



ECOLOGIA DE *BACILLUS* ENTOMOPATOGÊNICOS

1.1 Biologia e ecologia de *Bacillus* spp.

Atualmente são conhecidas inúmeras espécies de bactérias associadas a insetos. Porém poucas apresentam as características desejáveis à aplicação do controle biológico de insetos-praga das plantas cultivadas (Fiuza, 2001). No

entanto, o crescente interesse pela utilização de bioinseticidas para o controle de populações de insetos prejudiciais, levou o homem a pesquisar mais profundamente as bactérias (Habib & Andrade, 1998). Entre as bactérias entomopatogênicas, o gênero *Bacillus* apresenta especial importância no controle biológico de pragas, destacando-se o *Bacillus sphaericus* e o *Bacillus thuringiensis* (Priest, 1992, 2000; Rabinovitch, 2000; Brighenti et al., 2005; Capalbo et al., 2005; Crickmore et al., 2008; De Melo, 2008).

Embora seja reconhecido que *B. thuringiensis* é um patógeno de insetos, a ecologia dessa bactéria ainda é pouco conhecida (Jensen et al., 2003). Ele é um microrganismo ubíquo do solo, mas é também encontrado nos demais ambientes terrestres, aquáticos e também em insetos mortos, produtos armazenados, plantas e detritos (Meadows et al.,

1992; Meadows, 1993; Bernhard et al., 1997, Hossain et al., 1997; Forsyth & Logan, 2000; Hongyu et al., 2000; Maeda et al., 2000; Sneath, 2001; Martinez & Caballero, 2002; Silva et al., 2002; Uribe et al., 2003; Wang et al., 2003). De toda forma, ele habita mais comumente o solo e a superfície das folhas (Forsyth & Logan, 2000). No solo, o número de células varia de 10² a 10⁴ Unidades Formadoras de Colônias (UFC) por grama de solo, enquanto em plantas, esse número varia de 0 a 100 UFC cm⁻² (Damgaard, 2000).

De acordo com Meadows (1993) existem quatro possíveis explicações para a presença de *B. thuringiensis* no solo: a primeira considera que *B. thuringiensis* raramente desenvolve-se no solo, mas é depositado nesse substrato por folhas, insetos, entre outros. A segunda hipótese assume que esse microrganismo pode ser patógeno de insetos do solo que apresentem reduzida importância econômica, com os quais poucos estudos foram realizados. A terceira hipótese pressupõe que *B. thuringiensis* pode desenvolver-se no solo quando existem nutrientes suficientes, obtidos de resíduos orgânicos em decomposição. Enquanto a última teoria afirma a existência de afinidade de *B. thuringiensis* e *Bacillus cereus*, com o qual *B. thuringiensis* pode trocar material genético, possibilitando sua permanência no ambiente.

Além de *B. thuringiensis* e *B. cereus*, existem as espécies: *B. mycoides*, *B. pseudomycoides*, *B. anthracis* e *B. weihenstephanensis* (Hansen, et al., 2003;

Estudos ecológicos visando à conservação de *Bacillus* spp. em ecossistemas aquáticos e terrestres justificam-se pela aplicação de algumas espécies no controle biológico de insetos. Apesar desses microrganismos apresentarem semelhanças quanto à biologia e modo de ação, eles diferem entre si por características particulares de cada espécie. Os aspectos relacionados à distribuição geográfica, habitat preferencial, interações com a microbiota local, fatores que afetam crescimento, esporulação e atividade inseticida dos entomopatógenos servem como parâmetros às análises de impacto ambiental, especialmente em agroecossistemas orizícolas. Esse conjunto de elementos fornece subsídios que auxiliam na seleção de isolados com potencial inseticida e ampliam a escassa literatura sobre o papel ecológico desses microrganismos no ambiente.

Aline Olíboni de Azambuja

Bióloga (UNISINOS) e Mestre em Biologia: Diversidade e Manejo de Vida Silvestre (UNISINOS).

Gabriela Cristina Alles

Bióloga (UNISINOS) e Mestre e Doutoranda em Biologia: Diversidade e Manejo de Vida Silvestre (UNISINOS).

Leila Lucia Fritz

Bióloga (UNISINOS) e Mestranda em Biologia: Diversidade e Manejo de Vida Silvestre (UNISINOS).

Maria Helena Ribeiro Reche

Bióloga (UPF) e Mestre e Doutoranda em Biologia: Diversidade e Manejo de Vida Silvestre (UNISINOS).

Lidia Mariana Fiuza

Engenheira Agrônoma (UPF), Mestre em Fitotecnia – Fitossanidade (UFRGS), Doutora em Ciências Agronômicas (ENSAM-Montpellier) e Pós-Doutora em biotecnologia Vegetal (CIRAD-Montpellier).

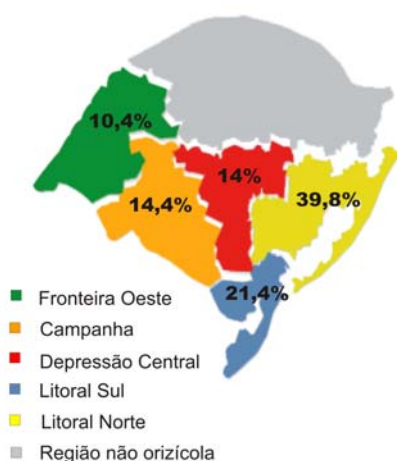


Figura 1. Bactérias esporulantes provenientes de amostras de solo em regiões produtoras de arroz irrigado do RS

Hu *et al.*, 2004). As espécies, *B. cereus* e *B. thuringiensis* são fenotipicamente e geneticamente muito similares entre si, havendo dificuldade na distinção entre as duas espécies (Lecadet *et al.*, 1999; Shisa *et al.*, 2002). No entanto, *B. cereus* é considerado patógeno facultativo devido ao seu hábito saprofítico no solo e parasita de linhagens de insetos, possuindo uma proteína tóxica de baixa atividade específica (Habib & Andrade, 1998). Esta espécie não produz inclusões parasporais inseticidas atuando através de ação enzimática (Guttmann & Ellar, 2000; Shisa *et al.*, 2002). Muitas cepas de *B. cereus* são consideradas patógenas oportunistas de mamí-

feros, causando intoxicações alimentares seguidas de vômitos e diarreias, dificultando o seu emprego no controle de insetos-praga (Hansen & Hendriksen, 2001).

As informações sobre o destino das toxinas de *B. thuringiensis* no solo são limitadas, embora alguns trabalhos mostrem que elas unem-se a ácidos húmicos e suplementos orgânicos ou partículas do solo, que as protegem da degradação sem perder sua atividade inseticida (Polanczyk & Alves, 2003). De modo geral, as bactérias entomopatogênicas permanecem no solo por meses ou anos após a sua liberação. *B. thuringiensis* é capaz de permanecer viável por mais de três anos após liberado (Fuxa, 1992). A sensibilidade dos esporos desse entomopatógeno à radiação solar e à dessecação está associada com os plasmídeos, ocorrendo trocas na composição química da cobertura dos esporos, reduzindo sua tolerância aos fatores físicos do ambiente. Nas folhas, a limitação dos esporos pode ocorrer pelo tipo de folha e seus exudados, os quais contêm inibidores da germinação de esporos (Yáñez & Cabriales, 2000).

Considerando a hipótese de que os esporos do *B. thuringiensis* encontram-se no ambiente como resultado da morte do inseto alvo, espera-se que a distribuição dessa bactéria ocorra aleatoriamente, e que os isolados de um mesmo lugar sejam similares (Fiuza, 2001). No entanto, os isolados de *B. thuringiensis* têm sido encontrados em todos os tipos de solos e regiões do mundo, incluindo tundra ártica, es-

tepe, regiões temperadas e tropicais, savanas e desertos quentes. Sua abrangência foi relatada em áreas da Escandinávia a Nova Zelândia e da Islândia a Cadeias Montanhosas. No entanto, ele é raramente encontrado em areias de praias e camadas de solo abaixo de 10 cm de profundidade (Landén *et al.*, 1994; Chilcott & Ellar, 1998).

B. thuringiensis tem sido frequentemente isolado de florestas, áreas urbanas, campos e principalmente de lavouras agrícolas (Martin, 1994; Fiuza, 2001).

Em um levantamento do Banco de Bactérias Entomopatógenicas da Microbiologia da UNISINOS (BBE-MU), foram analisadas 278 amostras de solo, oriundas de 29 municípios, de cinco regiões produtoras de arroz irrigado do RS. Foram isoladas 674 amostras de bactérias esporulantes, a maioria pertencente ao Litoral Norte (41%), seguido do Litoral Sul (21%), da Campanha (14,4%), da Depressão Central (14%) e da Fronteira Oeste (10%) (Figura 1).

Dessas, 31,1% correspondem a *B. thuringiensis*; 6% a *B. cereus*; 4% a *B. sphaericus* e 58,9% equivalem a outras espécies de *Bacillus* (Fritz *et al.*, 2007). Outras pesquisas em solos de áreas de arroz irrigado revelam a ampla ocorrência de *Bacillus* no RS. Em 2006, Azambuja estudou a frequência de isolados de *Bacillus* spp. durante o período que compreende o ciclo do cultivo do arroz irrigado no sistema convencional e obteve 245 colônias de bactérias esporulantes, onde 143 pertenciam ao gênero *Ba-*

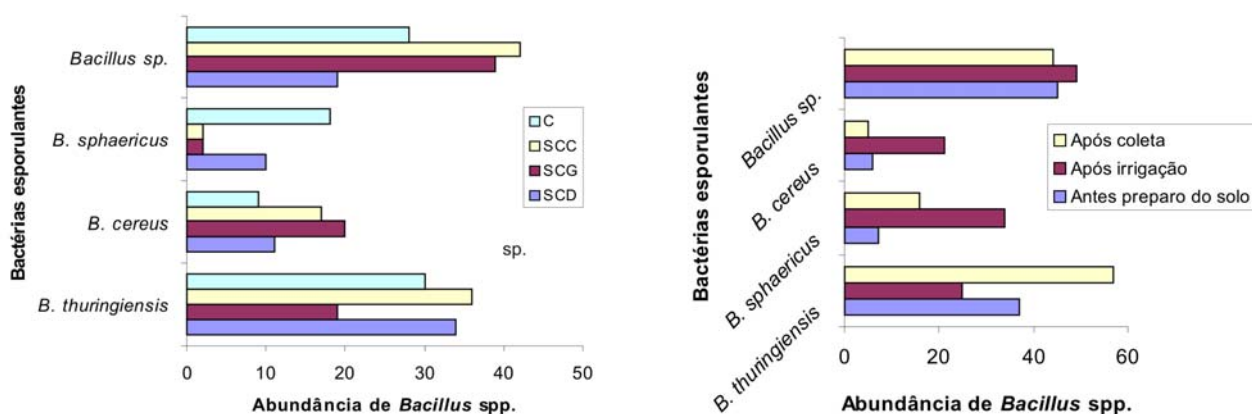


Figura 2. Frequência de *Bacillus* spp. nos diferentes sistemas de cultivo e fases da cultura do arroz irrigado no RS; (C) pousio, (SCC) sistema de cultivo convencional, (SCG) sistema de cultivo pré-germinado, (SCD) sistema de cultivo direto

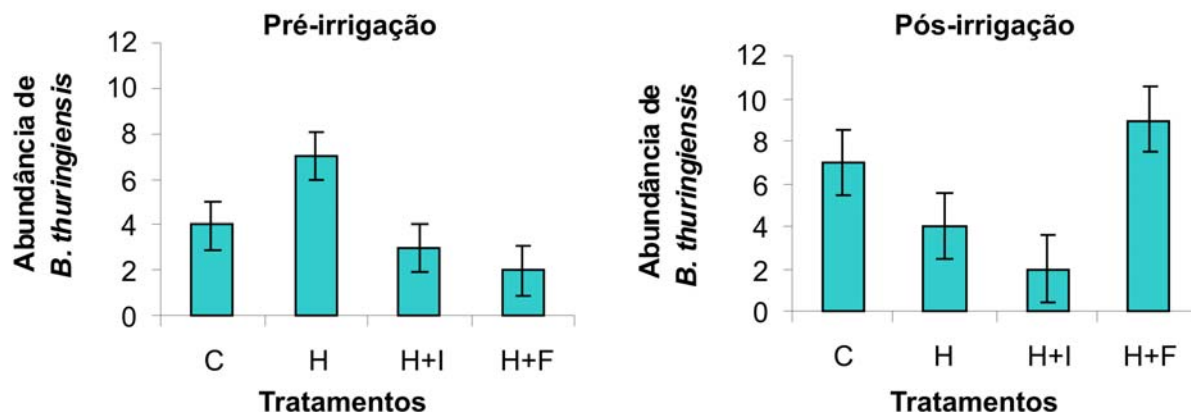


Figura 3. Abundância de *Bacillus thuringiensis* em relação aos distintos tratamentos fitossanitários e período de irrigação do arroz no RS; (C) área controle, (H) área somente com herbicidas, (H+I) área com herbicidas e inseticida, (H+F) área com herbicidas e fungicida

cillus, entre as quais foram identificadas 26,6% como *B. thuringiensis*; 4,2% como *B. sphaericus* e 69,2% foram agrupadas como outras espécies de *Bacillus*.

Silva et al. (2002) reforçam a predominância de *B. thuringiensis* (9,1%) em solos de todas as regiões brasileiras se comparado a *B. sphaericus* (5,1%), com exceção da região Sul do país que *B. sphaericus* (10,1%) foi mais freqüente que *B. thuringiensis* (4,6%). No entanto, em solos agrícolas de diferentes áreas da Argentina a freqüência de *B. sphaericus* foi maior (2,1%) em relação à de *B. thuringiensis* (1,6%) conforme os dados de Dias et al. (1999).

Como foi verificada nas diversas pesquisas, a freqüência de *B. thuringiensis* em vários locais e as diferenças encontradas podem ser atribuídas a inúmeros fatores, incluindo variações geográficas, climáticas, atividade agrícola, tipo de solo e método de isolamento. Contudo, Martin (1984) discute que *B. thuringiensis* não possui um habitat natural bem definido, pois esse entomopatógeno é caracterizado como um microrganismo saprofítico, sem exigências nutricionais restritas, podendo adaptar-se a diferentes condições ambientais.

Diante disso, ainda que os entomopatógenos apresentados possuam semelhanças quanto à biologia e modo de ação, eles diferem entre si por características particulares de cada espécie. Estudos ecológicos facilitam

a compreensão dessas bactérias no ambiente, suas relações patógeno/hospedeiro e a estrutura de populações, permitindo conhecer o comportamento de microrganismos naturais e novos isolados, sejam eles modificados geneticamente ou introduzidos através de programa de controle microbiano (Sosa-Gómez et al., 1998). Ainda assim, as bactérias entomopatógenas do gênero *Bacillus* são matéria-prima à industrialização de inseticidas bacterianos. Seus efeitos sobre as larvas são tão pronunciados que as indústrias de inseticidas convencionais buscam ampliar suas utilizações com o objetivo de controlar as pragas da agricultura e vetores de agentes etiológicos de doenças humanas e vegetais.

1.2 *Bacillus* spp. em amostras de solos de agroecossistemas

O crescente aumento de áreas agrícolas vem causando diversos efeitos ambientais, como a mudança microbiana do solo que é mediada por diversos processos e funções (Motavalli et al., 2004). Em agroecossistemas, as mudanças significativas e perceptíveis na comunidade microbiana do solo estão relacionadas com as condições ambientais, sendo consequência principalmente do uso das práticas de manejo desse ambiente (Atlas et al., 1991). Práticas agrícolas, tais como tipo de manejo do solo, rotação de culturas, aplicação de agrotóxicos e

uso de maquinários interferem na microbiota terrestre, afetando a qualidade do solo, modificando as propriedades físicas, químicas e biológicas (Valarini et al., 2002; Andréa & Hollweg, 2004). Dessa forma, ocorrem variações no número de indivíduos ou na dinâmica bioquímica natural da comunidade de microrganismos. Porém, pouco é conhecido sobre a distribuição desses microrganismos terrestres e a maneira com que eles respondem as mudanças de manejo na terra (Buckley & Schmidt, 2003).

Diversas populações de bactérias formadoras de endósporos ocorrem em áreas agrícolas e podem contribuir diretamente ou indiretamente na produtividade das culturas (Gardener, 2004). As bactérias gram-positivas formam uma parte importante da microbiota de solo, o qual constitui o principal ambiente natural que abriga bactérias do gênero *Bacillus* (Ibarra et al., 2003; Mohamed et al., 2007). Muitas espécies desse gênero são consideradas de importância prática (Caccamo et al., 2001), já que espécies de *Bacillus* são utilizadas para a síntese de uma grande variedade de produtos médicos, agrícolas, farmacêuticos entre outros (Mohamed et al., 2007).

No entanto, as transformações microbianas ocorrem devido às diferentes populações que habitam o solo, e as suas distintas reações químicas podem ser alteradas sempre que o ecossistema sofrer algum tipo de interfe-

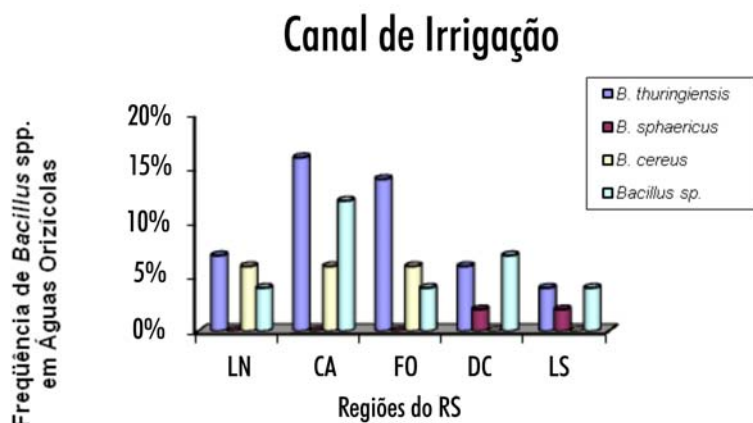


Figura 4. Frequência de *Bacillus* spp. em amostras de água do Canal de Irrigação das 5 regiões produtoras de arroz do RS: Litoral Norte-LN, Campanha-CA, Fronteira Oeste-FO, Depressão Central- DC e Litoral Sul- LS

rência. Assim, na aplicação de diversos tipos de manejo, podem existir diferentes disponibilidades de substratos que determinarão o favorecimento ou a inibição do estabelecimento dos diferentes grupos microbianos (Castro & Prado, 1993).

Fritz (2007) analisou a abundância de bactérias entomopatogênicas pertencentes ao gênero *Bacillus* obtidas de 36 amostras de solo coletadas de diferentes sistemas de cultivo de arroz irrigado: sistema de cultivo convencional (SCC), sistema de cultivo pré-germinado (SCG) e sistema de cultivo direto (SCD) e de uma área de pousio (sem cultivo) por aproximadamente 12 anos (C). Foram selecionadas 336 colônias pertencentes ao gênero *Bacillus* spp., onde foram identificadas, 35,42% como *B. thuringiensis*, 16,96% como *B. cereus*, 9,52%

como *B. sphaericus* e 38,10% como *Bacillus* sp. Todavia, não houve diferença significativa na frequência de *Bacillus* spp. entre os sistemas de plantio ($p > 0,05$), embora as fases da cultura tenham influenciado a abundância das espécies ($P < 0,01$). A irrigação revelou-se capaz de favorecer a variação na abundância de *Bacillus* spp., principalmente no caso de *B. sphaericus*, uma vez que representou 71,4% do total de isolados encontrados durante a referida etapa da cultura (Figura 2).

O fato dos solos agrícolas sofrerem mudanças nas suas propriedades físicas e químicas pela introdução da cultura contribui para a diversidade de bactérias em função da aeração, profundidade e melhor distribuição ao longo das

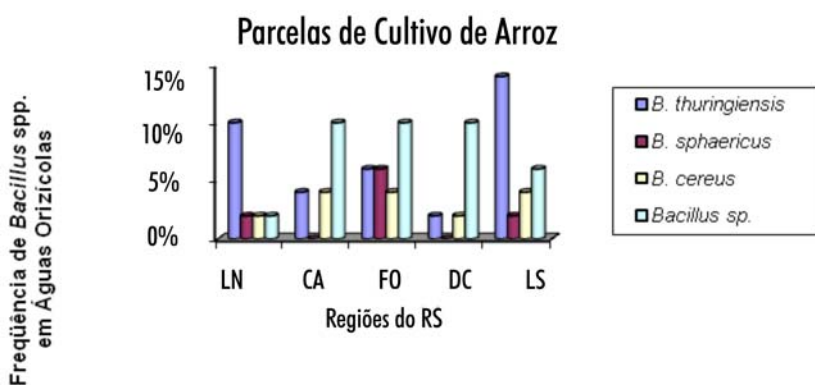


Figura 5. Frequência de *Bacillus* spp. Isolados em amostras de água das Parcelas de cultivo de arroz, das 5 regiões produtora do RS: Litoral Norte-LN, Campanha-CA, Fronteira Oeste-FO, Depressão Central- DC e Litoral Sul- LS

camadas (Kennedy, 1999).

Pfüller *et al.* (2000) analisaram a frequência de microrganismos utilizando diferentes sistemas de plantio, e em seus estudos a população microbiana não diferiu significativamente, embora tenha ocorrido uma maior variação no SCC. No entanto, Garbeva *et al.* (2003) compararam a diversidade de *Bacillus* em solos agrícolas, e observaram maior número de esporos em solos que apresentavam cultivos, em tempo reduzido em comparação aos cultivados em longo prazo.

De acordo com Buckley & Thomas (2003), uma possível explicação para que as comunidades microbianas em campos abandonados de cultivo contínuo apresentem frequências semelhantes com campos atualmente cultivados, se deve ao fato de que as comunidades microbianas do solo respondem às características do ambiente, que requerem longos períodos de tempo para recuperação dos efeitos antrópicos.

Em geral, os microrganismos respondem de diversas formas à aplicação de pesticidas em seu habitat, podendo ocorrer principalmente seleção de populações resistentes. Essa seleção pode ser em função de suas características fisiológicas e morfológicas. Com o passar do tempo, a diversidade microbiana entra em equilíbrio, porém passa a ser composta por um menor número de espécies, mantendo-se por meses ou anos, atingindo o clímax a semelhança da fase original (Borges *et al.*, 2004). Por outro lado, alguns autores relatam que a diminuição das bactérias pode estar relacionada com a sensibilidade aos herbicidas, resultando na eliminação de algumas espécies. (Wardle & Parkinson, 1990).

Nesse sentido, Azambuja (2006) avaliou a influência do cultivo convencional de arroz irrigado sobre a abundância de bacilos entomopatogênicos, em quatro áreas tratadas com distintos produtos fitossanitários e a fase de irrigação da cultura, concluindo que não houve diferença significativa entre os parâmetros avaliados separadamente sobre a abundância de *B. thuringiensis* e *B. sphaericus*. No entanto, a interação entre os fatores apresentou signifi-

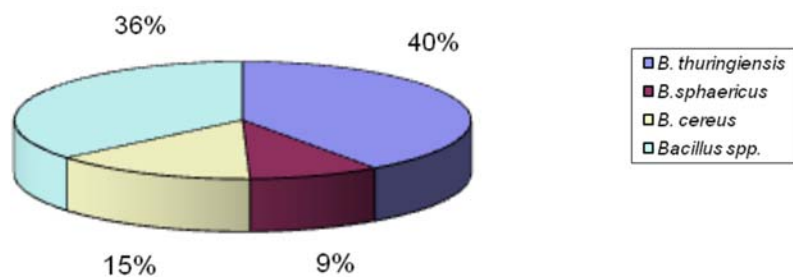


Figura 6. Ocorrência de espécies de *Bacillus* isoladas de amostras de água durante o ciclo da cultura 2001/02 de arroz irrigado do Rio Grande do Sul

cativa diferença para *B. thuringiensis*. Antes da irrigação, o microrganismo foi mais freqüente na área tratada somente com os herbicidas, contudo quando o arroz foi inundado a abundância foi mais pronunciada nesse período de irrigação e no tratamento com herbicidas/fungicida (Figura 3).

Os solos de arroz irrigado são predominantemente ácidos, quando ocorre à inundação, o pH é elevado naturalmente, próximo à neutralidade pelo processo de redução. Em função dessa nova condição, a disponibilidade de nutrientes atinge níveis estáveis durante um período de 4 a 6 semanas após a inundação (IRGA, 2005).

As mudanças climáticas interferem de diferentes formas numa série de organismos, que conseqüentemente, afetam outros e o conjunto destas mudanças pode prejudicar o meio ambiente físico. Sendo assim, os microrganismos estão entre os seres mais sensíveis as variações ambientais, pois formam grandes populações, possuem crescimento rápido, facilidade de dispersão e reduzido tempo de gerações, constituindo-se em potenciais indicadores biológicos para o estudo de impactos das mudanças climáticas globais (Ghini, 2008).

A influência de fatores climáticos na ocorrência de *B. thuringiensis* e *B. sphaericus*, em solos de orizicultura irrigada, foi avaliada por Azambuja (2006) e a autora sugere que a predominância dos entomopatógenos foi mais acentuada no período de verão com valores médios de temperatura do ar de 26 °C, umidade relativa de 66 % e temperatura do solo de 24,7

°C, contudo, essas diferenças não foram submetidas à análise estatística. Todavia, a temperatura é um importante fator de influência alterando a eficiência de bioinseticidas a base de *Bacillus* entomopatogênicos. Baixas e altas temperaturas reduzem a atividade larvicida, indicando a necessidade de estudos potenciais devido ao grande número de insetos vetores em climas tropicais (Consoli et al., 1995). Em agroecossistemas, a variação da diversidade microbiana ao longo das estações do ano ainda não é bem compreendida, já que em cada estação parece ocorrer uma comunidade microbiana dominante acompanhada de outras pouco abundantes. Essas variações estão diretamente ligadas ao regime hídrico, ao clima da região, a estrutura e manejo do solo e ao teor e a qualidade dos resíduos vegetais aportados (Torsvisk & Ovreas, 2002).

Os solos representam um ecossistema complexo e as variações nos níveis de pH, compostos inorgânicos e matéria orgânica podem representar um fator limitante na colonização, estabelecimento e esporulação de microrganismos residentes (Melo & Azevedo, 1998). Diante desse fato, muitas pesquisas procuram elucidar quais os componentes minerais são mais favoráveis ou limitantes do crescimento microbiano no solo. Além disso, determinadas concentrações de um dado elemento podem apresentar efeitos adversos para um mesmo microrganismo. Alguns autores descrevem que a presença de cálcio favorece o crescimento, esporulação e a produção da delta-endotoxina de *B. thuringiensis* no solo, mas em eleva-

das concentrações inibe os três processos (Sikdar et al., 1991; İçgen et al., 2002; Polanczyk, 2004). Por outro lado, há divergências quanto à presença de magnésio, sendo importante na biossíntese do cristal protéico ou limitante do crescimento (Içgen et al., 2002; Polanczyk 2004). Também há relatos na literatura de que a adição de fosfato orgânico (3 a 100 mM) não influencia na biossíntese do cristal, apesar de reduzir o crescimento de células e esporos (Içgen et al., 2002), porém Azambuja (2006) observou que *B. thuringiensis* foi favorecido pelas quantidades de potássio no solo.

Em relação ao pH, alguns autores mencionam que a acidez do solo favorece a adsorção da toxina de *B. thuringiensis* pela fração argilosa do mesmo protegendo da biodegradação por microrganismos competidores que têm sua atividade inibida nessa condição. Os valores acima de 5,2 favorecem o crescimento da bactéria, mas quando o pH não é controlado próximo à neutralidade ocorre à baixa produção da toxina (West et al., 1985; Sikdar et al., 1991; Tapp & Stotzky, 1998). Sabe-se que a disponibilidade de nutrientes minerais, pH neutro e umidade dos solos favorecem a germinação de *B. thuringiensis* representando importantes fatores nos níveis de crescimento do microrganismo (West et al., 1985). Contudo, os níveis ótimos de metais para o crescimento de *B. thuringiensis* e produção da delta-endotoxina são variáveis e ainda não foram claramente demonstrados, conforme discutem alguns autores (Sikdar et al., 1991; İçgen et al., 2002).

B. sphaericus, tem ação mosquitocida, especialmente para larvas de *Culex pipiens*, sendo potencializada após crescimento em meio de cultura com os elementos minerais KH_2PO_4 , MgSO_4 , MnSO_4 , $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, ZnSO_4 , CaCl_2 e pH 7,2 conforme estudos realizados por Kaflon et al., (1983). Nos estudos de Azambuja (2006), o índice de *B. sphaericus* não foi afetado pelas propriedades físico-químicas dos solos avaliados de arroz irrigado. Os resultados anteriores dos referidos autores

podem possivelmente ser explicadas por Silva *et al.* (1999) e Alles (2008) que relacionam às diferentes origens do entomopatôgeno, como solos e águas, a utilização de algumas cepas em estudos ecológicos pela resistência a diferentes condições de estresse.

Na tentativa de caracterizar cepas com atividade inseticida e verificar a influência do cultivo convencional sobre os *Bacillus* entomopatogênicos, Azambuja (2006) obteve a distribuição de isolados de *B. thuringiensis* com genes cry4, (atividade inseticida a dípteros) em cepas provenientes de solos de todos os tratamentos fitossanitários, exceto da área tratada com herbicidas/inseticida, sendo igualmente distribuídas entre os períodos de irrigação. Como justificativa deste dado pode-se ressaltar que as áreas inundadas de cultivo de arroz são habitats favoráveis à criação de mosquitos, devido à presença de elevada matéria orgânica e resíduos poluentes provenientes das fontes utilizadas (Bastista-Filho *et al.*, 1998).

1.3 *Bacillus* spp. em ecossistemas aquáticos

Entre as bactérias melhor adaptadas à vida no solo e na água, estão àquelas pertencentes ao gênero *Bacillus*. O gênero *Bacillus* é fenotipicamente heterogêneo, com membros exibindo um amplo conjunto de requerimentos nutricionais, condições de crescimento, diversidade metabólica e na composição base do DNA. O conhecimento da ecologia de espécies de *Bacillus* no solo e na água ainda não é completo (Vilain *et al.*, 2006).

Espécies de *Bacillus* foram referidas por sua capacidade metabólica distinta (Fernandes *et al.*, 2007; Fu *et al.*, 2007; Fisher & Hollibaugh, 2008), no Mono Lake, um lago hipersalino, alcalino do leste da Califórnia, onde existem processos de oxidação e redução de selênio e arsênio em presença de fontes de carbono dissolvido. Em lavouras de arroz no Rio Grande do Sul, (RS), Mattos *et al.* (2007), avaliaram o impacto do uso do inseticida carbosulfano sobre os microrganismos do solo, o risco de contaminação do

solo, da água e do sedimento, e a degradação microbiana. Os resultados apontaram espécies do gênero *Bacillus* entre os grupos Gram-positivos dos consórcios de bactérias, com maior capacidade metabólica em degradar o carbosulfano.

Relacionando diferentes ambientes aquáticos, com a viabilidade dos esporos de *B. sphaericus*, Yousten *et al.* (1995) destacam que na água doce a fração de esporos viáveis é maior do que no mar. Pouco se sabe sobre quais fatores ambientais são mais importantes para a perda de viabilidade dos esporos dessa bactéria. Fatores como a temperatura de crescimento, pH, aeração, presença de minerais e certos compostos carbonados e nitrogenados afetam a formação dos endósporos (Sneath, 2001). Nesse sentido, Alles (2008) avaliou o crescimento de cepas de *B. sphaericus*, frente a pesticidas químicos, compostos orgânicos e metais pesados, obtendo uma expressiva heterogeneidade entre as estirpes e uma resistência ao metal Cádmio, considerando tais características fenotípicas importantes para o controle e manejo biológico, dependendo do local onde o agente de biocontrole será aplicado.

Contudo, sabe-se que as formulações comerciais de *B. sphaericus* são mais resistentes a habitats poluídos e a sua reciclagem é favorecida em certas condições, mas com estreito número de hospedeiros em relação à *B. thuringiensis israelensis* (Singh e Gill, 1988; Thanabalu *et al.*, 1991 e 1993; Nielsen-Leroux e Charles, 1992; Nicolas *et al.*, 1993; Consoli *et al.*, 1995; Charles *et al.*, 1996; Silva-Filho e Regis, 2003; Schwartz *et al.*, 2001; Silva-Filho e Peixoto, 1997).

Em estudos de diversidade bacteriana em orizicultura no RS, Reche & Fiuza (2005) e Fritz *et al.* (2007) isolaram e identificaram espécies de *Bacillus* em águas de irrigação e em amostras de águas de áreas orizícolas do RS. Nessas pesquisas, *B. thuringiensis*, *B. sphaericus*, *B. cereus* e *Bacillus* sp. foram identificados em amostras de água coletadas nos Canais de Irrigação e nos Canais de Drenagem das lavouras orizícolas do RS. As coletas fo-

ram realizadas durante o ciclo da cultura do arroz, 2001/02, em 5 regiões produtoras de arroz do RS: Depressão Central- DC, Fronteira Oeste- FO, Campanha- CA, Litoral Norte- LN e Litoral Sul- LS (Figuras 4 e 5).

Os resultados apresentados nas Figuras 4 e 5, referem-se à abundância de *Bacillus* spp. nas regiões orizícolas estudadas e nos dois tratamentos, Canal de Irrigação e Parcelas de cultivo de Arroz. Características adaptativas a vários ambientes e sob condições adversas de temperatura, pH e salinidade, lhes são conferidas por sua capacidade de permanecer em latência devido a formação de esporos. As variações de temperatura entre as regiões e a disponibilidade de recursos, podem influenciar as diferenças de abundância na distribuição das espécies (Ricackanov, 2003).

As parcelas de cultivo apresentaram maior abundância de colônias bacterianas (Figura 5) quando comparadas com as águas de irrigação da lavoura (Figura 4). Águas de lavoura de arroz recebem tratamentos fitossanitários e *Bacillus* parece ter afinidade com ambientes que receberam agroquímicos, transformando-os em fontes de carbono para a sua produção de energia. Além disso, o ambiente de lavoura alterna inundação e drenagem, o que favorece o desenvolvimento de bactérias esporulantes (Liesack, 2001).

Os resultados de pesquisa quanto aos isolados de *Bacillus* em águas de lavouras orizícolas durante o ciclo da cultura, expressaram a presença de *B. thuringiensis* em 39,7% das amostras de água analisadas. Em segundo lugar, *Bacillus* sp., 35,8%, seguidos de *B. cereus*, 14,6% e *B. sphaericus*, 9,9% (Figura 6).

B. thuringiensis foi encontrado em maior frequência nas águas de cultivo de arroz (Figura 6). A presença de *Bacillus* sp. é mencionada por Martiny *et al.* (2005), como um dos grupos bacterianos mais comuns em sistemas de distribuição de água potável. Em estudos após desinfecção com cloro, em sistemas de água potável, Szabo *et al.* (2007), encontraram esporos de bactérias do gênero *Bacillus*, aderidos nas depres-

sões da tubulação de ferro corroído. Os autores concluíram que esses esporos são capazes de persistir por longos períodos de tempo em presença de altos níveis de cloro. Esse microrganismo pode desenvolver-se em águas ricas em nutrientes liberados pela decomposição de resíduos orgânicos, assim como foi citado para o solo, por Polanczyk & Alves (2003). Esses autores também levantaram a hipótese dessa bactéria ter algum tipo de relação simbiótica com plantas, o que explicaria a produção de toxinas tão específicas e eficientes.

B. sphaericus é muito comum e de distribuição cosmopolita, sendo principalmente isolada do solo em sistemas aquáticos ou mesmo de larvas de pernilongos mortos, seu hospedeiro natural (Singer, 1981; Priest et al., 1997; Alves, 1998; Wirth et al., 2001; Partridge e Berry, 2002; Wei et al., 2006).

B. cereus, de acordo Vilain *et al.* (2006), é uma bactéria de solo que pode ocorrer na rizosfera das plantas e algumas estirpes produzem antibióticos capazes de inibir o desenvolvimento de doenças fúngicas na rizosfera; Galvão et al. (2006), em análises microbiológicas de água de cultivo de mexilhões, detectaram *B. cereus* em 6,7% das amostras. Rowan *et al.* (2003) referem-se a *B. cereus*, como um grupo heterogêneo de bactérias Gram-positivas, que devido a sua habilidade em formar esporos, tolera melhor ambientes hostis do que outros entomopatógenos bacterianos não esporulantes. *B. cereus* é um patógeno humano oportunista, que está presente no solo e na água, podendo proliferar em uma gama de ambientes incluindo matérias-primas e alimentos processados (From *et al.*, 2005; Tourasse *et al.*, 2006).

1.4 Referências

- Alles, G. C. 2008. Caracterização de estirpes de *Bacillus sphaericus* com atividade inseticida. Dissertação (Mestrado), Universidade do vale do Rio dos Sinos, 2008. São Leopoldo: UNISINOS, 2008, 108p.
- Alves, S. B. Controle microbiano de insetos. Piracicaba: FEALQ, 1998. 1163p.
- Andréa, M.M.; Hollweg, M.J. 2004. Comparação de métodos para determinação de biomassa microbiana em dois solos. Revista Brasileira Cia. do Solo, 28: 981-986.
- Atlas, R.M.; Horowitz, A.; Krichevsky, M.; Bej, A.K. 1991. Response of microbial populations to environmental disturbance. Microbial Ecology, 22:249-256.
- Azambuja, A. O. 2006. Ecologia de *Bacillus* spp. em solos orizícolas e o impacto dos tratamentos fitossanitários. Dissertação (Mestrado), Universidade do Vale do Rio dos Sinos, 2006. São Leopoldo: UNISINOS, 2006, 66p.
- Batista-Filho, A.; Alves, S.B.; Alves, L.S.A.; Pereira, R.M.; Augusto, N.T. 1998. Formulação de entomopatógenos. In: ALVES, S.B. (ed.), Controle Microbiano de Insetos. São Paulo, FEALQ, p.917-965.
- Bernhard, K.; Jarret, P.; Meadows, M.; Butt, J.; Ellis, D.J.; Roberts, G.M.; Pauli, S.; Rodgers, P.; Burges, D. 1997. Natural isolates of *Bacillus thuringiensis* worldwide distribution, characterization, and activity against insects pests. Journal of Invertebrate Pathology, 70:59-68.
- Borges, K.P. Coneglian, C.M.R.; Jesus, M.A.; Dellamatrice, P.M.; Monteiro, R.T.R.; Tsar, S.M. 2004. Efeito do herbicida glifosato sobre a comunidade microbiana em solos com sistema de plantio direto complementado com vermicomposto. Arquivos Instituto Biológico, 71: 714-717.
- Brighenti, D.M.; Carvalho, C.F.; Carvalho, A.G. e Brighenti, C.R.G. 2005. Eficiência do *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Berliner, 1915) no controle da traça da cera *Galleria mellonella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Pyralidae), Ciências Agrotecnológicas, 29: 60-68.
- Buckley, D.H.; Schmidt, T.M. 2003. Diversity and dynamics of microbial communities in soil from agro-ecosystems. Environmental Microbiology, 5:441-452.
- Caccamo, D.; Maugeri, T.L., Guagliandolo, C. 2001. Identification of thermophilic and marine bacilli from shallow thermal vents by restriction analysis of their amplified 16S rDNA. Journal Applied Microbiology, 91:520-524
- Capalbo, D.M.F.; Vilas-Bôas, G.T.; Arantes, O.M.N.; Suzuki, M.T. 2005. *Bacillus thuringiensis*. Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento, 34: 69-85.
- Castro, O.M.; Prado, H. 1993. Avaliação da atividade de microrganismos do solo em diferentes sistemas de manejo de soja. Ciência agrícola, 2: 12-219.
- Charles, J.F.; Nielsen-Lerous, C.; Delécluse, A. 1996. *Bacillus sphaericus* toxins: molecular biology and mode of action. Annu. Rev. Entomol., 41: 451-472.
- Chilcott, C.N.; Ellar, D.J. 1998. Comparative study of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* crystal proteins in vivo and in vitro. Journal Genetic Microbiology, 134:2551-2558.
- Consoli, R.A.G.B.; Carvalho-Pinto, C.J.; Oliveira, M.A.; Santos, B.S.; Lamounier, M.A.; Alves, R.S.A.; Silva, C.M.B.; Rabinovitch, L. 1995. Some environmental and biological factors influencing the activity of entopathogenic *Bacillus* on mosquito larvae in Brazil. Mem. I. Oswaldo Cruz, 90: 121-124.
- Crickmore, N.; Zeigler, D.R.; Schneck, E.; Van Rie, J.; Lereclus, D.; Baum, J.; Dean, D.H. 2008. *Bacillus thuringiensis* toxin nomenclature. http://www.lifesci.sussex.ac.uk/home/Neil_Crickmore/Bt/toxins2.html.
- Damgaard, P.H. 2000. Natural occurrence and dispersal of *Bacillus thuringiensis* in the environment. In: Charles, J.F.; Nielsen-Lerous, C.; Delécluse (Ed). Entomopathogenic bacteria: from laboratory to field application. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, p. 23-40.
- De Melo, J. V. 2008. Ultrastructural analysis of midgut cells from *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) larvae resistant to *Bacillus sphaericus*. Mícron, Oxford. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/journal/09684328>>. Acesso em: 20 mar. 2008.

- Dias, S.C.; Sagardoy, M.A.; Silva, S.F.; Dias, J.M.C.S. 1999. Characterization and pathogenic evaluation of *Bacillus thuringiensis* e *Bacillus sphaericus* isolates from Argentinian soils. *Biocontrol*, 44: 59-71.
- Fernandes, P.A.V.; Arruda, I.R.; Santos, A.F. Amatto. B. 2007. Atividade antimicrobiana de surfactantes produzidos por *Bacillus subtilis* R14 frente a bactérias multidroga-resistentes. *Brazilian Journal of Microbiology*, 38(4): 704-709.
- Fischer, J.C. and Hollibaugh, J.T. 2008. Selenate-dependent anaerobic arsenite oxidation by a bacterium from Mono Lake, California. *Applied and Environmental Microbiology*. 74(9): 2588-2594.
- Fiuza, L.M. 2001. *Bacillus thuringiensis*: características e o potencial no manejo de insetos. *Acta Biológica Leopoldensia*, 23:141-156.
- Forsyth, G.; Logan, N.A. 2000. Isolation of *Bacillus thuringiensis* Northern Victoria land, Antarctica. *Letters and Environmental Microbiology*, 30:263-266.
- Fritz L.L.; Reche M.H.R, Fiuza L.M. 2007. Abundância de *Bacillus* sp. em amostras de água e solo de arroz irrigado do RS. In: Mostra de Iniciação Científica, São Leopoldo, RS.
- Fritz, L.L. 2007. Frequência de *Bacillus* spp. em Solos de diferentes sistemas de cultivo de arroz irrigado na EEA-IRGA, Cachoeirinha, RS. São Leopoldo, 18p. Trabalho de Conclusão de curso de Ciências Biológicas, Ciências da Saúde, Universidade do Vale do Rio dos Sinos.
- From, C.; Pukall, R.; Schumann; Hormazábal, V.; Granun, P.E. 2005. Toxin-producing ability among *Bacillus* spp. outside the *Bacillus cereus* groups. *Applied and Environmental Microbiology*, 71: 1178-1183.
- Fu, Q.; Hu, H.; Chen, S.; Huang, Q.; Liang, W. 2007. Adsorption of insecticidal toxin from *Bacillus thuringiensis* subsp. *Kurstaki* by some Chinese soil: effects of organic acid ligands addition. *Plant soil*, 296:35-41.
- Fuxa, J.R. 1992. Impact of the release of entomopathogens in the environment. *Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 27:349-369.
- Galvão, J.A.; Furlan, E.F.; Salán, E.O.; Porto, E.; Oetterer, M. 2006. Características físico-químicas e microbiológicas (*Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus*) characteristics of the seawater and the cultivated mussels from Ubatuba, SP. *Ciência agrotécnica*. 30(6): 1124-1129.
- Garbeva, P.; Veen J.A.V.; Elsas, J.D.V. 2003. Predominant *Bacillus* spp. in agricultural soil under different management regimes detected via PCR-DGGE. *Microbial Ecology*, 45:302-316.
- Gardener, B.B.M. 2004. Ecology of *Bacillus* and *Paenibacillus* spp. in agricultural systems. *Phytopathology*, 94:1252-1258.
- Ghini, R. 2008. Impacto de mudanças climáticas globais sobre a microbiota terrestre. p.1-15. In: Melo, I.S.; Azevedo, J.L. (ed). *Microbiologia Ambiental*. EMBRAPA, São Paulo.
- Guttmann, D.M.; Ellar, D.J. 2000. Phenotypic and genotypic comparisons of 23 strains from the *Bacillus cereus* complex for a selection of known and putative *B. thuringiensis* virulence factors. *Microbiology Letters*, 188: 7-13.
- Habib, M.E.M.; Aandrade, C.F.S. 1998. Bactérias entomopatogênicas. In: FEALQ (ed.). *Controle Microbiano de Insetos*. São Paulo. p. 383-446.
- Halfeld-Vieira, B. A.; Romero, R. S.; Mounter, A. 2008. Eficiência de bactérias do filoplano no controle de doenças da parte aérea do tomateiro em condições de campo. *Summa phytopathol.* 34(1): 86-87.
- Hansen, B.M.; Hendriksen, N.B. 2001. Detection of enterotoxic *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* strains by PCR analysis. *Appl. Environ. Microbiol.*, 67: 185-189.
- Hansen, B. M.; Hoiby, P. E., Jensen, G. B., Hendriksen, N. B. 2003. The *Bacillus cereus* bceT enterotoxin sequence reappraised. *Microbiology letters*, 223: 21-24.
- Hongyu, Z.; Ziniu, Y.; Wangxi, D. 2000. Isolation, distribution and toxicity of *Bacillus thuringiensis* from warehouses in China. *Crop Protection*, 19:449-454.
- Hossain, M.A.; Ahmed, S.; Hoque, S. 1997. Abundance and distribution of *Bacillus thuringiensis* in the agricultural soil of Bangladesh. *Journal of Invertebrate Pathology*, 70:221-225.
- Hu, X; Hansen B.M.; Eilenberg, J.; Hendriksen, N. B.; Ssmidt, L.; Yuan, Z.; Jensen, G. B. 2004. Conjugative transfer, stability and expression of a plasmid encoding a cry1Ac gene in *Bacillus cereus* group strains. *Microbiology Letters*, 231: 45-52.
- Ibarra, J.E.; Rincón, M.C.; Ordúz, S.; Noriega, D.; Benitende, G.; MONNERAT, R.; Regis, L.; Oliveira, C.M.F.; Lanz, H.; Rodrigues, M.H.; Sánchez, J.; Peña, G.; Bravo, A. 2003. Diversity of *Bacillus thuringiensis* strain from Latin America with insecticidal activity against different mosquito species. *Applied Environmental Microbiology*, 69: 5269-5274.
- IRGA-Instituto Rio Grandense do Arroz. 2005. Arroz Irrigado: Recomendações Técnicas da Pesquisa para o Sul do Brasil. Santa Maria, SOSBAI, 159p.
- Içgen, Y.; Içgen, B. and Özcengiz, G. 2002. Regulation of crystal protein biosynthesis by *Bacillus thuringiensis*: I. Effects of mineral elements and pH. *Research Microbiology* 153: 599-604.
- Jensen, G.B. Hansen, B.M.; Elinberg, J.; Mahillon, J. 2003. The hidden lifestyles of *Bacillus cereus* and relatives. *Environmental Microbiology*, 5:631-640.
- Kalfon, A.; Larget-Thierry, I.; Charles, J.F.; De Barjac, H. 1983. Growth sporulation and larvicidal activity of *Bacillus sphaericus*. *European Journal of Applied Microbiology*, 18: 168-173.
- Kennedy, A.C. 1999. Bacterial diversity in agroecosystems. *Agr. Ecosystems Environmental*, 74: 65-76.
- Landén, R.; Bryme, M. Abdell-Hamed, A. 1994. Distribution of *Bacillus thuringiensis* stains in southern Sweden. *World Journal of*

- Microbiology and Biotechnology, 10:45-50.
- Liesack, W.; Schenell, S.; Revsbech, N. P. 2000. Microbiology of flooded rice paddies FEMS Microbiology Reviews, v. 24, p.625-645.
- Maeda, M.; Mizuki, E. Nakamura, Y.; Hatano, T.; OHBA, M. 2000. Recovery of *Bacillus thuringiensis* from marine sediments of Japan. Current Microbiology, 40:418-422.
- Martin, P.A.W. 1994. An iconoclastic view of *Bacillus thuringiensis* ecology. American Entomologist, 4:85-90.
- Martiny, A.C.; Albrechtsen, H-J.; Arvin, E. and Molin, S. 2005. Identification of bacteria in biofilm and bulk water samples from a non-chlorinated model drinking water distribution system: detection of a large nitrite-oxidizing population associated with *Nitrospira* spp. Applied and Environmental Microbiology. 71(12): 8611-8617.
- Martinéz, C.; Caballero, P. 2002. Contents of *Cry* genes and insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* strains from terrestrial and aquatic habitats. Journal of Applied Microbiology, 92:745-752
- Matos, M.L.T.; Martins, J.F.S.; Cunha, U.S.; Santos, I.M.B.; Aspectos microbiológicos e ambientais do inseticida Carbosulfano em lavoura de arroz irrigado. In: V Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado; XXVII Reunião da Cultura do Arroz Irrigado. 2007. V 2 p.376-378. Anais. Embrapa Clima Temperado. Pelotas, RS. 2007.
- Meadows, M.P.; Ellis, D.J.; Butt, J.; Jarret, P.; Burges, D. 1992. Distribution, frequency, and diversity of *Bacillus thuringiensis* in an animal feed mill. Applied and Environmental Microbiology, 58:1344-1350.
- Meadows, M.P. 1993. *Bacillus thuringiensis* in the environment: ecology and risk assessment. In: Entwistle, P.F.; Cory, J.S. Bailey, M.J.; Higgs, S. (Ed). *Bacillus thuringiensis* an environmental biopesticide: theory and practice. Chichester: John Wiley, p. 193-220.
- Melo, I.S.; Azevedo, J.L. 1998. Ecologia Microbiana. EMBRAPA-CNPq, MA, Jaguariúna, 488p.
- Mohamed, E.A.M.; Abe, M.; Ghanem, K.M.; Abdel-Fattah, Y.R.; Nakagawa, Y.; El-Helow, e.r. 2007. Diversity of *Bacillus* Genotypes in soil samples from El-omayed biosphere reserve in Egypt. Journal of Culture Collections, 5: 78-84.
- Motavalli, P.P.; Kremer, R.J.; Fang, N.; Means, N.E. 2004. Impact of genetically modified crops and their management on soil microbially mediated plant nutrient transformations. Journal of Environmental Quality, 33:816-824
- Nicolas, L.; Nielsen-Leroux, C.; Charles, J.-F.; Delécluse, A. 1993. Respective role of the 42- and 51-kDa component of the *Bacillus sphaericus* toxin overexpressed in *Bacillus thuringiensis*. FEMS Microbiology Letters 106: 275-280.
- Nielsen-Leroux, C.; Charles, J.-F. 1992. Binding of *Bacillus sphaericus* binary toxin to a specific receptor on midgut brush-border membranes from mosquito larvae. European Journal of Biochemistry 210: 585-590.
- Partridge, R. M.; Berry, C. 2002. Insecticidal activity of the *Bacillus sphaericus* Mtx1 toxin against *Chironomus riparus*. Journal of Invertebrate Pathology 79: 135-136.
- Pfuller, E.E.; Fries, M.R.; Antonioli, Z.I.; Santos, E.; Pereira, J.E.; Campos, B.C.; Samniago, M.P.G. 2000. Dinâmica da população microbiana sob sistema de plantio direto e convencional. In: Congresso Fertbio, Cruz Alta. Anais..., Cruz Alta, RS, 4p.
- Polanczyk, R.A. 2004. Estudos de *Bacillus thuringiensis* visando ao controle de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). São Paulo, SP. Tese de doutorado. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz - ESALQ, 144p.
- Polanczyk, R. & Alves, S. 2003. *Bacillus thuringiensis*: Uma breve revisão. Agrociência, 12:1-10.
- Priest, F.G. 2000. Biodiversity of the entomopathogenic, endospore-forming bacteria. In: Charles, J.F.; Delecluse, A.; Nielsen-Le Roux C. (Ed.) Entomopathogenic bacteria: from laboratory to field application. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, p.1-22
- Priest, F. G.; Aquino de Muro, M.; Kaji, D. 1997. A Distribution and characterization of mosquitocidal toxin genes in some strains of *Bacillus sphaericus*. Applied Environmental Microbiology 63: 1195-1198.
- Priest, F.G. 1992. Biological Control of Mosquitoes and other Biting Flies by *Bacillus sphaericus* and *Bacillus thuringiensis*. Journal of Applied Bacteriology 72: 357-369.
- Rabinovitch, L.; Silva, C.M.B. e Alves, R.S.A. 2000. Controle biológico de vetores de doenças tropicais utilizando *Bacillus* Entomopatogênicos. In: Melo, I.S. e Azevedo, J.L. (eds.), Controle Biológico. Jaguariúna, EMBRAPA, p.17-90.
- Reche, M.H.L.R. e Fiuza, L.M. 2005. Bacterial Diversity in Rice-field Water in Rio Grande do Sul. Brazilian Journal of Microbiology. 3: 253-257.
- Rikhanov, E.G.; Varakina, N.N.; Sozinov, D.Y.; Voinikov, V.K. 1999. Association of Bacteria and Yeasts in Hot Springs. Applied and Environmental Microbiology, 65(9): 4292-4293.
- Rowan, N.J.; Caldwell, G.; Gemmell, C.G.; Hunter, I.S. 2003. Production of diarrheal enterotoxins and other potential virulence factors by veterinary isolates of *Bacillus* species associated with nongastrointestinal infections. Applied and Environmental Microbiology. 69(4):2372-2376.
- Schwartz, J. L. ; Potvin, L.; Coux, F.; Charles, J. F.; Berry, C.; Humphreys, M. J.; Jones, A. F.; Bernhart, I.; Dalla - Serra, M. E Menestrina, G. 2001. Permeabilization of model lipid membranes by *Bacillus sphaericus* mosquitocidal binary toxin and its individual components. Journal of Membrane Biology. 184: 171-183.
- Singer, S. 1981. Potential of *Bacillus sphaericus* and related spore-forming bacteria for pest control, p. 283-292. In: M. D. Burges (ed.), microbial control of pests and plant diseases. Academic Press, New York, N.Y.

- Singh, G. J. P.; GILL, S. S. 1988. An electron microscope study of the toxic action of *Bacillus sphaericus* in *Culex quinquefasciatus* larvae. *Journal of Invertebrate Pathology* 52:237-247.
- Shisa, N.; Wasano, N.; Ohgushi, A.; Lee, H.D.; Ohba, M. 2002. Extremely high frequency of common flagellar antigens between *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus cereus*. *Microbiology Letters*, 213: 93-96.
- Sikdar, D.P.; Majundar, M.K.; Majundar, S.K. 1991. Effect of minerals on the production of the delta endotoxin by *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis*. *Biotechnology Letters*, 13: 511-514.
- Silva, K.R.A.; Rabinovitch, L.; Seldin, L. 1999. Phenotypic and genetic diversity among *Bacillus sphaericus* strains isolated in Brazil, potentially useful as biological control agents against mosquito larvae. *Research Microbiology*, 150: 153-160.
- Silva, S.F.; Dias, J.M.C.S; Monnerat, R.G. 2002. Isolamento, identificação e caracterização entomopatogênica de bacilos de diferentes regiões do Brasil. Brasília, EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia. Comunicado Técnico, 70, 4p.
- Silva-Filha, M. H. N. L.; Peixoto, C. 2003. Immuno cytochemical localization of the *Bacillus sphaericus* binary toxin components in *Culex quinquefasciatus*. *Pesticide Biochemistry Physiology* 77: 138-146.
- Silva-Filha, M. H. N. L.; Regis, L. 1997. Reversal of a low-level resistance to *Bacillus sphaericus* in a field population of *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) from an urban area of Recife, Brazil. *Journal of Economic Entomology* 90: 299-303.
- Sneath, P.H.A. 2001. Endospore-forming Gram-positive rods and cocci. In: Butler, J.P. (ed.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Baltimore, Williams & Wilkins, p.1104-1139.
- Sneath, P.H.A. 2001. Endospore-forming Gram-positive rods and cocci. In: Butler, J.P. (ed.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Baltimore, Williams & Wilkins, p.1104-1139.
- Sosa-Gómes, D.R.; Tigano, M.S.; Arantes, O.M.N. 1998. Caracterização de entomopatógenos. In: Alves, S.B. (ed.), *Controle Microbiano de Insetos*. São Paulo, FEALQ, p.731-763.
- Szabo, J.G.; Rice, E.W.; Bishop, P.L. Persistence and decontamination of *Bacillus atrophaeus* subsp. *Globigii* spores on corroded iron in a model drinking water system. 2007. *Applied and Environmental Microbiology*. 73(8): 2451-2457.
- Tapp, H.; Stotzky. 1998. Persistence of the insecticidal toxins from *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* in soil. *Soil Biology Biochemistry*, 30: 471-476.
- Thanabalu, T.; Berry, C.; Hindley, J. 1993. Citotoxicity and ADP-ribosylating activity of the mosquito-cidal toxin from *Bacillus sphaericus* SSII-1: possible roles of the 27- and 70- kDa peptides. *Journal of Bacteriology* 175: 2314-2320.
- Thanabalu, T.; Hindley, J.; Jackson-Yap, J.; Berry, C. 1991. Cloning, sequencing, and expression of a gene encoding a 100-kilodalton mosquito-cidal toxin from *Bacillus sphaericus* SSII-1. *Journal of Bacteriology* 173, 2776-2785.
- Torsvik, V.; Ovreas, L. 2002. microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems. *Current Opinion in Microbiology*, 5:240:245.
- Tourasse, N. J.; Helgason, E. Oksstad, O. A.; Hegna, I. K.; Kolsto, A.B. The *Bacillus cereus* group: novel aspects of population structure and genome dynamics. 2006. *Journal of Applied Microbiology*, Norway, p. 579-593.
- Uribe, D.; Marinez, W.; Cerón, J. 2003. Distribution and diversity of *Cry* genes in native strains of *Bacillus thuringiensis* obtained from different ecosystems from Colômbia. *Journal of Invertebrate Pathology*, 82: 119-127.
- Valarini, P.J.; Alvarez, M.C.D; Gascó, J. M.; Guerrero, F.; Tokeshi, H. 2002. Integrated evaluation of soil quality after the incorporation of organic matter and microorganisms. *Brazilian Journal of Microbiology*, 33: 35-40.
- Vilain, S.; Luo, Y.; Hildreth, M.B.; Brozel, V.S. 2006. Analysis of the life cycle of the soil saprophyte *Bacillus cereus* in liquid soil extract and in soil. *Applied and Environmental Microbiology*. 72(7): 4970-4977.
- Wang, I.; Boets, A.; Van Rie, J.; GAI-XIN, R. 2003. Characterization of *Cry1*, *Cry2* and *Cry9* genes in *Bacillus thuringiensis* isolates from China. *Journal of Invertebrate Pathology*, 82:63-71.
- Wardle, D.A.; Parkison, D. 1990. Effects of three herbicides on soil microbial biomass and activity. *Plant and soil*, 122:21-28.
- Wei, S.; Cai, Q.; Yuan, Z. 2006. Mosquitocidal toxin from *Bacillus sphaericus* induces stronger delayed effects than binary toxin on *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Journal Medical Entomology* 43: 726-730.
- West, A.W.; Burgues, H.D.; Dixon, T.J.; Wyborn, C.H. 1985. Survival of *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus cereus* spore inocula in soil: effects of pH, moisture, nutrient availability and indigenous microorganisms. *Soil Biology and Biochemistry*, 17: 657-665.
- Wirth, M.C.; Ferrari, J.A.; Georghiou, G.P. 2001. Baseline susceptibility to bacterial insecticides in populations of *Culex pipiens* complex (Diptera: Culicidae) from California and from the Mediterranean Island of Cyprus. *Journal of Economic Entomology*. 94: 920-928.
- Yañez, J.M.S.; Cabriales, J.J.P. 2000. Persistencia de esporas de *Bacillus thuringiensis* em folhas de maíz, de frijol y en el suelo. *Revista Terra Latinoamericana*, 18: 325-331.
- Yousten, A.A.; Benfield, E.F.; Genthner, F.J. 1995. *Bacillus sphaericus* mosquito pathogens in the aquatic environment. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 90: 125-129.