

Bactérias endofíticas e a promoção de crescimento de plantas de pimenta-do-reino

Endophytic bacteria and the growth promotion of black pepper plants

Bacterias endofíticas y promoción del crecimiento de plantas de pimienta negra

Recebido: 31/10/2020 | Revisado: 07/11/2020 | Aceito: 10/11/2020 | Publicado: 14/11/2020

Luana Cardoso de Oliveira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3204-8194>

Universidade Federal do Pará, Brasil

E-mail: luanacardoso.oliveira@hotmail.com

Alessandra Keiko Nakasone

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6021-185X>

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Amazônia Oriental, Brasil

E-mail: alessandra.nakasone@embrapa.br

Lidia Lacerda

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7925-5254>

Universidade Federal do Pará, Brasil

E-mail: lidialacerda09@gmail.com

Kátia de Lima Nechet

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6746-0576>

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Meio Ambiente, Brasil

E-mail: katia.nechet@embrapa.br

Walkymário de Paulo Lemos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1608-9551>

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Amazônia Oriental, Brasil

E-mail: walkymario.lemos@embrapa.br

Andrey Moacir do Rosario Marinho

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8981-0995>

Universidade Federal do Pará, Brasil

E-mail: andrey@ufpa.br

Bernardo de Almeida Halfeld-Vieira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4115-0155>

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Meio Ambiente, Brasil

E-mail: bernardo.halfeld@embrapa.br

Resumo

O objetivo deste trabalho foi determinar a capacidade de isolados de bactérias endofíticas em promover o crescimento de plantas de pimenta-do-reino. As bactérias endofíticas foram inoculadas em mudas de pimenta-do-reino por imersão em suspensão bacteriana na concentração de 10^8 UFC mL⁻¹ por 5 minutos. Plantas do tratamento controle foram imersas em água destilada estéril. Em seguida, as mudas foram plantadas em vasos contendo fibra de coco estéril. Para avaliar a promoção de crescimento das plantas foram medidas a altura, o diâmetro do caule e a massa seca. Os isolados C5.11, C6.2, T2.2 e C1.4 promoveram crescimento de plantas de pimenta-do-reino, com aumento na altura de 26,82, 27,37, 35,55 e 37,99%, respectivamente, na massa seca, aumento em valores de 10,13, 3,92, 6,25 e 10,17%, respectivamente, e em relação ao crescimento em diâmetro do caule, o isolado C5.11 promoveu aumento de 33,66% na taxa de crescimento em relação ao tratamento controle. No presente estudo, os isolados C6.2, T2.2, C5.11 e C1.4 promoveram crescimento de plantas de pimenta-do-reino, com o aumento na altura e massa seca das plantas em comparação ao tratamento controle.

Palavras-chave: *Piper nigrum*; Crescimento da planta; Altura; Diâmetro do caule; Massa seca.

Abstract

This work aimed to determine the capacity of endophytic bacteria isolates to promote the growth of black pepper plants. The endophytic bacteria were inoculated in black pepper seedlings by immersion in bacterial suspension in the concentration of 10^8 CFU mL⁻¹ for five minutes. The plants of the control treatment were immersed in sterile distilled water. Subsequently, the seedlings were planted in pots containing sterile coconut fiber. Plant height, stem diameter, and dry mass were measured to evaluate the promotion of plant growth. Isolates C5.11, C6.2, T2.2, and C1.4 promoted the growth of black pepper plants with an increase in height and dry matter of 26.82, 27.37, 35.55, and 37.99% and 10.13, 3.92, 6.25, and 10.17%, respectively. Isolate C5.11 promoted an increase of 33.66% in the growth rate of stem diameter compared to the control treatment. Isolates C6.2, T2.2, C5.11, and C1.4 promoted the growth of black pepper plants in this study, with an increase in plant height and dry mass compared to the control treatment.

Keywords: *Piper nigrum*; Plant growth; Height; Stem diameter; Dry mass.

Resumen

El objetivo de este trabajo fue determinar la capacidad de los aislados de bacterias endofíticas en promover el crecimiento de plantas de pimienta negra. Las bacterias endofíticas fueron inoculadas en plántulas de pimienta negra por inmersión en suspensión bacteriana en la concentración de 10^8 UFC mL⁻¹ durante 5 minutos. Las plantas del tratamiento control fueron inmersas en agua destilada estéril. Luego, las plántulas fueron plantadas en jarrones que contienen fibra de coco estéril. Para evaluar la promoción de crecimiento de las plantas se midieron la altura, el diámetro del tallo y la masa seca. Los aislados C5.11, C6.2, T2.2 y C1.4 promovieron el crecimiento de plantas de pimienta negra, con un aumento en la altura de 26,82, 27,37, 35,55 y 37,99%, respectivamente, en la masa seca, un aumento en valores de 10,13, 3,92, 6,25 y 10,17%, respectivamente, y en relación al crecimiento en diámetro del tallo, el aislado C5.11 promovió un aumento de 33,66% en la tasa de crecimiento con relación al tratamiento control. En el presente estudio, los aislados C6.2, T2.2, C5.11 y C1.4 promovieron el crecimiento de plantas de pimienta negra, con un aumento en la altura y masa seca de las plantas en comparación con el tratamiento control.

Palabras clave: *Piper nigrum*; Crecimiento de la planta; Altura; Diámetro del tallo; Masa seca.

1. Introdução

Originária de regiões tropicais da Índia, a pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.) foi introduzida no Brasil pelos portugueses durante o século XVII com entrada pelo estado da Bahia (Duarte et al., 2005). Amplamente distribuída, possui cerca de 350 espécies no Brasil ocupando expressivamente territórios como o Pará, Espírito Santo e Bahia. No estado do Pará, destaca-se o município de Tomé-Açu, ocupado por imigrantes japoneses na década de 30 que cultivavam esta especiaria de maneira a expandi-la gradualmente (Jaramillo & Manos, 2001; Ruschel, 2004; DESER, 2008). A pipericultura no estado do Pará possui uma grande relevância no cenário nacional, com uma produção de 22.735 toneladas, seguida do Espírito Santo com 21.502 toneladas e Bahia com a safra de 1.775 toneladas, garantindo desta forma um lugar de destaque ao Brasil em relação a esta especiaria (IBGE, 2017).

A propagação de mudas de pimenta-do-reino é realizada de forma sexuada por sementes ou assexuada por estaquia. Para plantios comerciais, a propagação por estacas é recomendada e tradicionalmente utilizada, porque possibilita a formação de pimenteiros-do-reino de boa conformação e produção precoce, uniforme e alta (Velooso & Albuquerque,

1989). No entanto, o enraizamento de certas estacas é difícil sem o auxílio de hormônios exógenos (Aziz et al., 2015). Diante disso, a introdução de promotores de crescimento vegetal tem representado uma alternativa para a otimização do enraizamento de estacas na propagação vegetativa (Erturk et al., 2010; Aziz et al., 2015; Muthukumar & Prabhu, 2019; İşçi et al., 2019).

Durante seu desenvolvimento em condições naturais, as plantas interagem continuamente com microrganismos. Bactérias endofíticas colonizam os tecidos, sem causar dano ao hospedeiro e vêm sendo cada vez mais utilizadas no biocontrole de doenças (Nascimento et al., 2015; Toh et al., 2016; Wiratno et al., 2019; Ngo et al., 2020) e na promoção de crescimento de plantas (Reinhold-Hurek & Hurek, 2011; Jasim et al., 2013; Abdallah et al., 2016; Dan Gusmaini, 2018; Pereira et al., 2019; Ngo et al., 2020). A proteção da planta contra patógenos pode ser conferida por indução de mecanismos de defesa das plantas, antagonismo ou por meio de competição por colonização e nutrientes (Reinhold-Hurek & Hurek, 2011). Enquanto a promoção do crescimento pode ser resultado da produção bacteriana de hormônios vegetais, solubilização de nutrientes do solo ou indiretamente pelo controle de patógenos (Cattelan, 1999; Reinhold-Hurek & Hurek, 2011).

Os microrganismos endofíticos podem produzir toxinas, antibióticos e outros fármacos, fatores de crescimento e muitos outros produtos de potencial interesse biotecnológico, além de exercerem outras funções de importância para o hospedeiro, tais como a maior resistência às condições de estresse, à alteração de propriedades fisiológicas e à produção de fito-hormônios (Azevedo, 1998).

Em plantas de pimenta-do-reino, diferentes microrganismos têm demonstrado potencial como promotores de crescimento vegetal, tais como: as bactérias da rizosfera *Streptomyces* spp. (Suseela Bhai et al., 2016), o fungo micoparasita de controle biológico *Trichoderma harzianum* (Anith et al., 2011), e o fungo endofítico *Piriformospora indica* (Anith et al., 2011; Anith et al., 2018).

Com a perspectiva de disponibilizar ativos biológicos capazes de serem utilizados na cultura, o presente trabalho teve como objetivo determinar a capacidade dos isolados de bactérias endofíticas em promover o crescimento de plantas de pimenta-do-reino.

2. Metodologia

O ensaio foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia e em casa-de-vegetação da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, Pará, Brasil, no período de junho de 2017 a abril de

2018, por meio de método quantitativo da pesquisa científica (Pereira et al., 2018).

2.1 Material vegetal

Foram utilizadas mudas da cultivar Singapura com aproximadamente quatro meses de idade, obtidas através de estaquia e provenientes do Viveiro ProMudas, Castanhal, Pará, Brasil

2.2 Isolamento de bactérias endofíticas de raízes de pimenteira-do-reino

Amostras de raízes de pimenteira-do-reino aparentemente sadias foram coletadas nos municípios de Castanhal, Igarapé-Açu e Tomé-Açu, Pará, Brasil. As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos identificados e transportadas para o Laboratório de Fitopatologia, onde foram lavadas em água corrente para a remoção do solo. Seguindo a metodologia de isolamento adaptada de Mariano et al. (1997), foi realizada a desinfestação das amostras com álcool 70% por 30 segundos, hipoclorito de sódio 1% por 3 minutos e duas lavagens com água destilada estéril. As raízes foram transferidas para frascos contendo água destilada estéril e levadas a banho de ultrassom por 10 minutos, seguido de duas lavagens com água destilada estéril. Em seguida, as amostras foram transferidas para novos frascos e repetiu-se o procedimento de banho de ultrassom e duas lavagens com água destilada estéril. O material foi triturado utilizando-se almofariz e pistilo estéreis contendo solução tampão fosfato-potássio (PB) 0,02 M pH 7,0 estéril e o triturado submetido a novo banho de ultrassom por 10 minutos. Foi realizada a diluição em série do triturado em solução PB estéril com fator de diluição 1:10, e alíquotas de 100 µL das diluições 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} foram transferidas para placas de Petri contendo meio de cultura Nutriente Agar (NA) e espalhadas com alça de Drigalski. As placas foram incubadas a 28 °C por 48 horas em câmara de crescimento. A confirmação da natureza endofítica foi realizada pela transferência de uma alíquota de 100 µL da segunda água de lavagem após cada banho de ultrassom para placas de Petri contendo meio NA e mantidas nas mesmas condições que as demais placas. Como não houve crescimento bacteriano em 48 horas, os isolados foram considerados endofíticos. Os isolados de bactérias endofíticas obtidos foram preservados em água destilada estéril e em papel de filtro desidratado no Laboratório de Fitopatologia. Para uso experimental, os isolados foram repicados pelo método de estrias paralelas para placas de Petri contendo meio de cultura 523 (Kado & Heskett, 1970) e incubados a 28 °C por 48 horas.

2.3 Efeito de bactérias endofíticas na promoção de crescimento de mudas de pimenta-do-reino

Para a inoculação das bactérias endofíticas, mudas de pimenta-do-reino foram lavadas em água limpa corrente e suas raízes podadas à metade do comprimento com tesoura e inoculadas separadamente por imersão em suspensão bacteriana dos isolados obtidos na concentração de 10^8 UFC mL⁻¹ por 5 minutos em temperatura ambiente (Mariano & Souza, 2016). Plantas do tratamento controle foram imersas em água destilada estéril. Em seguida, as mudas foram plantadas em vasos de 3 kg de capacidade, contendo fibra de coco estéril. Durante a condução do ensaio, as plantas foram irrigadas quinzenalmente com 100 mL de solução nutritiva do meio MS (Murashige & Skoog, 1962). Para avaliar a promoção de crescimento das plantas foram medidos: a altura das plantas do ponto de inserção das folhas cotiledonares até o ápice, o diâmetro do caule e a massa seca das plantas. Foram realizadas seis avaliações quinzenais da altura e do diâmetro com auxílio de um paquímetro digital. Para a massa seca, na última avaliação, as plantas foram coletadas, identificadas, levadas para o Laboratório de Fitopatologia, onde foi realizada a lavagem das raízes em água corrente. O material foi seco em estufa de circulação de ar forçado a 40 °C até atingir o peso constante. O delineamento experimental foi o de blocos casualizados com três repetições, sendo os tratamentos constituídos pelo tratamento controle (água) e 164 isolados de bactérias endofíticas. As taxas de crescimento de cada repetição, considerando os parâmetros altura e diâmetro do caule das plantas, foram calculadas pelos coeficientes angulares de regressão linear de cada tratamento. Foi realizada a análise multivariada dos dados, utilizando Minitab Statistical Software. As variáveis de crescimento avaliadas foram correlacionadas utilizando-se a análise de correlação de Pearson.

3. Resultados e Discussão

3.1 Bactérias endofíticas de *Piper nigrum*

Foram isoladas 164 bactérias endofíticas das raízes de plantas de pimenta-do-reino, sendo 64 isolados provenientes de sete amostras coletadas no município de Castanhal (C), 44 isolados de cinco amostras de Igarapé-Açu (I) e 56 isolados de seis amostras de Tomé-Açu (T).

O estudo sobre o isolamento e a comunidade de bactérias endofíticas de diferentes amostras de raízes de pimenteira-do-reino já foi relatado na literatura. Aravind et al. (2009)

isolaram 49 bactérias endofíticas de cinco variedades e diferentes regiões geográficas da Índia. Toh et al. (2016) isolaram 129 endófitos de pimenteiras-do-reino de diferentes fazendas da Malásia. E Ngo et al. (2020) obtiveram 352 isolados de 90 amostras de plantas de pimenta-do-reino coletadas em 30 fazendas localizadas no Vietnã.

3.2 Efeito de bactérias endofíticas na promoção de crescimento de mudas de pimenta-do-reino

O efeito na promoção de crescimento de mudas de pimenta-do-reino por 164 isolados de bactérias endofíticas foi avaliado pela medição da altura, diâmetro do caule e massa seca. Na análise de agrupamento pelo método de ligação média, com base na dissimilaridade expressa pela distância Euclidiana, houve a formação de três grupos (Quadro 1, Figura 1). O grupo 1, formado pelo tratamento controle e 158 isolados de bactérias endofíticas, apresentou os valores intermediários, para parâmetros associados ao crescimento de plantas, o grupo 2, formado pelos isolados C1.4, C5.11, C6.2 e T2.2, apresentou os maiores valores para o conjunto de parâmetros e o grupo 3 formado pelos isolados I4.7 e T1.12 apresentou os menores valores para as variáveis de crescimento avaliadas, na análise multivariada.

Quadro 1. Grupos de tratamentos estabelecidos pelo método de ligação média, com base na distância Euclidiana.

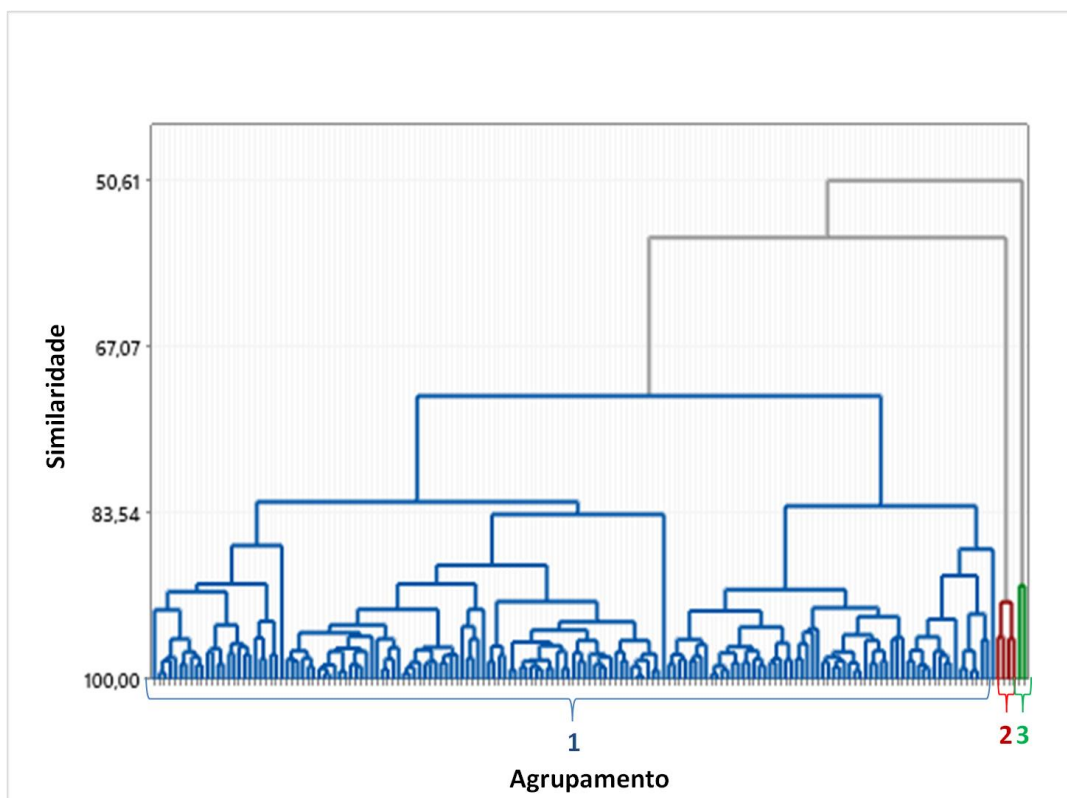
Grupo	Tratamentos (isolados endofíticos de <i>Piper nigrum</i>)
1	Controle, C1.10, C1.11, C1.2, C1.3, C1.5, C1.6, C1.7, C1.8, C1.9, C2.1, C2.2, C2.3, C2.4, C2.5, C3.1, C3.2, C3.3, C3.4, C3.5, C3.6, C3.7, C4.1, C4.2, C4.3, C4.4, C4.5, C5.1, C5.10, C5.12, C5.13, C5.14, C5.15, C5.2, C5.3, C5.4, C5.5, C5.6, C5.7, C5.8, C5.9, C6.1, C6.10, C6.11, C6.3, C6.4, C6.5, C6.6, C6.7, C6.8, C6.9, C7.1, C7.10, C7.11, C7.2, C7.3, C7.4, C7.5, C7.6, C7.7, C7.8, C7.9, I1.1, I1.2, I1.3, I1.5, I1.6, I1.7, I1.8, I3.1, I3.10, I3.11, I3.12, I3.13, I3.14, I3.15, I3.16, I3.2, I3.3, I3.4, I3.5, I3.6, I3.7, I3.8, I3.9, I4.1, I4.2, I4.3, I4.4, I4.5, I4.6, I4.8, I5.1, I5.2, I5.3, I5.4, I5.5, I5.6, I6.1, I6.2, I6.3, I6.4, I6.5, I6.6, I6.7, T1.1, T1.10, T1.11, T1.13, T1.2, T1.3, T1.4, T1.5, T1.6, T1.7, T1.8, T1.9, T2.1, T2.10, T2.3, T2.4, T2.5, T2.6, T2.7, T2.8, T2.9, T3.1, T3.2, T3.3, T4.1, T4.10, T4.11, T4.12, T4.13, T4.14, T4.15, T4.16, T4.2, T4.3, T4.4, T4.5, T4.6, T4.7, T4.8, T4.9, T5.2, T5.3, T5.4, T6.1,

	T6.10, T6.11, T6.2, T6.3, T6.4, T6.5, T6.6, T6.7, T6.8, T6.9
2	C1.4, C5.11, C6.2, T2.2
3	I4.7, T1.12

Grupo 1: Bactérias neutras. Não demonstraram capacidade em influenciar no desenvolvimento das plantas, Grupo 2: Bactérias promotoras de crescimento. Demonstraram capacidade incrementar o desenvolvimento das plantas, Grupo 3: Bactérias deletérias. Isolados que reduziram o desenvolvimento das plantas. Fonte: Autores.

No Quadro 1 é possível verificar a influência dos 164 isolados de bactérias endofíticas no crescimento de plantas de pimenta-do-reino a partir da formação de três grupos distintos. Assim, o grupo 1 foi formado pelos isolados que não influenciaram no crescimento das plantas. No grupo 2 encontram-se os isolados que promoveram o crescimento vegetal das mudas. Enquanto que o grupo 3 foi representado pelos isolados que reduziram o crescimento das plantas de pimenta-do-reino.

Figura 1. Dendograma da similaridade entre 165 tratamentos (Quadro 1) obtido pelo método de ligação média, com base na distância Euclidiana, demonstrando o efeito de bactérias endofíticas de *Piper nigrum* no crescimento de plantas de pimenta-do-reino, considerando os parâmetros: altura, diâmetro do caule e massa seca.



Fonte: Autores.

O agrupamento dos isolados de bactérias endofíticas de acordo com a similaridade em promover o crescimento das plantas de pimenta-do-reino nos parâmetros avaliados é demonstrado na Figura 1. O grupo 1 apresenta os isolados com similaridade entre si de até 71,97%, o grupo 2 os isolados com similaridade entre si de até 95,92% e o grupos 3 apresenta os isolados com similaridade de 90,70% na promoção de crescimento vegetal.

Dos 164 isolados de bactérias endofíticas avaliados, 158 isolados não tiveram efeito no crescimento das plantas de pimenta-do-reino, dois isolados, I4.7 e T1.12, apresentaram indicativo de promover efeito deletério às plantas e quatro isolados, C1.4, C5.11, C6.2, provenientes do município de Castanhal e T2.2, proveniente do município de Tomé-Açu, promoveram o crescimento das plantas de pimenta-do-reino. Avaliando as diferenças percentuais entre as taxas médias de crescimento para altura em relação ao tratamento controle, os isolados C5.11, C6.2, T2.2 e C1.4 promoveram incremento de crescimento de 26,82, 27,37, 35,55 e 37,99%, respectivamente. Para a massa seca, os isolados C6.2, T2.2, C5.11 e C1.4 promoveram aumento em valores de 3,92, 6,25, 10,13 e 10,17%, respectivamente, em relação ao tratamento controle. No entanto, em relação ao diâmetro do caule, apenas o isolado C5.11 promoveu aumento da taxa de crescimento (33,66%) em comparação ao tratamento controle.

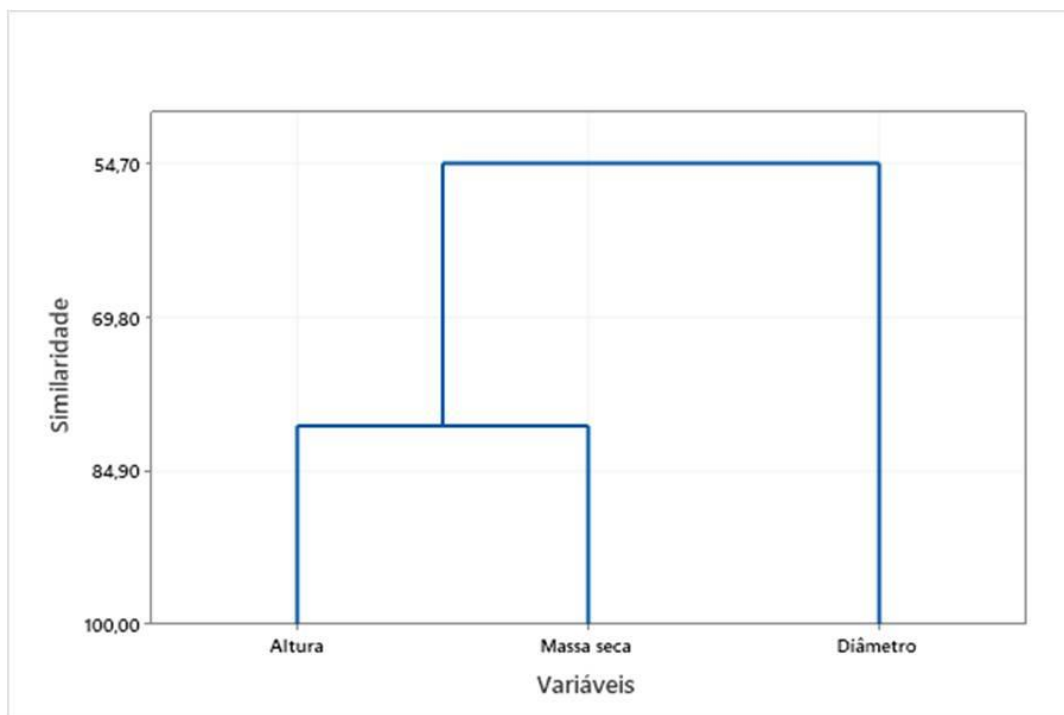
Dan Gusmaini (2018) verificou que a bactéria endofítica Rjc1 de gengibre-velho (*Zingiber officinale* var. *rubrum*) aumentou significativamente a altura de mudas de pimenteira-do-reino. Já as espécies endofíticas *Klebsiella* sp. (PnB 10) e *Enterobacter* sp. (PnB 11) de pimenta-do-reino promoveram o crescimento vegetal de plantas de feijão-mungo (*Vigna radiata* L.) quando comparados às plantas do controle, através da avaliação do comprimento da parte aérea e da raiz das plantas (Jasim et al., 2013).

Resultados inferiores aos encontrados neste estudo foram demonstrados por Ngo et al. (2020), em que as bactérias endofíticas *Bacillus velezensis* EB.KN12, *B. methylotrophicus* EB.KN13 e *B. siamensis* EB.CP36 de *P. nigrum* promoveram o crescimento de mudas de pimenta-do-reino, com aumento na altura das plantas de 20,89, 23,91 e 26,49%, respectivamente, em relação ao tratamento controle. Enquanto, Aravind et al. (2009) não encontraram diferença significativa entre as plantas tratadas com misturas de isolados de bactérias endofíticas de pimenta-do-reino e o tratamento controle em relação à altura de pimenteiras-do-reino. Pereira et al. (2019) avaliaram o efeito de *Pseudomonas* sp. (Pt13) de pimenta-longa (*P. tuberculatum* Jacq.) na promoção do crescimento de pimenteiras-do-reino. As plantas inoculadas por imersão das raízes na suspensão bacteriana mais inoculações adicionais através da irrigação do solo a cada 10 dias, também não diferiram das plantas do

controle na avaliação do diâmetro e altura das plantas. Porém, as plantas tratadas com o isolado Pt13, apresentaram aumento significativo da massa seca em comparação com as plantas do controle.

No presente estudo, houve correlação significativa moderada a forte entre altura e peso (0,62526) e fraca entre diâmetro e peso (0,19812) enquanto que entre altura e diâmetro não houve correlação (0,07600) pelo coeficiente de Pearson. Este resultado pode ser verificado também na análise de agrupamento, onde podemos observar uma correlação forte entre as variáveis altura e massa seca, com 80,50% de similaridade, e uma baixa correlação entre o diâmetro e o grupo da altura e diâmetro com 54,70% de similaridade (Figura 2).

Figura 2. Dendograma da similaridade entre as variáveis: altura, massa seca e diâmetro do caule obtido pelo método de ligação completa, com base na distância do coeficiente de correlação.



Fonte: Autores.

A similaridade entre os parâmetros avaliados é demonstrada na Figura 2, em que é possível verificar de forma clara que altura e massa seca foram fortemente similares, enquanto que altura e diâmetro apresentaram média similaridade na avaliação da promoção de crescimento de mudas de pimenta-do-reino.

Assim, para selecionar promotores de crescimento em pimenteira-do-reino, a medição da altura pode ser suficiente. Este resultado indica que o aumento de massa seca se deve primordialmente à maior altura da planta, uma vez que os parâmetros de massa seca e altura estão fortemente relacionados, não havendo assim necessidade de destruir a amostra, o que permite acompanhar a taxa de crescimento das plantas ao longo do tempo. Este fato é uma vantagem, pois um tempo maior para as bactérias endofíticas evidenciarem melhor sua capacidade em promover o crescimento das plantas pode ser necessário. Estes indicativos apontam para a necessidade em explorar melhor cada isolado, fazendo com que possam desempenhar mais efetivamente seu potencial na promoção do crescimento. Também há de se considerar a utilização da combinação de isolados endofíticos que possam conferir efeito sinérgico, aumentando a resposta da planta às propriedades benéficas conferidas por eles.

Vários mecanismos podem estar relacionados com a promoção de crescimento vegetal através da associação de bactérias endofíticas, que podem ocorrer tanto de forma direta quanto indireta. Os mecanismos de promoção direta incluem a facilitação em adquirir recursos do meio ambiente e o fornecimento ou regulação de hormônios vegetais. Indiretamente, a promoção de crescimento vegetal pode ocorrer através da produção de antibióticos, enzimas degradantes da parede celular, redução dos níveis de etileno da planta, resistência sistêmica induzida, diminuição da quantidade de ferro disponível para os patógenos e a síntese de compostos voláteis inibidores de patógenos (Glick, 2015; Santoyo et al., 2016).

4. Considerações Finais

No presente estudo, os isolados C6.2, T2.2, C5.11 e C1.4 de bactérias endofíticas promoveram o crescimento de plantas de pimenta-do-reino, com o aumento na altura e massa seca das plantas em comparação ao tratamento controle. Os parâmetros altura e massa seca foram fortemente correlacionados, sendo apenas a altura parâmetro suficiente para representar o crescimento de plantas de pimenta-do-reino.

Estudos futuros são necessários com o objetivo de identificar as espécies dos isolados, C6.2, T2.2, C5.11 e C1.4, responsáveis pela promoção de crescimento vegetal observada, bem como de determinar os mecanismos envolvidos no crescimento de mudas de pimenta-do-reino com a associação destas bactérias endofíticas de *P. nigrum*.

Agradecimentos

Bernardo de Almeida Halfeld-Vieira agradece ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela Bolsa de Produtividade em Pesquisa (Proc. 303396/2018-0). Os autores agradecem à Embrapa pelo financiamento do projeto de pesquisa (13.16.04.008.00.00).

Referências

- Abdallah, R. A. B., Mokni-Tlili, S., Nefzi, A., Jabnoun-Khiareddine, H., & Daami-Remadi, M. (2016). Biocontrol of *Fusarium* wilt and growth promotion of tomato plants using endophytic bacteria isolated from *Nicotiana glauca* organs. *Biological Control*, 97(1), 80-88. doi: 10.1016/j.biocontrol.2016.03.005
- Anith, K. N., Aswini, S., Varkey, S., Radhakrishnan, N. V., & Nair, D. S. (2018). Root colonization by the endophytic fungus *Piriformospora indica* improves growth, yield and piperine content in black pepper (*Piper nigrum* L.). *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 14(1), 215-220. doi: 10.1016/j.bcab.2018.03.012
- Anith, K. N., Faseela, K. M., Archana, P. A., & Prathapan, K. D. (2011). Compatibility of *Piriformospora indica* and *Trichoderma harzianum* as dual inoculants in black pepper (*Piper nigrum* L.). *Symbiosis*, 55(1), 11-17. doi: 10.1007/s13199-011-0143-1
- Aravind, R., Antony, D., Eapen, S. J., Kumar, A., & Ramana, K. V. (2009). Isolation and evaluation of endophytic bacteria against plant parasitic nematodes infesting black pepper (*Piper nigrum* L.). *Indian Journal of Nematology*, 39(2), 211-217.
- Azevedo, J. L. (1998). Microrganismos endofíticos. In Melo, I. S., & Azevedo, J. L. (Eds.). *Ecologia microbiana*, 117-137. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente.
- Aziz, Z. F. A., Halimi, M. S., Kundat, F. R., Jiwan, M., & Wong, S. K. (2015). Rhizobacterium *Bacillus cereus* induces root formation of pepper (*Piper nigrum* L.) stem cuttings. *Research in Biotechnology*, 6(2), 23-30.

Cattelan, A. J. (1999). *Métodos quantitativos para determinação de características bioquímicas e fisiológicas associadas com bactérias promotoras do crescimento vegetal*. Londrina: Embrapa Soja.

Dan Gusmaini, A. K. (2018). Potensi bakteri endofit yang diisolasi dari tanaman jahe merah untuk memacu pertumbuhan benih lada. *Buletin Penelitian Tanaman Rempah dan Obat*, 29(1), 37-46. doi: 10.21082/bullitro.v29n1.2018.37-46

Departamento de Estudos Sócio-Econômicos. (2008). *A cadeia produtiva da pimenta*. Curitiba: Secretaria de Agricultura Familiar.

Duarte, M. L. R., Albuquerque, F. C., & Albuquerque, P. S. B. (2005). Doenças da pimenta-do-reino (*Piper nigrum*). In Kimati, H., Amorim, L., Rezende, J. A. M., Bergamin Filho, A., & Camargo, L. E. A. (Eds.). *Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas*, 507-516. São Paulo: Agronômica Ceres.

Erturk, Y., Ercisli, S., Haznedar, A., & Cakmakc, R. (2010). Effects of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on rooting and root growth of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) stem cuttings. *Biological Research*, 43(1), 91-98. doi: 10.4067/S0716-97602010000100011

Glick, B. R. (2015). *Beneficial plant-bacterial interactions*. Heidelberg: Springer.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. (2017). *Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA*. Recuperado de <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/6955>

İşçi, B., Kacar, E., & Altindişli, A. (2019). Effects of IBA and plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) on rooting of ramsey american grapevine rootstock. *Applied Ecology And Environmental Research*, 17(2), 4693-4705. doi: 10.15666/aer/1702_46934705

Jaramillo, M. A., & Manos, P. S. (2001). Phylogeny and patterns of floral diversity in the genus *Piper* (Piperaceae). *American Journal of Botany*, 88(4), 706-716. doi: 10.2307/2657072

Jasim, B., Jimtha, C. J., Jyothis, M., & Radhakrishnan, E. K. (2013). Plant growth promoting potential of endophytic bacteria isolated from *Piper nigrum*. *Plant Growth Regulation*, 71(1), 1-11. doi: 10.1007/s10725-013-9802-y

Kado, C. I., & Heskett, M. G. (1970). Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. *Phytopathology*, 60(6), 969-976. doi: 10.1094/Phyto-60-969

Mariano, R. L. R., Assis, S. M. P., Mello, M. R. F., Moura, F. F., Andrade, A. Q. V., & Silva, G. (1997). Método de isolamento de bactérias endofíticas. *Fitopatologia Brasileira*, 22(Supl.), 235.

Mariano, R. L. R., & Souza, E. B. (2016). *Manual de práticas em fitobacteriologia*. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco.

Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473-497. doi: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x

Muthukumar, T., & Prabhu, A. (2019). Influence of an arbuscular mycorrhizal fungus and phosphate-solubilizing bacterium inoculation at stem cutting stage on p uptake and growth of *Impatiens walleriana* plants in an unsterile field soil. *Journal of Horticultural Research*, 27(2), 11-22. doi: 10.2478/johr-2019-0015

Nascimento, S. B., Lima, A. M., Borges, B. N., & Souza, C. R. B. (2015). Endophytic bacteria from *Piper tuberculatum* Jacq.: isolation, molecular characterization, and *in vitro* screening for the control of *Fusarium solani* f. sp *piperis*, the causal agent of root rot disease in black pepper (*Piper nigrum* L.). *Genetics and Molecular Research*, 14(3), 7567-7577. doi: 10.4238/2015.July.3.32

Ngo, V. A., Wang, S., Nguyen, V. B., Doan, C. T., Tran, T. N., Tran, D. M., Tran, T. D., & Nguyen, A. D. (2020). *Phytophthora* antagonism of endophytic bacteria isolated from roots of black pepper (*Piper nigrum* L.). *Agronomy*, 10(2), 1-15. doi: 10.3390/agronomy10020286

Pereira, A. C. C., Castro, G. L. S., Rodrigues, P. C., Silva, G. B., Oliveira, D. A., & Souza, C. R. B. (2019). An endophytic *Pseudomonas* sp. of *Piper tuberculatum* promotes growth on *Piper nigrum* through increase of root biomass production. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 108(1), 1-7. doi: 10.1016/j.pmpp.2019.101420

Pereira, A. S., Shitsuka, D. M., Parreira, F. J., & Shitsuka, R. (2018). *Metodologia da pesquisa científica*. [e-book]. Santa Maria: Ed. UAB/NTE/UFSM. Recuperado de https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic_Computacao_Metodologia-Pesquisa-Cientifica.pdf?sequence=1

Reinhold-Hurek, B., & Hurek, T. (2011). Living inside plants: bacterial endophytes. *Current Opinion in Plant Biology*, 14(4), 435-443. doi: 10.1016/j.pbi.2011.04.004

Ruschel, D. O. (2004). *Gênero Piper (Piperaceae) no Rio Grande do Sul* (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

Santoyo, G., Moreno-Hagelsieb, G., Orozco-Mosqueda, M. C., & Glick, B. R. (2016). Plant growth-promoting bacterial endophytes. *Microbiological Research*, 183(1), 92-99. doi: 10.1016/j.micres.2015.11.008

Suseela Bhai, R., Lijina, A., Prameela, T. P., Krishna, P. B., & Thampi, A. (2016). Biocontrol and growth promotive potential of *Streptomyces* spp. in black pepper (*Piper nigrum* L.). *Journal of Biological Control*, 30(3), 177-189. doi: 10.18311/jbc/2016/15592

Toh, S. C., Samuel, L., & Awang, A. S. A. H. (2016). Screening for antifungal-producing bacteria from *Piper nigrum* plant against *Phytophthora capsici*. *International Food Research Journal*, 23(6), 2616-2622.

Veloso, C. A. C., & Albuquerque, F. C. (1989). *Pimenta-do-reino: formação de mudas*. Belém: Embrapa-Unidade de Execução de Pesquisa de Âmbito Estadual de Belém.

Wiratno, W., Syakir, M., Sucipto, I., & Pradana, A. P. (2019). Isolation and characterization of endophytic bacteria from roots of *Piper nigrum* and their activities against *Fusarium*

oxysporum and *Meloidogyne incognita*. *Biodiversitas*, 20(3), 682-687. doi:
10.13057/biodiv/d200310

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Luana Cardoso de Oliveira – 20%

Alessandra Keiko Nakasone – 20%

Lidia Lacerda – 10%

Kátia de Lima Nechet – 10%

Walkymário de Paulo Lemos – 10%

Andrey Moacir do Rosario Marinho – 10%

Bernardo de Almeida Halfeld-Vieira – 20%