa BPI Biotecnologia (São Paulo–SP), sob supervisão técnica de Gabriela Zonta (vide anexo de e-mail institucional). As reações de sequenciamento foram conduzidas utilizando o BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems), de acordo com as recomendações do fabricante, empregando os primers universais 27F e 1492R, amplamente utilizados para a amplificação do gene do RNA ribossomal 16S.

Após as reações de sequenciamento, os produtos foram submetidos à etapa de precipitação utilizando etanol, EDTA e acetato de sódio, com o objetivo de remover nucleotídeos não incorporados e sais residuais. Em seguida, as amostras purificadas foram analisadas por eletroforese capilar no sequenciador automático ABI 3730xl Genetic Analyzer (Applied Biosystems), gerando os cromatogramas correspondentes às sequências obtidas.

As sequências brutas foram avaliadas quanto à qualidade e editadas manualmente utilizando os softwares Chromas Lite (Technelysium Pty Ltd) e Geneious versão 4.8.3 (Biomatters Ltd), com remoção de regiões de baixa qualidade e verificação de ambiguidades. Posteriormente, as sequências editadas foram alinhadas e submetidas à ferramenta BLASTn (*National Center for Biotechnology Information* – NCBI), sendo comparadas com o banco de dados nt (*nucleotide collection*) do GenBank para fins de identificação taxonômica.

Para a atribuição taxonômica, foram adotados como critérios uma identidade mínima de 97% entre a sequência consulta e as sequências depositadas no banco de dados, *E-value* igual a 0.0 e elevada cobertura do alinhamento. Resultados que apresentaram 100% de identidade e cobertura foram considerados altamente confiáveis para a identificação em nível de espécie.

Com base nesses critérios, as sequências analisadas apresentaram 100% de similaridade com espécies pertencentes aos gêneros *Bacillus* e *Lysinibacillus*, confirmando e corroborando as identificações morfológicas e bioquímicas preliminares realizadas anteriormente.

3.8 Análises Microscópicas

As análises morfológicas das colônias bacterianas isoladas foram realizadas por microscopia óptica de luz transmitida e por microscopia eletrônica de varredura (MEV), em infraestrutura dos laboratórios do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE) – Campus Maracanaú e da Universidade Federal do Ceará (UFC), respectivamente (Vieira, Silva, Rocha, 2021).

A microscopia óptica foi conduzida no Laboratório de Química Analítica e Microbiologia Ambiental (LAQAMB/IFCE), utilizando lâminas preparadas com coloração de azul de metileno a 1 %, observadas em aumento de até 1.000×, para avaliação da morfologia e distribuição celular das cepas bacterianas (Bozzola e Russell, 2009).

As análises em microscopia eletrônica de varredura (MEV) foram realizadas no equipamento Inspect S50 – FEI, com resolução nominal de 3 nm, operando em modos de alto e baixo vácuo, e acoplado a sistema de análise química semiquantitativa (EDS, AZtec®), com possibilidade de litografia por feixe de elétrons. As micrografias foram obtidas na Central Analítica da Universidade Federal do Ceará (UFC), infraestrutura multiusuária vinculada ao Departamento de Física, com suporte técnico da equipe de Microscopia Eletrônica (Vieira, Silva, Rocha, 2021; Santos *et al.* 2022; Lima *et al.* 2024).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A presente seção apresenta e discute, de forma integrada, os resultados obtidos ao longo das etapas experimentais, abrangendo a identificação taxonômica do molusco hospedeiro, o isolamento e caracterização microbiológica de sua microbiota simbiótica, bem como a análise bioquímica qualitativa associada à degradação lignocelulósica. O conjunto dos dados foi tratado de modo a evidenciar a relação funcional entre o sistema biológico do bivalve xilófago *Neoteredo reynei* (Bartsch, 1920) e o potencial biotecnológico dos microrganismos simbioses associados ao seu trato digestivo.

De modo geral, os resultados demonstram que o molusco coletado em ambiente de manguezal na região da Sabiaguaba (Fortaleza–CE) pertence à família Teredinidae, grupo de bivalves altamente especializados na perfuração e assimilação de madeira submersa. A confirmação morfológica e anatômica do hospedeiro como *Neoteredo reynei* estabeleceu a base para as etapas subsequentes, permitindo interpretar de forma coerente a composição microbiana isolada. Essa identificação é particularmente relevante porque a espécie apresenta associação simbiótica bem documentada com bactérias celulolíticas e hemicelulolíticas, frequentemente envolvidas em processos naturais de degradação de substratos lignificados.

A caracterização taxonômica do hospedeiro, portanto, não se limita à determinação da espécie, mas constitui elemento essencial para contextualizar os resultados microbiológicos e bioquímicos obtidos, uma vez que a simbiose funcional entre os teredinídeos e seus microrganismos internos fornece o ambiente fisiológico propício ao processo de digestão da madeira — característica central para o potencial biotecnológico investigado nesta pesquisa.

4.1. Identificação taxonômica do molusco hospedeiro (*Neoteredo reynei*)

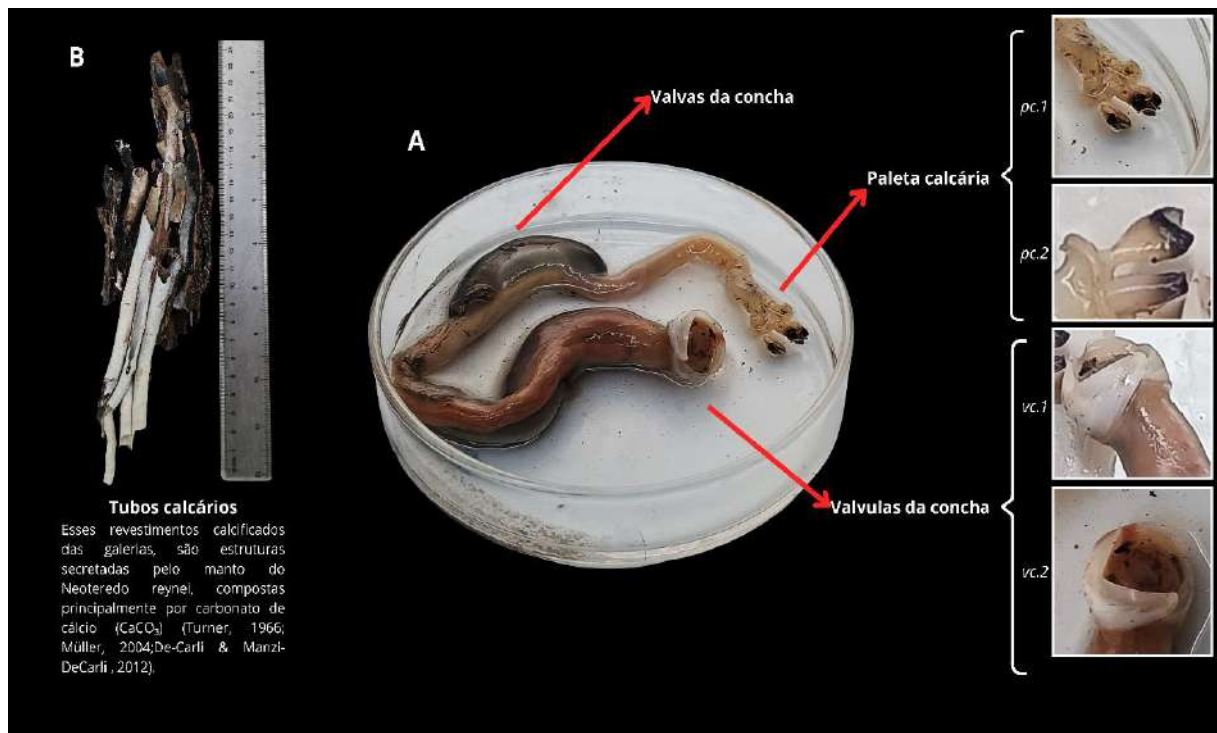
Os espécimes analisados foram obtidos a partir de troncos lenhosos submersos em área de manguezal, onde se observaram extensas galerias lineares revestidas por depósitos calcários — estrutura típica dos bivalves da família Teredinidae. Após a extração dos organismos, a avaliação morfológica revelou espécimes alongados e vermiformes, de coloração bege rosada, com comprimento aproximado de 30–35 cm, características compatíveis com organismos xilófagos adaptados à perfuração de madeira.

A extremidade anterior apresentou valvas reduzidas, globosas e espessas, com ornamentações denticuladas na região umbonal, utilizadas na escavação do substrato. Na

extremidade posterior, registraram-se paletas calcárias espatuliformes, sólidas e não segmentadas, além de lapelas dorsais carnosas. Esses caracteres são diagnósticos para *Neoterredo reynei* (Bartsch, 1920), conforme descrições clássicas de Müller e Lana (1986) e De-Carli e Manzi-De-Carli (2012), permitindo a identificação inequívoca da espécie.

A presença de sífões unidos e pigmentados, tubos calcários espessos e de coloração branca opaca, além de galerias escavadas paralelamente às fibras lenhosas, reforça a correspondência com as descrições originais de Turner (1966) e Müller e Lana (1986). Esses atributos distinguem *N. reynei* de outros gêneros simpátricos, como *Bankia*, *Lyrodus* e *Nausitora*, os quais apresentam diferenças marcantes na morfologia das paletas, no formato das valvas e na ausência de lapelas dorsais (Vidal; Rocha-Barreira, 2009).

Figura 21 – Identificação das estruturas morfológicas para identificação taxonômica.



(A) Espécime completo, mostrando corpo vermiforme e manto translúcido. (B) Tubos calcários secretados pelo manto, aderidos ao substrato lenhoso. (pc.1–pc.2) Paletas calcárias espatuliformes, sólidas e não segmentadas. (vc.1–vc.2) Válvulas da concha, pequenas e globosas, restritas à extremidade anterior.

Fonte: Autor (2025).

Na figura 21, imagem (A), observa-se um indivíduo alongado, cilíndrico e revestido por um manto espesso e translúcido — conformação típica de Teredinidae. Conforme De-Carli e Manzi-De-Carli (2012), o corpo alongado e o manto contínuo são marcantes em *N. reynei*, enquanto as valvas globosas na região anterior se restringem a poucos centímetros da

extremidade cefálica. Os indivíduos podem apresentar corpo e tubo calcário com mais de 30 cm, faixa compatível com os espécimes analisados.

As ampliações vc.1 e vc.2 destacam as válvulas equivalves, espessas e ornamentadas com denticulos rígidos, conformação essencial para a perfuração da madeira. Essa ornamentação, especialmente os denticulos umbonais, constitui um dos critérios diagnósticos que diferenciam *N. reynei* de espécies dos gêneros *Bankia* e *Lyrodus*, que possuem valvas menos robustas e ornamentações distintas (Müller; Lana, 1986; De-Carli; Manzi-De-Carli, 2012).

Nas imagens pc.1 e pc.2, as paletas calcárias (“paletas sifonais”) apresentam formato espatuliforme, lâmina única e não segmentada, face externa convexa e depressão distal, recobertas parcialmente por um periostraco marrom-escuro. Essa estrutura, exclusiva de *Neoteredo*, segue precisamente o padrão ilustrado por Turner (1966) e Müller e Lana (1986), distinguindo-se das paletas segmentadas ou cônicas de gêneros como *Nausitora*, *Bankia* e *Lyrodus*.

Na região posterior, as lapelas dorsais carnosas são claramente visíveis. Tais dobras do manto constituem caracteres autapomórficos associados a *Neoteredo* e têm alto valor diagnóstico, uma vez que não são observadas em *Teredo*, *Lyrodus* ou *Bankia* (Turner, 1966; De-Carli, 2013).

A imagem (B) revela tubos calcários contínuos, com 10 a 12 cm de extensão, altamente aderidos ao substrato. A espessura e coloração branca opaca desses tubos são compatíveis com o padrão morfológico descrito para *N. reynei* e reforçam o diagnóstico taxonômico.

Tabela 1 - Diagnóstico conclusivo

Caractere diagnóstico	Condição observada	Referência
Corpo alongado e vermiforme	Presente	De-Carli e Manzi-De-Carli (2012)
Valvas globosas restritas à porção anterior	Presente	Müller & Lana (1986)
Paletas calcárias espatuliformes, não segmentadas, com depressão distal	Presente	Müller & Lana (1986); Vidal e Rocha-Barreira (2009)
Lapelas dorsais carnosas no manto posterior	Presente	De-Carli (2013)
Tubos calcários espessos e brancos	Presente	Turner (1966); De-Carli e Manzi-De-Carli (2012)
Sifões unidos e pigmentados	Indicado visualmente	Müller e Lana (1986)

Fonte: Autor (2025)

Com base no conjunto robusto de caracteres anatômicos observados — incluindo morfologia das valvas, formato das paletas, lapelas dorsais e conformação dos tubos calcários — e na comparação com chaves taxonômicas clássicas (Müller; Lana, 1986; Turner, 1966), confirma-se de forma conclusiva que os espécimes analisados pertencem à espécie *Neoteredo*

reynei (Bartsch, 1920). Essa identificação fundamenta as etapas seguintes da presente pesquisa, uma vez que essa espécie é reconhecidamente associada a microbiotas simbióticas com elevado potencial lignocelulolítico.

4.2. Processamento das amostras

A análise do material visceral obtido dos espécimes revelou um conteúdo interno denso, escuro e homogêneo, compatível com a região intestinal onde se concentra a microbiota simbiótica característica de *Neoteredo reynei*. A remoção das estruturas anteriores permitiu o acesso direto à fração visceral, que se apresentou rica em material orgânico parcialmente digerido e intensamente colonizado por microrganismos, conforme também reportado em estudos previamente conduzidos com teredinídeos (Trindade-Silva *et al.* 2009).

A porção visceral apresentou textura uniforme e elevada umidade, favorecendo a liberação de células microbianas durante o processamento. Esse padrão é consistente com o que se conhece sobre o ambiente intestinal de *N. reynei*, no qual predominam comunidades bacterianas envolvidas na degradação de componentes lignocelulósicos presentes na madeira submersa. Esses microrganismos simbiontes têm sido amplamente descritos como essenciais para o metabolismo xilófago do animal e para a digestão de polissacarídeos vegetais (*et al.* 2018; Brito, 2018).

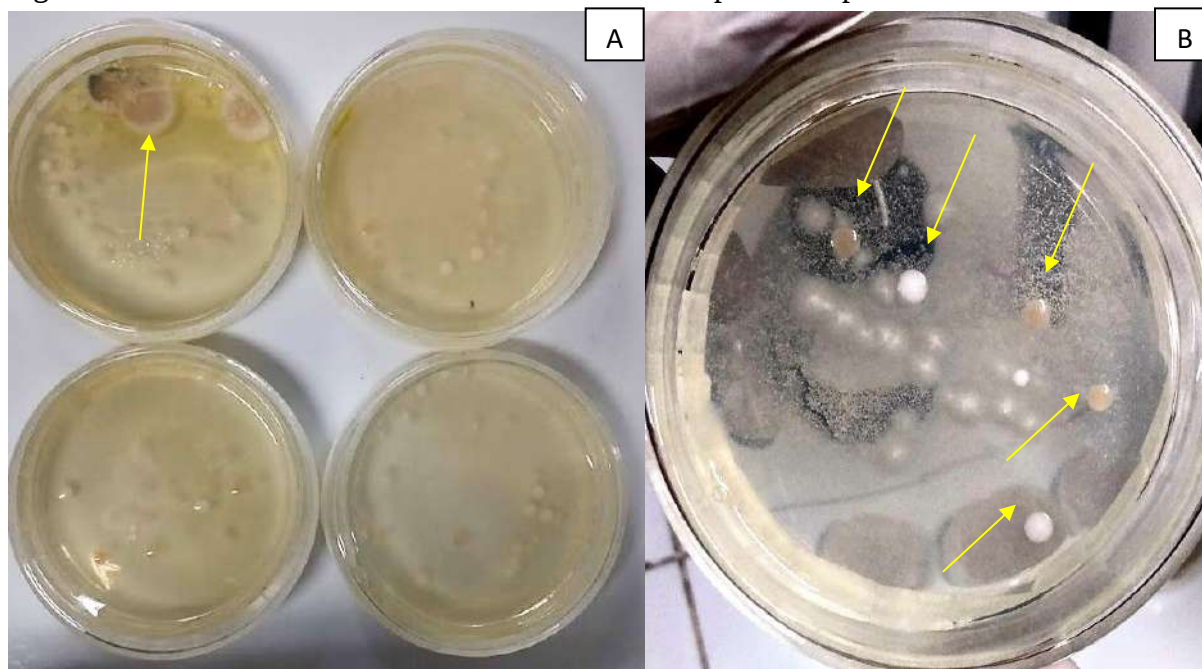
A fragmentação da massa visceral resultou em uma suspensão rica em células bacterianas, evidenciando alta densidade populacional no interior do trato digestivo. Essa observação reforça a compreensão de que a cavidade visceral dos teredinídeos funciona como um microambiente altamente especializado, estruturado para abrigar consórcios microbianos metabolicamente ativos e adaptados à decomposição de madeira — característica já demonstrada em linhagens como *Teredinibacter turnerae* (Trindade-Silva *et al.* 2009).

O material processado apresentou integridade e homogeneidade suficientes para subsidiar tanto o isolamento microbiano em meio de cultura quanto a extração de DNA genômico. Essa qualidade do material biológico foi determinante para a obtenção dos resultados robustos apresentados nas seções subsequentes, permitindo revelar a diversidade microbiana associada ao sistema digestivo de *N. reynei* e sustentando as análises microbiológicas e moleculares discutidas neste capítulo.

4.3 Cultivo microbiológico e enriquecimento em biomassa lignocelulósica

O processo de seleção inicial da microbiota simbiótica iniciou-se com o primeiro plaqueamento de 20 placas em meio seletivo semissólido, etapa que permitiu a visualização direta das colônias microbianas oriundas do conteúdo visceral de *Neoterredo reynei* (Figura 22). Nesse primeiro cultivo, observou-se crescimento microbiano intenso, acompanhado por ocorrência pontual de estruturas fúngicas, indicando que a comunidade bacteriana presente era metabolicamente ativa e adaptada ao substrato de origem. A partir das replicações subsequentes, foram obtidas colônias devidamente isoladas, sem sinais de contaminação fúngica, demonstrando a eficiência do processo de seleção e purificação. As colônias isoladas das 20 placas cultivadas apresentaram morfologias distintas, sugerindo diversidade microbiana compatível com o que é relatado para simbiontes de Teredinidae, notadamente bactérias com potencial celulolítico e hemicelulolítico (Trindade-Silva *et al.* 2009; Ghio *et al.* 2012; Brito *et al.* 2018). Considerando que esta etapa do estudo teve caráter exploratório e qualitativo, voltado ao isolamento e à triagem funcional de microrganismos com potencial de degradação lignocelulósica, não foi aplicada análise estatística, uma vez que não houve comparação quantitativa entre tratamentos ou variáveis numéricas passíveis de inferência estatística.

Figura 22 — Crescimento das colônias bacterianas em placas de petri.



A. Primeiro plaqueamento das amostras, mostrando atividade microbiológica, a seta aponta para possível contaminação fúngica. **B.** Detalhamento do crescimento microbiano, sem contaminação fúngica, em meio seletivo com características interessantes indicado pelas setas.

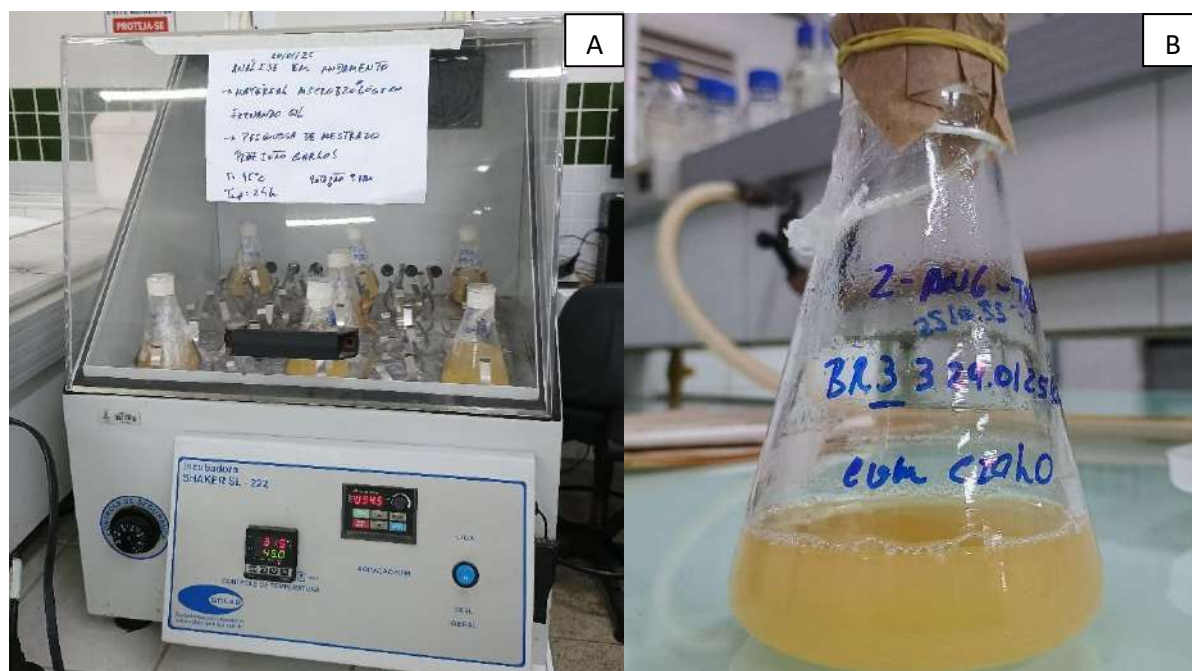
Fonte: Autor (2025).

Na figura 23, as colônias bacterianas isoladas apresentaram ampla diversidade morfológica, com variações quanto à forma, tamanho, elevação, superfície e coloração,

predominando colônias circulares a irregulares, de coloração branco-creme a amarelada, com margens inteiras a onduladas. Esse padrão é compatível com o observado em estudos prévios de isolamento de bactérias associadas a bivalves perfuradores de madeira, nos quais a diversidade morfológica inicial reflete a complexidade da microbiota cultivável associada aos Teredinidae (Trindade-Silva *et al.* 2009; Brito *et al.* 2018; Altamia *et al.* 2020).

Somente após essa etapa de isolamento primário foi conduzido o enriquecimento em meio líquido contendo bagaço de cana-de-açúcar como fonte primária de carbono (Figura 23). Nesse sistema, observou-se aumento progressivo da turbidez, formação de agregados celulares e forte aderência dos microrganismos às fibras lignocelulósicas, indicando metabolismo ativo e capacidade de utilização do substrato vegetal. A persistência de atividade microbiana ao longo do período de incubação — inclusive após meses — reforça a elevada adaptação das linhagens simbióticas ao consumo de biomassa lenhosa, característica reconhecida em diversas comunidades microbianas derivadas de teredinídeos (Trindade-Silva *et al.* 2009; Brito, 2018;).

Figura 23 — Amostras em meio líquido incubadas em shake.



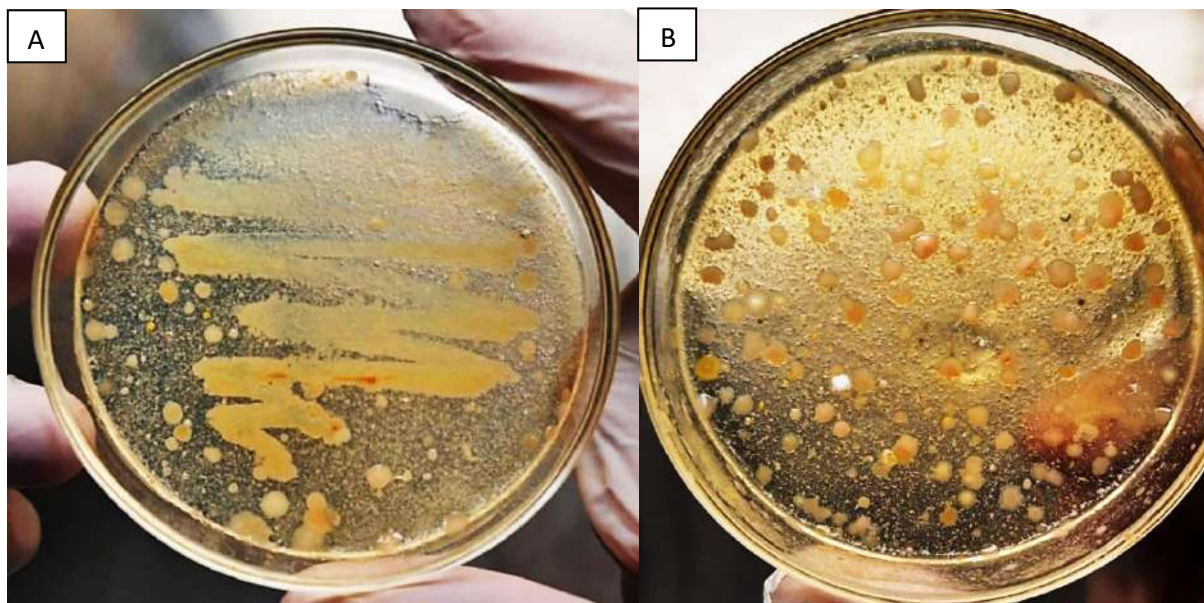
A. Amostra a incubadora shake de bancada em atividade. **B.** Amostras com crescimento bacteriano em meio seletivo.

Fonte: Autor (2025).

As colônias bacterianas isoladas apresentaram ampla diversidade morfológica. A partir dessas características morfológicas de interesse, colônias representativas foram selecionadas e submetidas a repicagens sucessivas até a obtenção de culturas consideradas puras com

predominância de colônias de bordas circulares, de coloração branco-creme, e colônias de bordas irregulares, de coloração amarelo-alaranjada (Trindade-Silva *et al.* 2009; Brito, 2018; Altamia *et al.* 2020).

Figura 24 — Replicação das colônias com morfologia distintas.



Replicagem de colônias bacterianas com morfologias distintas, evidenciando variações de forma, tamanho e coloração após cultivo em meio sólido. (A) Colônias predominantemente circulares, de coloração branco-creme. (B) Colônias com bordas irregulares e coloração amarelo-alaranjada.

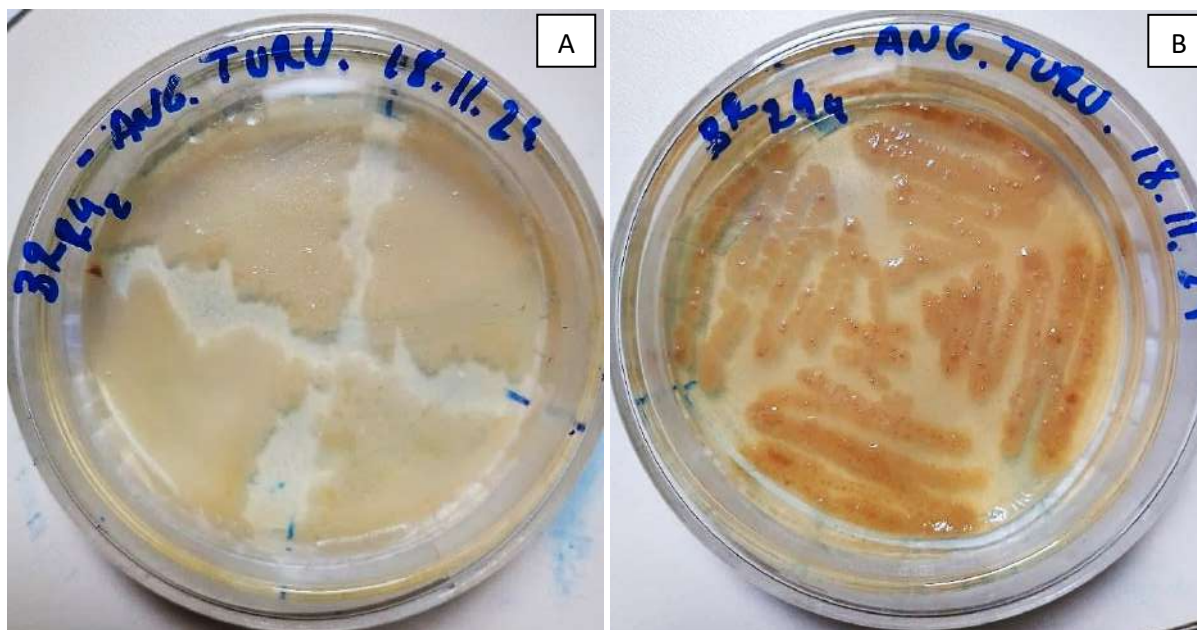
Fonte: Autor (2025).

As linhagens isoladas foram então denominadas de acordo com um padrão interno de identificação, sendo codificadas como BRR_ (sigla correspondente a Bacteria Replicação de Replicação), seguida de um número indicativo da etapa de replicação. As colônias assim isoladas apresentaram perfis morfológicos compatíveis com gêneros bacterianos frequentemente relatados como simbioses de Teredinidae, como *Bacillus*, *Lysinibacillus* e microrganismos filiados à família *Cellvibrionaceae*, grupos amplamente reconhecidos pela elevada atividade hidrolítica sobre polímeros vegetais (Brito *et al.* 2018; Ríos-Alvarado *et al.* 2024).

Dentre os isolados, duas linhagens mostraram destaque: BRR_42 e BRR_44 (Figura 25). A cepa BRR_42 exibiu coloração branco-amarelada, aspecto opaco e crescimento expansivo, enquanto a cepa BRR_44 apresentou coloração amarelo-alaranjada, brilho intenso e formação de colônias arredondadas. Essas diferenças sugerem diversidade funcional e metabólica dentro da microbiota simbiótica, indicando que múltiplas linhagens podem atuar de

forma complementar na degradação da biomassa vegetal — fenômeno amplamente relatado em sistemas lignocelulolíticos naturais.

Figura 25 — Crescimento e caracterização morfológica preliminar das Cepas BRR_42 e BRR_44



A. Crescimento de colônias bacterianas isoladas em meio semissólido, oriundas da microbiota visceral do molusco *Neoteredo reynei*, com destaque para morfologia opaca e coloração branco-amarelada da cepa BRR_42. B. Cultivo da cepa BRR_44 em meio líquido contendo bagaço de cana-de-açúcar autoclavado como fonte primária de carbono, evidenciando crescimento com coloração amarelo-alaranjada.

Fonte: Autor (2025)

A análise microscópica das amostras incubadas em meio líquido evidenciou, após 72 horas, a formação de aglomerados microbianos associados às fibras de cana-de-açúcar. Notavelmente, mesmo após seis meses, a atividade microbiana manteve-se estável, com persistência de células aderidas ao substrato vegetal, sugerindo forte adaptação ao uso da biomassa como fonte primária de carbono. Esse comportamento reforça a hipótese de que a microbiota simbiótica de *N. reynei* possui elevada capacidade de persistência e eficiência no processamento de material lignificado, característica chave para aplicações biotecnológicas (Brito, 2018; Trindade-Silva *et al.* 2009).

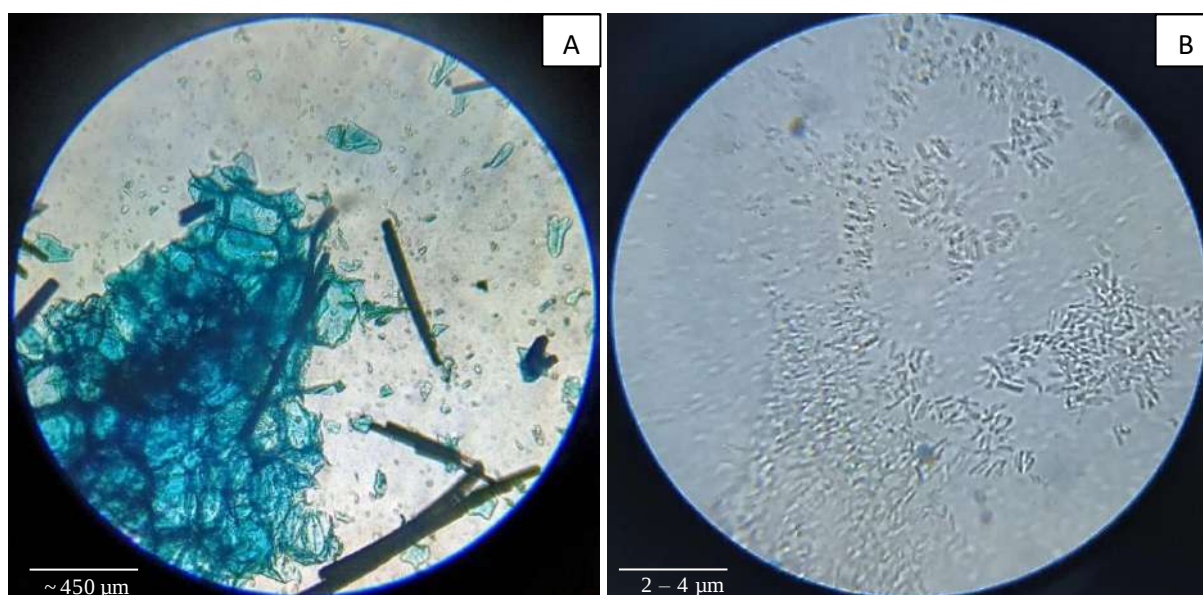
O conjunto desses resultados — aumento da densidade celular, formação de consórcios microbianos, isolamento de colônias com características distintas e persistência prolongada em substrato lignocelulósico — evidencia que o sistema simbiótico investigado apresenta robusto potencial para a prospecção de enzimas hidrolíticas de interesse industrial. A seleção de BRR_42 e BRR_44 como linhagens-modelo para análises posteriores se justifica pela nitidez

de suas morfologias, estabilidade de crescimento e aparente capacidade lignocelulolítica, corroborando os achados clássicos sobre o papel biotecnológico de bactérias associadas a teredinídeos.

4.4. Análise microscópica óptica das amostras

Após o tempo de incubação, os erlenmeyer de 250ml forma submetidos a uma análise de microscopia óptica a fim de visualizar a atividade microbiana positiva, na figura 26 (A), revela fragmentos estruturais da biomassa vegetal, possivelmente derivados do bagaço ou fibra de cana-de-açúcar, corados com azul de metileno.

Figura 26 — Crescimento das colônias bacterianas em placa de petri e em erlenmeyer.



A. Fragmentos da parede celular de bagaço de cana-de-açúcar corados com azul de metileno 1%. As fibras vegetais mostram-se parcialmente desestruturadas, evidenciando regiões de celulose compactas. Microscopia óptica com aumento de 40x. **B.** Microrganismos com morfologia bacilar isolados a partir da microbiota de *Neoteredo reynei*, corados com azul de metileno. Observa-se distribuição irregular de bastonetes com aproximadamente 2 – 4 µm de comprimento. Microscopia óptica com imersão em óleo, aumento total de 1000x.

Fonte: Autor (2025).

Observa-se uma rede densa de estruturas alongadas e irregulares, com textura filamentosa e presença de cavidades, compatível com paredes celulares vegetais parcialmente desagregadas. Na figura 26 (B), observa-se um campo microscópico contendo numerosas bactérias com morfologia de bastonetes (bacilos), coradas com azul de metileno. As células apresentam-se isoladas, em pares ou agrupamentos, distribuídas de forma irregular pelo campo. A coloração azul evidencia o contorno celular e permite distinguir os bacilos do fundo.

A coloração azul acentuada permite identificar regiões mais densas (provavelmente celulose cristalina) e outras com aspecto mais amorfo, sugerindo início de degradação. As estruturas visíveis variam de 20 μm a mais de 100 μm de comprimento, indicando partículas macroscópicas da biomassa residual após pré-tratamento ou hidrólise (Bozzola e Russell, 2009).

A morfologia bacilar sugere a presença de bactérias Gram-negativas ou Gram-positivas não esporuladas, com comprimento estimado entre 2–4 μm e largura de aproximadamente 0,5 μm . Essas dimensões são compatíveis com microrganismos dos gêneros *Bacillus*, *Lysinibacillus*, *Enterobacter* ou *Pseudomonas*, dependendo do ambiente e da origem da amostra.

4.5. Análises morfológicas por eletrônica de varredura (MEV)

As análises morfológicas preliminares realizadas por microscopia óptica revelaram estruturas bacterianas com morfologia bacilar bem definida, distribuídas de forma isolada ou organizadas em pequenos arranjos lineares, apresentando dimensões médias entre 2 e 4 μm . A coloração com azul de metileno permitiu observar citoplasma homogêneo, paredes celulares regulares e ausência de estruturas fúngicas, reforçando a pureza dos cultivos bacterianos isolados do trato digestivo de *Neoteredo reynei*. Essa nitidez morfológica é compatível com o padrão descrito por Bozzola e Russell (2009) para bactérias de parede celular espessa, típico de organismos Gram-positivos frequentemente associados à degradação de substratos lignificados.

A distribuição das células, predominantemente individual, com formação ocasional de curtos arranjos lineares, sugere versatilidade fisiológica e potencial para formação de microagrupamentos aderidos ao substrato. Essa característica é amplamente relatada em microrganismos hidrolíticos que colonizam superfícies lignocelulósicas, uma vez que tais agrupamentos favorecem a secreção localizada de enzimas e o estabelecimento de microambientes propícios à degradação da biomassa vegetal (Bozzola; Russell, 2009).

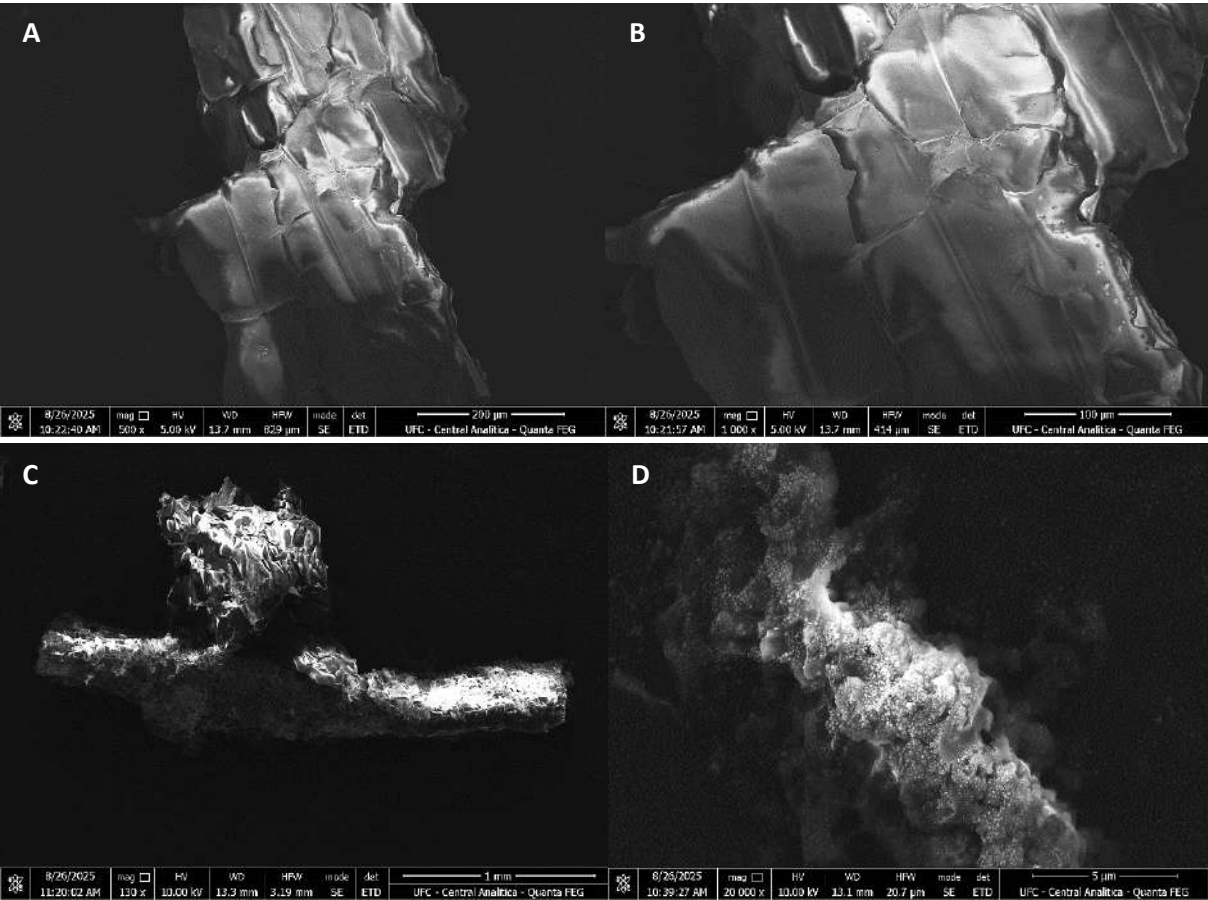
A caracterização estrutural foi aprofundada por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV), permitindo avaliar com maior precisão as interações entre as bactérias isoladas e as fibras lignocelulósicas. As micrografias revelaram modificações marcantes na superfície das fibras de cana-de-açúcar submetidas à ação microbiana, incluindo fissuras longitudinais, zonas de erosão, aumento da porosidade e perda da integridade estrutural. Esses padrões morfológicos constituem indicadores clássicos de atividade hidrolítica exercida por

enzimas celulolíticas e hemicelulolíticas, conforme descrito em estudos recentes sobre biodegradação vegetal (Golding *et al.* 2016; Haddad *et al.* 2022; Malyshev *et al.* 2024).

As alterações estruturais observadas nas fibras tratadas sugerem que os microrganismos isolados atuam de forma seletiva sobre diferentes componentes da matriz vegetal, removendo, preferencialmente, frações amorfas, como hemicelulose, e expondo regiões internas da celulose cristalina. Esse padrão de degradação é frequentemente associado à ação sinérgica de comunidades microbianas adaptadas ao processamento de substratos lenhosos, como as encontradas em moluscos xilófagos (Golding *et al.* 2016; Malyshev *et al.* 2024).

Em conjunto, as evidências obtidas por microscopia óptica e MEV demonstram que as cepas isoladas do trato digestivo de *N. reynei* apresentam forte potencial lignocelulolítico, confirmado tanto pelas características morfológicas celulares quanto pelas alterações significativas promovidas na estrutura da biomassa vegetal. Esses resultados reforçam o papel central da microbiota simbiótica na degradação de madeira e apontam para sua relevância em processos biotecnológicos de conversão de resíduos lignocelulósicos.

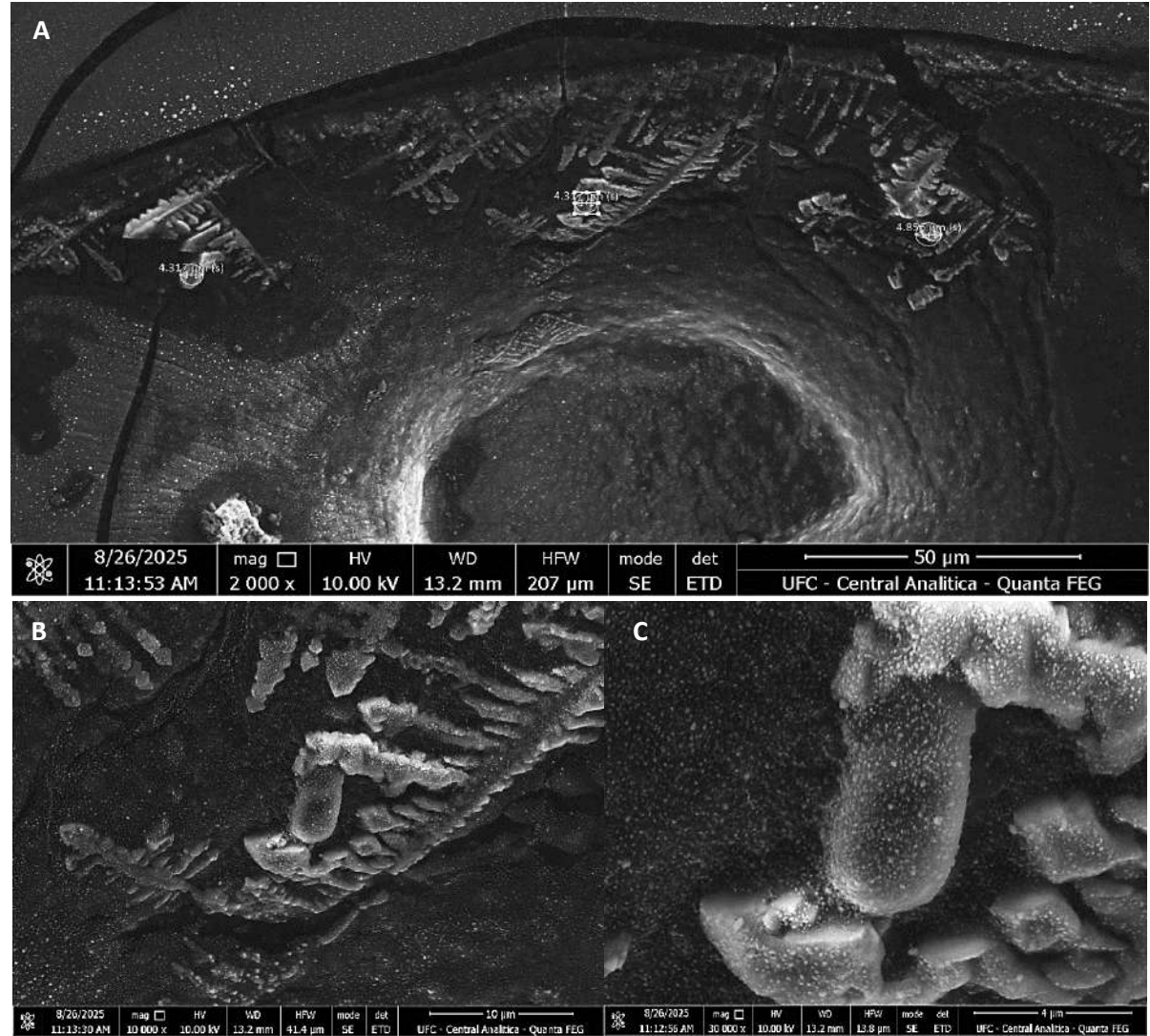
Figura 27 – Alterações morfológicas em fibras de cana-de-açúcar sob degradação bacteriana.



Fonte: Autor (2025).

As imagens apresentadas na figura 27 evidenciam diferenças nítidas entre as fibras controle (A e B) e as fibras tratadas com as linhagens bacterianas BRR_42 (*Bacillus* spp.) e BRR_44 (*Lysinibacillus* spp.) (C e D). As fibras controles exibem superfície contínua e compacta, compatível com celulose e hemicelulose não degradadas. Já as amostras tratadas mostram desagregação celular, microfissuras e erosões profundas, acompanhadas de aumento da porosidade. Essas características indicam ação enzimática direcionada à degradação da parede celular lignocelulósica, incluindo possível remoção seletiva de frações amorfas, como hemicelulose e pectinas (Rubin, 2008; Fu *et al.* 2024). Tais modificações estruturais corroboram o potencial lignocelulolítico das cepas isoladas, conforme sugerido anteriormente pelas análises de crescimento em biomassa vegetal.

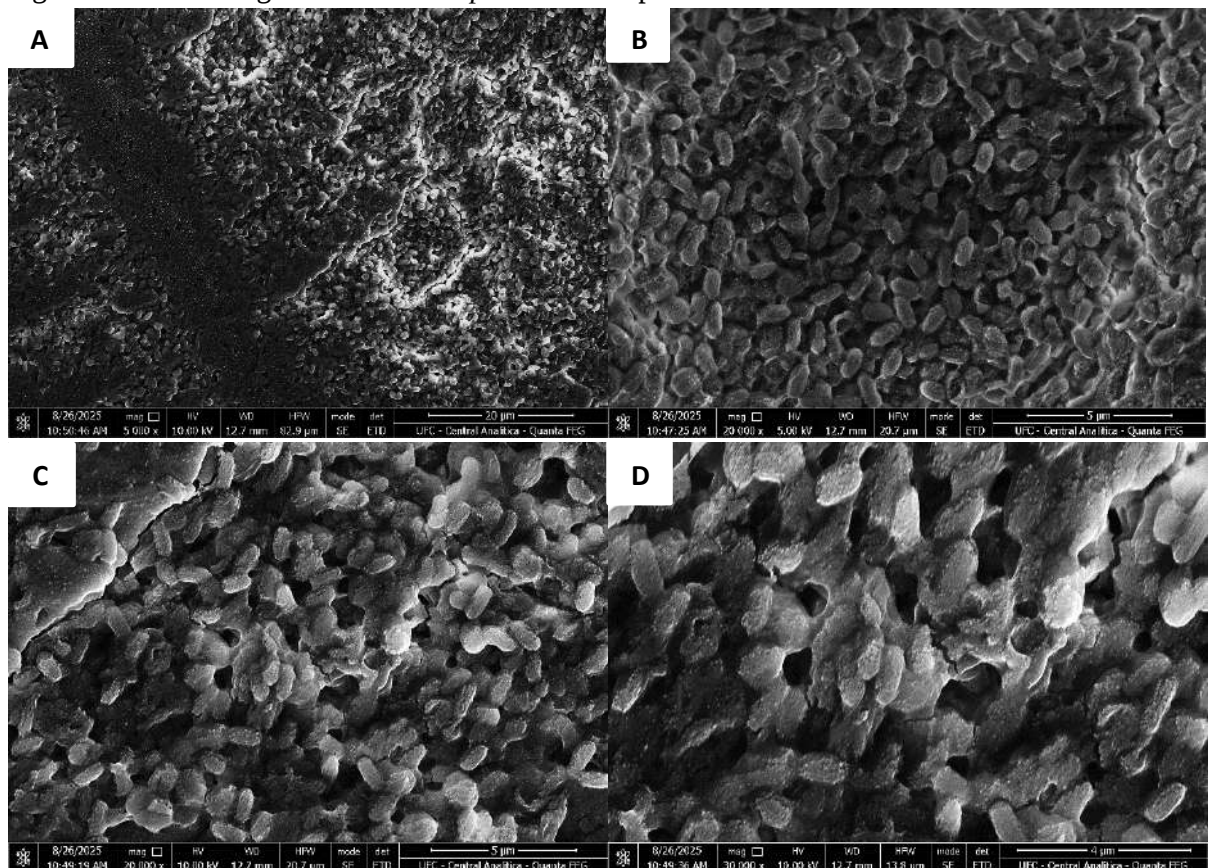
Figura 28 – Morfologia de *Lysinibacillus* spp. observada por MEV



Fonte: Autor (2025).

As micrografias de *Lysinibacillus spp.* mostram células alongadas, com extremidades arredondadas, formando curtos filamentos. A figura 28 (A) de menor aumento evidencia agregação celular em matriz exopolissacarídica, padrão compatível com formação de biofilme — mecanismo associado à proteção estrutural, fixação ao substrato e aumento da eficiência na secreção de enzimas hidrolíticas (Kluzik *et al.* 2023; Malyshev *et al.* 2024). Nos aumentos maiores (C e D), observa-se superfície celular lisa e contínua, típica de bactérias Gram-positivas, conforme descrito para o gênero (Lee *et al.* 2010). Esse conjunto de características sugere forte capacidade de adesão às fibras vegetais, favorecendo processos de degradação localizada.

Figura 29 - Morfologia de *Bacillus spp.* observada por MEV.



(A) Micrografia em menor aumento evidenciando a organização geral das células bacterianas aderidas à superfície do substrato (barra de escala = 20 µm). (B) Ampliação da mesma região apresentada em (A), permitindo a visualização mais detalhada do agrupamento celular e da morfologia bacilar (barra de escala = 5 µm). (C) Micrografia em aumento intermediário destacando a disposição tridimensional das células e a presença de matriz extracelular associada (barra de escala = 5 µm). (D) Maior ampliação evidenciando bacilos individuais, com contornos celulares bem definidos e superfície irregular, características compatíveis com bactérias do gênero *Bacillus* (barra de escala = 4 µm).

Fonte: Autor (2025).

As micrografias de *Bacillus spp.* (Figura 29) revelam células bacilares com dimensões médias de 2–3 µm, organizadas em agregados compactos. A superfície celular apresenta

aspecto rugoso, possivelmente relacionado à presença de exopolissacarídeos e, em algumas regiões, à formação de estruturas compatíveis com esporos em fase estacionária (Gasser *et al.* 2024). Nos aumentos de detalhe (C e D), observa-se intensa atividade superficial, com indícios de interação direta entre as células e a matriz lignocelulósica, evidenciada por pontos de desgaste, adesão e microerosão vegetal. Esse padrão é consistente com a secreção localizada de enzimas celulolíticas e hemicelulolíticas, fenômeno amplamente reconhecido em linhagens do gênero *Bacillus* envolvidas na degradação de biomassa vegetal (Fu *et al.* 2024; Kluzik *et al.* 2023; Ríos-Alvarado *et al.* 2024).

4.6 Identificação qualitativa

A análise foi conduzida por meio da técnica de cromatografia em camada delgada (CCD), a qual permite a separação e identificação preliminar de compostos com base em suas diferenças de afinidade entre a fase estacionária e a fase móvel. A análise da placa revelada possibilitou a comparação entre os valores de R_f (Fator de retenção) dos padrões e das manchas presentes nas amostras. Em geral, para a fase móvel utilizada, açúcares de menor massa molecular (monossacarídeos) tendem a migrar mais rapidamente ao longo da placa cromatográfica, apresentando valores de R_f mais elevados quando comparados a açúcares de maior complexidade estrutural, como dissacarídeos (Instituto Adolfo Lutz, 1985; Nascimento, 2023).

A identificação dos compostos foi realizada por comparação visual das manchas obtidas nas amostras com aquelas observadas nos padrões aplicados, aliada ao cálculo do valor de R_f . O R_f é definido como a razão entre a distância percorrida pelo componente da amostra ou padrão (D_c) e a distância total percorrida pela fase móvel (D_s) na placa cromatográfica, constituindo um parâmetro característico para cada composto sob condições experimentais específicas.

O cálculo do R_f segue a fórmula:
$$R_f = \frac{D_c}{D_s}$$

Onde:

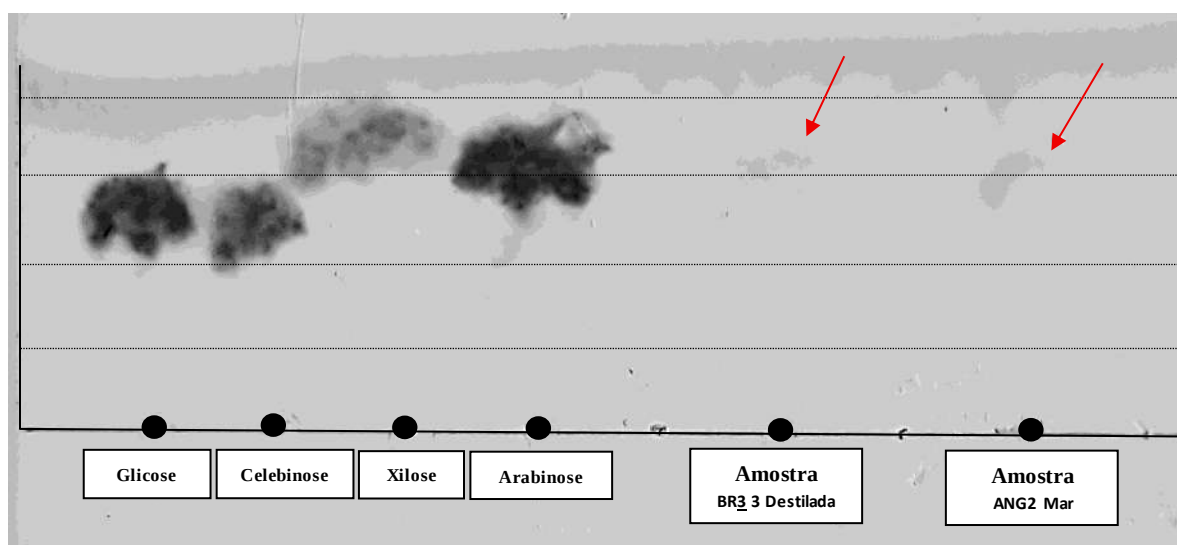
- D_c = distância percorrida pelo componente (mancha) a partir da linha de aplicação (em cm);
- D_s = distância percorrida pela frente do solvente desde a linha de aplicação até a frente do solvente (em cm).

Na prática, mede-se com régua a linha de aplicação (marcada), a posição central da mancha (D_c) e a posição da frente do solvente (D_s) — todos na mesma unidade — e então divide-se D_c por D_s para obter um número adimensional entre 0 e 1. A identificação de um composto é feita pela comparação do R_f da mancha da amostra com o R_f do(s) padrão(ões) submetidos à mesma corrida (Nascimento, 2023).

A fim de aferir a possibilidade de análise da CCD das amostras produzidas da inoculação da microbiota associada a molusco Teredinidae, foi proposto uma análise preliminar, utilizando padrões de glicose, celebiose, xilose e arabinose com as amostras BR3_3 Destilada (Meio líquido com água destilada) e ANG2 Mar (Meio líquido com água do mar).

Neste teste preliminar (Figura 30), foi notório, mesmo de forma mais sutil, o aparecimento de marcações da placa de CCD, denotando-se a uma possível quebra lignocelulósica proveniente das ações enzimáticas da microbiota associado ao trato intestinal do molusco da família Teredinidae. O resultado da CCD sugere que a ação da microbiota visceral do molusco sobre os glicídios da cana-de-açúcar resultou na possível liberação de glicose em ambas as amostras testadas. Com base nessa suposição a detecção de glicose indica que a microbiota possui atividade glicosídica (como β -glicosidases e/ou celulasas) capaz de quebrar dissacarídeos (como celobiose ou sacarose) e/ou oligossacarídeos maiores presentes no material lignocelulósico, liberando o monossacarídeo principal (da Silva *et al.* 2019; Nascimento, 2023).

Figura 30 — Cromatografia em camada delgada.



Fonte: Autor (2025).

A identificação dos produtos de hidrólise é realizada por meio da coincidência entre a altura e a coloração (quando distinguível) das manchas das amostras e dos padrões, conforme verificado na figura 31. Observa-se que, na faixa correspondente à amostra BR3 Destilada, há uma mancha visível que coincide fortemente em altura (R_f) com os padrões de xilose e arabinose, enquanto a amostra ANG2 Mar também exibe uma coincidência marcante com esses açúcares. Essa correspondência indica a ocorrência de hidrólise parcial da fração hemicelulósica da biomassa de cana-de-açúcar, sugerindo a atuação de enzimas como xilanases e arabinofuranosidases secretadas por microrganismos endossimbiontes. Esses resultados são compatíveis com observações anteriores em sistemas simbióticos de *Teredinidae*, nos quais bactérias associadas apresentam repertórios genéticos robustos para degradação de hemicelulose e celulose (Trindade-Silva *et al.* 2009; Ghio *et al.* 2012; Brito *et al.* 2018).

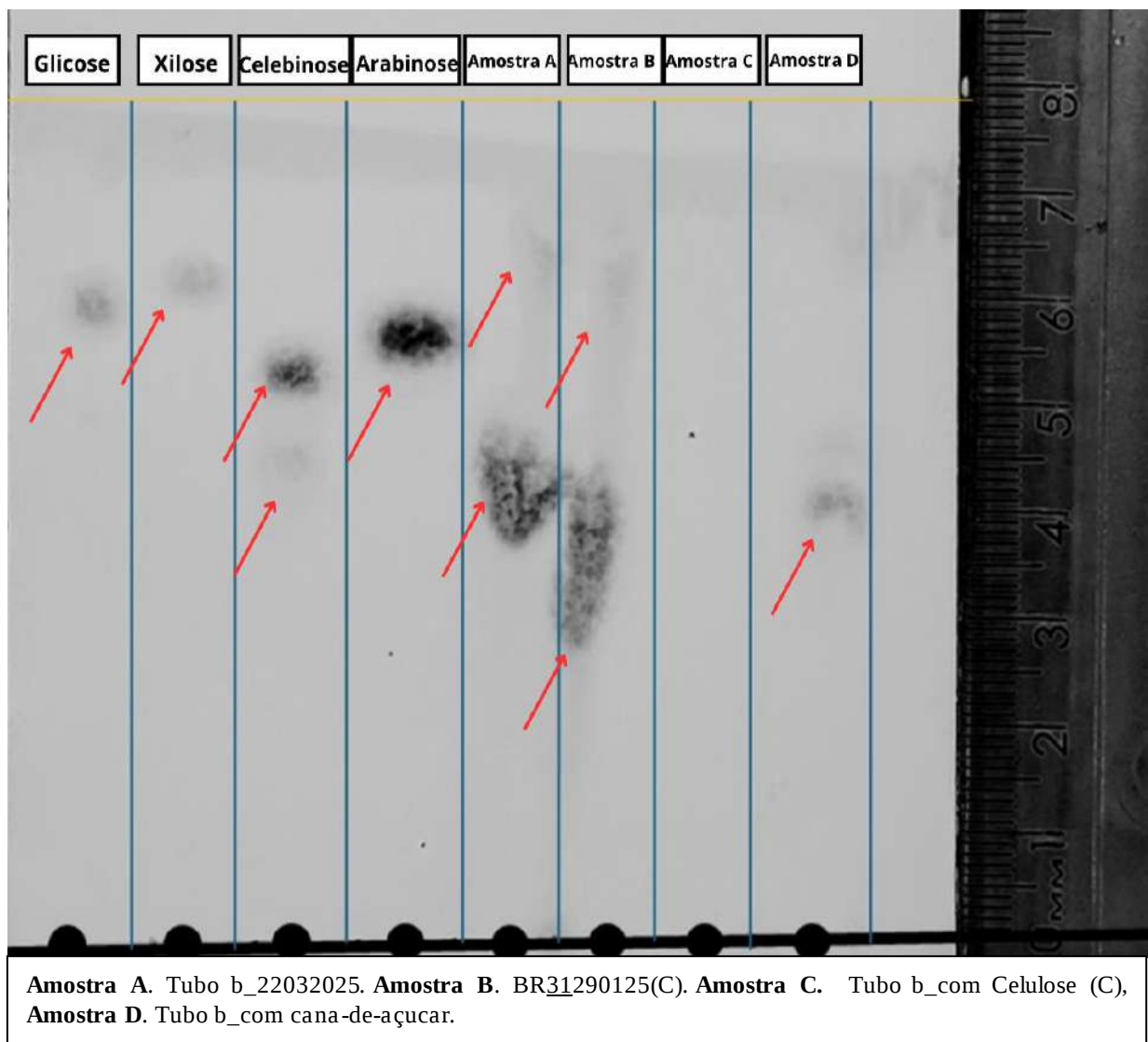
Entretanto, não se observa coincidência clara com os padrões de celobiose, xilose ou arabinose em determinadas amostras, o que sugere que, sob as condições do ensaio e tempo de incubação empregados, a liberação desses monossacarídeos pode ter sido limitada. É plausível que a celobiose, se presente, tenha sido subsequentemente hidrolisada em glicose por ação de β -glicosidases, indicando uma hidrólise completa dos dissacarídeos formados nas etapas anteriores. Essa interpretação é consistente com estudos sobre cepas dos gêneros *Bacillus* e *Lysinibacillus*, frequentemente isoladas de ambientes lignocelulósicos e conhecidas pela alta atividade β -glicosidásica e celulolítica, desempenhando papel essencial na desconstrução final de oligossacarídeos (Ríos-Alvarado *et al.* 2024; Gonçalves *et al.* 2024).

A etapa preliminar da cromatografia em camada delgada (CCD) revelou indícios da liberação de açúcares simples, notadamente glicose, evidenciando a atividade hidrolítica da microbiota intestinal do molusco *Teredinidae* sobre o substrato lignocelulósico da cana-de-açúcar. Esse resultado corrobora a hipótese de que a comunidade microbiana simbiótica possui enzimas adaptadas à degradação de polissacarídeos vegetais, como endoglucanases, xilanases e β -glicosidases, confirmando sua capacidade de converter frações complexas da biomassa em unidades fermentescíveis. A liberação de glicose reforça a funcionalidade metabólica da microbiota, sugerindo uma via integrada de conversão lignocelulolítica semelhante à observada em *Teredinibacter turnerae*, espécie simbiote modelo amplamente estudada em bivalves xilófagos (Trindade-Silva *et al.* 2009; Brito *et al.* 2018; Gasser *et al.* 2024).

Com base nesses resultados iniciais, foi conduzida uma segunda análise cromatográfica, de caráter confirmatório, com o objetivo de refinar a identificação dos produtos de degradação e verificar a correspondência entre as manchas das amostras e os padrões de monossacarídeos

e dissacarídeos. Essa segunda triagem permitiu avaliar de forma mais robusta o perfil de açúcares redutores, contribuindo para validar a eficiência da hidrólise enzimática e confirmar a presença de atividades complementares no consórcio microbiano. Ensaio dessa natureza são fundamentais para correlacionar as evidências bioquímicas com os resultados moleculares e taxonômicos, fortalecendo a compreensão do potencial biotecnológico da microbiota simbiótica de *Neoteredo reynei* como fonte inovadora de sistemas enzimáticos aplicáveis à produção de etanol de segunda geração (Brito *et al.* 2018; Gonçalves *et al.* 2024; Ríos-Alvarado *et al.* 2024).

Figura 31 — Segundo teste da CCD com quatro padrões e quatro amostras.



Fonte: Autor (2025).

A segunda etapa da análise cromatográfica confirmou a presença de glicose como principal produto da ação microbiana, reforçando a hipótese de atividade glicosídica mediada por β -glicosidases e/ou celulasas. Essa constatação sugere que as enzimas secretadas pela microbiota simbiótica de *Neoteredo reynei* foram capazes de promover a hidrólise da celobiose e de outros oligossacarídeos intermediários, liberando glicose como produto final. Tal padrão é típico de sistemas enzimáticos altamente eficientes, em que há coordenação sinérgica entre endoglucanases, exoglucanases e β -glicosidases, resultando em degradação completa da fração celulósica. Estudos prévios com bactérias marinhas dos gêneros *Bacillus*, *Lysinibacillus* e *Teredinibacter* demonstram comportamento semelhante, com expressão diferencial de genes codificadores de hidrolases adaptadas a substratos lignocelulósicos, o que reforça a robustez funcional do sistema simbiótico investigado (Trindade-Silva *et al.* 2009; Ghio *et al.* 2012; Brito *et al.* 2018).

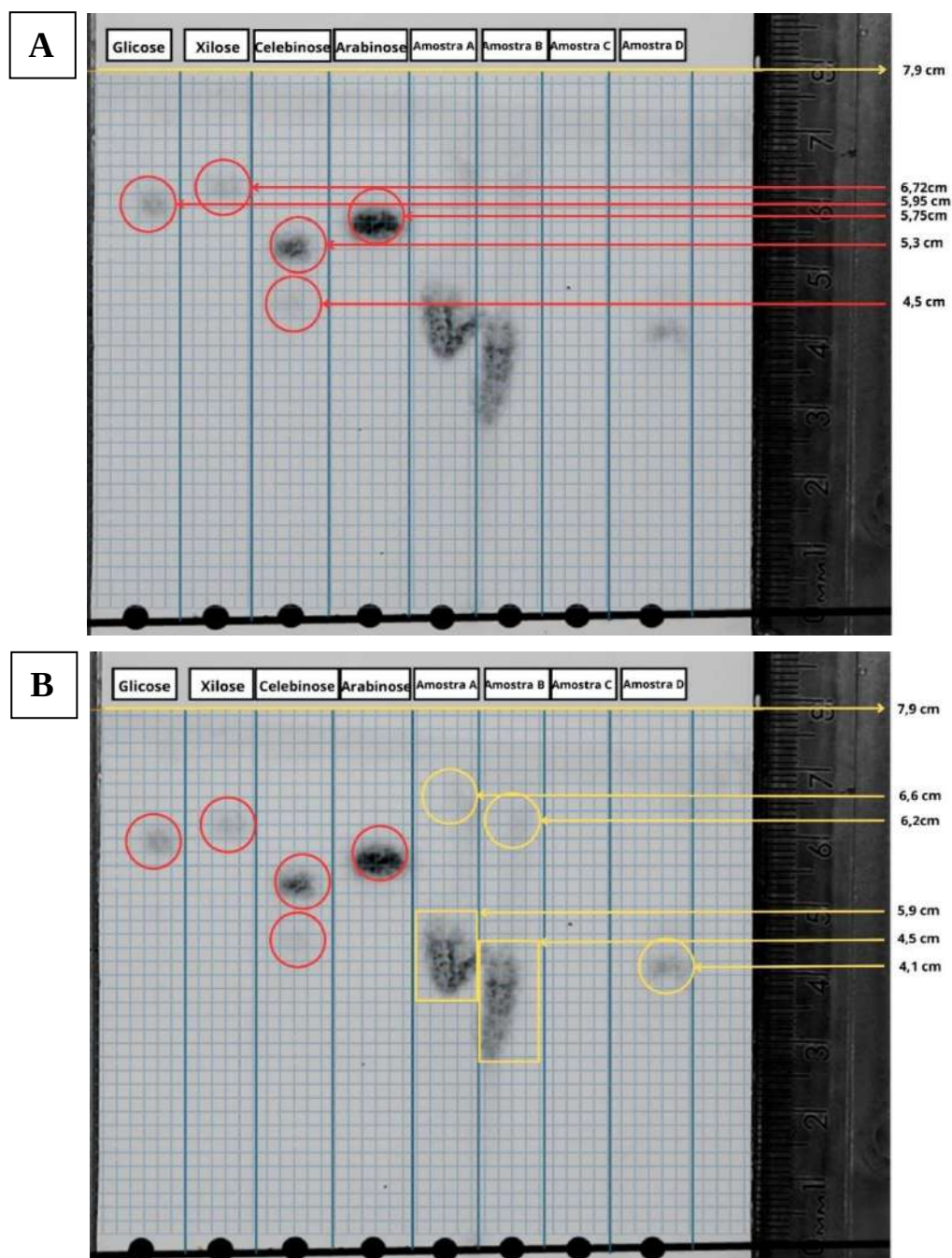
A comparação entre padrões e amostras revelou um perfil cromatográfico caracterizado pela distribuição regular das manchas ao longo da placa, com distâncias de migração (D_c) medidas em centímetros e cálculo subsequente do fator de retenção (R_f). As linhas horizontais traçadas sobre as imagens indicaram claramente as posições correspondentes aos padrões de referência e às amostras, assegurando a precisão das medições. A placa revelada demonstrou um gradiente de migração consistente, indicando homogeneidade do sistema solvente e boa resolução entre as zonas de migração dos açúcares. Esse comportamento é característico de separações eficazes em cromatografia de açúcares redutores e fornece uma base confiável para inferência qualitativa sobre os produtos da hidrólise enzimática (Ríos-Alvarado *et al.* 2024; Gonçalves *et al.* 2024).

A mancha referente à celobiose, dissacarídeo derivado da ação das exoglucanases, apresentou a menor distância de migração na placa, fato que se explica por sua maior massa molecular e, consequentemente, menor mobilidade no sistema cromatográfico. Essa observação é coerente com o papel da celobiose como intermediário primário da degradação da celulose: as exoglucanases clivam as extremidades das cadeias de celulose liberando celobiose, que, por sua vez, é hidrolisada pelas β -glicosidases em unidades de glicose. Essa sequência de reações reflete a organização modular do sistema lignocelulolítico e demonstra que a microbiota simbiótica analisada reproduz, em escala laboratorial, a cascata enzimática natural descrita em bivalves xilófagos (Trindade-Silva *et al.* 2009; Brito *et al.* 2018; Gasser *et al.* 2024).

As manchas correspondentes aos monossacarídeos glicose, xilose e arabinose exibiram valores de R_f mais altos, indicando maior mobilidade e menor retenção na sílica, conforme

esperado para moléculas de menor massa. Esses açúcares representam os produtos finais da degradação lignocelulósica, sendo a glicose derivada da celulose e a xilose e arabinose provenientes da hemicelulose. A presença desses monossacarídeos confirma a atividade hidrolítica efetiva da microbiota simbiótica de *Neoteredo reynei* e evidencia seu potencial biotecnológico para processos de conversão de biomassa em etanol de segunda geração (Ghio *et al.* 2012; Ríos-Alvarado *et al.* 2024; Gonçalves *et al.* 2024).

Figura 32 — CCD de açúcares padrões e amostras.



Fonte: Autor (2025).

As figuras 32 é destacada a corrida da CCD de açúcares padrões e amostras, onde as manchas dos padrões (glicose, xilose, celobiose e arabinose) estão indicadas por círculos vermelhos, enquanto as das amostras (A–D) estão destacadas em amarelo, com as respectivas distâncias (D_c em relação à linha de aplicação e a frente do solvente ($D_s = 7,9$ cm). Os padrões de referência apresentaram mobilidades compatíveis com o comportamento esperado para monossacarídeos e dissacarídeos na fase móvel empregada (Instituto Adolfo Lutz, 1985; Nascimento, 2023).

Tabela 2 Valores de distância percorrida (D_c) e fator de retenção (R_f) dos padrões e amostras obtidos na cromatografia em camada delgada.

Substância / Amostra	Identificação / Código	Distância percorrida (D_c , cm)	Distância da frente do solvente (D_s , cm)	R_f (D_c / D_s)	Observação cromatográfica
Padrão Glicose	–	6,72	7,9	0,85	Mancha intensa e bem definida; migração mais alta, típica de monossacarídeos.
Padrão Xilose	–	5,95	7,9	0,75	Mancha nítida; migração intermediária, condizente com monossacarídeo pentose.
Padrão Celobiose	–	5,75	7,9	0,73	Mancha dupla levemente difusa; comportamento característico de dissacarídeo.
Padrão Arabinose	–	5,30	7,9	0,67	Mancha bem delimitada; monossacarídeo de menor polaridade relativa.
Amostra A	Tubo b_22032025	4,5 – 5,9	7,9	0,57 – 0,75	Presença de manchas sobrepostas; zona principal em $R_f \approx 0,57$ e difusa próxima a 0,73 (possível xilose/celobiose).
Amostra B	BR31290125(C)	4,1 – 6,2	7,9	0,52 – 0,78	Duas regiões: uma banda difusa intermediária e outra próxima ao R_f de xilose.
Amostra C	Tubo b_com Celulose (C)	4,5 – 6,6	7,9	0,57 – 0,84	Zonas difusas; presença de compostos com mobilidade próxima à glicose.
Amostra D	Tubo b_com Cana-de-açúcar	5,9 – 6,6	7,9	0,75 – 0,84	Mancha de alta migração; forte similaridade com glicose e xilose.

Fonte: Autor (2025).

Em conformidade com o exposto na tabela as amostras A e B exibiram manchas principais em $R_f \approx 0,57$, indicando a possível presença de açúcares de maior massa molecular (ou parcialmente polimerizados), além de regiões difusas próximas a 0,73–0,75, sugerindo a presença de xilose e/ou celobiose. Já as amostras C e D, com manchas mais elevadas ($R_f > 0,75$), apontam para açúcares menores e mais móveis, como glicose, coerente com a hipótese de hidrólise parcial de celulose ou sacarose. A zona difusa observada nas amostras A e B pode estar associada à presença de oligossacarídeos incompletamente separados, o que é comum em sistemas contendo misturas complexas de carboidratos

Esses resultados indicam que as amostras analisadas apresentaram ocorrência de açúcares redutores de menor peso molecular, o que sugere a quebra parcial da fração lignocelulósica durante o processo de hidrólise. A ausência de uma mancha com R_f coincidente ao da glicose ($R_f \approx 0,85$) aponta, entretanto, que não houve degradação completa da celulose em monossacarídeos, corroborando um processo de hidrólise incompleto ou moderado, possivelmente limitado por barreiras estruturais ou condições de reação insuficientes ((Instituto Adolfo Lutz, 1985; Nascimento, 2023)

Resultados similares foram observados por, da Silva *et al.* (2019), que, ao empregar CCD na caracterização de produtos da hidrólise enzimática de biomassa lignocelulósica, também relatou a presença predominante de oligossacarídeos e açúcares intermediários em reações parciais de degradação, reforçando a aplicabilidade da técnica como ferramenta qualitativa de monitoramento da quebra lignocelulósica (da Silva *et al.* 2019; Nascimento, 2023).

O fator de retenção (R_f) foi calculado como a razão entre a distância percorrida pelo soluto (D_c) e distância percorrida pela frente do solvente (D_s): $R_f = D_c/D_s$. Para cada placa, D_c e D_s foram medidas com régua em centímetros e os valores inseridos em planilha para cálculo automático do R_f . Valores obtidos para os padrões foram. glicose: 0,851; xilose: 0,753; celobiose: 0,728; arabinose: 0,671. A(s) mancha(s) observada(s) nas amostras apresentou/ram $R_f \approx 0,570$, não coincidente(s) com os padrões na mesma corrida, sugerindo ausência de correspondência direta com os monossacarídeos testados. Conclui-se, portanto, que há evidência de quebra parcial da fração lignocelulósica (presença de oligossacarídeos e sinais intermediários), porém não há evidência consistente de hidrólise completa em glicose nas condições avaliadas.

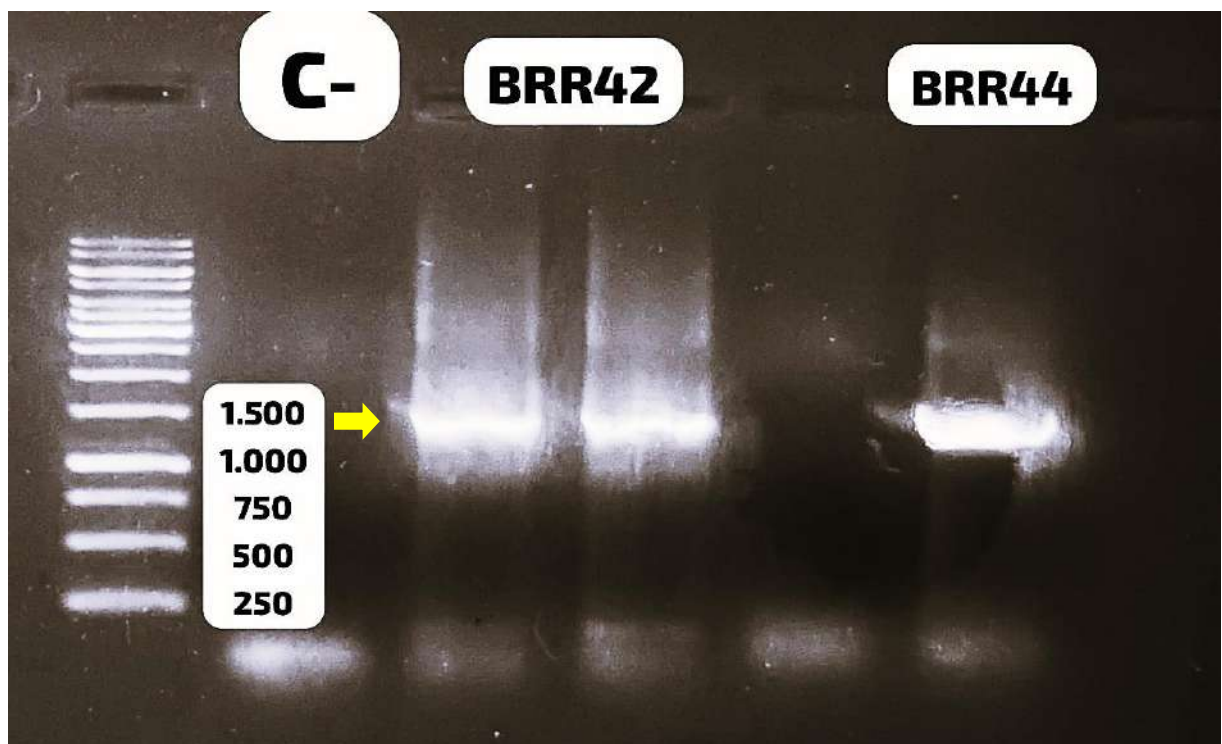
4.7. Extração e amplificação de DNA bacteriano

Os procedimentos metodológicos e protocolos usados na extração e amplificação foram feitos no Laboratório de Recursos Genéticos (Largen) que faz parte do Programa de Pós-Graduação em Sistemática, Uso e Conservação da Biodiversidade (PPGSis) da Universidade Federal do Ceará (UFC), sob orientação da Professora Dr^a. Denise Cavalcante Hissa.

A extração do DNA genômico da biomassa microbiana foi realizada utilizando protocolo baseado em lises por *bead-beating* seguido por purificação com colunas de sílica (Kit comercial, Qiagen®), segundo as instruções do fabricante. A concentração e pureza do DNA foram determinadas por espectrofotometria (Nanodrop 2000, *Thermo Fisher Scientific*) (de Boer *et al.* 2010; Wydro; Burbach; Schmid; Tebbe, 2016; Bieñ; Malinowska, 2022).

Antes do sequenciamento, os produtos de PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 2%, corado com GelRed®, e visualizados sob luz UV. A figura 33 mostra a separação eletroforética dos *amplicons* obtidos para as amostras BRR42 e BRR44. Bandas únicas e bem definidas com aproximadamente 1.500 pb confirmam o sucesso da amplificação da região alvo do gene 16S rRNA. O controle negativo (C-) não apresentou bandas, validando a ausência de contaminação durante o processo (Vishnivetskaya *et al.* 2014; Fujiyoshi; Muto-Fujita; Maruyama, 2020).

Figura 33 — Eletroforese das amostras BRR42 e BRR44.



Fonte: Autor (2025).

A identificação taxonômica das linhagens bacterianas foi conduzida por PCR da região hipervariável do gene 16S rRNA, utilizando os pares de primers universais 27F (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') e 1492R (5'-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3'), amplamente reconhecidos por sua capacidade de amplificar a maioria das bactérias conhecidas. A reação de PCR resultou em produtos com tamanho esperado de aproximadamente 1500 pares de bases (pb). A visualização dos produtos foi realizada por eletroforese em gel de agarose a 2%, corado com brometo de etídio e submetido à leitura sob luz UV (Frank *et al.* 2008; Mao *et al.* 2012; Abellan-Schneyder *et al.* 2021).

Os resultados da eletroforese revelaram bandas únicas e nítidas para ambas as amostras analisadas (BRR42 e BRR44), com tamanho compatível com o fragmento alvo do gene 16S rRNA. As bandas estavam localizadas entre os marcadores de 1000 pb e 1500 pb, próximas à faixa superior da escada de peso molecular, o que reforça a eficiência e a especificidade da amplificação. A ausência de bandas no controle negativo (C-) indica que não houve contaminação na reação, garantindo a confiabilidade do procedimento (de Boer *et al.* 2010; Walker *et al.* 2015; Fujiyoshi; Muto-Fujita; Maruyama, 2020).

A presença de bandas únicas e bem definidas sugere a predominância de um único tipo bacteriano nas amostras cultivadas, o que é comum em isolados puros ou microbiotas selecionadas por enriquecimento. As bandas de interesse foram, então, cuidadosamente excisadas do gel e purificadas utilizando o sistema comercial Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System, seguindo as recomendações do fabricante. Em seguida, os fragmentos purificados foram encaminhados para sequenciamento por método de Sanger (Walker *et al.* 2015; Strader, Betz, 2021).

A integridade do DNA amplificado, aliada à especificidade dos primers e à ausência de contaminantes ou produtos inespecíficos, confere robustez ao processo de identificação molecular. Conforme preconizado pelas diretrizes do MIQE (Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments) e por protocolos clássicos de biologia molecular, esses critérios são fundamentais para garantir a reprodutibilidade e a validade dos dados obtidos (Bustin, S. A. *et al.* 2009; Green e Sambrook, 2012).

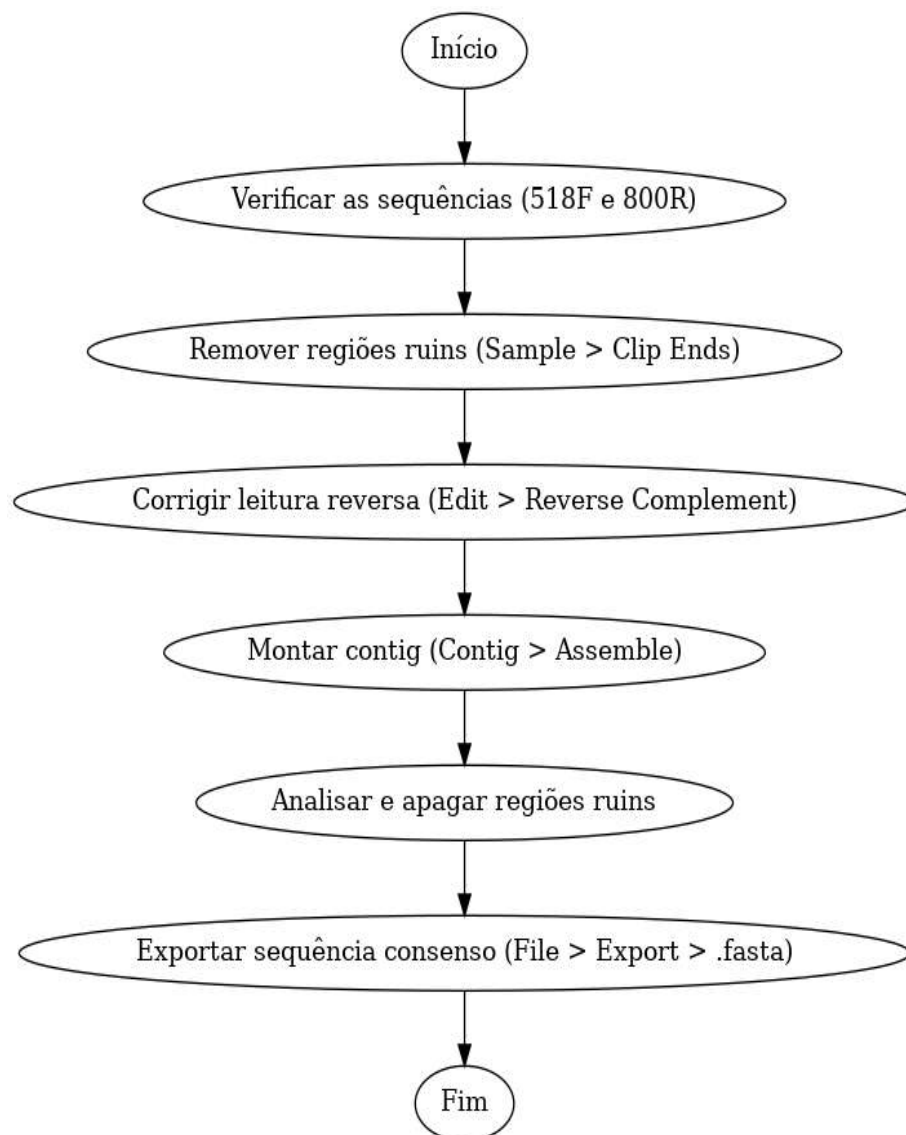
4.8 Análise de Sequências de DNA Bacteriano no CodonCode Aligner®

Após a obtenção das sequências nucleotídicas do gene 16S rRNA por meio do sequenciamento Sanger, os dados brutos foram exportados em formato *.fasta*, contendo as

leituras diretas (*reads*) de cada amostra. Em seguida, essas sequências foram importadas para o *software* *Codon Code Aligner*®, uma ferramenta amplamente utilizada para o processamento, edição e montagem de sequências Sanger (Frank *et al.* 2008; Walker *et al.* 2015).

Dentro do *software*, cada sequência foi inicialmente avaliada quanto à qualidade de leitura, com base na análise dos cromatogramas — gráficos que representam os picos de fluorescência associados a cada nucleotídeo identificado. Regiões com baixa qualidade de leitura, frequentemente localizadas nas extremidades das sequências ou em áreas com sobreposição deficiente de picos, foram inspecionadas manualmente e, quando necessário, removidas ou ajustadas (Anexo B).

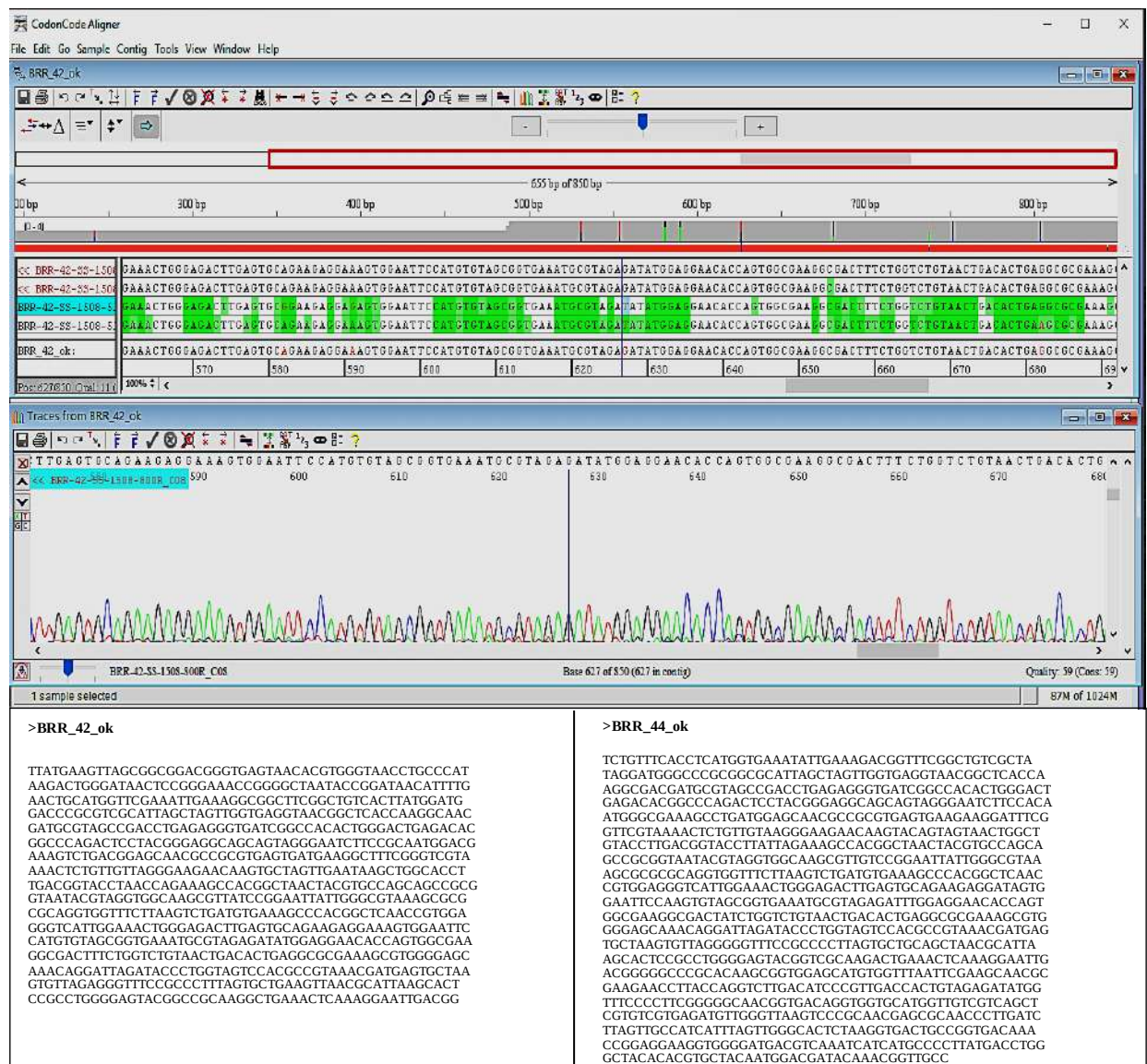
Figura 34 — Fluxograma do processo



Fonte: Autor (2025).

Após o refinamento das sequências, os contigs finais — ou seja, as sequências de consenso resultantes da sobreposição das leituras *forward* e *reverse*, foram montados automaticamente pelo software. Esse processo garantiu maior precisão na reconstrução do fragmento completo do gene 16S rRNA, eliminando erros pontuais de leitura e maximizando a integridade da sequência para posterior análise de similaridade e identificação taxonômica como mostrado na figura 35.

Figura 35 — Análise com o software CodonCode Aligner®



Fonte. Autor (2025).

A amostra BRR_44_ok foi identificada como pertencente ao gênero *Lysinibacillus*, com alinhamento de 1089 pb e correspondência com *Lysinibacillus fusiformis* e *Lysinibacillus* sp. A

amostra BRR_42_ok apresentou correspondência com *Bacillus wiedmannii*, com alinhamento de 848 pb e identidade de 100%, como pode ser observado na Tabela 3 e 4.

Tabela 3. Resultado do sequenciamento da amostra BRR_42_ok

Estirpe	Espécies mais relacionadas no GenBank (Consenso ID)	16rDNA		Número de acesso GenBank
		ID (%)	Tamanho (pb)	16s rRNA
PUMB 55	<i>Bacillus tropicus</i>	100%	5318383	CP128608.1
NH26	<i>Bacillus thuringiensis</i>	100%	1420	OP164588.1
HC18a1	<i>Bacillus cereus</i>	100%	1450	KJ206078.1
F50	<i>Bacillus sp.</i>	100%	1409	KF788236.1
CanR-22	<i>Bacillus sp.</i>	100%	1513	KT580647.1
M75	<i>Bacillus cereus</i>	100%	1413	LN890161.1
1111TES13M4	<i>Bacillus anthracis</i>	100%	982	LN774399.1
SK3-15	<i>Bacillus proteolyticus</i>	100%	1453	MN421113.1
TS29	<i>Bacillus wiedmannii</i>	100%	1429	OR388780.1
1-R-4	<i>Uncultured Bacillus</i>	100%	999	MK133103.1
GFK31	<i>Bacillus albus</i>	100%	1465	ON514242.1
L6-A1	<i>Bacillus sp. (in: Bacteria)</i>	100%	1449	OP364896.1
AAC5	<i>Bacillus cereus</i>	100%	1356	MW898435.1
CanS-92	<i>Bacillus sp.</i>	100%	1513	KT580624.1
BTH1	<i>Bacillus thuringiensis</i>	100%	1273	MK561610.1
AFS075742	<i>Bacillus cereus</i>	100%	1540	OP986966.1
w922-36	<i>Bacillus cereus</i>	100%	1452	PV652536.1
BS1150	<i>Bacterium strain</i>	100%	1456	MK824338.1
CK18	<i>Bacillus tropicus</i>	100%	5237233	CP085399.1
875-32	<i>Bacillus sp. (in: firmicutes)</i>	100%	1456	PV652552.1
XJG-7	<i>Bacillus cereus</i>	100%	1449	MF101131.1
V5332	<i>Bacillus wiedmannii</i>	100%	1421	PP256861.1
SNH-K57	<i>Bacillus sp.</i>	100%	1441	MN493910.1
FC1001	<i>Bacillus cereus</i>	100%	1456	PV652552.1
V3499	<i>Bacillus proteolyticus</i>	100%	1353	OR758371.1
NBAIR_Bt31	<i>Bacillus thuringiensis</i>	100%	1396	PP506470.1
ZJS3	<i>Bacillus sp.</i>	100%	5280761	CP094455.1
SEM-15	<i>Bacillus cereus</i>	100%	1412	OM535883.1
BH1-7	<i>Bacillus sp.</i>	100%	1424	MN410653.1
R8(2014b)	<i>Bacillus sp.</i>	100%	1365	KJ605141.1

*Foram obtidos 100 resultado 100% aqui descrito estão apenas os 30 primeiros

Fonte: Autor (2025).

Tabela 4. Resultado do sequenciamento da amostra BRR_44_ok

Estirpe	Espécies mais relacionadas no GenBank (Consenso ID)	16rDNA		Número de acesso GenBank
		ID (%)	Tamanho (pb)	16s rRNA
P9-2	<i>Lysinibacillus sp.</i>	100%	1341	MT255074.1
XS 4-5	<i>Lysinibacillus fusiformis</i>	100%	1437	MN999997.1
XS 2-7	<i>Lysinibacillus fusiformis</i>	100%	1432	MN999987.1
XS 2-4	<i>Lysinibacillus fusiformis</i>	100%	1433	MN999984.1
PS43	<i>Lysinibacillus sp.</i>	100%	1452	PV450060.1
PM51	<i>Lysinibacillus sp.</i>	100%	1452	PV449994.1
IRS01	<i>Lysinibacillus sp.</i>	100%	1514	PV523609.1
P12-0-1-2	<i>Lysinibacillus sp. B-2-20</i>	100%	1415	PV490783.1
P21-1-2-1	<i>Lysinibacillus sp.</i>	100%	1419	PV490782.1
D11-0-1	<i>Lysinibacillus fusiformis</i>	100%	1419	PV490768.1
R1-3	<i>Lysinibacillus sphaericus</i>	100%	1456	PV258519.1
LS	<i>Lysinibacillus sp.</i>	100%	1456	PV207605.1
NBAIR_LS50	<i>Lysinibacillus sphaericus</i>	100%	1261	PV147849.1
NBAIR_LS31	<i>Lysinibacillus sphaericus</i>	100%	1391	PV130369.1
ZT414	<i>Lysinibacillus fusiformis</i>	100%	1454	PQ782906.1
ZHCPRcN17	<i>Bacillota bacterium</i>	100%	1461	PQ779983.1
Streptomycin treatment-Soil 413	<i>Lysinibacillus fusiformis</i>	100%	1419	OP763931.1
YT41	<i>Lysinibacillus fusiformis</i>	100%	1540	PQ577987.1
2FB-2	<i>Lysinibacillus sp.</i>	100%	1423	PQ363115.1
M.A.Huq-107	<i>Lysinibacillus sp.</i>	100%	1479	PQ276986.1
Haikou17	<i>Lysinibacillus fusiformis</i>	100%	1362	PP572863.1
MSK66	<i>Lysinibacillus fusiformis</i>	100%	1433	PQ046258.1
V3500	<i>Lysinibacillus fusiformis</i>	100%	1413	PQ013837.1
CBNU_54B1	<i>Lysinibacillus fusiformis</i>	100%	1394	PP600167.1
L-8	<i>Lysinibacillus fusiformis</i>	100%	1393	PP574289.1
SW_NMI_TSB_3	<i>Lysinibacillus fusiformis</i>	100%	1454	OP782634.1
1697	<i>Lysinibacillus fusiformis</i>	100%	1432	OR821776.1
V3247	<i>Lysinibacillus fusiformis</i>	100%	1394	OR758201.1
V3780	<i>Lysinibacillus fusiformis</i>	100%	1353	OR755229.1
PB 34	<i>Lysinibacillus fusiformis</i>	100%	1496	OR673992.1

*Foram obtidos 100 resultado 100% aqui descrito estão apenas os 30 primeiros

Fonte: Autor (2025) .

As espécies identificadas pertencem ao filo *Firmicutes*, com destaque para os gêneros *Lysinibacillus* e *Bacillus*, reconhecidos por sua ampla distribuição ambiental e potencial em aplicações biotecnológicas. Os resultados obtidos fornecem base sólida para as etapas seguintes de análise filogenética e interpretação ecológica do estudo.

A identificação taxonômica das amostras bacterianas BRR_42_ok e BRR_44_ok, com base no sequenciamento da região do gene 16S rRNA, permitiu sua classificação nos gêneros *Bacillus* e *Lysinibacillus*, respectivamente. Esses gêneros são reconhecidamente abundantes em ambientes ricos em matéria orgânica e apresentam grande diversidade funcional, incluindo a capacidade de degradar polímeros naturais e sintéticos, como demonstrado na Tabela 3.

Tabela 5. Características e Potencial Biotecnológico de Espécies dos Gêneros *Lysinibacillus* e *Bacillus*.

Gênero / Espécie	Características Biológicas	Bioquímica / Molecular	Aplicação Biotecnológica	Atividade Lignocelulósica	Manguezal	Referência
<i>Lysinibacillus</i> sp. (cupim)	Gram-positivo, aeróbio; isolado do intestino de cupins; utiliza resíduos de palmeira de dendê como fonte de C.	Produce lignina peroxidase (377,6 U/L), manganês peroxidase (218,2 U/L) e lacase (405,4 U/L); deslignificação (~4–6 %)	Pré-tratamento de resíduos lignocelulósicos (e.g. palmeira)	Sim	Não	Ayeronfe <i>et al.</i> 2019
<i>Lysinibacillus xylanilyticus</i>	Gram-positivo, aeróbio, endospórico; isolado de húmus de floresta; degrada xilana	Hidrolisa xilana, atuando como xilanase	Produção de enzimas para bioprodutos alimentares e papel	Sim (xilanase ativa)	Não	Lee <i>et al.</i> 2010
<i>Bacillus haynesii</i> DS7010	Gram-positivo, aeróbio; sedimento de mangue (Índia); cresce até 3 % NaCl; utiliza celulose ligada à enzima CelA/B	Atividade endo/exoglucanase e β-glicosidase; multidomínios GH48/GH5; produz 8 isoformas (78–245 kDa)	Produção de celulases tolerantes a sal e metais – útil em biorremediação costeira	SIM	SIM	Palit e Das, 2024
<i>Bacillus licheniformis</i> (CDB-12)	Gram-positivo, aeróbio; isolado de solo de manguezal (Índia); contém celulase	Produce 98,25 U/mL de celulase em 72 h; pico a 45 °C, pH7	Produção industrial de celulose-degradantes em ambientes salina	SIM	SIM	Behera <i>et al.</i> 2016
<i>Bacillus pumilus</i> CCMA-560	Gram-positivo, aeróbio; mangue contaminado por óleo; produz biossurfactantes e degrada hemicelulose/pectina	Genes relacionados à hemicelulólise e pectinolise; exporta biopolímeros	Biorremediação de óleo + uso industrial de hemicelulases/pectinases	SIM	SIM	Domingos <i>et al.</i> 2013
<i>Bacillus pumilus</i> MCB-7	Gram-positivo, aeróbio; manguezal; produz alta atividade de quitosanase (3,36 U/mL)	Produce quitosanase ativa até 60 °C e sal até 3 %; antifúngica e inseticida	Controle biológico contra fitopatógenos e pragas agrícolas	NAO	SIM	Rishad <i>et al.</i> 2017

REFERENCIA

AYERONFE, Fadilat; KASSIM, Angzzas; HUNG, Patricia; ZAINULABIDIN, Hafiz; ISHAK, Nadiah; SYARIFAH, Sharfina; ARIPI, Ashuvila. Evaluation of *Lysinibacillus* SP, isolated from *Coptotermes curvignathus* Gut, for the delignification of oil palm residues. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 35, n. 3, p. 892-902, maio/jun. 2019. Disponível em: 10.14393/BJ-v35n3a2019-42070. Acesso em: 9 nov. 2025.

LEE, C. S.; JUNG, Y. T.; PARK, S.; OH, T. K.; YOON, J. H. *Lysinibacillus xylanilyticus* sp. nov., a xylan-degrading bacterium isolated from forest humus. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, v. 60, n. Pt 2, p. 289–293, 2010. DOI: 10.1099/ijse.0.013367-0. Acesso em: 9 nov. 2025.

PALIT, Krishna; DAS, Surajit. Cellulolytic potential of mangrove bacteria *Bacillus haynesii* DS7010 and the effect of anthropogenic and environmental stressors on bacterial survivability and cellulose metabolism. **Environmental Research**, [S. l.], v. 252, pt. 1, 118774, 1 jul. 2024. Disponível em: 10.1016/j.envres.2024.118774. Acesso em: 9 nov. 2025.

BEHERA, B. C.; MISHRA, R. R.; SINGH, S. K.; DUTTA, S. K.; THATOI, H. Cellulase from *Bacillus licheniformis* and *Brucella* sp. isolated from mangrove soils of Mahanadi River delta, Odisha, India. *Biocatalysis and Biotransformation*, v. 34, n. 1, p. 1–10, 2016. DOI: 10.1080/10242422.2016.1212846. Acesso em: 1 nov. 2025.

DOMINGOS, D. F. *et al.* Draft genome sequence of *Bacillus pumilus* CCMA 560, isolated from an oil-contaminated mangrove swamp. *Genome Announcements*, v. 1, n. 5, e00707-13, 2013. DOI: 10.1128/genomeA.00707-13. Acesso em: 1 nov. 2025.

RISHAD, K. S.; REBELLO, S.; SHABANAMOL, P. S.; JISHA, M. S. Biocontrol potential of Halotolerant bacterial chitinase from high yielding novel *Bacillus Pumilus* MCB-7 autochthonous to mangrove ecosystem. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, [S. l.], v. 137, p. 36-41, 2017. Disponível em: 10.1016/j.pestbp.2016.09.005. Acesso em: 1 nov. 2025.

Fonte: Autor (2025)

Apesar do alto percentual de identidade (100%) com sequências de referência no BLASTn, é importante destacar que o gene 16S rRNA não possui resolução suficiente para diferenciação entre espécies próximas dentro de certos grupos filogenéticos, como o complexo *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *B. thuringiensis* e seus parentes próximos. Isso se deve à alta conservação do gene 16S entre espécies estreitamente relacionadas, que pode resultar em falsas atribuições taxonômicas em nível específico. Assim, a identificação obtida neste estudo deve ser interpretada com cautela, sendo confiável até o nível de gênero.

Para aumentar a resolução taxonômica e alcançar identificações em nível de espécie ou cepa, recomenda-se a utilização de marcadores moleculares adicionais ou abordagens multilocus. Os principais incluem *gyrB* (*gyrase subunit B*), *rpoB* (*RNA polymerase subunit B*), *recA* (*recombinase A*), MLSA (*Multilocus Sequence Analysis*) e *Genoma completo* / WGS.

A adoção dessas abordagens é particularmente relevante quando o objetivo envolve a exploração biotecnológica de microrganismos, como observado neste estudo, onde as linhagens identificadas mostram potencial para degradação de lignocelulose, produção de enzimas hidrolíticas e biorremediação de plásticos. Tais funções, atribuídas a espécies específicas na literatura, não podem ser assumidas com base apenas na identificação por 16S, sendo necessário o isolamento, cultivo e caracterização fenotípica/genômica das linhagens envolvidas.

4.9. Discussão Integrada dos Resultados

A análise integrada dos resultados obtidos nesta pesquisa, permite compreender de forma mais ampla o potencial biotecnológico da microbiota simbiótica associada aos bivalves perfuradores de madeira da família Teredinidae. O estudo reuniu um conjunto de abordagens experimentais complementares, desde a coleta e processamento dos espécimes até a caracterização morfológica e molecular das linhagens bacterianas isoladas, visando identificar microrganismos com capacidade lignocelulolítica relevante para a produção de etanol de segunda geração (2G).

A coleta dos espécimes em ambientes de manguezal, ecossistemas ricos em matéria orgânica lignificada, foi decisiva para acessar comunidades microbianas adaptadas à degradação natural da madeira submersa. Esses ambientes caracterizam-se por condições físico-químicas variáveis e elevada disponibilidade de substratos lignocelulósicos, o que favorece a seleção de microrganismos especializados na digestão de polímeros vegetais complexos (Brito *et al.* 2018; Trindade-Silva *et al.* 2009). O isolamento da microbiota visceral

dos teredinídeos em meios seletivos enriquecidos com celulose e bagaço de cana-de-açúcar revelou colônias com morfologias distintas, sugerindo diversidade funcional adaptada à decomposição de substratos lignificados.

A caracterização morfológica e microscópica das colônias (cepas BRR_42 e BRR_44) evidenciou diferenças estruturais compatíveis com gêneros bacterianos conhecidos por sua capacidade de produção de enzimas hidrolíticas, como *Bacillus* e *Lysinibacillus*. Essa observação foi posteriormente confirmada pela análise molecular do gene 16S rRNA, que indicou 100% de similaridade com espécies desses gêneros. Ambas as linhagens são reconhecidas por apresentarem elevada atividade enzimática sobre substratos celulósicos e hemicelulósicos, além de boa estabilidade em diferentes condições ambientais (Ghio *et al.* 2012; Ríos-Alvarado *et al.* 2024; Gonçalves *et al.* 2024). A presença dessas bactérias no sistema simbiótico dos teredinídeos sugere uma relação ecológica cooperativa, na qual a microbiota contribui para a digestão da madeira ingerida pelo hospedeiro (Turner, 1966; De-Carli e Manzi-Decarli, 2012).

Os ensaios cromatográficos em camada delgada (CCD) demonstraram a liberação de açúcares redutores, como glicose, xilose e arabinose, após incubação das linhagens em substrato lignocelulósico, o que confirma a presença de atividades enzimáticas hidrolíticas ativas. Esses resultados corroboram achados prévios de que microrganismos marinhos associados a organismos xilófagos são fontes promissoras de celulasas, hemicelulasas e β -glicosidasas (Brito *et al.* 2018; Fowler *et al.* 2019; Zhou *et al.* 2019). A capacidade de degradar tanto frações de celulose quanto de hemicelulose reforça o potencial de uso dessas linhagens em coquetéis enzimáticos voltados à sacarificação de biomassa lignocelulósica, etapa essencial na produção de etanol 2G (Martins *et al.* 2014; Azevedo *et al.* 2025).

A identificação molecular das cepas BRR_42 e BRR_44 confirmou a filiação aos gêneros *Bacillus* e *Lysinibacillus*, respectivamente, reforçando o papel dessas bactérias como protagonistas em processos de degradação de biomassa. *Bacillus spp.* são amplamente relatados por produzirem enzimas termoestáveis e tolerantes a variações de pH, o que os torna adequados para aplicações industriais em larga escala (Ghio *et al.* 2012; Costa *et al.* 2021). Já *Lysinibacillus spp.* têm sido associados à secreção de complexos enzimáticos multifuncionais, capazes de atuar simultaneamente sobre diferentes componentes da biomassa vegetal (Ríos-Alvarado *et al.* 2024). Esses resultados apontam que as linhagens isoladas podem ser exploradas como fontes de biocatalisadores naturais com aplicabilidade em biorrefinarias sustentáveis.

De modo geral, a integração dos resultados obtidos confirma que a microbiota simbiótica de teredinídeos constitui um reservatório biotecnológico ainda subexplorado, com potencial relevante para a bioeconomia de energias renováveis. As evidências experimentais de degradação lignocelulósica, associadas à identificação taxonômica de microrganismos produtores de enzimas hidrolíticas, reforçam a hipótese de que organismos marinhos simbióticos podem oferecer sistemas enzimáticos mais robustos e adaptados a condições extremas do que os isolados de ambientes terrestres (Gonçalves *et al.* 2024; Gasser *et al.* 2024). Assim, os achados deste estudo contribuem para ampliar o conhecimento sobre a bioprospecção de enzimas marinhas e sua aplicação em processos de etanol de segunda geração, alinhando-se aos princípios da sustentabilidade, inovação tecnológica e valorização da biodiversidade brasileira (Costa *et al.* 2021; Broda *et al.* 2022; Araujo, 2022).

5 CONCLUSÃO

Esta pesquisa consolidou evidências robustas de que a microbiota simbiótica visceral de bivalves da família *Teredinidae* constitui uma fonte biotecnológica singular para a prospecção de microrganismos e enzimas lignocelulolíticas aplicáveis à produção de etanol de segunda geração (2G). A análise morfológica detalhada do molusco *Neoteredo reynei* confirmou as características estruturais típicas de bivalves xilófagos, especialmente adaptados à degradação de madeira em ambientes marinhos, o que reforça a hipótese de coevolução entre o hospedeiro e sua microbiota endossimbiótica.

O processo de isolamento, cultivo seletivo e caracterização microbiológica revelou a presença de linhagens bacterianas pertencentes aos gêneros *Bacillus* e *Lysinibacillus*, ambos reconhecidos por sua versatilidade metabólica, resiliência ambiental e capacidade de secreção de enzimas hidrolíticas. Os testes cromatográficos qualitativos (CCD) confirmaram a hidrólise de substratos lignocelulósicos e a consequente liberação de açúcares redutores — glicose, xilose e arabinose — evidenciando a atividade celulolítica e hemicelulolítica das linhagens isoladas. Esses resultados indicam o potencial dos simbiossiontes marinhos como modelos naturais de sistemas enzimáticos sinérgicos, com grande aplicabilidade em biorrefinarias sustentáveis.

No campo molecular, o sequenciamento do gene 16S rRNA permitiu a identificação filogenética das cepas isoladas, embora se reconheça a limitação dessa abordagem quanto à resolução taxonômica em nível de espécie. Tal restrição evidencia a necessidade de análises complementares por marcadores multilocus (*gyrB*, *rpoB*, *recA*) e abordagens ômicas integradas (genômica, transcriptômica e proteômica), que possam elucidar a arquitetura funcional e regulatória dos complexos enzimáticos observados. Além disso, ensaios quantitativos de atividade enzimática (CMCase, FPase e xilanase) e testes em escala piloto são etapas imprescindíveis para validar o desempenho industrial dessas linhagens.

Do ponto de vista biotecnológico e socioeconômico, os resultados obtidos expandem as fronteiras do conhecimento sobre a valorização da biodiversidade marinha brasileira como ativo estratégico para a bioeconomia circular. A utilização de microrganismos marinhos lignocelulolíticos pode viabilizar rotas limpas e economicamente viáveis de conversão de resíduos agroindustriais — como bagaço e palha de cana-de-açúcar — em bioetanol e coprodutos de alto valor agregado, promovendo redução de passivos ambientais e mitigação das emissões de gases de efeito estufa.

Portanto, conclui-se que as linhagens dos gêneros *Bacillus* e *Lysinibacillus* isoladas de *Teredinidae* representam candidatos promissores à formulação de coquetéis enzimáticos avançados para a desconstrução da biomassa vegetal, contribuindo diretamente para o avanço da biotecnologia marinha aplicada à transição energética. No horizonte futuro, recomenda-se o desenvolvimento de biorrefinarias de base microbiana sustentadas em microrganismos simbióticos marinhos, fortalecendo a integração entre ciência, inovação e sustentabilidade e alinhando-se aos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) da Agenda 2030.

Dessa forma, este trabalho representa não apenas um marco inicial de exploração de uma microbiota marinha pouco estudada, mas também um passo estratégico rumo à consolidação de uma economia de baixo carbono, ancorada em processos biotecnológicos regenerativos e circulares, capazes de transformar a biodiversidade em vetor de desenvolvimento sustentável.

REFERÊNCIAS

- ABELLAN-SCHNEYDER, I.; MATCHADO, M. S.; REITMEIER, S.; SOMMER, A.; SEWALD, Z.; BAUMBACH, J.; LIST, M.; NEUHAUS, K. Primer, pipelines, parameters: issues in 16S rRNA gene sequencing. **mSphere**, Washington, DC, v. 6, n. 1, e01202-20, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1128/mSphere.01202-20>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33627512/>. Acesso em: 09 nov. 2025
- ANDRADE, E. T. T.; CARVALHO, S. R. G.; SOUZA, L. F. Programa do Proálcool e o etanol no Brasil. **Engevista**, v. 11, n. 2, p. 127–136, 2009. DOI: <https://doi.org/10.22409/engevista.v11i2.236>. Disponível em: <https://periodicos.uff.br/engevista/article/view/8847>. Acesso em: 3 jul. 2025.
- ARAÚJO, N. D. **Pré-tratamento organossolve de palha e sabugo de milho, e de palha e bagaço de cana-de-açúcar, visando a produção de etanol 2G**. 2022. 57 f. Dissertação (Mestrado em Biocombustíveis) — Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2022. DOI: <https://doi.org/10.14393/ufu.di.2022.5082>. Disponível em: <https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/36706>. Acesso em: 2 nov. 2025.
- AYERONFE, F.; KASSIM, A.; HUNG, P.; ZAINULABIDIN, H.; ISHAK, N.; SYARIFAH, S.; ARIPIN, A. Evaluation of *Lysinibacillus* SP, isolated from *Coptotermes curvignathus* Gut, for the delignification of oil palm residues. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 35, n. 3, p. 892–902, maio/jun. 2019. DOI: <https://doi.org/10.14393/BJ-v35n3a2019-42070>. Disponível em: <https://seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/42070>. Acesso em: 9 nov. 2025.
- AZEVEDO, R. dos S.; SANTANA, H.; SEUS, V. R.; CAMARGO, A. D.; WERHLI, A. V.; MACHADO, K. dos S.; CANÇADO, L. J.; QUIRINO, B. F.; MARINS, L. F. Development of a β -glucosidase improved for glucose retroinhibition for cellulosic ethanol production: an integrated bioinformatics and genetic engineering approach. **Biotechnology for Biofuels and Bioproducts**, v. 18, p. 44, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13068-025-02643-4>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1186/s13068-025-02643-4>. Acesso em: 3 jul. 2025
- BAZOTI, S. F. **Produção de etanol de segunda geração a partir de hidrolisado de cana-de-açúcar na presença de ácido acético**. 2017. 122 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) — Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2017. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/182884>. Acesso em: 9 nov. 2025.
- BEHERA, B. C.; MISHRA, R. R.; SINGH, S. K.; DUTTA, S. K.; THATOI, H. “Cellulase from *Bacillus licheniformis* and *Brucella* sp. isolated from mangrove soils of Mahanadi river delta, Odisha, India.” **Biocatalysis and Biotransformation**, v. 34, n. 1, p. 1–10, 2016. DOI:

<https://doi.org/10.1080/10242422.2016.1212846>. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10242422.2016.1212846>. Acesso em: 3 jul. 2025.

BORGES, L. M.; MERCKELBACH, L. M.; SAMPAIO, Í.; CRAGG, S. M. Diversity, environmental requirements, and biogeography of bivalve wood-borers (Teredinidae) in European coastal waters. **Frontiers in Zoology**, London, v. 11, p. 13, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1186/1742-9994-11-13>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1186/1742-9994-11-13>. Acesso em: 3 jul. 2025.

BOZZOLA, J. J.; RUSSELL, L. D. Electron microscopy: preparation and analysis of biological samples. **Analytical Biochemistry**, San Diego, v. 391, n. 1, p. 1–12, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ab.2009.02.010>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0003269709001080?via%3Dihub>. Acesso em: 08 nov. 2025.

BRASIL. Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. **Orientações para o preenchimento do plano de trabalho de P&D+I com alinhamento aos ODS**. Rio de Janeiro: ANP, 2021. Disponível em: <https://share.google/FzFdoqC6POuGoQ9tr>. Acesso em: 15 jun. 2025.

BRITO, T. L.; CAMPOS, A. B.; BASTIAAN VON MEIJENFELDT, F. A.; DANIEL, J. P.; RIBEIRO, G. B.; SILVA, G. G. Z.; WILKE, D. V.; MORAES, D. T. de; DUTILH, B. E.; MEIRELLES, P. M.; TRINDADE-SILVA, A. E. The gill-associated microbiome is the main source of wood plant polysaccharide hydrolases and secondary metabolite gene clusters in the mangrove shipworm *Neoteredo reynei*. **PLOS ONE**, v. 13, n. 11, e0200437, 2018. DOI: [10.1371/journal.pone.0200437](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0200437). Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0200437>. Acesso em: 3 jul. 2025.

BRITO, T. L. **Prospecção metagenômica e cultivo-dependente de substâncias bioativas produzidas por bactérias associadas aos moluscos da família Teredinidae**. 2018. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) — Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2018. Disponível em: <https://repositorio.ufc.br/handle/riufc/36413>. Acesso em: 3 nov. 2025.

BRODA, M.; YELLE, D. J.; SERWAŃSKA, K. Bioethanol production from lignocellulosic biomass—challenges and solutions. **Molecules**, [S. l.], v. 27, n. 24, p. 8717, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules27248717>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/27/24/8717>. Acesso em: 15 jun. 2025.

- BURBACH, K.; SCHMID, J.; TEBBE, C. C. Evaluation of DNA extraction kits and phylogenetic analyses of bacterial communities from different soil types using high-throughput sequencing. **MicrobiologyOpen**, [S. l.], v. 5, n. 3, p. 471-486, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1002/mbo3.312>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/mbo3.312>. Acesso em: 09 nov. 2025.
- BUSTIN, S. A.; BENES, V.; GARSON, J. A.; HELLEMANS, J.; HUGGETT, J.; KUBISTA, M.; MUELLER, R.; NOLAN, T.; PFAFFL, M. W.; SHIPLEY, G. L.; VANDESOMPELE, J.; WITTEW, C. T. The MIQE guidelines: minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. **Clinical Chemistry**, v. 55, n. 4, p. 611–622, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1373/clinchem.2008.112797>. Disponível em: <https://academic.oup.com/clinchem/article-abstract/55/4/611/5631762?redirectedFrom=fulltext>. Acesso em: 3 jul. 2025.
- CARMO-SANTOS E, SANTOS MR, ROCHA-BARREIRA CA, MAIA RC. Characterization and distribution of *Teredinidae* assemblage in an estuary in Ceará, Brazil's Northeast. **Brazilian Journal of Biology**, v. 83, p. e272066, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1590/1519-6984.272066>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bjb/a/5JLDN9FN9dW9QXbQcTZPg8t/?lang=en>. Acesso em: 15 jun. 2025.
- COSTA, B. E. B.; MORAIS, R. C. S.; LIMA, F. J. S.; SILVA, J. A.; ALMEIDA, M. V. Comparação entre a hidrólise química e enzimática da biomassa lignocelulósica para a produção de bioetanol: uma revisão. **Revista Virtual de Química**, Rio de Janeiro, v. 13, n. 1, p. 1–16, 2021. Disponível em: <https://rvq-sub.s bq.org.br/index.php/rvq/article/view/3674>. Acesso em: 1 nov. 2025.
- ROMANO, C.; NUNES-JORGE, A.; LE BRIS, N.; ROUSE, G. W.; MARTIN, D.; BOROWSKI, C. Wooden stepping stones: diversity and biogeography of deep-sea wood boring Xylophagidae (Mollusca: Bivalvia) in the North-East Atlantic Ocean, with the description of a new genus. *Frontiers in Marine Science*, v. 7, art. 579959, 20 nov. 2020. DOI: 10.3389/fmars.2020.579959. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/marine-science/articles/10.3389/fmars.2020.579959/full> Acesso em: 02 nov. 2025.
- DA SILVA, R. R. CONCEIÇÃO, P. J. P.; MENEZES, C. L. A.; NASCIMENTO, C. E. O.; BERTELLI, M. M.; PESSOA JÚNIOR, A.; SOUZA, G. M.; SILVA, R.; GOMES, E. Biochemical characteristics and potential application of a novel ethanol- and glucose-tolerant β -glucosidase secreted by *Pichia guilliermondii* G1.2. **Journal of Biotechnology**, v. 294, p. 73–80, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2019.02.001>. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168165619300513?via%3Dihub>.

Acesso em: 15 jun. 2025.

de BOER, R.; PETERS, R. P. H.; GIERVELD, S.; SCHUURMAN, T.; KOOISTRA-SMID, M.; SAVELKOUL, P. H. M. Improved detection of microbial DNA after bead-beating before DNA isolation. **Journal of Microbiological Methods**, [S. l.], **v. 80, n. 2, p. 209-211, fev. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2009.11.009>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167701209003753>. Acesso em: 09 nov. 2025.

DE MORAES AKAMINE, D. T.; DE ALMEIDA COZENDEY DA SILVA, D.; DE LIMA CÂMARA, G.; CARVALHO T. V.; BRIENZO, M. Endoglucanase activity in *Neoteredo reynei* (Bivalvia, Teredinidae) digestive organs and its content. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 34, n. 84, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11274-018-2468-x>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11274-018-2468-x>. Acesso em: 3 jul. 2025.

DE-CARLI, B. P.; MANZI-DECARLI, A. Aspectos taxonômicos de *Neoteredo reynei* (Bartsch, 1920) (Bivalvia: Teredinidae) em área de manguezal do rio Santo Amaro, Guarujá, São Paulo. **Revista Ceciliana**, v. 4, n. 2, p. 23–30, 2012. Disponível em: <http://www.unisanta.br/revistaceciliana>. Acesso em: 2 nov. 2025.

DIMITROVA, I.; DESHMUKHB M.; PANDEC, A. Isolation, enrichment and analysis of cellulose-degrading microbial populations from methanogenic bioreactors. **Genes**, v. 16, n. 551, 2025. DOI: <https://doi.org/10.3390/genes16050551>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4425/16/5/551>. Acesso em: 3 jul. 2025.

DISTEL, D. L.; BEAUDOIN, J. D.; MORRILL, W. Coexistence of multiple proteobacterial endosymbionts in the gills of the wood-boring bivalve *Lyrodus pedicellatus* (Bivalvia: Teredinidae). **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, n. 12, p. 6292–6299, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.68.12.6292-6299.2002>. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/aem.68.12.6292-6299.2002>. Acesso em: 3 jul. 2025.

DOBRZYŃSKI, J.; WRÓBEL, B.; GÓRSKA, E. B. Taxonomy, ecology, and cellulolytic properties of the genus *Bacillus* and related genera. **Agriculture**, v. 13, p. 1979, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/agriculture13101979>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2077-0472/13/10/1979>. Acesso em: 15 jun. 2025.

DOMINGOS, D. F.; DELLAGNEZZE, B. M.; GREENFIELD, P.; REYES, L. R.; MELO, I. S.; MIDGLEY, D. J.; OLIVEIRA, V. M. Draft genome sequence of *Bacillus pumilus* CCMA

560, isolated from an oil-contaminated mangrove swamp. **Genome Announcements**, v. 1, n. 5, e00707-13, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1128/genomeA.00707-13>. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/genomeA.00707-13>. Acesso em: 3 jul. 2025.

DUNHAM, F. B.; BOMTEMPO, J. V.; FLECK, D. L. A estruturação do sistema de produção e inovação sucroalcooleiro como base para o Proálcool. **Revista Brasileira de Inovação**, v. 10, n. 1, p. 35–72, 2011. DOI: <https://doi.org/10.20396/rbi.v10i1.8649009>. Disponível em: <https://periodicos.sbu.unicamp.br/ojs/index.php/rbi/article/view/8649009> Acesso em: 28 out. 2025.

EKBORG, N. A.; MORRILL, W.; BURGOYNE, A. M.; LI, L.; DISTEL, D. L. CelAB, a Multifunctional Cellulase Encoded by *Teredinibacter turnerae* T7902^T, a Culturable Symbiont Isolated from the Wood-Boring Marine Bivalve *Lyrodus pedicellatus*. **Applied and Environmental Microbiology**, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.00876-07>. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/aem.00876-07> Acesso em: 15 jun. 2025.

FERNANDES, A. L. **Enzimas lignocelulolíticas e seu potencial para tratamento de biomassa: uma revisão**. 2021. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Biotecnologia) — Universidade Federal da Integração Latino-Americana, Foz do Iguaçu, 2021. Disponível em: <https://dspace.unila.edu.br/handle/123456789/6334>. Acesso em: 1 nov. 2025.

FERREIRA, Nelson Rosa; SARQUIS, Maria Inez de Moura; GOBIRA, Rubens Menezes; SOUZA, Márcia Gleice da Silva; SANTOS, Alberdan Silva. The multivariate statistical selection of fungal strains isolated from *Neoteredo reynei*, with the high hydrolytic potential to deconstruct cellulose. **Food Research International**, [S.L.], v. 122, p. 402-410, ago. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.04.019>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996919302443?via%3Dihub>. Acesso em: 03 jun. 2025.

FOWLER, C. A.; SABABADIN, F.; CIANO, L.; HEMSWORTH, G. R.; ELIAS, L.; BRUCE, N.; MCQUEEN-MASON, S.; DAVIES, G. J.; WALTON, P. H. Discovery and characterization of an AA10 lytic polysaccharide oxygenase from *Teredinibacter turnerae*. **Biotechnology for Biofuels**, v. 12, p. 232, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13068-019-1573-x>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1186/s13068-019-1573-x>. Acesso em: 3 jul. 2025.

FRANK, J. A.; REICH, C. I.; SHARMA, S.; WEISBAUM, J. S.; WILSON, B. A.; OLSEN, G. J. Critical evaluation of two primers commonly used for amplification of bacterial 16S rRNA genes. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, DC, v. 74, n. 8, p. 2461–

- 2470, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.02272-07>. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/aem.02272-07>. Acesso em: 28 out. 2025.
- FU, Z.; ZHONG, L.; TIAN, Y.; BAI, X.; LIU, J. Identification of cellulose-degrading bacteria and assessment of their potential value for the production of bioethanol from coconut oil cake waste. **Microorganisms**, v. 12, n. 2, p. 240, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms12020240>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-2607/12/2/240>. Acesso em: 3 jul. 2025.
- FUJIYOSHI, S.; MUTO-FUJITA, A.; MARUYAMA, F. *Evaluation of PCR conditions for characterizing bacterial communities with full-length 16S rRNA genes using a portable nanopore sequencer*. **Scientific Reports**, [S. l.], v. 10, p. 12580, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69450-9>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-020-69450-9>. Acesso em: 09 nov. 2025.
- GASSER, M. T.; LIU A.; ALTAMIA, M. A.; BRENSINGER, B. R.; BREWER, S. L.; FLATAU, R.; HANCOCK, E. R.; PREHEIM, S. P.; FILONE, C. M.; DISTEL, D. L. Membrane vesicles can contribute to cellulose degradation by *Teredinibacter turnerae*, a cultivable intracellular endosymbiont of shipworms. **Microbial Biotechnology**, v. 17, e70064, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1111/1751-7915.70064>. Disponível em: <https://enviromicro-journals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1751-7915.70064>. Acesso em: 3 jul. 2025.
- GHIO, S.; LORENZO, G. S.; LIA, V.; TALIA, P.; CATALDI, A.; GRASSO, D.; CAMPOS, E. Isolation of *Paenibacillus* sp. and *Variovorax* sp. strains from decaying woods and characterization of their potential for cellulose deconstruction. **International Journal of Biochemistry and Molecular Biology**, v. 3, n. 4, p. 352–364, 2012. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3533884/>. Acesso em: 3 jul. 2025.
- GOLDING, C. G.; LAMBOO, L. L.; BENIAC, D. R.; BOOTH, T. F. The scanning electron microscope in microbiology and diagnosis of infectious disease. **Scientific Reports**, London, v. 6, art. 26516, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep26516>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/srep26516>. Acesso em: 08 nov. 2025.
- GONÇALVES, F. G. M. F.; SANTOS, F. A. C.; SOUZA, B. V. ASSUNÇÃO; J. C. C. Potencial gênico da bactéria *Teredinibacter turnerae* mediante a sua resposta molecular para degradação de celulose como fomento para bioprocessos. **Journal of Education Science and Health**, v. 4, n. 4, p. 1–11, 2024. DOI: <https://doi.org/10.52832/jesh.v4i4.477>. Disponível em: <https://bio10publicacao.com.br/jesh/article/view/477>. Acesso em: 15 jun. 2025.

GONÇALVES, F. G. M. F.; SANTOS, F. A. C.; SOUZA, B. V. ASSUNÇÃO; J. C. C. Proteínas Putativas com Domínios Catalíticos Multifuncionais CelAB Oriundo da Expressão Genômica da Bacteriano Simbiótico Viscerais de Invertebrado Marinho Xilotréptico. **Brazilian Journal of Biological Sciences**, [S. l.], v. 12, n. 27, p. e492, 2025. DOI: <https://doi.org/10.21472/bjbs.v12n27-004>. Disponível em:

<https://bjbs.com.br/index.php/bjbs/article/view/492>. Acesso em: 1 nov. 2025.

GRANGEIA, C.; SANTOS, L.; LÁZARO, L. L. B. The Brazilian biofuel policy (RenovaBio) and its uncertainties: an assessment of technical, socioeconomic and institutional aspects. **Energy Conversion and Management: X**, v. 13, n. 100156, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecmx.2021.100156>. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2590174521000817?via%3Dihub>. Acesso em: 3 jul. 2025.

GREEN, M. R.; SAMBROOK, J. **Molecular cloning: a laboratory manual**. 4. ed. Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2012.

HADDAD, G.; TAKAKURA, T.; BELLALI, S.; FONTANINI, A.; OMINAMI, Y.; KHALIL, J. B.; RAOULT, D. A preliminary investigation into bacterial viability using scanning electron microscopy–energy-dispersive X-ray analysis: the case of antibiotics. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 13, art. 967904, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.967904>. Disponível em:

<https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2022.967904/full>. Acesso em: 08 nov. 2025.

HASNER, Cecília; SANTOS, Douglas A.; LIMA, Araken A. Etanol no Brasil: evolução do patenteamento de tecnologias de fermentação para a produção de etanol combustível de cana-de-açúcar no período de 2007 a 2014. **Cadernos de Prospeção**, Salvador, v. 8, n. 1, p. 133–141, jan./mar. 2015. DOI: <https://doi.org/10.9771/S.CPROSP.2015.001.015>. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/284518983_ETANOL_NO_BRASIL_EVOLUCAO_DO_PATENTEAMENTO_DE_TECNOLOGIAS_DE_FERMENTACAO_PARA_A_PRODUCAO_DE_ETANOL_COMBUSTIVEL_DE_CANA-DE-ACUCAR_NO_PERIODO_DE_2007_A_2014/citations. Acesso em: 15 jun. 2025.

HIMMEL, M. E.; DING, S.; JOHNSON, D. K.; ADNEY, W. S.; NIMLOS, M. R.; BRADY, J. W.; T. D. FOUST. Biomass recalcitrance: engineering plants and enzymes for biofuels production. **Science**, v. 315, p. 804–807, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1137016>. Disponível em: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.1137016>. Acesso em: 3 jul. 2025.

- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 3. ed. São Paulo: IMESP, 1985. v. 1. p. 49–50. Disponível em: <https://share.google/LqgOODoOMJ8spOhrN>. Acesso em: 20 jul. 2025
- INSTITUTO DE PESQUISA ECONÔMICA APLICADA – IPEA. **Agenda 2030: objetivos de desenvolvimento sustentável**. Brasília: IPEA, 2018. Disponível em: <https://www.ipea.gov.br/ods/>. Acesso em: 15 jun. 2025.
- KLUZIK, A.; KOŁODZIEJ, M.; KUCHARSKA, A.; SIKORA, M.; RYCHLICKI, M.; CHRZANOWSKI, M. Scanning Electron Microscope Examination as an Additional Tool for Microbiological Diagnostics on Central Venous Catheters. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, Basel, v. 20, n. 6, art. 5028, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph20065028>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1660-4601/20/6/5028>. Acesso em: 08 nov. 2025.
- KONAR, A.; AICH, S.; KATAKOJWALA, R., DATTA, S; MOHAN, S. V. Uma endoglucanase processiva da família GH9 de *Bacillus licheniformis* e o papel de seu domínio de ligação a carboidratos. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 106, p. 6059–6075, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00253-022-12117-4>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00253-022-12117-4>. Acesso em: 3 jul. 2025.
- LEE, C. S.; JUNG, Y. T.; PARK, S.; OH, T. K.; YOON, J. H. *Lysinibacillus xylanilyticus* sp. nov., a xylan-degrading bacterium isolated from forest humus. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 60, p. 289–293, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1099/ijms.0.013367-0>. Disponível em: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/ijms.0.013367-0>. Acesso em: 3 jul. 2025.
- LI, Y.; ALTAMIA, M. A.; SHIPWAY, J. R.; BRUGLER, M. R.; BERNARDINO, A. F.; BRITO, T. L.; LIN, Z.; OLIVEIRA, F. A. S.; SUMIDA, P.; SMITH, C. R.; TRINDADE-SILVA, A.; HALANYCH, K. M.; DISTEL, D. L. Contrasting modes of mitochondrial genome evolution in sister taxa of wood-eating marine bivalves (*Teredinidae* and *Xylophagaidae*). **Genome Biology and Evolution**, v. 14, n. 6, evac089, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1093/gbe/evac089>. Disponível em: <https://academic.oup.com/gbe/article/14/6/evac089/6609978>. Acesso em: 28 out. 2025.
- LOPES, S. G.; LOPES, P. R. D. Shipworms (*Mollusca: Bivalvia: Teredinidae*) from the northeastern coast of Brazil. **Biota Neotropica**, v. 9, n. 2, p. 123–130, 2009. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bn/a/nHPh3fPNpMvNjRMqBBhyDCr/>. Acesso em: 3 jul. 2025.

- MACHADO, F. **Pré-tratamento organossolve para biomassa lignocelulósica**. 2022. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) — Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2022. Disponível em: <https://repositorio.ufu.br/bitstream/123456789/36706/1/Pre-tratamento%20organossolve.pdf>. Acesso em: 3 jul. 2025.
- MALYSHEV, D.; LEE, C. C.; ANDERSSON, M. Evaluating bacterial spore preparation methods for scanning electron microscopy. **Microscopy and Microanalysis**, Cambridge, v. 30, n. 3, p. 564–573, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1093/mam/ozae037>. Disponível em: <https://academic.oup.com/mam/article/30/3/564/7664319>. Acesso em: 08 nov. 2025.
- MAO, D. P.; ZHOU, Q.; CHEN, C. Y.; QUAN, Z. X. Coverage evaluation of universal bacterial primers using the metagenomic datasets. **BMC Microbiology**, London, v. 12, p. 66, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2180-12-66>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1186/1471-2180-12-66>. Acesso em: 1 jul. 2025.
- MARTINS, F. A. MARTIM, T.; CORRÊA, A.M.; OLIVEIRA, F.F. A produção do etanol de segunda geração a partir do bagaço da cana-de-açúcar. **Revista Relainep**, v. 5, n. 2, p. 45–58, 2014. Disponível em: <https://www.relainep.com.br/revista/edicao5/artigo2.pdf>. Acesso em: 30 jun. 2025.
- MÜLLER, A. C. P.; LANA, P. C. *Teredinidae* (Mollusca, Bivalvia) do litoral do Paraná, Brasil. **Revista Nerítica**, v. 1, n. 3, p. 28–48, 1986. DOI: <https://doi.org/10.5380/m.v1i3.41194>. DOI: <https://doi.org/10.5380/m.v1i3.41194>. Disponível em: <https://revistas.ufpr.br/neritica/article/view/41194>. Acesso em: 23 ago. 2025.
- NAIR, N. B.; SARASWATHY, M. Ecology of wood-boring bivalves. **Advances in Marine Biology**, London, v. 9, p. 335–509, 1971. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0065-2881\(08\)60345-4](https://doi.org/10.1016/S0065-2881(08)60345-4). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/chapter/bookseries/abs/pii/S0065288108603454?via%3DIhub>. Acesso em: 20 ago. 2025.
- NAKA, H.; HAYGOOD, M. G. The dual role of *TonB* genes in *Teredinibacter turnerae*. **bioRxiv**, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1128/aem.00744-23>. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/aem.00744-23>. Acesso em: 28 out. 2025.
- NASCIMENTO, C. E. O. **Produção, purificação e caracterização bioquímica funcional de uma α -L-arabinofuranosidase secretada pelo fungo *Coriolopsis byrsina***. 2023. Tese (Doutorado em Microbiologia) — Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2023. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/entities/publication/5c3d9a25-7b9c-4c4f-b8af-172d5728d1ef>. Acesso em: 28 out. 2025.

- NAZIZ, P. S.; DAS, R.; SEN, S. Atividade enzimática de fungos e bactérias cultiváveis isolados de uma bacia de fermentação tradicional em madeira de ágar indica modulações temporalmente significativas de substratos lignocelulósicos e lipídicos. **Indian Journal of Microbiology**, v. 64, p. 705–718, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12088-024-01257-y>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12088-024-01257-y#citeas>. Acesso em: 1 jul. 2025.
- NUSRAT, A.; SHIMIZU, M. *Lysinibacillus* species: their potential as effective bioremediation, biostimulant, and biocontrol agents. **Reviews in Agricultural Science**, v. 9, p. 103–116, 2021. DOI: https://doi.org/10.7831/ras.9.0_103. Disponível em: https://www.jstage.jst.go.jp/article/ras/9/0/9_103/_article. Acesso em: 1 jul. 2025.
- OGEDA, Thais Lucy. **Hidrólise enzimática de celulosas pré-tratadas**. 2011. 110 f. Dissertação (Mestrado em Química) — Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011. Orientadora: Denise Freitas Siqueira Petri. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/46/46132/tde-18082011-090821/publico/DissertCorrigidaThaisLOgeda.pdf>. Acesso em: 4 nov. 2025.
- PENDSE, D. S.; DESHMUKH, M.; PANDE, Ashwini. Different pre-treatments and kinetic models for bioethanol production from lignocellulosic biomass: a review. **Heliyon**, v. 9, n. 6, e16604, 25 maio 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e16604>. Disponível em: [https://www.cell.com/heliyon/fulltext/S2405-8440\(23\)03811-2](https://www.cell.com/heliyon/fulltext/S2405-8440(23)03811-2). Acesso em: 2 nov. 2025.
- PALIT, Krishna; DAS, Surajit. Cellulolytic potential of mangrove bacteria *Bacillus haynesii* DS7010 and the effect of anthropogenic and environmental stressors on bacterial survivability and cellulose metabolism. **Environmental Research**, [S. l.], v. 252, pt. 1, 118774, 1 jul. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2024.118774>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0013935124006789?via%3Dihub>. Acesso em: 1 nov. 2025.
- PRINGGENIES, D.; SOENARDJO, N.; SETYATI, W. A.; PRAMESTI, R. Secondary metabolites from symbiotic bacteria of seagrass and molluscs as a reference for natural food preservatives. **Trends in Sciences**, v. 21, n. 5, p. 7404, 2024. DOI: <https://doi.org/10.48048/tis.2024.7404>. Disponível em: <https://tis.wu.ac.th/index.php/tis/article/view/7404>. Acesso em: 1 jul. 2025.
- RÍOS-ALVARADO, M. A.; AVITIA-RODRÍGUEZ, O. N.; URTIZ-ESTRADA, N.; LÓPEZ-MIRANDA, J.; VÁZQUEZ-ORTEGA, P. G.; ROJAS-CONTRERAS, J. A. Expression and characterization of a novel β -1,4-endoglucanase from *Bacillus subtilis* strain isolated from a pulp and paper mill wastewater. **Protein Expression and Purification**, v. 220, p. 106490,

2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pep.2024.106490>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1046592824000627?via%3Dihub> Acesso em: 28 out. 2025.

RISHAD, K. S.; REBELLO, S.; SHABANAMOL, P. S.; JISHA, M. S. Biocontrol potential of Halotolerant bacterial chitinase from high yielding novel *Bacillus Pumilus* MCB-7 autochthonous to mangrove ecosystem. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 137, p. 36-41, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2016.09.005>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0048357516301079?via%3Dihub>. Acesso em: 9 nov. 2025.

RUBIN, E. M. Genomics of cellulosic biofuels. **Nature**, v. 454, p. 841–845, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature07190>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nature07190> Acesso em: 3 jul. 2025.

SANTOS, A. N. S.; FELIPPE, J. N. de O.; SILVA, K. L.; ASSUNÇÃO, I. D.; PEREIRA, K. R. O.; LOPATIUK, C.; FLUMINHAN, A.; OZÓRIO, J. D. R.; HERNÁNDEZ, Y. D.; INEZ, B. R.; DUQUE, R. R.; GOMES, W. R. M.; CARDOSO, A. B.; PAIXÃO, J. L. da; SILVA, H. F. da; FERNANDES, F. de S. Transição energética e preservação: integração de fontes renováveis, biodiversidade e economia verde em tempos de crise climática. **Observatório de la economía latinoamericana**, [S. l.], v. 23, n. 3, p. e9234, 2025. DOI: <https://doi.org/10.55905/oelv23n3-041>. Disponível em: <https://ojs.observatoriolatinoamericano.com/ojs/index.php/olel/article/view/9234>. Acesso em: 02 dez. 2025.

SANTOS, E. V. O. **Produção de etanol de segunda geração a partir do bagaço da cana-de-açúcar**. 2022. Trabalho de Conclusão de Curso (Técnico em Química) — Instituto Federal de Alagoas, Campus Penedo, 2022. Disponível em: <https://repositorio.ifal.edu.br/items/3b9f5c73-d341-4db4-ab7d-76ac8e8684aa>. Acesso em: 30 jun. 2025.

SARAIVA, R. S.; TORRES, P. E. W.; SILVEIRA, G. A.; BRITO, C. C. T.; PINTO, G. T.; GIOVATTO, M. Análise da produção de bioetanol a partir da cana-de-açúcar: sustentabilidade e eficiência energética. **Revista Brasileira de Energias Renováveis**, v. 13, n. 4, p. 129–145, 2024. DOI: <https://doi.org/10.56083/RCV4N12-043>. Acesso em: 1 jul. 2025.

SCHRÖDER, C.; BURKHARDT, C.; BUSCH, P.; SCHIRRMACHER G.; CLAREN, J.; ANTRANIKIAN, G. Characterization of a glycoside hydrolase family 9 endo- β -glucanase from a biogas reactor metagenome. **Protein Journal**, v. 37, p. 454–460, 2018. DOI:

- <https://doi.org/10.1007/s10930-018-9787-5>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10930-018-9787-5>. Acesso em: 1 jul. 2025.
- SHAH, T. A.; ALI, S.; AFZAL, A., TABASSUM, R. Simultaneous pretreatment and biohydrogen production from wheat straw by newly isolated ligninolytic *Bacillus* sp. strains with a two-stage batch fermentation system. **BioEnergy Research**, v. 11, p. 835–849, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12155-018-9936-x>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12155-018-9936-x>. Acesso em: 3 jul. 2025.
- SOARES, S.; PATROCÍNIO, A. B.; SILVA, F. C. Desenvolvimento de uma rota tecnológica para produção de etanol celulósico de segunda geração de bagaço de cana-de-açúcar. Brasília, DF: Embrapa Agroenergia, 2017. Disponível em: <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/1079027>. Acesso em: 30 jun. 2025.
- STARLING, E. T.; BORGES, A. W.; SQUEFF, T. A. F. R. C. **Transformações na regulação dos biocombustíveis no Brasil: percurso histórico-institucional e perspectivas sustentáveis**. *ARACÊ*, v. 7, n. 6, p. 29124–29137, 2025. DOI: <https://doi.org/10.20396/rbi.v10i1.8649009>. Disponível em: <https://periodicos.sbu.unicamp.br/ojs/index.php/rbi/article/view/8649009>. Acesso em: 3 jul. 2025.
- STRADER, Thomas; BETZ, Natalie. Clean-Up with Wizard® SV for Gel and PCR. **Promega Notes**, Madison, v. 82, ago. 2021. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/353776608_Clean-Up_with_Wizard_R_SV_for_Gel_and_PCR. Acesso em: 9 nov. 2025.
- STRAVORAVDIS, S.; SHIPWAY, J. R.; GOODELL, B. How do shipworms eat wood? Screening shipworm gill symbiont genomes for lignin-modifying enzymes. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 665001, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.665001>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2021.665001/full>. Acesso em: 3 jul. 2025.
- TAKAHASHI, D. F. **Produção de etanol a partir de hidrolisado de bagaço de cana-de-açúcar empregando *Escherichia coli* recombinante**. 1997. Tese (Doutorado em Engenharia Química) — Universidade de São Paulo, São Paulo, 1997. Disponível em: <https://repositorio.usp.br/item/000970210>. Acesso em: 25 jun. 2025.
- TALWAR, P.; UPADHYAY, A.; VERMA N.; SINGH, R.; LINDENBERGER, C.; PAREEK, N.; KOVALEV, A. A.; ZHURAVLEVA, E. A.; LITTI, Y. V.; MASAKAPALLI, S. K.;

- VIVEKANAND, V.. **Utilization of agricultural residues for energy and resource recovery towards a sustainable environment**. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 31, p. 57354–57368, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-023-29500-x>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11356-023-29500-x#citeas> Acesso em: 3 jul. 2025.
- TRINDADE-SILVA, A. E.; MACHADO-FERREIRA, E.; SENRA, M. V. X.; VIZZONI, V. F.; YPARRAGUIRRE, L. A.; LEONCINI, O.; SOARES, C. A. G. Physiological traits of *Teredinibacter turnerae* isolated from *Neoteredo reynei*. **Genetics and Molecular Biology**, v. 32, n. 3, p. 572–581, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1415-47572009005000061>. Acesso em: 25 jun. 2025.
- TURNER, R. D. **A survey and illustrated catalogue of the Teredinidae (Mollusca: Bivalvia)**. Cambridge: Harvard University Press, 1966. (Museum of Comparative Zoology). Disponível em: <https://www.biodiversitylibrary.org/item/134382#page/43/mode/1up>. Acesso em: 10 jun. 2025.
- UNITED NATIONS. **2030agenda**. Transforming our world: the 2030 Agenda for Sustainable Development. New York: UN, 2015. Disponível em: <https://sdgs.un.org/2030agenda>. Acesso em: 15 jun. 2025.
- Vasić, K., Knez, Ž., & Leitgeb, M. Bioethanol production by enzymatic hydrolysis from different lignocellulosic sources. **Molecules**, v. 26, n. 753, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules26030753>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33535536/>. Acesso em: 1 jul. 2025.
- VEIGA, J. E. da. **A descarbonização da economia global: desafios e oportunidades**. São Paulo: Editora 34, 2019.
- VIDAL, J. M. A.; ROCHA-BARREIRA, C. A. Teredos (*Mollusca: Bivalvia: Teredinidae*) de um estuário do Nordeste brasileiro. **Arquivos de Ciências do Mar**, v. 42, n. 2, p. 43–49, 2009. Disponível em: <https://sisbib.unioeste.br/acervo/761425>. Acesso em: 25 jun. 2025.
- VISHNIVETSKAYA, T. A.; LAYTON, A. C.; LAZAREVA, E. V.; ZHANG, C.; ROGERS, Ardel W.; ALLEN, J.; WETZEL, R.; HAGGARD, E. L.; SAYLER, G. S. Commercial DNA extraction kits impact observed microbial community composition: some possible explanations. **FEMS Microbiology Ecology**, [S. l.], v. 87, n. 1, p. 217-230, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1111/1574-6941.12219>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24102625/>. Acesso em: 09 nov. 2025.
- WALKER, A. W.; MARTIN, J. C.; SCOTT, P.; PARKHILL, J.; FLINT, H. J.; SCOTT, K. 16S rRNA gene-based profiling of the human infant gut microbiota shows a predominant effect of

DNA extraction method and primer choice. **Microbiome**, London, v. 3, p. 26, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40168-015-0087-4>. Disponível em:

<https://link.springer.com/article/10.1186/s40168-015-0087-4>. Acesso em: 09 nov. 2025.

WANG, L.; HATEM, A.; CATALYUREK, U. V.; MORRISON, M.; YU, Z. Metagenomic insights into carbohydrate-active enzymes in rumen microbiota. **PLOS ONE**, v. 8, n. 11, e78507, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0078507>. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0078507>. Acesso em: 3 jul. 2025.

WYDRO, U. Soil microbiome study based on DNA extraction: a review. **Water**, v. 14, n. 24, art. 3999, 2022. DOI: 10.3390/w14243999. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4441/14/24/3999>. Acesso em: 17 jul. 2025.

MANISHA; YADAV, S. K. Technological advances and applications of hydrolytic enzymes for valorization of lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology**, v. 245, parte B, p. 1727-1739, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.05.066>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852417307204?via%3Dihub>. Acesso em: 1 jul. 2025.

YANG, J. C.; MADUPU, R.; DURKIN, A. S.; EKBORG, N. A.; PEDAMALLU, C. S.; HOSTETLER, J. B.; RADUNE, D.; TOMS, Bradley S.; HENRISSAT, B.; COUTINHO, P. M.; SCHWARZ, S.; FIELD, L.; TRINDADE-SILVA, A. E.; SOARES, C. A. G.; ELSHAHAWI, X.; HANORA, A.; SCHMIDT, Eric W.; HAYGOOD, M. G.; POSFAI, János; BENNER, J.; MADINGER, C. NOVE, J.; ANTON, B.; CHAUDHARY, K.; FOSTER, J.; HOLMAN, A.; KUMAR, S.; LESSARD, F. A.; LUYTEN, Y. A.; SLATKO, B.; WOOD, Nicole; WU, B.; TEPLITSKI, M.; MOUGOUS, J. D.; WARD, N.; EISEN, J. A.; BADGER, J. H.; DISTE, D. L. The complete genome of *Teredinibacter turnerae* T7901. **PLOS ONE**, v. 4, n. 7, e6085, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006085>. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0006085>. Acesso em: 1 jul. 2025.

ZHOU, X.; QI, X.; HUANG, H.; ZHU, H. Sequence and structural analysis of AA9 and AA10 LPMOs. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, p. 4594, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms20184594>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/20/18/4594>. Acesso em: 3 jul. 2025.

ANEXO A — AUTORIZAÇÃO PARA ATIVIDADES COM FINALIDADE CIENTÍFICA. SISTEMA DE AUTORIZAÇÃO E INFORMAÇÃO EM BIODIVERSIDADE - SISBIO



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 90788-1	Data da Emissão: 29/09/2023 16:48:24	Data da Revalidação*: 29/09/2024
De acordo com o art. 31 da Portaria ICMBio nº 748/2022, esta autorização possui vigência equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto e validade de um ano, devendo ser revalidada anualmente, através da apresentação do relatório anual de atividades, no prazo de até 30 dias após o aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: FERNANDO GIL MESQUITA DE FREITAS GONÇALVES	CPF: 029.963.063-33
Título do Projeto: Prospecção de enzimas digestivas a partir da microbiota associada ao molusco <i>Neoteredo reynei</i> com potencial para a produção de bioetanol	
Nome da Instituição: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará	CNPJ: 10.744.098/0003-07

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Apresentação dos resultados parciais e completos	01/2024	07/2025
2	Caracterização de atividade enzimática lignocelulósicas	11/2023	07/2024
3	Coleta de espécimes e pesquisa	11/2023	04/2024
4	Isolamento e análise da microbiota associada	11/2023	07/2024
5	Produção bacteriológica em larga escala (biodigestor)	12/2023	06/2024

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Nacionalidade
1	Francisco Alexandre Castro Santos	Coleta e processamento de amostras	086.546.053-16	Brasileira
2	João Carlos da Costa Assunção	Coleta e processamento de amostras	789.777.703-00	Brasileira

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº Portaria ICMBio nº 748/2022. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0907880120230929

Página 1/5



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 90788-1	Data da Emissão: 29/09/2023 16:48:24	Data da Revalidação*: 29/09/2024
De acordo com o art. 31 da Portaria ICMBio nº 748/2022, esta autorização possui vigência equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto e validade de um ano, devendo ser revalidada anualmente, através da apresentação do relatório anual de atividades, no prazo de até 30 dias após o aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: FERNANDO GIL MESQUITA DE FREITAS GONÇALVES	CPF: 029.963.063-33
Título do Projeto: Prospecção de enzimas digestivas a partir da microbiota associada ao molusco Neoteredo reynlei com potencial para a produção de bioetanol	
Nome da Instituição: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará	CNPJ: 10.744.096/0003-07

Observações e ressalvas

1	A autorização não eximirá o pesquisador da necessidade de obter outras anuências, como: I) do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador quando as atividades forem realizadas em área de domínio privado ou dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso; II) da comunidade indígena envolvida, ouvido o órgão indigenista oficial, quando as atividades de pesquisa forem executadas em terra indígena; III) do Conselho de Defesa Nacional, quando as atividades de pesquisa forem executadas em área indispensável à segurança nacional; IV) da autoridade marítima, quando as atividades de pesquisa forem executadas em águas jurisdicionais brasileiras; V) do Departamento Nacional da Produção Mineral, quando a pesquisa visar a exploração de depósitos fossilíferos ou a extração de espécimes fósseis; VI) do órgão gestor da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, dentre outras.
2	Todos os membros da equipe de pesquisa devem estar cientes das recomendações e boas práticas a serem seguidas neste momento de emergência zoonossanitária no Brasil devido à gripe aviária. Informe-se na página do CEMAVE na Internet: https://www.gov.br/bricmbio/pl-br/assuntos/centros-de-pesquisa/cemave/destaques/gripe-aviaria/gripe-aviaria-1 .
3	Esta autorização NÃO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de atender às exigências e obter as autorizações previstas em outros instrumentos legais relativos ao registro de agrotóxicos (Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989, Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002, entre outros).
4	Esta autorização NÃO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de atender às exigências e obter as autorizações previstas em outros instrumentos legais relativos ao registro de agrotóxicos (Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989, Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002, entre outros).
5	Este documento não dispensa o cumprimento da Lei nº 13.123/2015, que dispõe sobre o acesso ao patrimônio genético, sobre a proteção e o acesso ao conhecimento tradicional associado e sobre a repartição de benefícios para conservação e uso sustentável da biodiversidade.
6	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia (Decreto nº 98.830, de 15/01/90).
7	Esta autorização NÃO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena, da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador da área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
8	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Portaria Nº748/2022, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
9	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
10	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação do disposto nesta portaria ou em legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, pode, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou cassada pelo Instituto Chico Mendes, por meio da Coordenação Gestora do Sisbio, e está sujeito às sanções previstas na legislação vigente.
11	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infraestrutura da unidade.
12	Caso seja identificada a ocorrência de espécie exótica dentro ou no entorno da UNIDADE DE CONSERVAÇÃO FEDERAL, além de descrever no relatório de atividades, o pesquisador deve informar à equipe gestora com maior brevidade possível.

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº Portaria ICMBio nº 748/2022. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0907880120230929

Página 2/5



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 90788-1	Data da Emissão: 29/09/2023 16:48:24	Data da Revalidação*: 29/09/2024
De acordo com o art. 31 da Portaria ICMBio nº 748/2022, esta autorização possui vigência equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto e validade de um ano, devendo ser revalidada anualmente, através da apresentação do relatório anual de atividades, no prazo de até 30 dias após o aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: FERNANDO GIL MESQUITA DE FREITAS GONÇALVES	CPF: 029.963.063-33
Título do Projeto: Prospecção de enzimas digestivas a partir da microbiota associada ao molusco <i>Neoteredo reyniei</i> com potencial para a produção de bioetanol	
Nome da Instituição: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará	CNPJ: 10.744.096/0003-07

Outras ressalvas

1	CEPENE Tamandaré/PE
---	---------------------

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Descrição do local	Município-UF	Bioma	Caverna?	Tipo
1	Mar do Nordeste	Fortaleza-CE	Sistema Costeiro-Marinho	Não	Fora de UC Federal
2	Mar do Nordeste	Fortaleza-CE	Sistema Costeiro-Marinho	Não	Fora de UC Federal

Atividades

#	Atividade	Grupo de Atividade
1	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Fora de UC Federal
2	Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ	Fora de UC Federal

Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxon	Qtde.
1	Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ	Teredinidae	5
2	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Teredinidae	-

A quantidade prevista só é obrigatória para atividades do tipo "Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ". Essa quantidade abrange uma porção territorial mínima, que pode ser uma Unidade de Conservação Federal ou um Município.

A quantidade significa: por espécie X localidade X ano.

Materiais e Métodos

#	Tipo de Método (Grupo taxonômico)	Materiais
1	Amostras biológicas (Invertebrados Aquáticos)	Outras amostras biológicas(métodos de captura/coleta(Retirada de animal de material vegetal lenhoso em decomposição))
2	Método de captura/coleta (Invertebrados Aquáticos)	Captura manual, Outros petrechos(Facão e Pinça), Outros métodos de captura/coleta(Amostras biológicas(Teredinidae inteiro))

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº Portaria ICMBio nº 748/2022. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0907880120230929

Página 3/5



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 90788-1	Data da Emissão: 29/09/2023 16:48:24	Data da Revalidação*: 29/09/2024
De acordo com o art. 31 da Portaria ICMBio nº 748/2022, esta autorização possui vigência equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto e validade de um ano, devendo ser revalidada anualmente, através da apresentação do relatório anual de atividades, no prazo de até 30 dias após o aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: FERNANDO GIL MESQUITA DE FREITAS GONÇALVES	CPF: 029.963.063-33
Título do Projeto: Prospecção de enzimas digestivas a partir da microbiota associada ao molusco <i>Neoteredo reynoi</i> com potencial para a produção de bioetanol	
Nome da Instituição: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará	CNPJ: 10.744.096/0003-07

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo destino
1	Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará	Laboratório

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº Portaria ICMBio nº 748/2022. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0907880120230929

Página 4/5



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 90788-1	Data da Emissão: 29/09/2023 16:48:24	Data da Revalidação: 29/09/2024
De acordo com o art. 31 da Portaria ICMBio nº 748/2022, esta autorização possui vigência equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto e validade de um ano, devendo ser revalidada anualmente, através da apresentação do relatório anual de atividades, no prazo de até 30 dias após o aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: FERNANDO GIL MESQUITA DE FREITAS GONÇALVES	CPF: 029.963.063-33
Título do Projeto: Prospecção de enzimas digestivas a partir da microbiota associada ao molusco Neoteredo reynoi com potencial para a produção de bioetanol	
Nome da Instituição: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará	CNPJ: 10.744.098/0003-07

Registro de coleta imprevista de material biológico

De acordo com Portaria ICMBIO Nº 748, Art. 24, A coleta imprevista de amostras biológicas, espécimes ou de material abiótico em unidades de conservação e cavernas, não contemplados na autorização ou na licença permanente, deve ser imediatamente anotada em campo específico do documento.

[illegible]

* Identificar o espécime do nível taxonômico possível

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº Portaria ICBMio nº 748/2022. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICBMio na internet (www.icbmio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0907880120230929

Página 5/5

ANEXO B — CHAVE PARA AS ESPÉCIES DE TEREDINIDAE REGISTRADAS NO LITORAL

SUDESTE DO BRASIL (Müller & Lana 1986).

PARTE SISTEMÁTICA

Chave para as espécies de Teredinidae registradas no litoral sudeste do Brasil.

1. Paletas com lâminas não segmentadas (fig. 6) 2
 Paletas com lâminas segmentadas (fig. 14); segmentos fundidos, porém vestigiais (fig. 13), ou claramente separados, formando cones (fig. 15) 8
2. Lâmina com porção calcária pouco desenvolvida (fig. 1); periostraco marrom-escuro em forma de capa, muito desenvolvido, estendendo-se pronunciadamente além da lâmina (fig. 2) 3
 Lâmina com porção calcária muito desenvolvida (fig. 4); periostraco acompanhando o contorno da lâmina, não se estendendo muito além dela 4
3. Animais com longo período de incubação, larvas liberadas no estágio pediveliger **Lyrodus pedicellatus** *
 Animais com curto período de incubação, larvas liberadas no estágio charneira-reta (fig. 1) .. **Lyrodus floridanus** *
4. Paletas pequenas, frágeis, com formato variável (figs. 8-9) 5
 Paletas largas, sólidas e fortemente calcificadas (fig. 4); pedúnculo curto e grosso; periostraco fino e claro; região posterior do animal com duas dobras carnosas (fig. 3) **Neoteredo reynei**
5. Periostraco fino, não se estendendo além da porção calcária (fig. 1) 6
 Periostraco mais desenvolvido, estendendo-se além da porção calcária em margem estreita ou em pequenas aristas laterais (fig. 9) 7
6. Lâmina com sulco mediano; margem distal da face externa em forma de "V" profundo e margem da face interna em forma de "U" menos acentuado .. **Teredo furcifera** **
 Lâmina sem sulco mediano (fig. 6); margem distal da face externa em forma de "U" não muito acentuado e margem distal da face interna levemente côncava (figs. 6-7); periostraco amarelo-palha, cobrindo a metade distal da lâmina (fig. 6) **Teredo navalis**
7. Periostraco amarelo-ouro, cobrindo a metade distal da lâmina; margens distais da face interna e externa côncavas (fig. 9) **Teredo bartschi**
 Periostraco marrom-escuro, mais desenvolvido, cobrindo toda a lâmina e estendendo-se além da metade inferior do pedúnculo (fig. 10); lâmina larga, oca e com alargamento no pedúnculo (fig. 11) **Teredo mindanensis**

* Uma discussão pormenorizada das diferenças destas espécies geminadas no que se refere às suas estratégias de reprodução foi apresentada por CALLOWAY & TURNER (1983).

** Espécies não registradas no presente levantamento, mas referidas para o litoral sudeste do Brasil.

8. Segmentos fundidos (fig. 14) 9
Segmentos não fundidos, formando cones (fig. 15) ... 10
 9. Segmentos fundidos e indistintos; lâmina ovalada; sifão exalante com dois tentáculos longos e numerosos tentáculos curtos **Nototeredo knoxi** *
Segmentos fundidos, mas distintos (fig. 14); comprimento da lâmina e pedúnculo equivalentes; incrustações calcárias na porção distal da lâmina, podendo estar ausentes em jovens ou por desgaste em adultos; sifão inalante com 12 tentáculos largos (figs. 12 e 14) .. **Nausitora fusticula**
 10. Margem dos cones não serrilhada (fig. 15) 11
Margem dos cones serrilhada (fig. 19) 12
 11. Aristas curtas e delgadas, ligadas na face interna de modo a formar uma capa larga (fig. 16); margem periostracal interna mais larga que a margem externa (fig. 15); cones em forma de tulipa, bem próximos uns dos outros **Bankia gouldi**
Aristas curtas e largas, margem periostracal estreita e de tamanho igual nas duas faces; cones em forma afunilada, bem espaçados uns dos outros **Bankia carinata** *
 12. Aristas longas e serrilhadas (fig. 19); margem periostracal larga; serrilhados da margem externa curtos, serrilhados da margem interna longos e agudos (fig. 20); bordo da porção calcária em forma de "V" profundo (fig. 21) **Bankia fimbriatula**
Aristas curtas e serrilhadas (fig. 24); margem periostracal larga; serrilhados agudos e de tamanho equivalente nas duas margens; cones em forma de tulipa moderadamente espaçados; margem da porção calcária em forma de "U" (fig. 23) **Bankia rochi**
Aristas curtas e largas (fig. 25); margem periostracal estreita; serrilhados das duas margens curtos e de tamanhos equivalentes; porção calcária quase atingindo a base dos serrilhados (fig. 26) **Bankia bagidaensis**
- **Lyrodus floridanus** (Bartsch, 1922)
(figs. 1-2)

* Espécies não registradas no presente levantamento, mas referidas para o litoral sudeste do Brasil.

Teredo (Teredops) floridana Bartsch, 1922:28, est. 22, fig. 1; est. 33, fig. 1.

Lyrodus pedicellatus Turner, 1966:116, est. 1, fig. B

Lyrodus floridanus; Turner, 1983:66, figs. 1-4.

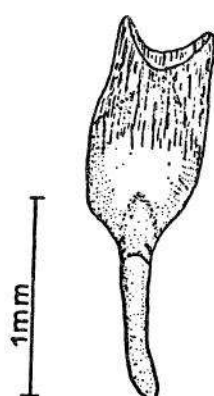


FIG. 1



FIG. 2

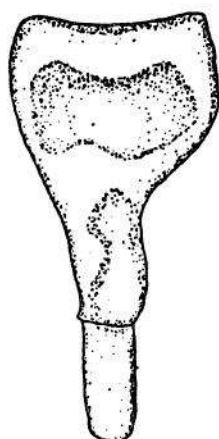


FIG. 4

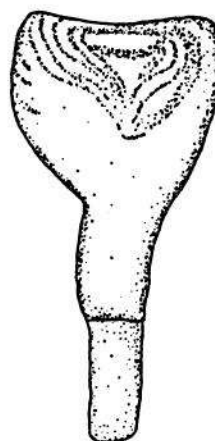


FIG. 3

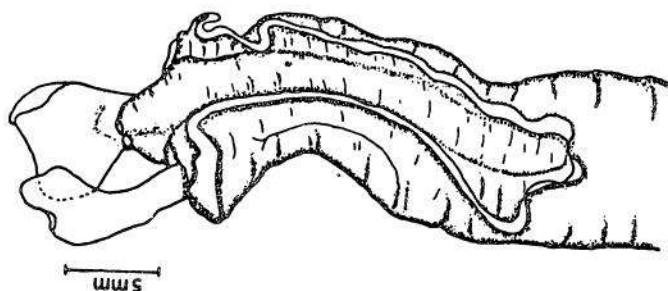


FIG. 5

- Fig. 1. *Lyrodus floridanus*. Face externa da paleta.
 Fig. 2. *Lyrodus floridanus*. Face interna da paleta.
 Fig. 3. *Neoterodo reynei*. Parte posterior do animal.
 Fig. 4. *Neoterodo reynei*. Face externa da paleta.
 Fig. 5. *Neoterodo reynei*. Face interna da paleta.

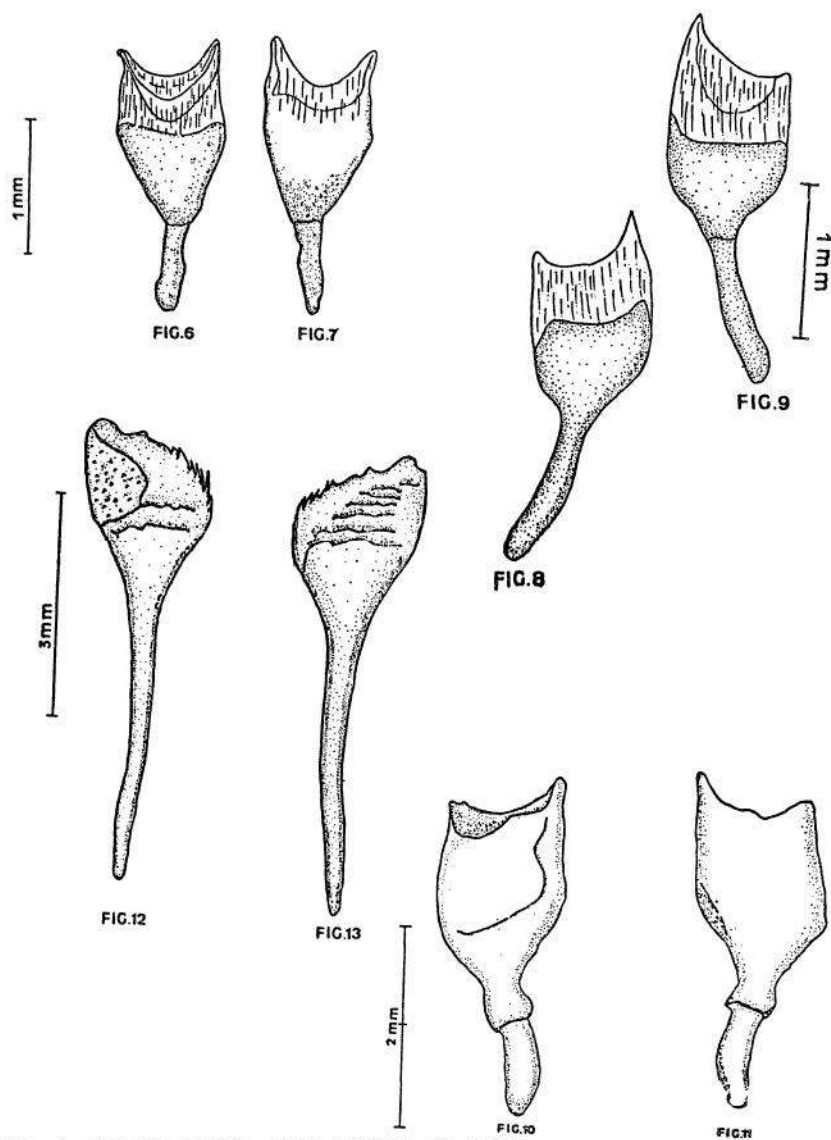


Fig. 6. *Teredo navalis*. Face externa da paleta.
 Fig. 7. *Teredo navalis*. Face interna da paleta.
 Fig. 8. *Teredo bartschi*. Face interna da paleta.
 Fig. 9. *Teredo bartschi*. Face externa da paleta.
 Fig. 10. *Teredo mindanensis*. Face interna da paleta.
 Fig. 11. *Teredo mindanensis*. Face externa da paleta.
 Fig. 12. *Nausitora fusticula*. Face externa da paleta.
 Fig. 13. *Nausitora fusticula*. Face interna da paleta.

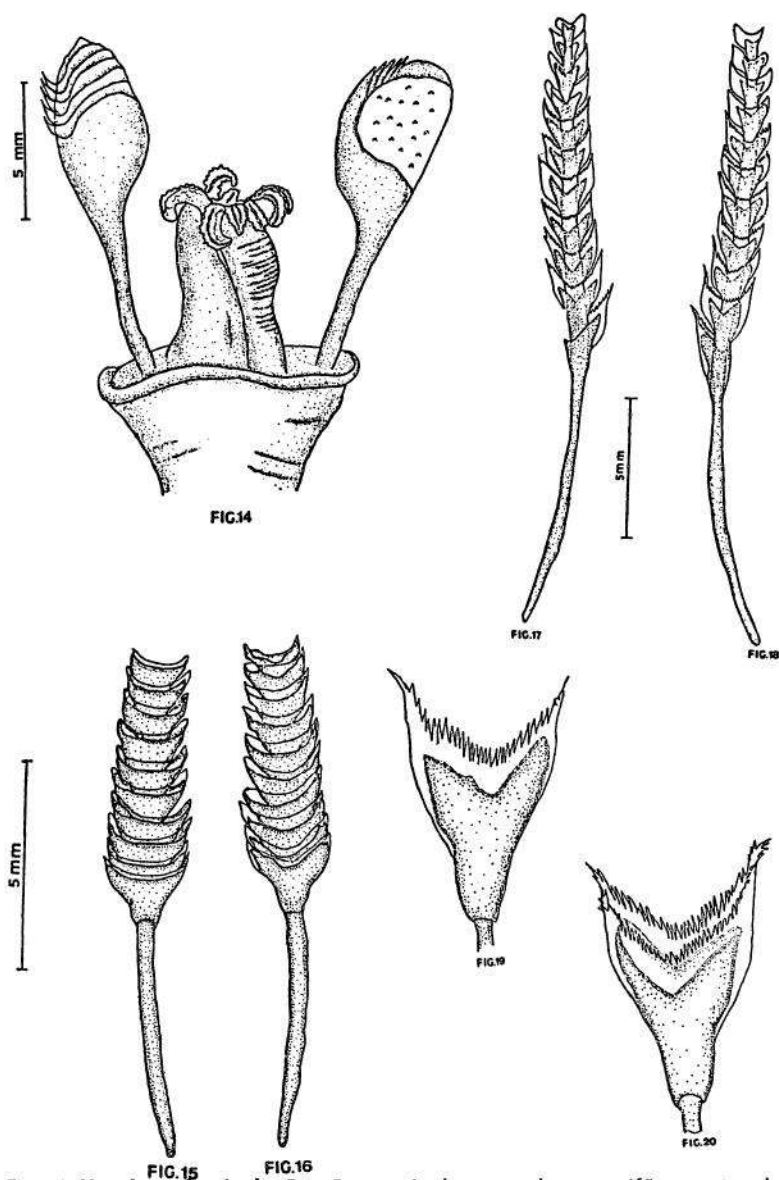
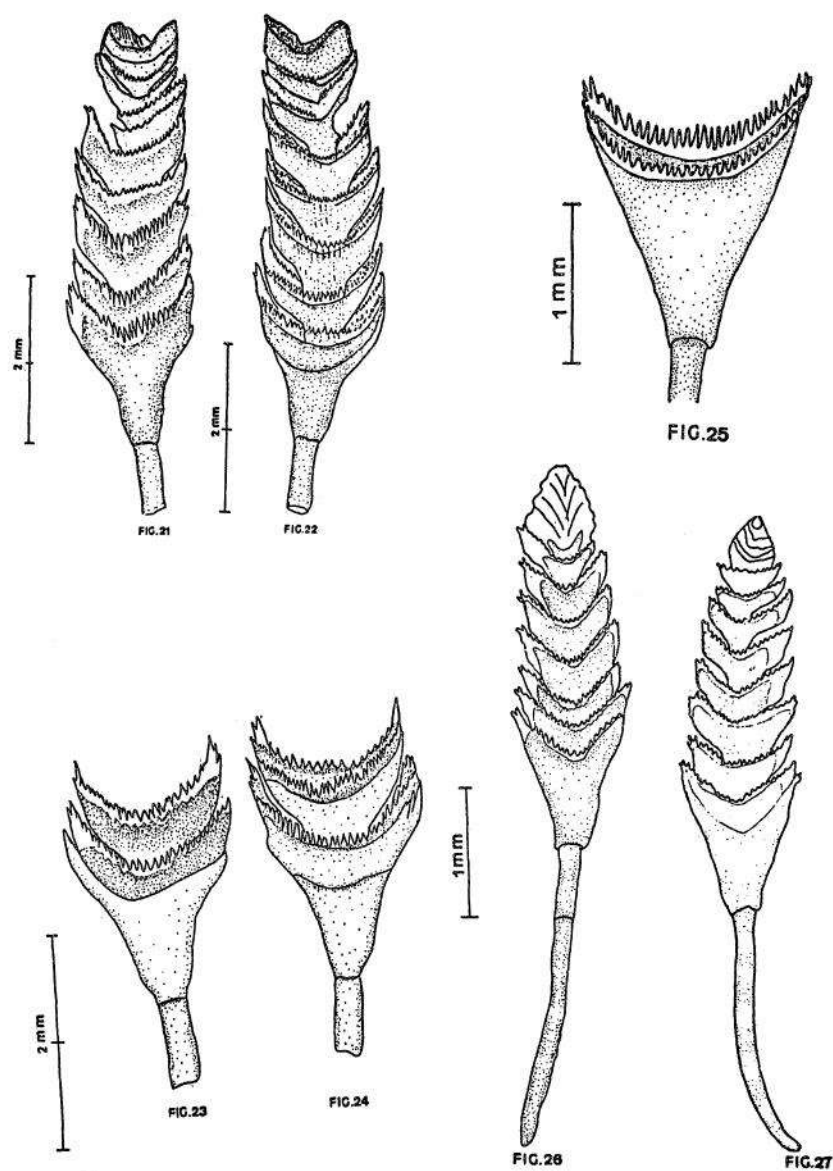


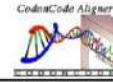
Fig. 14. *Nausitora fusticula*. Porção terminal, com paletas e sífões tentaculados.
 Fig. 15. *Bankia gouldi*. Face externa da paleta.
 Fig. 16. *Bankia gouldi*. Face interna da paleta.
 Fig. 17. *Bankia fimbriatula*. Face externa da paleta.
 Fig. 18. *Bankia fimbriatula*. Face interna da paleta.
 Fig. 19. *Bankia fimbriatula*. Face externa de um cone da paleta.
 Fig. 20. *Bankia fimbriatula*. Face interna de um cone da paleta.



- Fig. 21. **Bankia rochi**. Face externa da paleta.
 Fig. 22. **Bankia rochi**. Face interna da paleta.
 Fig. 23. **Bankia rochi**. Face interna de dois segmentos da paleta.
 Fig. 24. **Bankia rochi**. Face externa de dois segmentos da paleta.
 Fig. 25. **Bankia bagidaensis**. Face externa de um cone individual da paleta.
 Fig. 26. **Bankia bagidaensis**. Face interna da paleta.
 Fig. 27. **Bankia bagidaensis**. Face externa da paleta.

ANEXO C — CODONCODE ALIGNER: TRABALHO SEQUENCE, BRR_42_ok e BRR_44_ok

CodonCode Aligner: trabalho sequence, BRR_42_ok
2 de Julho de 2025 16h29min41s GFT
Page 1 of 4



```
<< BRR-42-SS-1... TTATG AAGTT AGCGG CGGAC GGG-T GAGTA ACACG TGGGT AACCT
<< BRR-42-SS-1... TTATG AAGTT AGCGG CGGAC GGGGT GAGTA ACACG TGGGT AACCT
|1|6|11|16|21|26|31|36|41
BRR_42_ok TTATG AAGTT AGCGG CGGAC GGG-T GAGTA ACACG TGGGT AACCT
```

```
<< BRR-42-SS-1... GCCCA TAAGA CTGGG ATAAC TCCGG GAAAC CGGGG CTAAT ACCGG
<< BRR-42-SS-1... GCCCA TAAGA CTGGG ATAAC TCCGG GAAAC CGGGG CTAAT ACCGG
|46|51|56|61|66|71|76|81|86
BRR_42_ok GCCCA TAAGA CTGGG ATAAC TCCGG GAAAC CGGGG CTAAT ACCGG
```

```
<< BRR-42-SS-1... ATAAC ATTTT GAACT GCATG GTTGG AAATT GAAAG GCGGC TTCGG
<< BRR-42-SS-1... ATAAC ATTTT GATCT GCATG GTTGG AAATT GAAAG GCGGC TTCGG
|91|96|101|106|111|116|121|126|131
BRR_42_ok ATAAC ATTTT GAACT GCATG GTTGG AAATT GAAAG GCGGC TTCGG
```

```
<< BRR-42-SS-1... CTGTC ACTTA TGGAT GGACC CGCGT CGCAT TAGCT AGTTG GTGAG
<< BRR-42-SS-1... CTGTC ACTTA TGGAT GGACC CGCGT CGCAT TAGCT AGTTG GTGAG
|136|141|146|151|156|161|166|171|176
BRR_42_ok CTGTC ACTTA TGGAT GGACC CGCGT CGCAT TAGCT AGTTG GTGAG
```

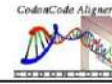
```
<< BRR-42-SS-1... GTAAC GGCTC ACCAA GGCAA CGATG CGTAG CCGAC CTGAG AGGGT
<< BRR-42-SS-1... GTAAC GGCTC ACCAA GGCAA CGATG CGTAG CCGAC CTGAG AGGGT
|181|186|191|196|201|206|211|216|221
BRR_42_ok GTAAC GGCTC ACCAA GGCAA CGATG CGTAG CCGAC CTGAG AGGGT
```

```
<< BRR-42-SS-1... GATCG GCCAC ACTGG GACTG AGACA CGGCC CAGAC TCCTA CGGGA
<< BRR-42-SS-1... GATCG GCCAC ACTGG GATTG AGACA CGGCC CAGAC TCCTA CGGGA
|226|231|236|241|246|251|256|261|266
BRR_42_ok GATCG GCCAC ACTGG GACTG AGACA CGGCC CAGAC TCCTA CGGGA
```

CodonCode Aligner: trabalho sequence, BRR_42_ok

2 de Julho de 2025 16h29min42s GFT

Page 2 of 4



```

<< BRR-42-SS-1... GGCAG CAGTA GGGAA TCTTC CGCAA TGGAC GAAAG TCTGA CGGAG
<< BRR-42-SS-1... GGCAG CAGTA GGGAA TCTTC CGCAA TGGAC GAAAG TCTGA CGGAG
|271|276|281|286|291|296|301|306|311

```

```

BRR_42_ok      GGCAG CAGTA GGGAA TCTTC CGCAA TGGAC GAAAG TCTGA CGGAG

```

```

<< BRR-42-SS-1... CAACG CCGCG TGAGT GATGA AGGCT TTCGG GTCGT AAAAC TCTGT
<< BRR-42-SS-1... CAACG CCGCG TGAGT GATGA AGGCT TTCGG GTCGT AAAAC TCTGT
|316|321|326|331|336|341|346|351|356

```

```

BRR_42_ok      CAACG CCGCG TGAGT GATGA AGGCT TTCGG GTCGT AAAAC TCTGT

```

```

<< BRR-42-SS-1... TGTTA GGGAA GAACA AGTGC TAGTT GAATA AGCTG GCACC TTGAC
<< BRR-42-SS-1... TGTTA GGGAA GAACA AGTGC TAGTT GAATA AGCTG GCACC TTGAC
|361|366|371|376|381|386|391|396|401

```

```

BRR_42_ok      TGTTA GGGAA GAACA AGTGC TAGTT GAATA AGCTG GCACC TTGAC

```

```

<< BRR-42-SS-1... GGTAC CTAAC CAGAA AGCCA CGGCT AACTA CGTGC CAGCA GCCGC
<< BRR-42-SS-1... GGTAC CTAAC CAGAA AGCCA CGGCT AACTA CGTGC CAGCA GCCGC
|406|411|416|421|426|431|436|441|446

```

```

BRR_42_ok      GGTAC CTAAC CAGAA AGCCA CGGCT AACTA CGTGC CAGCA GCCGC

```

```

<< BRR-42-SS-1... GGTAA TACGT AGGTG GCAAG CGTTA TCCGG AATTA TTGGG CGTAA
<< BRR-42-SS-1... GGTAA TACGT AGGTG GCAAG CGTTA TCCGG AATTA TTGGG CGTAA
BRR-42-SS-1508...      GGG CGTAA
BRR-42-SS-1508...      G CGTAA
|451|456|461|466|471|476|481|486|491

```

```

BRR_42_ok      GGTAA TACGT AGGTG GCAAG CGTTA TCCGG AATTA TTGGG CGTAA

```

```

<< BRR-42-SS-1... AGCGC GCGCA GGTGG TTTCT TAAGT CTGAT GTGAA AGCCC ACGGC
<< BRR-42-SS-1... AGCGC GCGCA GGTGG TTTCT TAAGT CTGAT GTGAA AGCCC ACGGC
BRR-42-SS-1508... -GCGC GCGCA GGTGG TTTCT TAAGT CTGAT GTGAA ATCCC ACGGC
BRR-42-SS-1508... -GCGC GCGCA GGTGG TTTCT TAAGT CTGAT GTGAA ATCCC ACGGC
|496|501|506|511|516|521|526|531|536

```

```

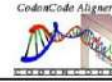
BRR_42_ok      AGCGC GCGCA GGTGG TTTCT TAAGT CTGAT GTGAA AGCCC ACGGC

```

CodonCode Aligner: trabalho sequence, BRR_42_ok

2 de Julho de 2025 16h29min42s GFT

Page 3 of 4



```

<< BRR-42-SS-1... TCAAC CGTGG AGGGT CATTG GAAAC TGGGA GACTT GAGTG CAGAA
<< BRR-42-SS-1... TCAAC CGTGG AGGGT CATTG GAAAC TGGGA GACTT GAGTG CAGAA
BRR-42-SS-1508... TCAAC CGTGG AGGGT CATTG GAAAC TGGGA GACTT GAGTG CAGAA
BRR-42-SS-1508... TCAAC CGTGG AGGGT CATTG GAAAC TGGGA GACTT GAGTG CAGAA
|541|546|551|556|561|566|571|576|581

```

```

BRR_42_ok      TCAAC CGTGG AGGGT CATTG GAAAC TGGGA GACTT GAGTG CAGAA

```

```

<< BRR-42-SS-1... GAGGA AAGTG GAATT CCATG TGTAG CGGTG AAATG CGTAG AGATA
<< BRR-42-SS-1... GAGGA AAGTG GAATT CCATG TGTAG CGGTG AAATG CGTAG AGATA
BRR-42-SS-1508... GAGGA AAGTG GAATT CCATG TGTAG CGGTG AAATG CGTAG AGATA
BRR-42-SS-1508... GAGGA AAGTG GAATT CCATG TGTAG CGGTG AAATG CGTAG AGATA
|586|591|596|601|606|611|616|621|626

```

```

BRR_42_ok      GAGGA AAGTG GAATT CCATG TGTAG CGGTG AAATG CGTAG AGATA

```

```

<< BRR-42-SS-1... TGGAG GAACA CCAGT GGC GA AGGCG ACTTT CTGGT CTGTA ACTGA
<< BRR-42-SS-1... TGGAG GAACA CCAGT GGC GA AGGCG ACTTT CTGGT CTGTA ACTGA
BRR-42-SS-1508... TGGAG GAACA CCAGT GGC GA AGGCG ACTTT CTGGT CTGTA ACTGA
BRR-42-SS-1508... TGGAG GAACA CCAGT GGC GA AGGCG ACTTT CTGGT CTGTA ACTGA
|631|636|641|646|651|656|661|666|671

```

```

BRR_42_ok      TGGAG GAACA CCAGT GGC GA AGGCG ACTTT CTGGT CTGTA ACTGA

```

```

<< BRR-42-SS-1... CACTG AGGCG CGAAA GCGTG GGGAG CAAAC AGGAT TAGAT ACCCT
<< BRR-42-SS-1... CACTG AGGCG CGAAA GCGTG GGGAG CAAAC AGGAT TAGAT ACCCT
BRR-42-SS-1508... CACTG AGGCG CGAAA GCGTG GGGAG CAAAC AGGAT TAGAT ACCCT
BRR-42-SS-1508... CACTG AGGCG CGAAA GCGTG GGGAG CAAAC AGGAT TAGAT ACCCT
|676|681|686|691|696|701|706|711|716

```

```

BRR_42_ok      CACTG AGGCG CGAAA GCGTG GGGAG CAAAC AGGAT TAGAT ACCCT

```

```

<< BRR-42-SS-1... GGTAG TCCAC GCCGT AAA-C GATGA GTGCT AAGTG TTAGA GGTTT
<< BRR-42-SS-1... GGTAG TCCAC GCCGT AAA-C GATGA GTGCT AAGTG TTAGA GGTTT
BRR-42-SS-1508... GGTAG TCCAC GCCGT AAA-C GATGA GTGCT AAGTG TTAGA GGTTT
BRR-42-SS-1508... GGTAG TCCAC GCCGT AAA-C GATGA GTGCT AAGTG TTAGA GGTTT
|721|726|731|736|741|746|751|756|761

```

```

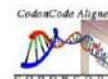
BRR_42_ok      GGTAG TCCAC GCCGT AAA-C GATGA GTGCT AAGTG TTAGA GGTTT

```

CodonCode Aligner: trabalho sequence, BRR_42_ok

2 de Julho de 2025 16h29min43s GFT

Page 4 of 4



```

<< BRR-42-SS-1... TCCGC CCTTT AGTGC TGAAG TTAAC GCATT AAGCA CTCCG CCTGG
<< BRR-42-SS-1... TCCGC CCTTT AGTGC TGAAG TTAAC GCATT AAGCA CTCCG CCTGG
BRR-42-SS-1508... TCCGC CCTTT AGTGC TGAAG TTAAC GCATT AAGCA CTCCG CCTGG
BRR-42-SS-1508... TCCGC CCTTT AGTGC TGAAG TTAAC GCATT AAGCA CTCCG CCTGG
                    |766 |771 |776 |781 |786 |791 |796 |801 |806
BRR_42_ok          TCCGC CCTTT AGTGC TGAAG TTAAC GCATT AAGCA CTCCG CCTGG
  
```

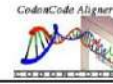
```

<< BRR-42-SS-1... GGAGT ACGGC CGCAA GGCTG AAAC TCAAAG GAATT GACGG
<< BRR-42-SS-1... GGAGT ACGGC CGCAA GGCTG AAAC TCAAAG GAATT GACGG
BRR-42-SS-1508... GGAGT ACGGC CGCAA GGCTG AAAC TCAAAG GAATT GACGG
BRR-42-SS-1508... GGAGT ACGGC CGCAA GGCTG AAAC TCAAAG GAATT GACGG
                    |811 |816 |821 |826 |831 |836 |841 |846
BRR_42_ok          GGAGT ACGGC CGCAA GGCTG AAAC TCAAAG GAATT GACGG
  
```

CodonCode Aligner: trabalho sequence, BRR_44_ok

2 de Julho de 2025 16h31min4s GFT

Page 1 of 4



```
<< BRR-44-SS-1... TCTGT TTCAC CTCAT GGTGA AATAT TGAAA GACGG TTTCG GCTGT
|1|6|11|16|21|26|31|36|41
BRR_44_ok TCTGT TTCAC CTCAT GGTGA AATAT TGAAA GACGG TTTCG GCTGT
```

```
<< BRR-44-SS-1... CGCTA TAGGA TGGGC CCGCG GCGCA TTAGC TAGTT GGTGA GGTAA
|46|51|56|61|66|71|76|81|86
BRR_44_ok CGCTA TAGGA TGGGC CCGCG GCGCA TTAGC TAGTT GGTGA GGTAA
```

```
<< BRR-44-SS-1... CGGCT CACCA AGGCG ACGAT GCGTA GCCGA CCTGA GAGGG TGATC
|91|96|101|106|111|116|121|126|131
BRR_44_ok CGGCT CACCA AGGCG ACGAT GCGTA GCCGA CCTGA GAGGG TGATC
```

```
<< BRR-44-SS-1... GGCCA CACTG GGA CT GAGAC ACGGC CCAGA CTCCT ACGGG AGGCA
|136|141|146|151|156|161|166|171|176
BRR_44_ok GGCCA CACTG GGA CT GAGAC ACGGC CCAGA CTCCT ACGGG AGGCA
```

```
<< BRR-44-SS-1... GCAGT AGGGA ATCTT CCACA ATGGG CGAAA GCCTG ATGGA GCAAC
|181|186|191|196|201|206|211|216|221
BRR_44_ok GCAGT AGGGA ATCTT CCACA ATGGG CGAAA GCCTG ATGGA GCAAC
```

```
<< BRR-44-SS-1... GCCGC GTGAG TGAAG AAGGA TTTCG GTTCG TAAAA CTCTG TTGTA
|226|231|236|241|246|251|256|261|266
BRR_44_ok GCCGC GTGAG TGAAG AAGGA TTTCG GTTCG TAAAA CTCTG TTGTA
```

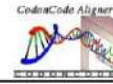
```
<< BRR-44-SS-1... AGGGA AGAAC AAGTA CAGTA GTAAC TGGCT GTACC TTGAC GGTAC
|271|276|281|286|291|296|301|306|311
BRR_44_ok AGGGA AGAAC AAGTA CAGTA GTAAC TGGCT GTACC TTGAC GGTAC
```

```
<< BRR-44-SS-1... CTTAT TAGAA AGCCA CGGCT AACTA CGTGC CAGCA GCCGC GGTAA
|316|321|326|331|336|341|346|351|356
BRR_44_ok CTTAT TAGAA AGCCA CGGCT AACTA CGTGC CAGCA GCCGC GGTAA
```

CodonCode Aligner: trabalho sequence, BRR_44_ok

2 de Julho de 2025 16h31min4s GFT

Page 2 of 4



```
<< BRR-44-SS-1... TACGT AGGTG GCAAG CGTTG TCCGG AATTA TTGGG CGTAA AGCGC
BRR-44-SS-1509... GC
```

	361	366	371	376	381	386	391	396	401
BRR_44_ok	TACGT	AGGTG	GCAAG	CGTTG	TCCGG	AATTA	TTGGG	CGTAA	AGCGC

```
<< BRR-44-SS-1... GCGCA GGTGG TTTCT TAAGT CTGAT GTGAA AGCCC ACGGC TCAAC
BRR-44-SS-1509... GCGCA GGTGG TTTCT TAAGT CTGAT GTGAA AGCCC ACGGC TCAAC
```

	406	411	416	421	426	431	436	441	446
BRR_44_ok	GCGCA	GGTGG	TTTCT	TAAGT	CTGAT	GTGAA	AGCCC	ACGGC	TCAAC

```
<< BRR-44-SS-1... CGTGG AGGGT CATTG GAAAC TGGGA GACTT GAGTG CAGAA GAGGA
BRR-44-SS-1509... CGTGG AGGGT CATTG GAAAC TGGGA GACTT GAGTG CAGAA GAGGA
```

	451	456	461	466	471	476	481	486	491
BRR_44_ok	CGTGG	AGGGT	CATTG	GAAAC	TGGGA	GACTT	GAGTG	CAGAA	GAGGA

```
<< BRR-44-SS-1... TAGTG GAATT CCAAG TGTAG CGGTG AAATG CGTAG AGATT TGGAG
BRR-44-SS-1509... TAGTG GAATT CCAAG TGTAG CGGTG AAATG CGTAG AGATT TGGAG
```

	496	501	506	511	516	521	526	531	536
BRR_44_ok	TAGTG	GAATT	CCAAG	TGTAG	CGGTG	AAATG	CTAG	AGATT	TGGAG

```
<< BRR-44-SS-1... GAACA CCAGT GCGCA AGGCG ACTAT CTGGT CTGTA ACTGA CACTG
BRR-44-SS-1509... GAACA CCAGT GCGCA AGGCG ACTAT CTGGT CTGTA ACTGA CACTG
```

	541	546	551	556	561	566	571	576	581
BRR_44_ok	GAACA	CCAGT	GCGCA	AGGCG	ACTAT	CTGGT	CTGTA	ACTGA	CACTG

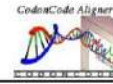
```
<< BRR-44-SS-1... AGGCG CGAAA GCGTG GGGAG CAAAC AGGAT TAGAT ACCCT GGTAG
BRR-44-SS-1509... AGGCG CGAAA GCGTG GGGAG CAAAC AGGAT TAGAT ACCCT GGTAG
```

	586	591	596	601	606	611	616	621	626
BRR_44_ok	AGGCG	CGAAA	GCGTG	GGGAG	CAAAC	AGGAT	TAGAT	ACCCT	GGTAG

CodonCode Aligner: trabalho sequence, BRR_44_ok

2 de Julho de 2025 16h31min4s GFT

Page 3 of 4



```
<< BRR-44-SS-1... TCCAC GCCGT AAACG ATGAG TGCTA AGTGT TAGGG GGTTT CCGCC
BRR-44-SS-1509... TCCAC GCCGT AAACG ATGAG TGCTA AGTGT TAGGG GGTTT CCGCC
|631 |636 |641 |646 |651 |656 |661 |666 |671
BRR_44_ok      TCCAC GCCGT AAACG ATGAG TGCTA AGTGT TAGGG GGTTT CCGCC
```

```
<< BRR-44-SS-1... CCTTA GTGCT GCAGC TAACG CATT A AGCAC TCCGC CTGGG GAGTA
BRR-44-SS-1509... CCTTA GTGCT GCAGC TAACG CATT A AGCAC TCCGC CTGGG GAGTA
|676 |681 |686 |691 |696 |701 |706 |711 |716
BRR_44_ok      CCTTA GTGCT GCAGC TAACG CATT A AGCAC TCCGC CTGGG GAGTA
```

```
<< BRR-44-SS-1... CGGTC GCAAG ACTGA AACTC AAAGG A
BRR-44-SS-1509... CGGTC GCAAG ACTGA AACTC AAAGG AATTG ACGGG GGCCC GCACA
|721 |726 |731 |736 |741 |746 |751 |756 |761
BRR_44_ok      CGGTC GCAAG ACTGA AACTC AAAGG AATTG ACGGG GGCCC GCACA
```

```
BRR-44-SS-1509... AGCGG TGGAG CATGT GGTTC AATTC GAAGC AACGC GAAGA ACCTT
|766 |771 |776 |781 |786 |791 |796 |801 |806
BRR_44_ok      AGCGG TGGAG CATGT GGTTC AATTC GAAGC AACGC GAAGA ACCTT
```

```
BRR-44-SS-1509... ACCAG GTCTT GACAT CCCGT TGACC ACTGT AGAGA TATGG TTTCC
|811 |816 |821 |826 |831 |836 |841 |846 |851
BRR_44_ok      ACCAG GTCTT GACAT CCCGT TGACC ACTGT AGAGA TATGG TTTCC
```

```
BRR-44-SS-1509... CCTTC GGGGG CAACG GTGAC AGGTG GTGCA TGGTT GTCGT CAGCT
|856 |861 |866 |871 |876 |881 |886 |891 |896
BRR_44_ok      CCTTC GGGGG CAACG GTGAC AGGTG GTGCA TGGTT GTCGT CAGCT
```

```
BRR-44-SS-1509... CGTGT CGTGA GATGT TGGGT TAAGT CCCGC AACGA GCGCA ACCCT
|901 |906 |911 |916 |921 |926 |931 |936 |941
BRR_44_ok      CGTGT CGTGA GATGT TGGGT TAAGT CCCGC AACGA GCGCA ACCCT
```

CodonCode Aligner: trabalho sequence, BRR_44_ok

2 de Julho de 2025 16h31min5s GFT

Page 4 of 4



BRR-44-SS-1509...	TGATC	TTAGT	TGCCA	TCATT	TAGTT	GGGCA	CTCTA	AGGTG	ACTGC
	946	951	956	961	966	971	976	981	986

BRR_44_ok	TGATC	TTAGT	TGCCA	TCATT	TAGTT	GGGCA	CTCTA	AGGTG	ACTGC
-----------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

BRR-44-SS-1509...	CGGTG	ACAAA	CCGGA	GGAAG	GTGGG	GATGA	CGTCA	AATCA	TCATG
	991	996	1001	1006	1011	1016	1021	1026	1031

BRR_44_ok	CGGTG	ACAAA	CCGGA	GGAAG	GTGGG	GATGA	CGTCA	AATCA	TCATG
-----------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

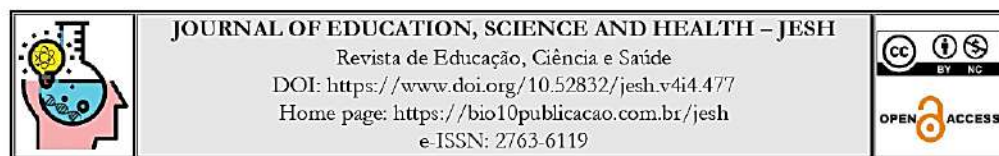
BRR-44-SS-1509...	CCCCT	TATGA	CCTGG	GCTAC	ACACG	TGCTA	CAATG	GACGA	TACAA
	1036	1041	1046	1051	1056	1061	1066	1071	1076

BRR_44_ok	CCCCT	TATGA	CCTGG	GCTAC	ACACG	TGCTA	CAATG	GACGA	TACAA
-----------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

BRR-44-SS-1509...	ACGGT	TGCC
	1081	1086

BRR_44_ok	ACGGT	TGCC
-----------	-------	------

ANEXO D — POTENCIAL GÊNICO DA BACTÉRIA *Teredinibacter turnerae* MEDIANTE A SUA RESPOSTA MOLECULAR PARA DEGRADAÇÃO DE CELULOSE COMO FOMENTO PARA BIOPROCESSOS



POTENCIAL GÊNICO DA BACTÉRIA *Teredinibacter turnerae* MEDIANTE A SUA REPOSTA MOLECULAR PARA DEGRADAÇÃO DE CELULOSE COMO FOMENTO PARA BIOPROCESSOS

GENETIC POTENTIAL OF THE BACTERIUM *Teredinibacter turnerae* THROUGH ITS MOLECULAR RESPONSE TO CELLULOSE DEGRADATION TO PROMOTE BIOPROCESSES

POTENCIAL GENÉTICO DE LA BACTERIA *Teredinibacter turnerae* A TRAVÉS DE SU RESPUESTA MOLECULAR A LA DEGRADACIÓN DE LA CELULOSA PARA PROMOVER BIOPROCESOS

Fernando Gil Mesquita de Freitas Gonçalves^{1*} , Francisco Alexandre Castro Santos² , Bruno Viana de Souza³ , João Carlos da Costa Assunção⁴ 

¹Mestrando no Programa de Pós-Graduação em Energias Renováveis (PPGER) pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará - Campus Maracanaú (IFCE campus Maracanaú). Maracanaú, Ceará, Brasil. ²Graduando em Licenciatura em Química pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará - Campus Maracanaú (IFCE campus Maracanaú). Maracanaú, Ceará, Brasil. ³Graduado em Licenciatura em Química pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará - Campus Maracanaú (IFCE campus Maracanaú). Maracanaú, Ceará, Brasil;

⁴Doutor em Química Orgânica pela Universidade Federal do Ceará (UFC). Professor efetivo do Instituto Federal do Ceará - Campus Maracanaú (IFCE campus Maracanaú).

*Autor correspondente: fernandogilmesquita@gmail.com

Recebido: 21/09/2024 | Aprovado: 27/11/2024 | Publicado: 30/11/2024

Resumo: Os atuais desafios biotecnológicos estão relacionados com a busca de novos produtos ou processos que aprimorem ou sanem problemas existentes nas indústrias alimentícias, energéticas e farmacológicas. Uma dessas problemáticas envolve a produção de biocombustíveis de 2ª geração, que apesar de promissores, apresentam algumas limitações. Os moluscos da família *Teredinidae*, conhecidos como vermes perfuradores de madeira, estão presentes nas regiões marítimas e nas regiões de mangue e contam com o auxílio de sua complexa microbiota associada a qual realizam a degradação de polissacarídeos complexos e lenhosos. A *Teredinibacter turnerae* é uma das principais bactérias responsáveis por essa atividade metabólica e estão alojadas na região das brânquias do molusco. Com base nas informações levantadas em artigos, dissertações e teses, foi conduzido uma investigação bibliográfica a fim de investigar o potencial para o aprimoramento do atual processo que permite o reaproveitamento dos resíduos do setor sucroalcooleiro, assim revolucionando o processo brasileiro de obtenção de energia. Denotou-se, portanto, o grande potencial genômico da *T. turnerae* em processos que necessitam da quebra da celulose. Entretanto, observou-se também a participação de outros protagonistas que favorecem ou potencializam esta resposta metabólica secundária.

Palavras-chave: Bioprospecção. Lignocelulósica. Microbiota. *Teredinidae*.

Abstract: Current biotechnological challenges are related to the search for new products or processes that improve or solve existing problems in the food, energy and pharmacological industries. One of these problems involves the production of 2nd generation biofuels, which, despite being promising, have some limitations. Molluscs from the *Teredinidae* family, known as wood-boring worms, are present in maritime regions and mangrove regions and rely on the help of their complex associated microbiota, which carry out the degradation of complex and woody polysaccharides. *Teredinibacter turnerae* is one of the main bacteria responsible for this metabolic activity and is housed in the gill region of the mollusk. Based on information collected in articles, dissertations and theses, a bibliographical investigation was conducted in order to investigate the potential for improving the current process that allows the reuse of waste from the sugar and alcohol sector, thus revolutionizing the Brazilian process of obtaining energy. Therefore, the great genomic potential of *T. turnerae* in processes that require the breakdown of cellulose was noted. However, the participation of other protagonists that favor or enhance this secondary metabolic response was also observed.

Keywords: Bioprospecting. Lignocellulosic. Microbiota. *Teredinidae*.

Resumen: Los desafíos biotecnológicos actuales están relacionados con la búsqueda de nuevos productos o procesos que

ANEXO E — PROTEÍNAS PUTATIVAS COM DOMÍNIOS CATALÍTICOS MULTIFUNCIONAIS CELAB ORIUNDO DA EXPRESSÃO GENÔMICA DA BACTERIANO SIMBIÓTICO VISCERAIS DE INVERTEBRADO MARINHO XILOTRÉPTICO



Brazilian Journal of
BIOLOGICAL
SCIENCES

Proteínas Putativas com Domínios Catalíticos Multifuncionais CelAB Oriundo da Expressão Genômica da Bacteriano Simbiótico Viscerais de Invertebrado Marinho Xilotrético

Fernando Gil Mesquita de Freitas Gonçalves¹, Francisco Alexandre Castro Santos², João Carlos da Costa Assunção³

Resumo. A crescente demanda por alternativas sustentáveis nos setores alimentício, farmacológico e energético tem impulsionado a pesquisa em biomassa lignocelulósica, uma fonte renovável composta por celulose, hemicelulose e lignina. Sua conversão eficiente em biocombustíveis requer tecnologias avançadas, como o uso de microrganismos e enzimas especializadas. Nesse contexto, destaca-se a simbiose entre o molusco *Neoteredo reynei* e a bactéria celulolítica *Teredinibacter turnerae*. Essa relação simbiótica permite a degradação de madeira submersa, graças à produção de enzimas como a CelAB, uma celulase multifuncional com domínios catalíticos e de ligação a carboidratos (CBMs), fundamentais na quebra de fibras lignocelulósicas. Estudos genômicos revelam que *T. turnerae* possui uma diversidade de genes codificadores de glicosil hidrolases e vias biossintéticas como PKS e NRPS, responsáveis por compostos bioativos com aplicações farmacológicas e ecológicas. A CelAB, em particular, apresenta versatilidade catalítica, sendo promissora para bioprocessos industriais. A análise do microbioma branquial de *N. reynei* confirma o papel crucial das bactérias simbióticas na digestão da madeira e na produção de metabólitos secundários. Este artigo de revisão ressalta o potencial biotecnológico dessas enzimas na conversão de biomassa em produtos de alto valor agregado. O estudo da interação simbiótica em ambientes como manguezais brasileiros amplia a compreensão ecológica e evolutiva de *N. reynei*, oferecendo novas perspectivas para a aplicação de enzimas multifuncionais em processos sustentáveis de biorrefinaria.

Palavras-chave: Biocombustíveis. Biomassa Lignocelulósica. Biotecnologia. Glicosídeos Hidrolases. *Teredinibacter turnerae*.

DOI:10.21472/bjbs.v12n27-004

Submitted on:
06/16/2025

Accepted on:
06/20/2025

Published on:
07/23/2025

Open Access
Full Text Article



Putative CelAB Protein with Multifunctional Catalytic Domains Originating from the Genomic Expression of Visceral Symbiotic Bacteria in Marine Xylotrophic Invertebrates

Abstract. The growing demand for sustainable solutions in the food, pharmaceutical, and energy sectors has driven interest in lignocellulosic biomass as a renewable raw material. Its efficient conversion into second-generation biofuels requires advanced technologies, particularly those involving specialized microorganisms and enzymes. In this context, the marine bivalve *Neoteredo reynei* and its symbiotic

¹ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE), Maracanaú, Ceará, Brasil. E-mail: fernandogilmesquita@gmail.com

² Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE), E-mail: castroalexandreastro964@gmail.com

³ Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza, Ceará, Brasil. E-mail: joaocarlos@ifce.edu.br

ANEXO F — *Bacillus* spp. E *Lysinibacillus* spp. COMO CANDIDATOS À DEGRADAÇÃO LIGNOCELULÓSICA EM TEREDINIDAE: EVIDÊNCIAS, LACUNAS E PERSPECTIVAS BIOTECNOLÓGICAS



Brazilian Journal of
BIOLOGICAL
SCIENCES

Bacillus spp. e *Lysinibacillus* spp. como Candidatos à Degradação Lignocelulósica em Teredinidae: Evidências, Lacunas e Perspectivas Biotecnológicas

Fernando Gil Mesquita de Freitas Gonçalves¹, Francisco Alexandre Castro Santos², João Carlos da Costa Assunção³

Resumo. A biomassa lignocelulósica representa uma fonte estratégica para a produção de biocombustíveis de segunda geração, mas sua estrutura complexa demanda sistemas enzimáticos especializados para a degradação. Bactérias dos gêneros *Bacillus* e *Lysinibacillus* destacam-se pela produção de enzimas lignocelulolíticas, muitas vezes ativas em condições extremas, o que as torna candidatas promissoras para aplicações biotecnológicas. Neste estudo, investigou-se a ocorrência desses Firmicutes no molusco xilófago *Neoteredo reynei* (Teredinidae), coletado em manguezal da APA da Sabaguaba (CE). Foram isoladas duas linhagens bacterianas, identificadas por sequenciamento do gene 16S rRNA como *Bacillus wiedmannii* (BRR_42) e *Lysinibacillus fusiformis* (BRR_44). Ambas apresentaram crescimento em substrato lignocelulósico, sugerindo atividade hidrolítica sustentada. A presença dessas bactérias em *N. reynei* indica possível papel complementar na digestão de madeira, tradicionalmente atribuída a simbiontes como *Teredinibacter turnerae*. O potencial dessas linhagens para a produção de enzimas termoestáveis e halotolerantes reforça sua relevância como biocatalisadores em processos de biorrefinaria. O estudo também ressalta a necessidade de abordagens metagenômicas e proteômicas para elucidar a contribuição funcional desses Firmicutes em simbioses marinhas.

Palavras-chave: Biocatálise. Firmicutes. Lignocelulose. *Neoteredo reynei*. Simbiose.

DOI:10.21472/bjbs.v12n27-045

Submitted on:
09/22/2025

Accepted on:
09/25/2025

Published on:
11/19/2025

Open Access
Full Text Article



Bacillus spp. and *Lysinibacillus* spp. as Candidates for Lignocellulosic Degradation in Teredinidae: Evidence, Gaps, and Biotechnological Perspectives

Abstract. Lignocellulosic biomass is a strategic resource for second-generation biofuel production; however, its complex structure requires specialized enzymatic systems for efficient degradation. Bacteria of the genera *Bacillus* and *Lysinibacillus* are recognized for producing lignocellulolytic enzymes, often active under extreme conditions, making them promising candidates for biotechnological applications. In this study, we investigated the occurrence of these Firmicutes in the wood-boring bivalve *Neoteredo reynei* (Teredinidae), collected from the Sabaguaba Environmental Protection Area (CE, Brazil). Two bacterial strains were isolated and identified by 16S rRNA sequencing as *Bacillus wiedmannii* (BRR_42) and *Lysinibacillus fusiformis* (BRR_44). Both strains exhibited growth on lignocellulosic substrates, suggesting sustained hydrolytic activity. Their presence in *N. reynei* raises the

¹ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE), Maracanaú, Ceará, Brasil. E-mail: fernandogilmesquita@gmail.com

² Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE), Maracanaú, Ceará, Brasil. E-mail: castroalexandrecaastro964@gmail.com

³ Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza, Ceará, Brasil. E-mail: joaocarlos@ifce.edu.br