

O gênero *Bacillus* é fenotipicamente composto por um conglomerado de bactérias Gram-positivas, de fermentação aeróbia, esporuladas e associadas com habitats terrestres. Diversos peptídeos antimicrobianos são produzidos por diferentes espécies de *Bacillus* sp. e alguns já foram purificados. O objetivo do presente trabalho foi testar a atividade antibacteriana de isolados de *Bacillus* sp., recuperados de puba bem como identificar estes isolados, por métodos bioquímicos e moleculares. A bactéria produtora foi isolada de um alimento fermentado de origem indígena, produzido a partir de raízes de mandioca imersas em água, denominado puba. Foram utilizadas bactérias indicadoras Gram-positivas e Gram-negativas de importância clínica e alimentar. A identificação fenotípica presuntiva foi baseada na morfologia celular, coloração de Gram e pesquisa de catalase. Os testes bioquímicos realizados foram: Fermentação da Glicose, Motilidade, Redução de Nitrato, Resistência à Lisozima, Voges-Proskauer, Hemólise, Crescimento rizoidal e verificação da presença de cristais de toxina. A identificação molecular foi realizada por meio do sequenciamento do rDNA16S através da sua amplificação com *primers* universais. O algoritmo BLAST foi utilizado para busca por sequências homólogas no GenBank. A atividade antibacteriana dos sobrenadantes foi determinada de acordo com o método de difusão em ágar segundo Motta & Brandelli (2002) com adaptações. Os resultados das análises de sequenciamento do rDNA 16S demonstraram 99% de similaridade de ambas as espécies para *Bacillus cereus* e *Bacillus thuringiensis* com 1507 pb e 1420 pb, respectivamente. As análises de atividade antibacteriana revelaram amplo espectro de inibição todas as bactérias testadas, exceto contra duas bactérias lácticas, na melhor condição de cultivo, apresentando-se como possível candidata para seleção para estudos posteriores de purificação e identificação dos compostos antimicrobianos produzidos por esta espécie.