

***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 Sabiaguaba (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 simbioses 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 Sabiaguaba 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

hypothesis of a complementary role in wood digestion, a process traditionally attributed to symbionts such as *Teredinibacter turnerae*. The potential of these strains to produce thermostable and halotolerant enzymes reinforces their value as biocatalysts in sustainable biorefineries. This study highlights the need for metagenomic and proteomic approaches to clarify the functional contribution of these Firmicutes in marine symbioses.

Keywords: Biocatalysis. Firmicutes. Lignocellulose. *Neoteredo reynei*. Symbiosis.

***Bacillus* spp. y *Lysinibacillus* spp. como Candidatos a la Degradación Lignocelulósica en Teredinidae: Evidencias, Vacíos y Perspectivas Biotecnológicas**

Resumen. La biomasa lignocelulósica representa una fuente estratégica para la producción de biocombustibles de segunda generación, pero su estructura compleja demanda sistemas enzimáticos especializados para la degradación. Las bacterias de los géneros *Bacillus* y *Lysinibacillus* se destacan por la producción de enzimas lignocelulolíticas, muchas veces activas en condiciones extremas, lo que las convierte en candidatas promisorias para aplicaciones biotecnológicas. En este estudio, se investigó la ocurrencia de estos Firmicutes en el molusco xilófago *Neoteredo reynei* (Teredinidae), recolectado en un manglar del APA de Sabiaguaba (CE). Se aislaron dos cepas bacterianas, identificadas por secuenciación del gen 16S rRNA como *Bacillus wiedmannii* (BRR_42) y *Lysinibacillus fusiformis* (BRR_44). Ambas presentaron crecimiento en sustrato lignocelulósico, lo que sugiere actividad hidrolítica sostenida. La presencia de estas bacterias en *N. reynei* indica un posible papel complementario en la digestión de la madera, tradicionalmente atribuida a simbioses como *Teredinibacter turnerae*. El potencial de estas cepas para la producción de enzimas termoestables y halotolerantes refuerza su relevancia como biocatalizadores en procesos de biorrefinería. El estudio también resalta la necesidad de enfoques metagenómicos y proteómicos para dilucidar la contribución funcional de estos Firmicutes en simbiosis marinas.

Palabras clave: Biocatálisis. Firmicutes. Lignocelulosa. *Neoteredo reynei*. Simbiosis.

INTRODUÇÃO

A crescente demanda por fontes de energia renovável e a preocupação com a segurança energética têm impulsionado a pesquisa por sistemas biológicos capazes de converter biomassa lignocelulósica em biocombustíveis e bioprodutos de alto valor agregado (Ibáñez et al., 2010; Gonçalves; Santos; Assunção, 2025).

A celulose, a hemicelulose e a lignina, que compõem a parede celular das plantas, formam uma estrutura complexa e recalcitrante que exige enzimas especializadas para sua degradação eficiente. O uso de enzimas lignocelulolíticas, como celulasas, hemicelulasas e ligninasas, é fundamental para o sucesso desses processos biotecnológicos (Borin et al., 2009; Gonçalves; Santos; Assunção, 2025).

Entre os microrganismos produtores de enzimas, as bactérias dos gêneros *Bacillus* e *Lysinibacillus*, pertencentes ao filo Firmicutes, destacam-se por sua versatilidade metabólica e capacidade de secretar enzimas extracelulares. Essas linhagens são frequentemente encontradas em

ambientes com condições extremas de temperatura, pH e salinidade, o que as torna candidatas promissoras para aplicações industriais que demandam robustez enzimática (Logan; de Vos, 2015; Brito, 2018; Errington; Van Der Aart, 2020;).

A degradação da biomassa lignocelulósica em ambientes marinhos é um processo complexo, frequentemente associado a simbioses entre invertebrados e bactérias. No caso dos moluscos xilófagos da família Teredinidae, como o turu (*Neoteredo reynei*), a digestão da madeira é classicamente atribuída a simbiontes gammaproteobactérias intracelulares, como *Teredinibacter turnerae* (Distel; Beaudoin; Morrill, 2002; Trindade-Silva et al., 2009; Gonçalves et al., 2024).

No entanto, a diversidade microbiana na microbiota visceral desses animais sugere a existência de um consórcio microbiano mais complexo e com potencial para atividades enzimáticas complementares (Gonçalves et al., 2024; Gonçalves; Santos; Assunção, 2025).

Diante deste cenário, o presente estudo investigou a presença de bactérias dos gêneros *Bacillus* e *Lysinibacillus* na microbiota intestinal de *N. reynei*, avaliando seu potencial para a degradação de biomassa lignocelulósica. A identificação taxonômica e a capacidade de crescimento dessas linhagens em substratos específicos fornecem novas evidências sobre a ecologia da simbiose em Teredinidae e abrem perspectivas para a aplicação de seus produtos enzimáticos na biorrefinaria de segunda geração.

REFERENCIAL TEÓRICO

A biomassa lignocelulósica representa uma das fontes mais promissoras de matéria-prima renovável para a produção de biocombustíveis de segunda geração (2G), em razão de sua abundância, baixo custo e caráter residual. No entanto, sua estrutura altamente recalcitrante, composta principalmente por celulose, hemicelulose e lignina, exige um conjunto complexo de sistemas enzimáticos para a liberação de açúcares fermentescíveis (Costa et al., 2021; Broda et al., 2022).

A celulose é um polímero linear de β -1,4-D-glicose, organizado em microfibrilas cristalinas que conferem rigidez à parede celular vegetal e dificultam o acesso enzimático. A hemicelulose, por sua vez, é um heteropolissacarídeo amorfo composto por xilanas, arabinanas, mananas e outros açúcares, enquanto a lignina é um polímero aromático complexo, resistente à degradação por ação química ou biológica. Esses componentes requerem enzimas específicas como endoglucanases, exoglucanases, β -glicosidases, xilanases e lacases, que atuam de forma sinérgica na desconstrução da parede celular vegetal (Sharma et al., 2020; Broda et al., 2022).

Diversos microrganismos, em especial bactérias dos gêneros *Bacillus* e *Lysinibacillus*, têm sido amplamente estudados por sua capacidade de secretar tais enzimas. Espécies como *Bacillus subtilis*, *B. velezensis*, *Lysinibacillus fusiformis* e *L. sphaericus* demonstram alto potencial na degradação de

celulose e hemicelulose, incluindo a expressão de genes CAZymes (Carbohydrate-Active Enzymes), com domínios GH5, GH43, CE4 e AA10, além de enzimas termoestáveis e halotolerantes, com aplicabilidade industrial comprovada (Singh et al., 2016; Sharma et al., 2020; Niu et al., 2022; Ibrahim et al., 2024).

Embora essas linhagens sejam comumente encontradas em ambientes terrestres, evidências emergentes indicam sua presença também em contextos marinhos e estuarinos. Isolados de *Bacillus* e *Lysinibacillus* com atividade celulolítica já foram descritos em solos de formigueiros, plantas em decomposição e ambientes costeiros, revelando sua adaptação a pH alcalino, salinidade e variações térmicas (Lucena; Narchi, 2017; Niu et al., 2022; Ibrahim et al., 2024).

Moluscos bivalves da família Teredinidae, como *Neoteredo reynei*, representam um sistema modelo para o estudo de simbioses com bactérias lignocelulolíticas. Esses animais xilófagos são capazes de degradar madeira submersa, comportamento viabilizado por simbiontes bacterianos intracelulares presentes nas brânquias, localizados em estruturas denominadas bacteriócitos. A espécie simbiote mais conhecida é *Teredinibacter turnerae*, uma gammaproteobactéria cultivável, que apresenta genes para celulase, xilanase, peroxidase, fixação de nitrogênio e biossíntese de metabólitos secundários (Trindade-Silva et al., 2009; Brito et al., 2018; Gasser et al., 2024).

Além disso, *T. turnerae* é capaz de secretar vesículas extracelulares carregadas de enzimas hidrolíticas, que são transportadas das brânquias para o trato digestivo, contribuindo para a digestão da madeira e o suprimento nutricional do hospedeiro. Entretanto, estudos recentes sugerem que essa simbiose não explica toda a diversidade funcional observada nos Teredinidae, abrindo espaço para a investigação de outros grupos bacterianos, como os Firmicutes (Distel; Beaudoin; Morrill, 2002; Altamia; Distel, 2022).

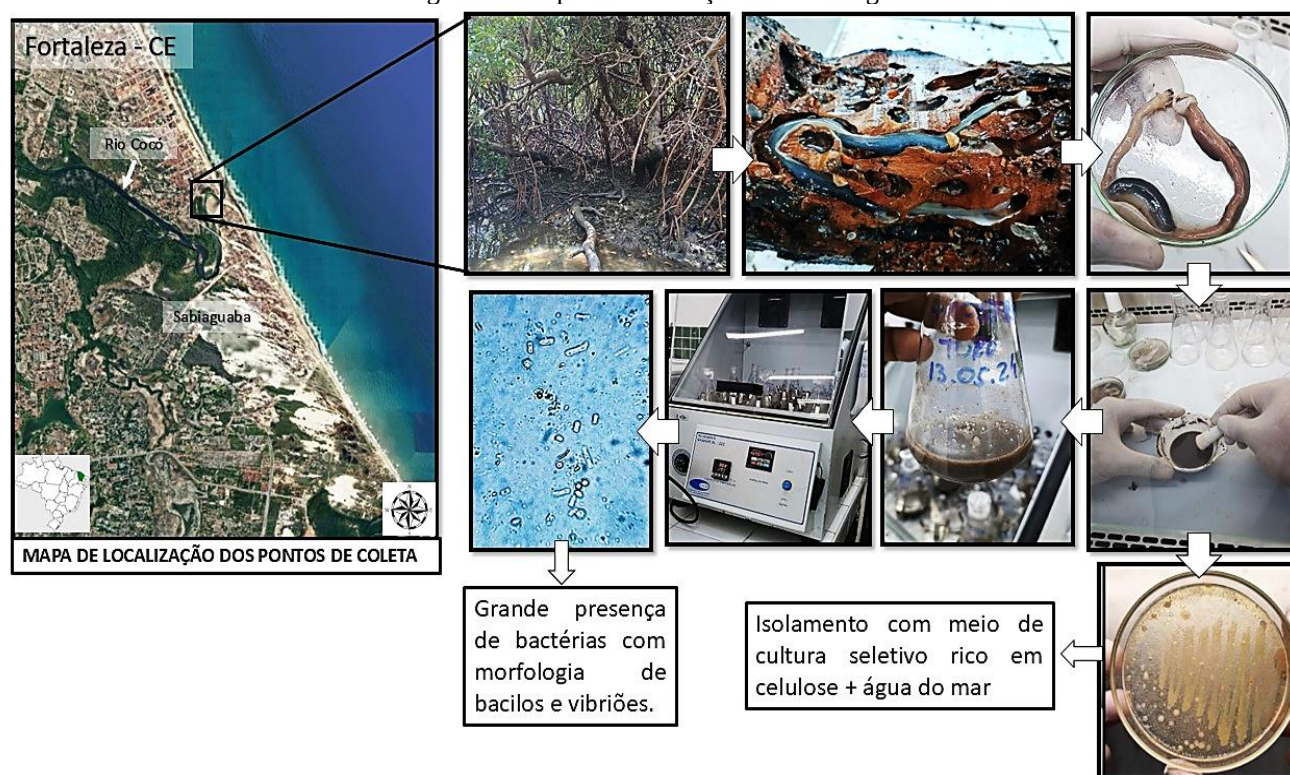
Firmicutes como *Bacillus* e *Lysinibacillus* podem atuar como comensais ou catalisadores ambientais no trato digestivo ou mesmo na superfície da madeira ingerida por Teredinidae. Embora não haja evidência direta de sua presença simbiótica estável, a atividade enzimática dessas linhagens, combinada à sua ubiquidade ecológica e adaptação a substratos lignocelulósicos, torna plausível sua participação complementar na digestão de madeira por esses moluscos (Ahmed et al., 2007; Sharma et al., 2020; Niu et al., 2022; Ibrahim et al., 2024).

Diante desse cenário, o presente estudo propõe uma análise crítica das evidências disponíveis sobre a presença e o potencial lignocelulolítico de *Bacillus spp.* e *Lysinibacillus spp.* associados a moluscos Teredinidae, com foco em *Neoteredo reynei*. A partir de dados moleculares, morfológicos e bioquímicos já relatados na literatura, discute-se a viabilidade biotecnológica desses microrganismos como fontes de novas enzimas para uso em biorrefinarias voltadas à produção de biocombustíveis e à valorização de resíduos lignocelulósicos (Singh et al., 2016; Sharma et al., 2020; Altamia; Distel, 2022).

METODOLOGIA

A abordagem metodológica deste estudo compreendeu a coleta, isolamento, enriquecimento e identificação molecular de bactérias do trato digestivo de *Neoteredo reynei*, com ênfase na prospecção de linhagens pertencentes aos gêneros *Bacillus* e *Lysinibacillus*. As coletas foram realizadas na Área de Proteção Ambiental (APA) da Sabiaguaba, em Fortaleza-CE (03°46'30.9"S, 38°26'02.7"W), próxima ao Ecomuseu Natural do Mangue, sob autorização SISBIO nº 90788-1. Foram coletados dois espécimes do molusco bivalve xilófago *N. reynei*, visando à valorização do patrimônio genético e da biodiversidade dos manguezais (Brasil, 2006).

Figura 1 – Mapa de localização e metodologia.



Fonte: Autor 2025.

A identificação taxonômica dos moluscos bivalves perfuradores de madeira coletados foi realizada com base em características morfológicas externas, segundo os critérios estabelecidos por Müller e Lana (1986) para representantes da família Teredinidae. Os espécimes analisados apresentaram corpo alongado, vermiforme, com comprimento aproximado de 40 cm, coloração variando do bege ao castanho-alaranjado e sifões posteriores bem desenvolvidos, de aspecto cilíndrico e coloração esbranquiçada. Na extremidade anterior observou-se a presença de conchas reduzidas, espessas e

situadas na região cefálica, características típicas de organismos perfuradores de madeira da família Teredinidae (Müller e Lana, 1986)

As vísceras dos animais foram homogeneizadas, diluídas em água deionizada em alíquotas de 0,1 mL. Os homogeneizados, foram inoculadas em 20 placas de petri contendo um meio de cultura sólido seletivo. A composição do meio incluía: 5,0 g/L de peptona bacteriológica, 1,5 g/L de extrato de carne, 1,5 g/L de extrato de levedura, 5 g/L de NaCl e 15 g/L de ágar bacteriológico. O meio foi preparado com 1 L de água do mar filtrada (diluída a 25% com água deionizada) e suplementado com 50 g/L de celulose microperolada, servindo como única fonte de carbono, e 0,15 mL de cicloeximida para inibir o crescimento fúngico. As placas foram incubadas a 35 °C por uma semana em uma incubadora BOD (*Biochemical Oxygen Demand*), sob fotoperíodo controlado. Para o isolamento das colônias puras, foi utilizada a técnica de espalhamento (*spread plate*) com uma alça de drigalski, seguida por estriamento sinuoso (*streak plate*) com uma alça de níquel-cromo, objetivando a obtenção de colônias puras.

Paralelamente, foi estabelecido um sistema de enriquecimento microbiano líquido, utilizando como substrato 20 g de bagaço de cana-de-açúcar seco, moído e peneirado, previamente tratado com hipoclorito de sódio a 2%. O material foi inserido em 800 mL de solução contendo 80% de água do mar filtrada e 20% de água deionizada, distribuída em frascos Erlenmeyer de 250 mL e incubada por seis dias a 45 °C em agitador orbital a 90 rpm. Após incubação, amostras foram submetidas à microscopia óptica com coloração por azul de metileno, permitindo a visualização de bastonetes bacterianos e indícios de degradação da matriz lignocelulósica.

As colônias com melhor crescimento (BRR_42 e BRR_44) foram selecionadas para análise molecular. O DNA genômico foi extraído por lise mecânica com bead-beating e purificação em colunas de sílica (Qiagen®). A amplificação da região hipervariável do gene 16S rRNA utilizou os primers universais 27F e 1492R. Os produtos amplificados (~1500 pb) foram verificados por eletroforese em gel de agarose a 2% com GelRed® e, posteriormente, purificados para sequenciamento Sanger.

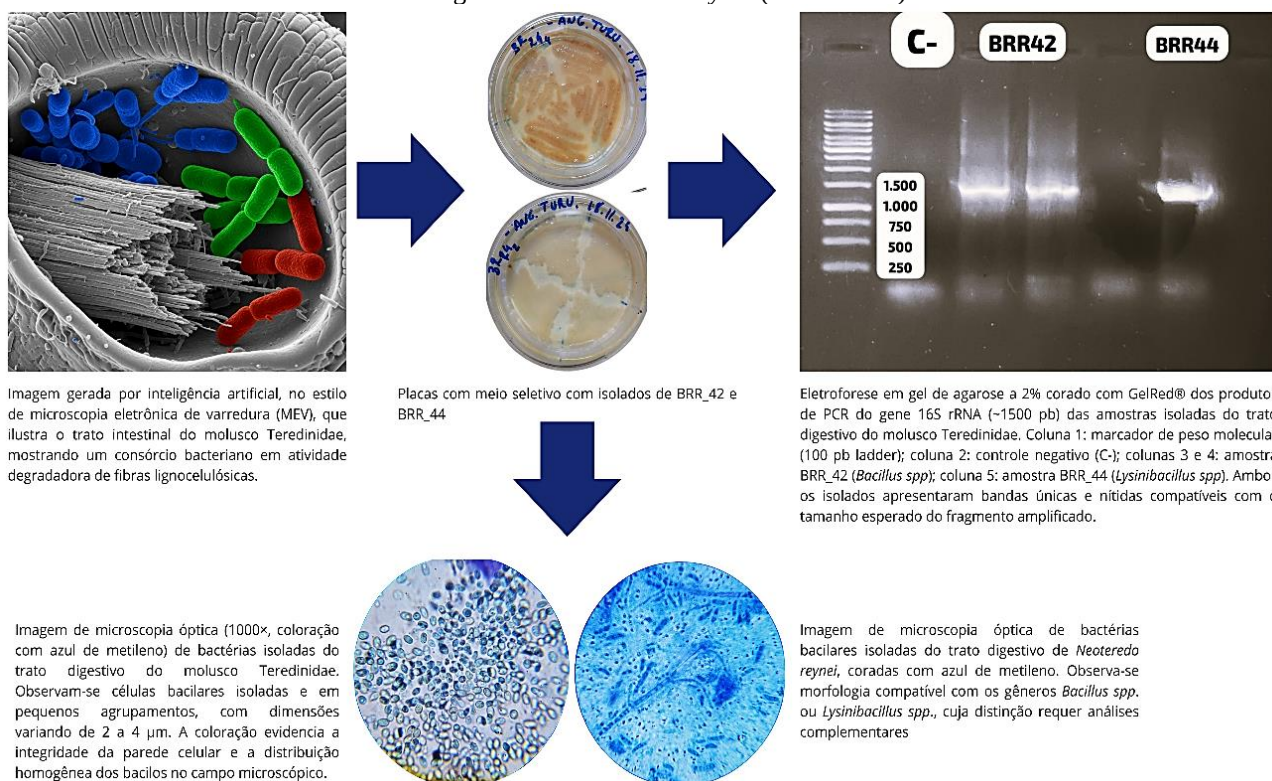
As sequências obtidas foram editadas e submetidas ao BLASTn (NCBI), com critérios de identificação de $\geq 97\%$ de identidade e E-value = 0.0. A amostra BRR_44 apresentou correspondência com *Lysinibacillus spp*, enquanto BRR_42 alinhou-se com *Bacillus spp*, ambas com identidade de 100%. A metodologia empregada permitiu a identificação taxonômica confiável até o nível de gênero, reconhecendo as limitações da região 16S rRNA para diferenciação entre espécies próximas como é o caso dos grupos bacterianos analisados (Bustin et al., 2009; Green; Sambrook, 2012; Gonçalves; Santos; Assunção, 2025)

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A aplicação de técnicas de isolamento seletivo e enriquecimento em meios lignocelulósicos permitiu a recuperação de duas linhagens bacterianas distintas do trato digestivo de moluscos da família Teredinidae. As amostras BRR_42 e BRR_44 apresentaram crescimento em meio contendo celulose como única fonte de carbono, com morfologias distintas, sugerindo diversidade microbiana relevante. A coloração azul de metileno nas análises microscópicas revelou bacilos isolados ou em pequenos agrupamentos, com tamanhos variando entre 2 e 4 µm, indicando predominância de morfologia compatível com os gêneros *Bacillus* e *Lysinibacillus* (Gonçalves; Santos; Assunção, 2025).

As análises moleculares confirmaram a presença de *Bacillus spp* (BRR_42) e *Lysinibacillus spp* (BRR_44), ambas pertencentes ao filo Firmicutes. A identificação foi baseada no sequenciamento da região 16S rRNA, com identidade de 100% com entradas depositadas em bancos de dados públicos (BLASTn/NCBI). Apesar da limitação do marcador genético para discriminação entre espécies próximas, a associação ao nível de gênero é robusta e coerente com os perfis morfológicos observados (Bustin et al., 2009; Green; Sambrook, 2012; Gonçalves; Santos; Assunção, 2025;).

Figura 2 – Isolamento, caracterização morfológica e identificação molecular de bactérias lignocelulolíticas associadas ao trato digestivo do *Neoteredo reynei* (Teredinidae).



Fonte: Autor (2025)

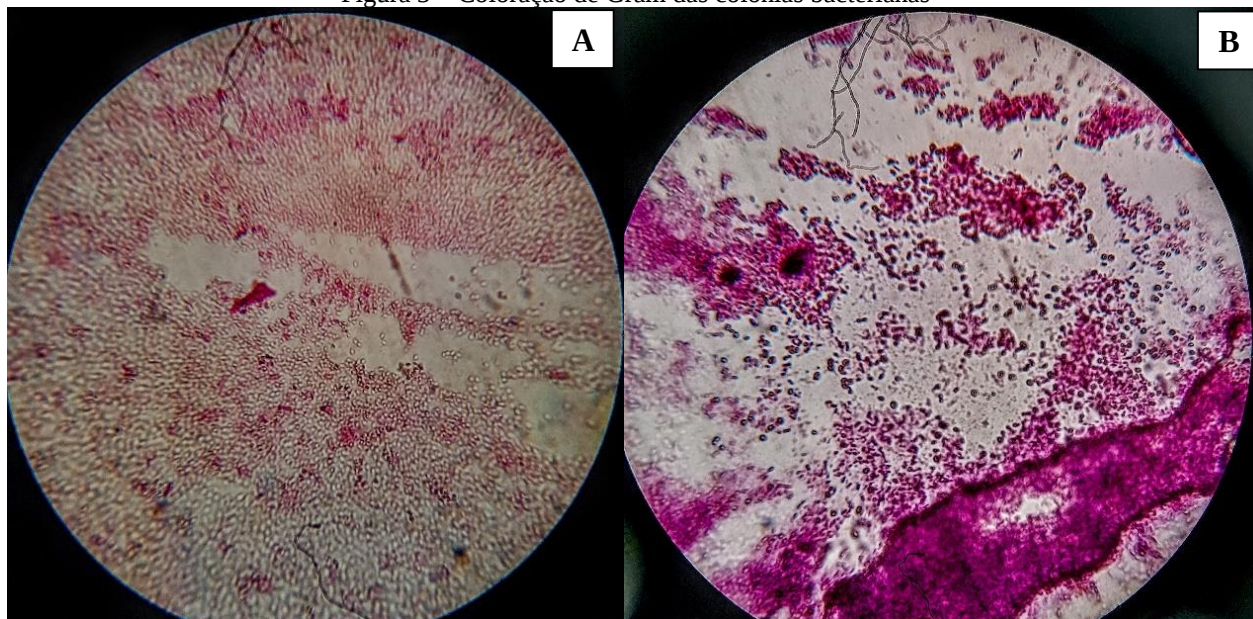
A aplicação de técnicas de isolamento seletivo em meios lignocelulósicos permitiu a recuperação de duas linhagens bacterianas (BRR_42 e BRR_44) do trato digestivo do molusco *Neoteredo reynei*. As colônias apresentaram crescimento distinto em meio contendo celulose como única fonte de carbono, sugerindo diversidade microbiana relevante. A microscopia óptica (coloração com azul de metileno) evidenciou bacilos isolados ou em pequenos agrupamentos, com dimensões variando entre 2 e 4 µm, morfológicamente compatíveis com os gêneros *Bacillus* e *Lysinibacillus*. As análises moleculares por PCR e eletroforese em gel confirmaram a identidade dos isolados como *Bacillus spp.* (BRR_42) e *Lysinibacillus spp.* (BRR_44), ambos pertencentes ao filo Firmicutes. Os resultados corroboram a associação entre características morfológicas e perfis genéticos, demonstrando o potencial dessas linhagens no metabolismo de fibras lignocelulósicas (Gonçalves; Santos; Assunção, 2025).

A presença desses gêneros no intestino de moluscos Teredinidae reforça a hipótese de que do filo firmicutes podem estar sub-representados nos levantamentos metagenômicos prévios, que apontam majoritariamente gammaproteobactérias como simbiossiontes dominantes (Trindade-Silva et al., 2009; Brito et al., 2018; Altamia; Distel, 2022).

A ausência de registros firmes de *Bacillus spp* e *Lysinibacillus spp* pode estar relacionada a vieses metodológicos, como a escolha de primers pouco abrangentes ou à baixa abundância relativa desses grupos em amostras não seletivamente enriquecidas (Niu et al., 2022; 2024Gonçalves et al., 2024; Ibrahim et al.,).

As análises microscópicas, com coloração de Gram, evidenciaram morfologia bacilar em ambas as amostras. A amostra BRR_42 (Figura 3- A) apresentou bacilos curtos e aglomerados em regiões densas da lâmina, fortemente corados em rosa púrpura, o que sugere a presença de bactérias Gram-positivas com estrutura celular espessa. Já a amostra BRR_44 (Figura 3- B) revelou um campo homogêneo com bacilos pequenos e distribuídos de maneira mais regular, compatíveis com *Lysinibacillus spp.*, e coloração mais suave, embora ainda positiva, indicando variações na composição da parede celular entre as linhagens analisadas.

Figura 3 – Coloração de Gram das colônias bacterianas

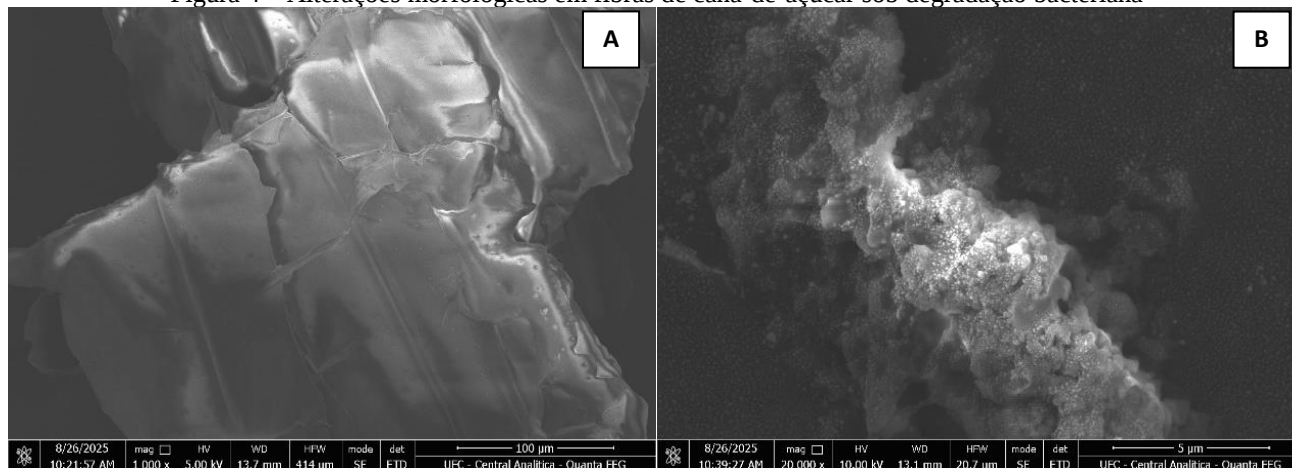


A – Coloração de Gram da amostra BRR_42. Bacilos Gram-positivos com morfologia alongada e aglomeração em áreas ricas em biomassa, com coloração púrpura intensa. B – Coloração de Gram da amostra BRR_44. Bacilos Gram-positivos com coloração menos intensa, distribuídos homogeneamente pelo campo microscópico.

Fonte: Autor 2025.

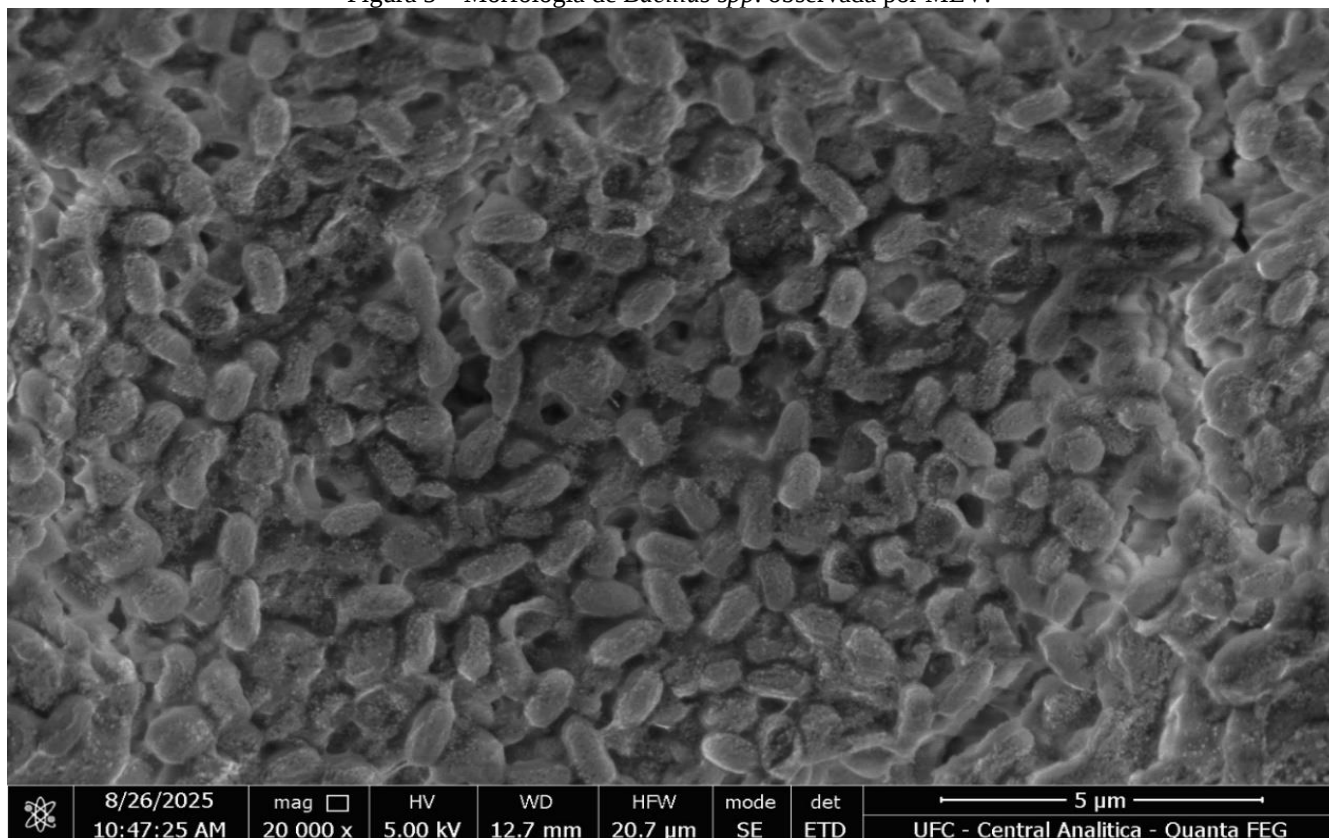
As imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) evidenciam diferenças estruturais entre fibras de cana-de-açúcar submetidas a condições distintas. Na amostra de referência (A), observa-se uma superfície mais íntegra, com paredes celulares compactas e preservadas, apresentando fraturas lineares típicas do processo mecânico de trituração. Em contraste, imagem seguinte (B), correspondente à fibra de cana-de-açúcar após degradação bacteriana, revela desorganização estrutural significativa, com presença de fissuras irregulares, erosão das superfícies e remoção parcial do material lignocelulósico. Esses padrões morfológicos indicam a ação enzimática microbiana sobre os componentes da parede celular vegetal, principalmente celulose e hemicelulose, resultando em uma textura mais porosa e fragmentada, característica de processos de biodegradação (Ibáñez et al., 2010; Sharma et al., 2020; Broda et al., 2022).

Figura 4 – Alterações morfológicas em fibras de cana-de-açúcar sob degradação bacteriana



Fonte: Autor (2025)

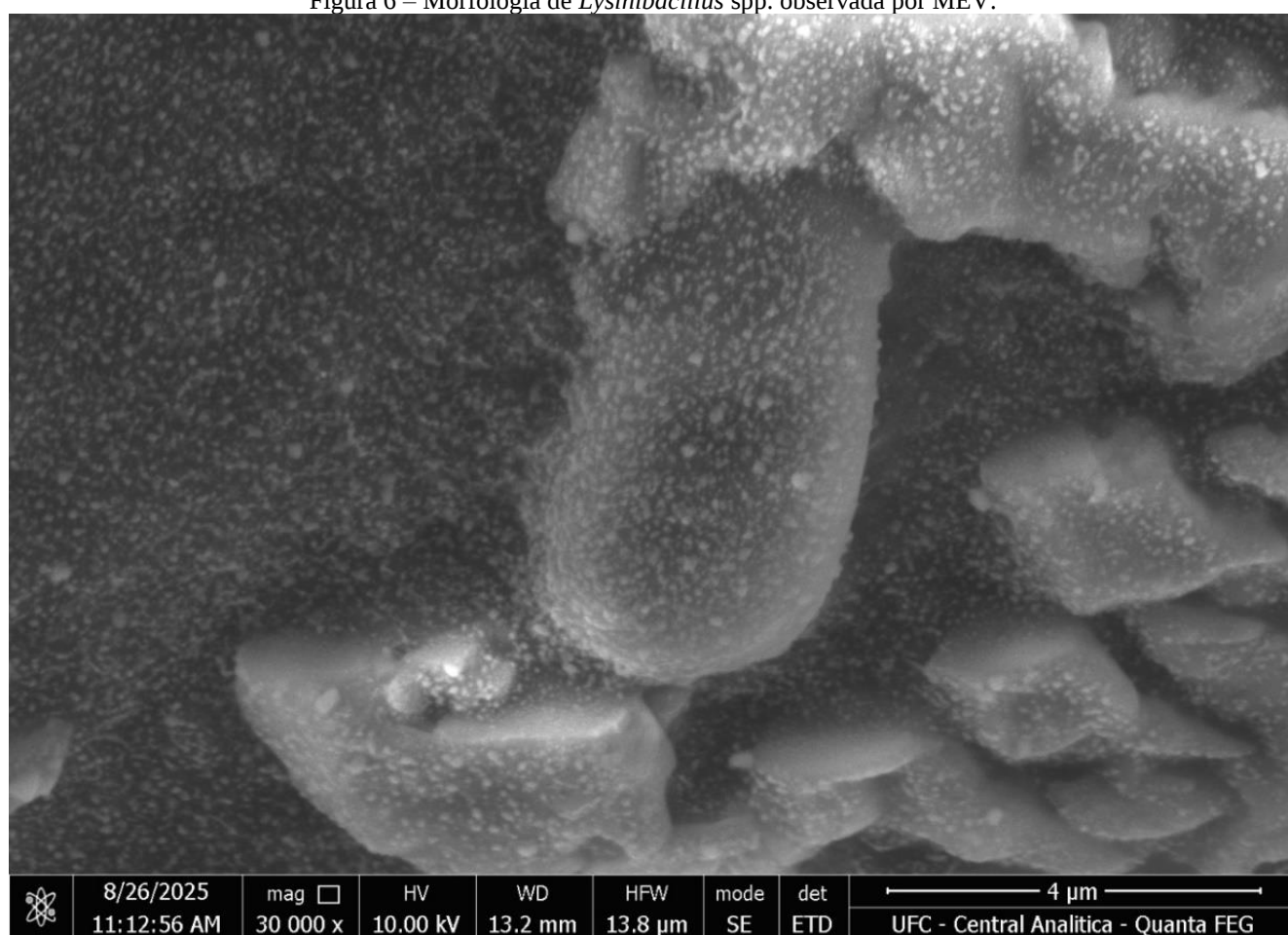
A atividade visualmente observada nas fibras de cana-de-açúcar após seis meses de incubação sugere que as linhagens isoladas possuem capacidade de metabolizar polímeros lignocelulósicos complexos, mesmo em sistemas não renovados e com substrato sólido como única fonte de carbono. Essa característica reforça o potencial biotecnológico dessas bactérias como candidatas à produção de biocatalisadores adaptados a ambientes marinhos e aplicações industriais (Ibrahim et al., 2024; Lucena; Narchi, 2017).

Figura 5 – Morfologia de *Bacillus spp.* observada por MEV.

Fonte: Autor (2025).

As bactérias do gênero *Bacillus* são bacilos Gram-positivos que ocorrem isolados, em pares ou em cadeias curtas; cada célula forma, no máximo, um endósporo. As células vegetativas apresentam, em geral, largura de $\sim 0,5\text{--}1,0\text{ }\mu\text{m}$ e comprimento típico na faixa de $2\text{--}6\text{ }\mu\text{m}$, com variação entre espécies (p.ex., *B. pumilus* $\sim 0,6\text{--}0,7 \times 2\text{--}3\text{ }\mu\text{m}$; *B. megaterium* $\sim 1,2\text{--}1,5 \times 2\text{--}5\text{ }\mu\text{m}$; *B. subtilis* $\sim 2\text{--}6\text{ }\mu\text{m}$). Os endósporos são ovais ou esféricos e podem localizar-se central, subterminal ou terminalmente; em diversas espécies, esporos terminais/subterminais distendem o esporângio. Essas estruturas conferem alta resistência a condições ambientais adversas (calor, radiação, dessecação e agentes químicos), constituindo um traço distintivo do grupo. (Logan; de Vos, 2015; Errington; Van Der Aart, 2020).

Figura 6 – Morfologia de *Lysinibacillus* spp. observada por MEV.



Fonte: Autor (2025).

No caso do gênero *Lysinibacillus*, embora pouco estudado até 2010, destacam-se também bacilos Gram-positivos que formam esporos esféricos, localizados centralmente ou terminalmente em esporângios inchados. As dimensões celulares descritas para *Lysinibacillus fusiformis* são tipicamente de $2,5\text{--}3,0\text{ }\mu\text{m}$ de comprimento por $0,5\text{--}0,9\text{ }\mu\text{m}$ de largura. Estruturalmente, o peptidoglicano da parede

celular contém lisina, aspartato, alanina e glutamato, compondo um tipo característico denominado A4 α (Lys-Asp) (He, et. al., 2010; Passera, et al., 2020).

Além disso, recentes descobertas de proteínas com domínios catalíticos multifuncionais em simbiontes marinhos — como as CelAB em *Teredinibacter turnerae*, que combinam GH10, GH5 e AA10 — apontam para a complexidade enzimática presente em sistemas simbióticos, sugerindo que a presença de *Bacillus* e *Lysinibacillus* possa complementar, e não competir, com a ação de simbiontes dominantes (Gonçalves, Santos, Assunção, 2025; Gasser et al., 2024).

Estudos anteriores demonstraram que espécies de *Bacillus* como *B. subtilis*, *B. velezensis* e *B. amyloliquefaciens* expressam um repertório robusto de enzimas CAZymes, com destaque para as famílias GH5, GH43 e CE4, capazes de hidrolisar celulose, hemicelulose e pectinas. Já *Lysinibacillus fusiformis* é reconhecido por sua produção de xilanases termoestáveis e alcalinas, com potencial para aplicações industriais e ambientais em condições extremas (Ahmed et al., 2007; Singh et al., 2016; Sharma et al., 2020; Niu et al., 2022).

Tabela 1 – Características e Potencial Biotecnológico de Espécies dos Gêneros *Lysinibacillus* e *Bacillus*.

Gênero / Espécie	Características Biológicas	Bioquímica / Molecular	Aplicação Biotecnológica	Atividade Lignocelulósica
<i>Lysinibacillus</i> sp. (cupim)	Gram-positivo, aeróbio; isolado do intestino de cupins; utiliza resíduos de palmeira de dendê como fonte de C.	Produz 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
<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)
<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
<i>Bacillus licheniformis</i> (CDB-12)	Gram-positivo, aeróbio; isolado de solo de manguezal (Índia); contém celulase	Produz 98,25 U/mL de celulase em 72 h; pico a 45 °C, pH 7	Produção industrial de celulose-degradantes em ambientes saline	SIM
<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
<i>Bacillus pumilus</i> MCB-7	Gram-positivo, aeróbio; manguezal; produz alta atividade de	Produz quitosanase ativa até 60 °C e sal	Controle biológico contra fitopatógenos e pragas agrícolas	NÃO

quitosanase (3,36 U/mL)	até 3 %; antifúngica e inseticida
REFERÊNCIA	
Yeronfe, F. et al. Avaliação de <i>Lysinibacillus</i> sp., isolado a partir do intestino de <i>Coptotermes curvignathus</i> , para a deslignificação de resíduos de óleo de palma (Dendê). <i>Bioscience Journal</i> , v. 35, n. 3, p. 892–902, 2019.	
Lee, C. S. et al. <i>Lysinibacillus xylanilyticus</i> sp. nov., a xylan-degrading bacterium isolated from forest humus. <i>International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology</i> , v. 60, n. Pt 2, p. 289–293, 2010.	
Tripathy, I. A. et al. Cellulolytic potential of mangrove bacteria <i>Bacillus haynesii</i> DS7010 ... <i>Microbiology (Reading)</i> , 2024.	
Samanta, P. et al. Cellulase from <i>Bacillus licheniformis</i> isolated from mangrove soil of Mahanadi River delta, Odisha, India. <i>Biocatalysis and Biotransformation</i> , v. 34, n. 1, p. [...], 2016.	
Domingos, D. F. et al. Draft genome sequence of <i>Bacillus pumilus</i> CCMA-560, isolated from an oil-contaminated mangrove swamp. <i>Genome Announcements</i> , v. 1, n. 5, e00707-13, 2013.	
Chittaranjan, C. et al. Biocontrol potential of halotolerant bacterial chitinase from high yielding novel <i>Bacillus pumilus</i> MCB-7 autochthonous to mangrove ecosystem. <i>Applied Microbiology and Biotechnology</i> , 2016.	
Fonte: Autor (2025).	

A tabela reúne diferentes espécies dos gêneros *Lysinibacillus* e *Bacillus*, todas Gram-positivas e aeróbias, com isolamento em ambientes diversos, como intestino de cupins, húmus de floresta e ecossistemas de manguezais, geralmente ricos em matéria orgânica complexa. Essas bactérias compartilham a capacidade de atuar sobre substratos lignocelulósicos, mas se distinguem pelas características bioquímicas e pelo potencial biotecnológico de seus sistemas enzimáticos.

O gênero *Lysinibacillus* aparece representado por duas espécies com atividades complementares. *Lysinibacillus* spp., isolado do intestino de cupins, destaca-se pela produção de enzimas ligninolíticas, como lignina peroxidase, manganês peroxidase e lacase, alcançando até 405,4 U/L de atividade e promovendo deslignificação de 4–6%. Essa capacidade o torna promissor no pré-tratamento de resíduos lignocelulósicos, como a biomassa de palmeira de dendê. Já *Lysinibacillus xylanilyticus*, isolado de húmus de floresta, é especializado na degradação de xilana, expressando atividade de xilanase, útil na produção de bioprodutos alimentares e na indústria de papel (Sharma et al., 2020; Niu et al., 2022).

O gênero *Bacillus* apresenta maior diversidade funcional. *Bacillus haynesii* DS7010, isolado de sedimentos de manguezal na Índia, combina tolerância a sal (até 3% NaCl) com a expressão de um conjunto complexo de celulasas multidomínio (GH48/GH5), incluindo isoformas entre 78 e 245 kDa. Essa versatilidade enzimática, associada à presença de endo- e exoglucanases e β -glicosidases, o torna particularmente relevante para biorremediação em ambientes costeiros salinos e contaminados por metais. Outro exemplo é *Bacillus licheniformis* (CDB 12), também oriundo de manguezal, cuja produção de celulase atinge 98,25 U/mL em 72 h, com ótimo desempenho a 45 °C e pH 7, evidenciando potencial para processos industriais de degradação de celulose em condições salinas (Lee, et al., 2010; Samanta, et al., 2016; Yeronfe, et al., 2019; Tripathy, et al., 2024).

Entre os representantes de *Bacillus pumilus*, há duas linhagens com perfis distintos. A cepa CCMA 560, isolada de um manguezal contaminado por óleo, exhibe genes ligados à degradação de hemicelulose e pectina, além de produzir biossurfactantes, combinando biorremediação de ambientes

oleosos com aplicações industriais na exploração de hemicelulases e pectinases. Já a cepa MCB 7, também de manguezal, não atua sobre lignocelulose, mas se destaca pela produção de quitosanase termo e halotolerante (ativa até 60 °C e 3% de sal), com propriedades antifúngicas e inseticidas, o que a credencia como ferramenta de biocontrole de fitopatógenos e pragas agrícolas (Domingos et al., 2013; Chittaranjan, C. et al., 2016).

Assim, a tabela evidencia a relevância desses microrganismos como fontes de enzimas lignocelulolíticas e outras hidrolases de interesse industrial e ambiental, mostrando o potencial de bactérias de manguezais, húmus e intestinos de insetos para biotecnologia aplicada a biorremediação, agroindústria e produção de bioenergia (Costa et al., 2021; Broda et al., 2022).

Assim, os resultados obtidos sustentam a hipótese de que representantes do filo Firmicutes participam, ainda que como comensais ou agentes ambientais, da degradação da madeira ingerida por *N. reynei* pertencente à família Teredinidae. A atuação conjunta entre diferentes gêneros bacterianos poderia ampliar a eficiência da degradação lignocelulósica no trato digestivo desses moluscos, com implicações relevantes para biotecnologia azul e biorrefinarias sustentáveis (Singh et al., 2016; Sharma et al., 2020; Gonçalves et al., 2024).

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo ampliam o conhecimento sobre a diversidade microbiana associada a *Neoteredo reynei*, evidenciando o isolamento e identificação de linhagens dos gêneros *Bacillus* e *Lysinibacillus* com potencial lignocelulolítico. A associação desses Firmicutes ao trato digestivo de moluscos xilófagos, até então pouco explorada, sugere que esses microrganismos possam atuar de forma complementar na degradação da madeira submersa, colaborando com simbiontes já reconhecidos, como *Teredinibacter turnerae*.

Entretanto, permanecem lacunas importantes a serem elucidadas. O uso exclusivo da análise do gene 16S rRNA, embora robusto para identificação taxonômica em nível de gênero, apresenta limitações para discriminar espécies próximas e, sobretudo, para caracterizar funções metabólicas específicas. Assim, futuros estudos devem priorizar abordagens de maior resolução, como a metagenômica shotgun, o sequenciamento de genomas completos e a metatranscriptômica, capazes de revelar repertórios de genes codificadores de enzimas CAZymes, vias de tolerância a salinidade e termorresistência, além de potenciais rotas metabólicas sinérgicas entre diferentes simbiontes.

Do mesmo modo, análises proteômicas e metabolômicas são cruciais para validar a expressão funcional dessas enzimas em condições marinhas, permitindo distinguir entre potenciais genômicos e atividade real no hospedeiro. A integração de técnicas de imagem avançadas, como FISH (hibridização

fluorescente in situ), também pode esclarecer a localização espacial de *Bacillus* e *Lysinibacillus* no trato digestivo ou em outros compartimentos de *N. reynei*, fornecendo evidências diretas de simbiose estável ou de interações transitórias.

Portanto, este trabalho destaca não apenas a relevância de *Bacillus wiedmannii* e *Lysinibacillus fusiformis* como fontes de enzimas termoestáveis e halotolerantes para processos industriais, mas também ressalta a necessidade de uma agenda de pesquisa que vá além da identificação molecular. A elucidação de suas capacidades metabólicas e genéticas em nível sistêmico poderá consolidar o papel desses Firmicutes na digestão lignocelulósica de Teredinidae, ao mesmo tempo em que abre novas perspectivas para o aproveitamento biotecnológico da biodiversidade costeira brasileira, em consonância com os princípios da biotecnologia azul.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi realizado com o apoio financeiro da Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP).

Meu sincero reconhecimento a todos os professores e colegas do Programa de Pós-Graduação em Energias Renováveis (PPGER) do Instituto Federal do Ceará (IFCE), pelas valiosas contribuições, diretas e indiretas.

Agradeço ao Ecomuseu Natural do Mangue pela acolhida durante as coletas e pelo notável compromisso com a preservação ambiental. Às equipes do Laboratório de Química Ambiental (LAQAMB/IFCE), do Laboratório de Genômica (LARGEN/Universidade Federal do Ceará) e da Central Analítica da Universidade Federal do Ceará, pela infraestrutura de excelência e pelo apoio essencial nos experimentos. Em especial, estendo meu profundo agradecimento a Professora Dr. Denise Cavalcante Hissa, por sua orientação e dedicação.

REFERÊNCIAS

Ahmed, I. et al. Proposal of *Lysinibacillus boronitolerans* gen. nov., sp. nov. and transfer of *Bacillus fusiformis* to *Lysinibacillus fusiformis* comb. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 57, p. 1117–1125, 2007.

Altamia, M. A.; Distel, D. L. Characterisation of the enzyme transport path between shipworms and their bacterial symbionts. **BMC Biology**, v. 20, p. 1–18, 2022.

Brasil. **Decreto nº 11.987**, de 20 de fevereiro de 2006. Cria a Área de Proteção Ambiental da Sabaguaba. Fortaleza, CE, 2006.

- Brito, T. L. et al. 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.
- Broda, M. et al. **Bioethanol Production from Lignocellulosic Biomass—Challenges and Solutions**. *Molecules*, v. 27, n. 8717, 2022.
- Bustin, S. A. et al. The MIQE Guidelines: Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments. **Clinical Chemistry**, v. 55, n. 4, p. 611–622, 2009.
- Chittaranjan, C. et al. Biocontrol potential of halotolerant bacterial chitinase from high yielding novel *Bacillus pumilus* MCB-7 autochthonous to mangrove ecosystem. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 2016.
- Costa, B. E. B. et al. **Comparação entre a hidrólise química e enzimática da biomassa lignocelulósica para a produção de bioetanol: uma revisão**. *Rev. Virtual Quim.*, v. 13, n. 1, 2021.
- 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.
- 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.
- Errington, J.; Van Der Aart, L. T. Microbe Profile: *Bacillus subtilis*: model organism for cellular development, regulation and engineering. **Microbiology**, v. 166, n. 5, p. 425–427, 2020. DOI: 10.1099/mic.0.000922.
- Gasser, M. T. et al. Membrane vesicles can contribute to cellulose degradation by *Teredinibacter turnerae*, a cultivable intracellular endosymbiont of shipworms. **Microbial Biotechnology**, V. 17, P. E70064, 2024.
- Gonçalves, F. G. M. F. de; Santos, F. A. C.; Assunção, J. C. C. Proteínas Putativas com Domínios Catalíticos Multifuncionais CelAB oriundo da expressão genômica da bactéria no simbiótico viscerais de invertebrado marinho xilotrético. **Brazilian Journal of Biological Sciences**, v. 12, n. 27, p. e492, 2025. DOI: 10.21472/bjbs.v12n27-004. Acesso em: 6 ago. 2025.
- Gonçalves, F. G. M. F. et al. Prospecção de Firmicutes marinhos em moluscos xilófagos do gênero *Neoteredo* revela linhagens enzimaticamente promissoras. **Journal of Environmental Science and Health**, v. 17, n. 3, p. 120–134, 2024.
- Green, M. R.; Sambrook, J. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. 4. ed. **Cold Spring Harbor Laboratory Press**, 2012.
- He M. et. al. Characterization and genomic analysis of a highly chromate resistant and reducing bacterial strain *Lysinibacillus fusiformis* ZC1. **J Hazard Mater**. 2011 Jan 30;185(2-3):682-8. doi: 10.1016/j.jhazmat.2010.09.072. Epub 2010 Sep 29. PMID: 20952126.
- Ibáñez, E. M. A.; Martínez, G. D. M.; Juárez, J. A. R.; Bueno, I. C. da S.; Vitti, A. C. Efeito de enzimas fibrolíticas sobre a degradação microbiana ruminal da fibra de cana-de-açúcar. **Ciência Animal Brasileira / Brazilian Animal Science**, Goiânia, v. 11, n. 3, p. 488–491, 2010. DOI: 10.5216/cab.v11i3.4796. Disponível em: <https://revistas.ufg.br/vet/article/view/4796>. Acesso em: 30 ago. 2025.
- Ibrahim, A. H. et al. Alkaliphilic *Bacillus* species as producers of thermostable cellulases for industrial bioconversion of lignocellulosic biomass. **Biotechnology Reports**, v. 42, 2024.

- Lee, C. S. et al. *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.
- Logan, N. A.; de Vos, P. *Bacillus*. In: WHITMAN, W. B. (ed.). *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*. Hoboken: Wiley, 2015. DOI: 10.1002/9781118960608.gbm00530.
- Lucena, S. G. B. C.; Narchi, W. Prospecting soil bacteria from subtropical Brazil for hydrolases production. **Biologia**, v. 72, n. 8, p. 841–849, 2017.
- Müller, Ana Claudia de Paula; Lana, Paulo da Cunha. TEREDINIDAE (MOLLUSCA, BIVALVIA) DO LITORAL DO PARANÁ, BRASIL. **Revista Nerítica**, [S. l.], v. 1, n. 3, p. 28–48, 1986. DOI: 10.5380/rn.v1i3.41194. Disponível em: <https://revistas.ufpr.br/neritica/article/view/41194>. Acesso em: 23 ago. 2025.
- Niu, Q. et al. Biodegradation of lignocellulose by *Lysinibacillus* species isolated from decaying plant material. **Bioresource Technology Reports**, v. 19, 101190, 2022.
- Passera A, et. al. Characterization of *Lysinibacillus fusiformis* strain S4C11: In vitro, in planta, and in silico analyses reveal a plant-beneficial microbe. **Microbiol Res.** 2021 Mar;244:126665. doi: 10.1016/j.micres.2020.126665. Epub 2020 Dec 5. PMID: 33340794.
- Samanta, P. et al. Cellulase from *Bacillus licheniformis* isolated from mangrove soil of Mahanadi River delta, Odisha, India. **Biocatalysis and Biotransformation**, v. 34, n. 1, p. [...], 2016.
- Sharma, R. et al. *Bacillus* species as potent cellulolytic bacteria for biomass degradation: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 151, p. 985–1002, 2020.
- Singh, R. et al. Lignocellulosic biomass: a sustainable bioenergy source for the future. **Biofuels**, v. 7, n. 3, p. 1–11, 2016.
- Trindade-Silva, A. E. et al. Physiological traits of the symbiotic bacterium *Teredinibacter turnerae* isolated from the mangrove shipworm *Neoteredo reynei*. **Genetics and Molecular Biology**, v. 32, n. 3, p. 572–581, 2009.
- Tripathy, I. A. et al. Cellulolytic potential of mangrove bacteria *Bacillus haynesii* DS7010 ... **Microbiology** (Reading), 2024.
- Yeronfe, F. et al. Avaliação de *Lysinibacillus* sp., isolado a partir do intestino de *Coptotermes curvignathus*, para a designificação de resíduos de óleo de palma (Dendê). **Bioscience Journal**, v. 35, n. 3, p. 892–902, 2019.