

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROBIOLOGIA**

Darlyng Oliveira Santos

Tuber aestivum, Tuber floridanum **E FÓSFORO NA PRODUÇÃO
DE MUDAS DE NOGUEIRA-PECÃ**

Santa Maria, RS

2021

Darlyng Oliveira Santos

Tuber aestivum, *Tuber floridanum* **E FÓSFORO NA PRODUÇÃO
DE MUDAS DE NOGUEIRA-PECÃ**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia, Área de Interação organismos ambientes, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestre em Agrobiologia**.

Orientador: Prof. Dra. Zaida Inês Antonioli
Coorientador: Prof. Dr. Rodrigo Josemar Seminoti Jacques

Santa Maria, RS

2021

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001

Santos, Darlyng Oliveira

Tuber aestivum, Tuber floridanum E FÓSFORO NA PRODUÇÃO DE MUDAS DE NOGUEIRA-PECÃ / Darlyng Oliveira Santos - 2021.

71 p.; 30 cm

Orientadora: Zaida Inês Antonioli
Coorientador: Rodrigo Josemar Seminoti Jacques

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia, RS, 2021

1. Ectomicorrizas 2. Nutriente 3. Simbiose 4. Desenvolvimento de plantas I. Inês Antonioli, Zaida

II. Josemar Seminoti Jacques, Rodrigo III. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

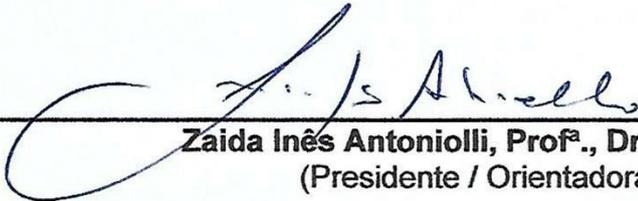
Declaro, DARLYNG OLIVEIRA SANTOS, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Dissertação) foi por mim elaborada e que as informações necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão devidamente referenciadas. Declaro, ainda, que este trabalho ou parte dele não foi apresentado anteriormente para obtenção de qualquer outro grau acadêmico, estando ciente de que a inveracidade da presente declaração poderá resultar na anulação da titulação pela Universidade, entre outras consequências legais.

Darlyng Oliveira Santos

***Tuber aestivum*, *Tuber floridanum* E FÓSFORO NA PRODUÇÃO
DE MUDAS DE NOGUEIRA-PECÃ**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia, Área de Interação organismos ambientes, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), como requisito parcial para a obtenção do grau **Mestre em Agrobiologia**.

Aprovado em 06 de agosto de 2021:



Zaida Inês Antonioli, Prof^a, Dr^a. (UFSM)
(Presidente / Orientadora)



Antonio Carlos Ferreira da Silva, Prof^o, Dr. (UFSM)



**Gerusa Pauli Kist Steffen, Dr^a. (Departamento de Diagnóstico e Pesquisa
Agropecuária, Centro de Pesquisa em Florestas - DDPA)**

Santa Maria, RS

AGRADECIMENTOS

Primeiramente quero agradecer à Deus por sempre estar cuidado de mim, iluminando meus passos.

Posteriormente, aos meus pais, Daiana e Darlã por sempre estarem ao meu lado, me ajudando a enfrentar todos os obstáculos e frustrações que me deparei. Agradeço, também, por estarem presentes em todos os momentos da minha vida, me incentivando a nunca desistir e correr atrás dos meus sonhos. Por esses motivos, eu agradeço e os amo muito!

Em seguida, agradeço às minhas irmãs, Darla Rafaella e Júlia Manuella, por toda a paciência e compreensão com minha ausência. Assim, agradeço vocês duas. Amo-as igualmente.

Agradeço a minha orientadora, professora, mestre, e tão especial, Zaida Inês Antonioli, pelas orientações, auxílios e preocupações em toda a minha jornada acadêmica. Obrigado pelo apoio, dedicação e amizade.

Agradeço, também, ao meu coorientador, Professor Dr. Rodrigo Josemar Seminotti Jacques, por todos os ensinamentos, conselhos e por ter acreditado no meu potencial.

À Universidade Federal de Santa Maria, por ter me proporcionado um ensino gratuito e de qualidade e todo o suporte de estudo e alimentação.

À CAPES pelo apoio financeiro.

Ao meu melhor amigo Guilherme Escobar, que sempre me apoiou e me incentiva a nunca desistir do meu sonho.

Em especial, agradeço ao meu amigo Leonardo Naidon Cattani, que me aconselhava em momentos difíceis e de dúvidas na escrita, me ajudava em correções ortográficas e que sempre acreditou em mim. Sempre estive disposto a me ajudar na digitação e correção de tabelas. Muitas vezes se disponibilizou em irrigar as mudas do meu experimento e organizar as amostras para análise. Pessoa como você, é muito difícil encontrar. Te levarei para sempre comigo, sempre terei você ao meu lado, apesar de toda a distância que poderá vir. Conta sempre comigo.

A minha colega e amiga Mariana Wolff por todo o companheirismo, o carinho, a ajuda prestada a mim. Te levarei sempre comigo.

Aos colegas e amigos do Laboratório de Biologia do Solo, lhes agradeço imensamente por terem me recebido de forma carinhosa e zelosa. Obrigado pela ajuda solicitada, pelo companheirismo e pela amizade e incentivo, que em todo meu período de estadia no laboratório me auxiliaram de inúmeras formas para atingir o meu objetivo.

Agradeço grandiosamente a minha colega e amiga Joice Freiberg por toda a ajuda que me prestou durante a minha pesquisa. Obrigado pelos conselhos, pelos auxílios nas atividades laboratoriais, pela ajuda na estatística e por ser tão prestativa em me ajuda a entender os fungos que são benéficos as plantas.

A minha colega de laboratório Lisiane Sobucki que sempre esteve disposta a me explicar como se faz a estatística no *Software R*.

A minha colega Nariane de Andrade por me explicar como se faz a biologia molecular das plantas e fungos. Sempre com muita compreensão e apoio em me ajudar nas análises científicas.

E a todos que de alguma forma ou de outra fizeram parte dessa jornada incrível, meu singelo muito obrigado.

*“Tenho na voz a palavra, na alma tudo o
que espero.”*

(Pirisca Grecco)

RESUMO

Tuber aestivum, *Tuber floridanum* E FÓSFORO NA PRODUÇÃO DE MUDAS DE NOGUEIRA-PECÃ

Autor: Darlyng Oliveira Santos

Orientadora: Prof. Dra. Zaida Inês Antonioli

Coorientador: Prof. Dr. Rodrigo Josemar Seminoti Jacques

A noqueira-pecã [*Carya illinoensis* (Wangenh) C. Koch, Juglandaceae] possui importância econômica em diversos países, incluindo o Brasil, onde as condições mais favoráveis de desenvolvimento dessa cultura se encontram na Região Sul, Sudeste e Centro-Oeste com solos com baixos teores de fósforo, mineral altamente demandado durante a fase inicial do crescimento de noqueira-pecã. A noqueira-pecã forma diversas associações mutualísticas com fungos ectomicorrízicos do solo, resultando em maior crescimento ao vegetal. O presente trabalho teve como objetivo obter informações sobre o uso de fungos ectomicorrízicos e fósforo na produção de mudas de noqueira-pecã. O experimento foi realizado em casa de vegetação e o delineamento experimental foi inteiramente casualizado. Os tratamentos foram arranjados com quatro doses de fósforo (0, 50, 100 e 150 mg.kg⁻¹), e duas inoculações com fungos ectomicorrízicos (*Tuber aestivum* e *Tuber floridanum*) e a testemunha, totalizando 12 tratamentos com cinco repetições. Avaliou-se a altura das plantas, o diâmetro do caule, a massa fresca e a massa seca da parte aérea e do sistema radicular, a associação ectomicorrízica e o teor de nutrientes nos órgãos das plantas. Os resultados mostraram que os inóculos de fungos *T. aestivum* e *T. floridanum* possuem capacidades de colonizar as raízes das mudas de noqueira-pecã. As doses mais elevadas de fósforo em estudo (100 e 150 mg.kg⁻¹ de P) não comprometeram a associação ectomicorrízica de nenhuma das espécies de fungos, sendo *Tuber floridanum* o inóculo com maior porcentagem de associação com a planta (94,94%). O comprimento das raízes das mudas diminuiu linearmente com o aumento da dose de P. A massa fresca da parte aérea foi maior em mudas com doses de 50 e 150 mg.kg⁻¹ de P. O inóculo *T. floridanum* apresentou maior concentração de P nas raízes das mudas na dose 50 mg.kg⁻¹. Na dose 150 mg.kg⁻¹ de P, a maior concentração de P foi nas mudas inoculadas com *T. aestivum*. Nas folhas, a maior concentração de P foi nas doses intermediárias de P (50 e 100 mg.kg⁻¹ de P) com o inóculo *T. floridanum*. A dose de 150 mg.kg⁻¹ de P apresentou maior concentração de potássio. As plantas obtiveram menor concentração de manganês nas maiores doses de P. Os inóculos *T. aestivum* e *T. floridanum* são promissores em um programa de ectomicorrização controlada de noqueira-pecã. A associação ectomicorrízica não foi inibida pelo aumento das doses de fósforo, porém, as doses intermediárias 50 e 100 mg.kg⁻¹ de P mostraram-se mais adequadas para o crescimento das mudas. A concentração de alguns nutrientes nos órgãos das plantas foi diretamente influenciada pelos inóculos e pelas doses de P.

Palavras chaves: Ectomicorrizas. Nutriente. Simbiose. Desenvolvimento de plantas.

ABSTRACT

Tuber aestivum, *Tuber floridanum* AND PHOSPHORUS IN THE PRODUCTION OF PECAN SEEDLINGS

Author: Darlyng Oliveira Santos

Advisor: Prof. Dra. Zaida Inês Antonioli

Co-advisor: Prof. Dr. Rodrigo Josemar Seminoti Jacques

The pecan tree [*Carya illinoensis* (Wangenh) C. Koch, Juglandaceae] has economic importance in several countries, including Brazil, where the most favorable conditions for the development of this crop are found in the South, Southeast and Midwest, regions of soils with low levels of phosphorus, a mineral highly demanded during the initial phase of the pecan tree growth. The pecan tree forms several mutualistic associations with ectomycorrhizal fungi in the soil that result in greater plant growth. This study aimed to obtain information on the use of ectomycorrhizal fungi and phosphorus in the production of pecan seedlings. The experiment was carried out in a greenhouse and the experimental design was completely randomized. The treatments were arranged with four doses of phosphorus (0, 50, 100 and 150 mg.kg⁻¹), two inoculations with ectomycorrhizal fungi (*Tuber aestivum* and *Tuber floridanum*) and the control, totaling 12 treatments with five replications. The height of the plants, the stem diameter, the fresh and dry mass of the shoot system and root system, the ectomycorrhizal association and nutrient content in the plant organs were evaluated. The results showed that the inocula of fungi *T. aestivum* and *T. floridanum* are capable of colonizing the roots of pecan seedlings. The highest doses of phosphorus under study (100 and 150 mg.kg⁻¹ of P) did not compromise the ectomycorrhizal association of any of the fungal species. *Tuber floridanum* showed the highest percentage of association with the plant (94.94%). The root length of the seedlings linearly decreased with the increase of P dose. The fresh mass of the shoot system was higher in seedlings with doses of 50 and 150 mg.kg⁻¹ of P. The inoculum *T. floridanum* showed the highest concentration of P in the roots of seedlings at the dose 50 mg.kg⁻¹. At the dose of 150 mg.kg⁻¹ of P, the highest concentration of P was in the seedlings inoculated with *T. aestivum*. In the leaves, the highest concentration of P occurred in intermediate doses of P (50 and 100 mg.kg⁻¹ of P) with the inoculum *T. floridanum*. The dose of 150 mg.kg⁻¹ of P presented the highest concentration of potassium. The plants had lower concentration of manganese at the highest doses of P. The inoculums *T. aestivum* and *T. floridanum* are promising in a controlled pecan ectomycorrhization program. The ectomycorrhizal association was not inhibited by the increase of phosphorus doses, however, the intermediate doses 50 and 100 mg.kg⁻¹ of P proved to be more adequate for the seedling growth. The concentration of some nutrients in the plant organs was directly influenced by the inoculums and by the doses of P.

Key words: Ectomycorrhizas. Nutrient. Symbiosis. Plant development.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Evolução global da noqueira-pecã, entre os séculos XV e XXI20
- Figura 2 - Evolução da produção mundial de noz-pecã (toneladas) no período de 2004 a 201821
- Figura 3 - Evolução da produção de noqueira-pecã em toneladas por hectare, no período de 2009 a 2018, nas diferentes regiões do Brasil22
- Figura 4 - Área localizada no hemisfério sul, com as latitudes entre 25 e 35 graus26
- Figura 5 - Endomicorrizas arbusculares (A), Ectomicorrizas (ECM) (B), ectendomicorrizas (C), Endomicorrizas ericoides (D) e Endomicorrizas orquidoides (E)28
- Figura 6 - A) Aspectos da colonização ectomicorrízica: corpo de frutificação epígea e hipógea. B) Morfologia de uma trufa (hipógeo), da espécie *Tuber aestivum*. C – Perídio externo de um corpo frutífero de *Tuber aestivum*. D– Seção transversal de um corpo de frutificação mostrando gleba marmorizada, característica de tubérculo de *Tuber aestivum*30
- Figura 7 - Morfologia de uma trufa, da espécie *Tuber aestivum*. A – Perídio externo de um corpo frutífero de *Tuber aestivum*. B – Seção transversal de um corpo de frutificação mostrando gleba marmorizada, característica de tubérculo de *Tuber aestivum*31
- Figura 8 - Fluxograma das etapas realizadas na execução do experimento (P0= não aplicação de fósforo, P50= 50 mg.kg⁻¹ de P, P100= 100 mg.kg⁻¹ de P e P150= 150 mg.kg⁻¹ de P)39
- Figura 9 - Morfologia de *Tuber aestivum* Vittad. em raízes de mudas de noqueira-pecã, cultivar Barton, com 250 dias, em casa de vegetação (barra de escala = 6 mm)45
- Figura 10 - Morfologia de *Tuber floridanum* em raízes de mudas de noqueira-pecã, cultivar Barton, com 250 dias, em casa de vegetação. (A) barra de escala = 1,9 mm; (B) barra de escala = 1 mm46
- Figura 11 - Associação ectomicorrízica (%) sob efeito das diferentes doses de fósforo (mg.kg⁻¹), em mudas de noqueira-pecã, cultivar Barton, com 250 dias, em casa de vegetação48
- Figura 12 - Comprimento de raiz (cm) submetido as diferentes doses de fósforo (mg.kg⁻¹) (A) e Massa fresca da parte aérea (g) sob efeito das diferentes doses de fósforo (mg.kg⁻¹) (B), mudas de noqueira-pecã, cultivar Barton, com 250 dias, em casa de vegetação49
- Figura 13 - Massa seca do caule e massa seca da parte aérea sob efeito das diferentes espécies de inóculos e testemunha, em mudas de noqueira-pecã, cultivar Barton, com 250 dias, em casa de vegetação51
- Figura 14 - Diâmetro do caule (cm) sob efeito das diferentes espécies de inóculos e testemunha, em mudas de noqueira-pecã, cultivar Barton, com 250 dias, em casa de vegetação52
- Figura 15 - Teor de fósforo em folhas e raízes de noqueira-pecã, cultivar Barton, inoculadas com fungos ectomicorrízicos (*T. floridanum* ou *T.*

	<i>aestivum</i>) e submetidas à adubação fosfatada (0, 50, 100 e 150 mg.kg ⁻¹)	55
Figura 16 -	Concentração de potássio (g.kg ⁻¹) em folhas de noqueira-pecã, cultivar Barton, após a micorrização com <i>Tuber floridanum</i> , <i>Tuber aestivum</i> ou testemunha e crescimento em diferentes doses de fósforo (0, 50, 100 e 150 mg.kg ⁻¹)	56
Figura 17 -	Concentração de Ca e Mg (g.kg ⁻¹) e Mn e Zn (mg.kg ⁻¹) em folhas de noqueira-pecã, cultivar Barton, após a micorrização com <i>Tuber floridanum</i> , <i>Tuber aestivum</i> ou testemunha e crescimento em diferentes doses de fósforo (0, 50, 100 e 150 mg.kg ⁻¹)	57

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - As principais variedades de noqueira-pecã com suas características específicas e local de cultivo, focadas nas culturas produzidas no Brasil23
- Tabela 2 - Valores de P segundo teste F para os parâmetros avaliados no experimento com mudas de noqueira-pecã, cultivar Barton, inoculadas com *Tuber aestivum* e *T. floridanum*, com 250 dias, em casa de vegetação44
- Tabela 3 - Significância dos fatores doses de P, inoculação ectomicorrízica e interação entre doses de P (0, 50, 100 e 150 mg.kg⁻¹) e inoculação ectomicorrízica nos parâmetros químicos nutricionais de mudas de noqueira-pecã, cultivar Barton, com 250 dias, em casa de vegetação53
- Tabela 4 - Teor de fósforo em raízes e folhas de noqueira-pecã, cultivar Barton, após a micorrização com *Tuber floridanum*, *Tuber aestivum* ou testemunha submetidas a adubação de diferentes doses de fósforo (0, 50, 100 e 150 mg.kg⁻¹)53

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ECM	Ectomicorriza
fECM	Fungos ectomicorrízicos
kg	Quilograma
g	Gramma
mg	Miligramas
m	Metro
cm	Centímetro
mm	Milímetro
µm	Micrometro
l	Litro
°C	Grau Celsius
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ICP	Espectrômetro de emissão atômica
Ma	Eoceno
N	Nitrogênio
P	Fósforo
K	Potássio
Ca	Cálcio
Mg	Magnésio
Zn	Zinco
Mn	Manganês

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
1.1 OBJETIVOS	17
1.1.1 Objetivo geral	17
1.1.2 Objetivos específicos	17
2 REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1 NOGUEIRA-PECÃ.....	19
2.2 FUNGOS ECTOMICORRÍZICOS E NOGUEIRA-PECÃ.....	27
2.3 TRUFAS E NOGUEIRA-PECÃ	33
2.4 RELAÇÃO ENTRE AS ECTOMICORRIZAS E A NUTRIÇÃO DE PLANTAS	34
3 MATERIAL E MÉTODOS	39
3.1 OBTENÇÃO DAS SEMENTES E QUEBRA DE DORMÊNCIA	40
3.2 PREPARO E INOCULAÇÃO DAS PLÂNTULAS	40
3.3 CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO.....	41
3.4 ADUBAÇÃO DAS MUDAS	41
3.5 PARÂMETROS AVALIADOS	42
3.5.1 Altura da planta e diâmetro do caule.....	42
3.5.2 Massa fresca e massa seca da parte aérea e do sistema radicular	42
3.5.3 Associação ectomicorrízica	42
3.5.4 Teor de nutrientes nos órgãos da planta	43
3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	43
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	59

1 INTRODUÇÃO

A noqueira-pecã *Carya illinoensis* (Wangenh) C. Koch, Juglandaceae é uma castanheira nativa da América do Norte, das planícies do Rio Mississippi sendo uma planta cultivada em distintos continentes, como América do Norte e do Sul, Europa e Ásia (GARDEA et al., 2011; POLETO et al., 2018). Possui importância econômica em países como África do Sul, Brasil, Argentina, Austrália, China, Estados Unidos, Israel, México e Peru (SULZBACHER et al., 2017; FRONZA et al., 2018; BILHARVA et al., 2018). Os países da América do Sul, como Argentina, Brasil e Uruguai, possuem condições climáticas positivas para o crescimento e desenvolvimento da cultura. No Brasil, os locais com as condições mais favoráveis encontram-se nos estados da Região Sul, mas há, também, pomares presentes nos estados de Minas Gerais e Mato Grosso do Sul (POLLETO et al., 2014).

O aumento de pomares de noqueira-pecã no Brasil ocorreu entre as décadas de 60 e 70, devido aos incentivos fiscais governamentais (ROVANI; WOLLMANN; MONTEIRO, 2015). Atualmente, há um novo crescimento do cultivo desta castanheira devido ao seu retorno econômico e a grande procura pelo consumo do fruto.

Apesar do Brasil ser referência na produção de várias espécies frutíferas, isto não acontece com a cultura da noqueira-pecã, onde a produção de frutos não é suficiente para atender toda a demanda do consumo interno. A fim de suprir essa falta, o produto é fornecido por outros países, tanto que houve um aumento de 40% nos gastos com importação da noqueira-pecã nos últimos 10 anos (BILHARVA et al., 2018).

Além da produção de seus frutos para a alimentação de pessoas, considera-se que a espécie tem mais de um propósito, dentre os quais pode-se citar a possibilidade de usá-la como espécie florestal para a exploração e uso da madeira, e para fornecer sombras que proporcionam conforto ambiental à ornamentação ou aos animais (MARTINS et al., 2017).

Considera-se que essa espécie traz outros benefícios, como a simbiose com os fungos ectomicorrízicos (ECM), o que resulta em maior crescimento da cultura e da colonização fúngica no solo, somando a melhorias na ciclagem de

nutrientes, na agregação do solo, entre outros fatores. Esse mutualismo pode favorecer a produção de frutos (GREBENC; KRAIGHER, 2007; GRUPE et al., 2018).

Juntamente com a cultura da castanheira (*Castanea* spp. / *Fagaceae*) e das avelãs (*Corylus* spp / *Betulaceae*), a noqueira-pecã é umas das poucas espécies arbóreas comercialmente cultivadas conhecidas por formar ectomicorrizas tanto na natureza como em pomares (BENUCCI et al., 2012). No Brasil o estudo do uso de inoculantes de fungos ECM para a produção de mudas de noqueira-pecã é recente. O uso de trufas do gênero *Tuber* é uma abordagem pouco presente na literatura especializada, sendo que, há poucos anos, esse gênero foi descoberto no estado do Rio Grande do Sul (SULZBACHER et al., 2017; GRUPE et al., 2018).

As frutíferas, em geral, são culturas que demandam alto custo por unidade de área, principalmente no uso de defensivos agrícolas e trabalho manual. Um estabelecimento inicial bem-sucedido de um pomar vai depender de vários fatores antes da implantação das mudas, como a qualidade, a calagem e a adubação das mudas (BRUNETTO et al., 2016). Com essas práticas, melhoram-se os índices de sobrevivência e há redução de gastos com o replantio (SILVA et al., 2014).

Considerando todos os minerais necessários para um bom desenvolvimento e uma boa qualidade de mudas, os solos das regiões tropicais necessitam de muita atenção, pois possuem baixos teores de fósforo, que é altamente demandado durante a fase inicial do crescimento de plantas perenes (NOVAIS; SMYTH, 1999; PRADO; VALE; ROMUALDO, 2005). Os viveiristas querem produzir mudas saudáveis, com crescimento e produtividade. Por essa razão, diferentes doses de fósforo correlacionadas com o desenvolvimento de micorrizas devem ser estudadas, visando a maior sobrevivência e a melhor qualidade das mudas quando transplantadas a campo, reduzindo, assim, o custo de produção.

Embora o Brasil seja considerado um grande produtor de noqueira-pecã, ainda há poucas pesquisas sobre seu cultivo e poucos estudos que englobam a diversidade fúngica associada à adubação fosfatada (BRAUNA, 2016). As plantas podem crescer normalmente quando são supridas com elementos químicos essenciais, mesmo que estas não estiverem micorrizadas. Porém, se

tais nutrientes estiverem presentes em quantidades limitadas, as plantas não micorrizadas podem apresentar baixo desenvolvimento (SOUZA et al., 2006). Isso ocorre porque as hifas dos fungos micorrízicos são, em geral, muito mais eficientes na aquisição e no transporte de fósforo do solo até as raízes do que o próprio sistema radicular das plantas (BERBARA et al., 2006; SMITH; READ, 2008).

Diante da falta de algumas informações enunciadas nas hipóteses a seguir sobre a presença de fósforo e a associação ectomicorrízica (trufas) em cultivo de noqueira-pecã efetuou-se esse trabalho.

As hipóteses são: associação ectomicorrízica com as espécies de fungos *Tuber aestivum* e *T. floridanum* favorece o desenvolvimento de mudas de noqueira-pecã, da cultivar Barton; plantas ectomicorrizadas apresentam condições nutricionais favoráveis ao crescimento e desenvolvimento de mudas de noqueira-pecã e a associação ectomicorrízica com *T. aestivum* e *T. floridanum* é influenciada pelo teor de fósforo disponível no solo, na cultivar Barton de noqueira-pecã.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Obter informações sobre o uso de fungos ectomicorrízicos *Tuber aestivum* e *Tuber floridanum* em interação com fósforo na produção de mudas de noqueira-pecã, da cultivar Barton.

1.1.2 Objetivos específicos

I) Analisar o comportamento da associação ectomicorrízica das espécies de fungos *Tuber aestivum* e *Tuber floridanum* em interação com fósforo nas mudas de noqueira-pecã, cultivar Barton.

II) Avaliar a massa seca da parte aérea, a massa seca da raiz, a matéria seca total, a altura de planta, o diâmetro do caule e os teores de nutrientes nos órgãos da planta na presença de fósforo e dos fungos ectomicorrízicos em noqueira-pecã, cultivar Barton.

III) Quantificar o conteúdo dos nutrientes nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio, manganês e zinco na parte aérea e nitrogênio e fósforo nas raízes das plantas, submetidas à associação ectomicorrízica e ao uso de fósforo.

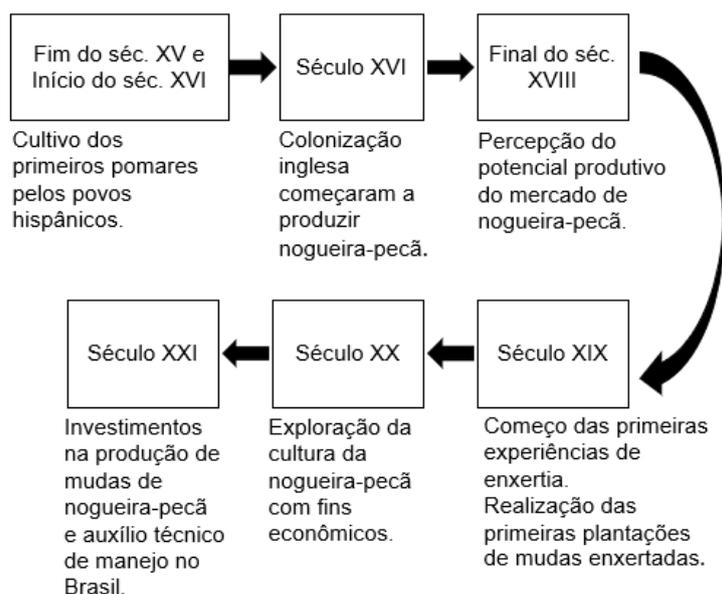
2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 NOGUEIRA-PECÃ

A noqueira-pecã (*Carya illinoensis* (Wangenh) C. Koch) é uma espécie de árvore caducifolia, perene, monoica, pertencente à família das *Juglandaceae* (FRONZA; HAMANN, 2016), nativa das regiões temperadas do hemisfério norte, do sul dos Estados Unidos da América até o México (SULBACHER et al., 2010). O nome do cultivo tem origem indígena, a palavra “Pakan” significa “a noz que requer uma pedra para romper-se”. O fruto, a noz, era a principal fonte de alimentação durante o equinócio de outono para as tribos indígenas dos Estados Unidos e México (DORESTE, 2011; MADERO; FRUSSO; BRUNO, 2012).

A evolução global do cultivo da noqueira-pecã pode ser observada na Figura 1, com início no século XV até o século XXI (DORESTE, 2011; MARTINS et al., 2019). Os primeiros potenciais econômicos começaram a ser observados no final do século XVIII por agricultores espanhóis e franceses que viviam no Golfo do México (MADERO; FRUSSO; BRUNO, 2012). Nos Estados Unidos, a noqueira-pecã começou a ter importância econômica no início do século XX, nas regiões sul e sudeste do país (DORESTE, 2011; MARTINS et al., 2019).

Figura 1 - Evolução global da noqueira-pecã, entre os séculos XV e XXI.

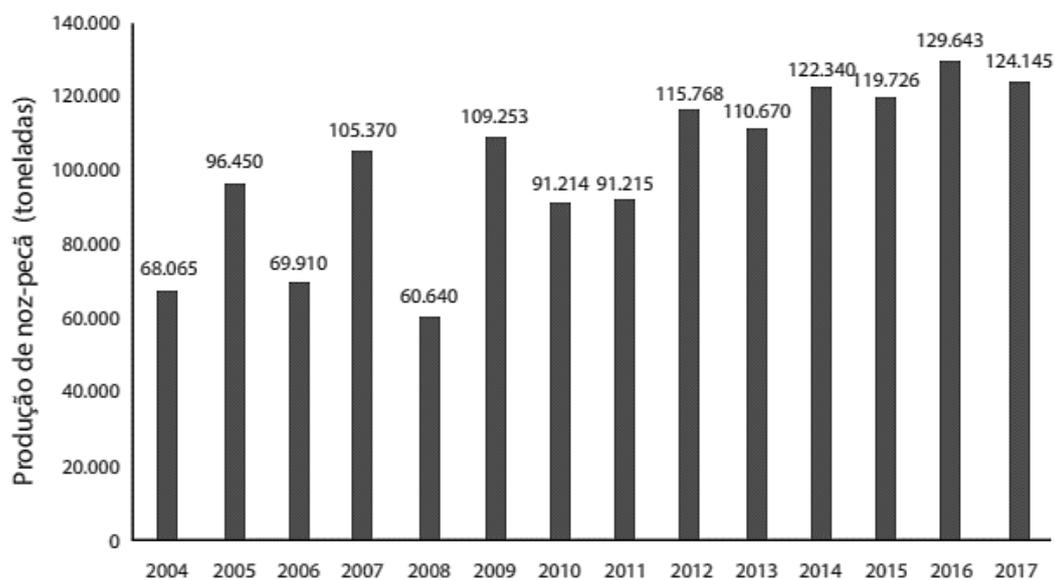


Fonte: Adaptado de DORESTE, 2011.

A produção mundial de noz-pecã vem aumentando ao longo dos anos (Figura 2). No ano de 2004, a produção foi de aproximadamente 68 mil toneladas, chegando em 2017 a uma produção superior a 124 mil toneladas de nozes, representando um acréscimo de 74%.

Mesmo com as variações produtivas que ocorreram de maneira evidente nessa espécie, percebe-se uma estabilização da produção nos últimos quatro anos (2014 a 2017), com produções acima de 110 mil toneladas de nozes.

Figura 2 - Evolução da produção mundial de noz-pecã (toneladas) no período de 2004 a 2018.



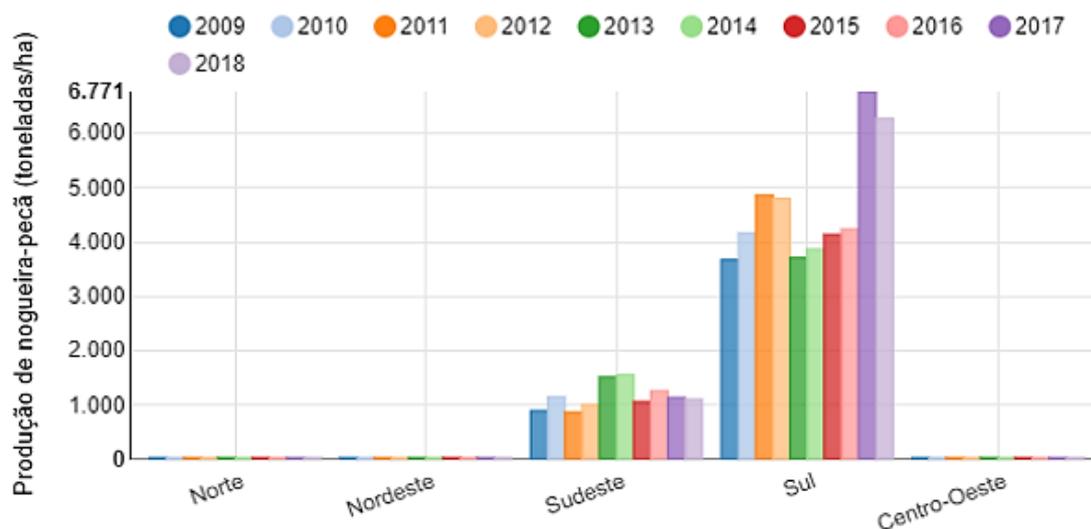
Fonte: Adaptado de Global Statistical Review 2017-2018.

A noqueira-pecã foi introduzida no Brasil por meio de sementes, material vegetativo (ramos) e mudas em meados de 1910 por imigrantes vindos dos Estados Unidos da América, que se estabeleceram em algumas regiões do estado de São Paulo, como Americana, Santa Bárbara e Piracicaba (AGUIAR, 2009). A pecanicultura passou a ser explorada com fins econômicos na década de 1970, quando muitos pomares foram implantados principalmente nos estados do sul do país, como o Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná (RASEIRA, 1990). Isso aconteceu devido aos incentivos fiscais propostos a empreendedores florestais nesse mesmo momento de acordo com a Lei nº 5.106 de setembro de 1966 e, posteriormente, com a Lei nº 1.134 de 1970 (ROVANI; WOLLMANN; MONTEIRO, 2015; AMORIM et al., 2016). Nos anos posteriores, perdeu espaço no campo para o crescimento de culturas anuais, como soja e milho. Devido ao alto valor agregado das amêndoas, atualmente, a cultura voltou a ter posicionamento no mercado produtivo. Empresas privadas começaram a investir na produção de mudas e no auxílio técnico de manejo e de implantação dos pomares (ROVANI; WOLLMANN; MONTEIRO, 2015).

Com o crescimento da produção da cultura da noqueira-pecã, dados atuais mostram que, na safra de 2016 e 2017, os estados do Rio Grande do Sul, Paraná e São Paulo obtiveram uma produção média de 5.453 toneladas, sendo o RS responsável por 41,48% da produção nacional, com 2135 hectares

destinados à colheita (IBGE, 2018) (Figura 3). Na região sul do Brasil, os frutos de nozes representam uma importante fonte de renda para aproximadamente 1100 famílias, que cultivam mais de 40 cultivares, incluindo a conhecida espécie Barton (FRONZA et al., 2018; EMATER, 2019).

Figura 3 - Evolução da produção de noqueira-pecã em toneladas por hectare, no período de 2009 a 2018, nas diferentes regiões do Brasil.



Fonte: IBGE: Produção agrícola, 2018.

Em comparação, a área colhida no ano de 2009 foi de 1.648 hectares e no ano de 2018 foi de 3.044 hectares (IBGE, 2018), mostrando, assim, que essa cultura é altamente difundida no RS, ocupando uma média de 140 hectares por ano.

Os principais países importadores das nozes-pecãs são os Estados Unidos da América (57%), Canadá (10,4%), Holanda (7,1%), Inglaterra (6,2%) e México (4,1%). Esses países representam mais de 80% do mercado mundial de nozeiras-pecã (MARTINS et al., 2019). O Brasil não se destaca na importação internacional de noz-pecã. No país, as informações sobre importações são descritas como “nozes” e a noz-pecã faz parte, mas estima-se que a importação seja predominantemente de *Juglans regia* (noz-europeia). Os principais países que o Brasil importa nozes são Argentina, Chile, China e Estados Unidos (MARTINS et al., 2019).

Os vários fins da produção de frutos da noqueira-pecã incluem a alimentação humana, a exploração e uso de sua madeira, a arborização de

jardins e bosques, e o abrigo térmico para animais e plantas (GATTO, 2006; MARTINS et al., 2017). O consumo de amêndoas ajuda a manter os níveis de lipídeos equilibrados (MCWILLIAMS, 2013). Já as cascas das nozes-pecã são utilizadas para fazer chá medicinais que ajudam a prevenir e combater problemas de saúde (RECKZIEGEL, 2011).

Muitos fatores são importantes na produção de frutos de noqueira-pecã, mas a escolha das cultivares ocupa papel preponderante, ou seja, para se ter uma melhor produção de mudas, diferentes cultivares de noqueira são estudadas e melhoradas geneticamente. É importante conhecer sobre as variedades de noqueira-pecã, as características específicas e regiões de cultivo, focado nas variedades adaptadas às condições de clima e solo no Brasil (Tabela 1). Essas variedades possuem características diferentes quanto à precocidade na produção, à resistência a patógenos e quanto a formas de polinização (POLETO et al., 2012). Além de conhecer sobre as variedades, também é primordial ter o conhecimento sobre as características do fruto quanto ao seu rendimento, sua qualidade e seu tamanho, conforme o mercado consumidor (FRONZA; POLLETO; HAMANN, 2016).

Tabela 1 - As principais variedades de noqueira-pecã com suas características específicas e local de cultivo, focadas nas culturas produzidas no Brasil.

(continua)

Variedades de noqueira-pecã	Características específicas	Local de cultivo	Autores
Barton	Rendimento da amêndoa de 57% e média de 120 nozes por kg; brotação tardia na primavera; mais cultivada do RS; e tolerância a algumas condições climáticas.	Brasil e México.	OJEDA-BARRIOS et al., 2009; DORESTE, 2011; MURRIETA, 2012; DIVINUT, 2013; FRONZA, POLETO, HAMANN, 2016; INTA, 2013.
Mahan	Nozes apresentam casca fina; Exigência a irrigação e fertilidade do solo; baixa resistência a sarna e antracnose; rendimento de amêndoa de 57,12%; e média de 128 nozes por kg.	Brasil, Argentina, Uruguai e México.	OJEDA-BARRIOS et al., 2009; DORESTE, 2011; MURRIETA, 2012; DIVINUT, 2013; FRONZA, POLETO, HAMANN, 2016; INTA, 2013.

(continuação)

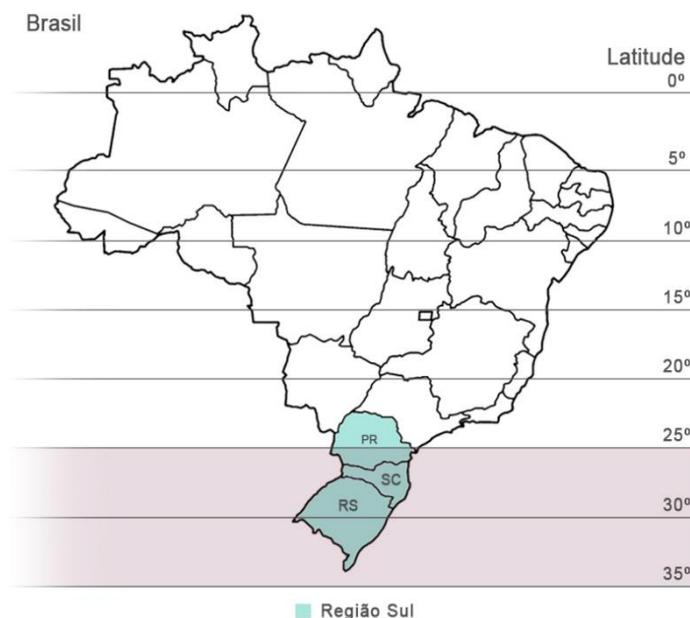
Variedades de noqueira-pecã	Características específicas	Local de cultivo	Autores
Importada	Amêndoas de tamanho médio a pequena, com formato oblongo; Aproximadamente 137 nozes por kg; e rendimento de amêndoas é de 55,24%.	Brasil.	OJEDA-BARRIOS et al., 2009; DORESTE, 2011; MURRIETA, 2012; DIVINUT, 2013; FRONZA, POLETTO, HAMANN, 2016; INTA, 2013.
Moneymaker	Amêndoas pequenas, com casca grossa e dura; rendimento da amêndoa é de 47,36%; e média de 137 nozes por kg.	Brasil.	OJEDA-BARRIOS et al., 2009; DORESTE, 2011; MURRIETA, 2012; DIVINUT, 2013; FRONZA, POLETTO, HAMANN, 2016; INTA, 2013.
Choctaw	Nozes com formato oval; rendimento de amêndoas é de 58%; resistente a sarna; exigente a solos e manejos adequados para obter produção; Aproximadamente 81 nozes por kg.	Brasil e México.	OJEDA-BARRIOS et al., 2009; DORESTE, 2011; MURRIETA, 2012; DIVINUT, 2013; FRONZA, POLETTO, HAMANN, 2016; INTA, 2013.
Imperial	Nozes médias e grandes, de formato ovaloide; rendimento de amêndoas é de 54,49%; nozes de fácil descascamento; e é preciso 100 nozes para somar um kg.	Brasil.	OJEDA-BARRIOS et al., 2009; DORESTE, 2011; MURRIETA, 2012; DIVINUT, 2013; FRONZA, POLETTO, HAMANN, 2016; INTA, 2013.
Shawnee	Rendimento de amêndoas é de 58%; precocidade média; e média de 106 nozes por kg.	Brasil e México.	OJEDA-BARRIOS et al., 2009; DORESTE, 2011; MURRIETA, 2012; DIVINUT, 2013; FRONZA, POLETTO, HAMANN, 2016; INTA, 2013.
Melhorada	Nozes são médias a grandes; variedade registrada no Brasil; aproximadamente 107 nozes por kg; e rendimento de amêndoas é de 55,24%.	Brasil.	OJEDA-BARRIOS et al., 2009; DORESTE, 2011; MURRIETA, 2012; DIVINUT, 2013; FRONZA, POLETTO, HAMANN, 2016; INTA, 2013.

(conclusão)

Variedades de noqueira-pecã	Características específicas	Local de cultivo	Autores
Desirable	Nozes grandes; não é resistente ao frio e sensível a sarna; aproximadamente 108 nozes por kg; e rendimento de amêndoas é de 48,92%.	Argentina, Brasil, Uruguai e Chile.	OJEDA-BARRIOS et al., 2009; DORESTE, 2011; MURRIETA, 2012; DIVINUT, 2013; FRONZA, POLETTO, HAMANN, 2016; INTA, 2013.
Success	Nozes grandes; rendimento de amêndoas é de 54%; aproximadamente 82 nozes por kg; e resistente a sarna.	Argentina e Brasil.	OJEDA-BARRIOS et al., 2009; DORESTE, 2011; MURRIETA, 2012; DIVINUT, 2013; FRONZA, POLETTO, HAMANN, 2016; INTA, 2013.
Stuart	Árvore de fácil manejo; nozes de tamanho intermediário; aproximadamente 115 nozes por kg; e rendimento de amêndoas é de 47%.	Argentina, Brasil e Uruguai.	OJEDA-BARRIOS et al., 2009; DORESTE, 2011; MURRIETA, 2012; DIVINUT, 2013; FRONZA, POLETTO, HAMANN, 2016; INTA, 2013.
Shoshoni	Fruto de boa qualidade e precoce; resistência ao frio; frutos grandes; e resistência intermediária de sarna.	Argentina e Brasil.	OJEDA-BARRIOS et al., 2009; DORESTE, 2011; MURRIETA, 2012; DIVINUT, 2013; FRONZA, POLETTO, HAMANN, 2016; INTA, 2013.

No Brasil, as variedades mais cultivadas são de origem americana, sendo as mais relevantes Mahan, Success, Moneymaker, Barton, Shamnee, Cape Fear, Chickasaw, Choktaw, Desirable, Melhorada, Imperial, Importada, Shoshone e Stuart (MARTINS et al., 2019; EMBRAPA, 2018; POLETTO et al., 2012). As regiões com destacados potenciais produtivos de amêndoas de noqueira localizam-se em latitudes que variam entre 25 e 35 graus em ambos os hemisférios, incluindo, portanto, o estado do RS (Figura 4) (OJEDA-BARRIOS et al., 2009).

Figura 4 - Área localizada no hemisfério sul, com as latitudes entre 25 e 35 graus.



Fonte: SANTOS, 2021.

Um estudo realizado na cidade de Cachoeira do Sul / RS, com frutos provenientes de um plantio de noqueira-pecã com diferentes cultivares, concluiu que as nozes procedentes das cultivares Shawnee e Barton apresentaram os maiores rendimentos de amêndoas, seguido da cultivar Choctaw (MOKOCHINSKI, 2015). A cultivar Barton é a mais plantada em pomares brasileiros. Essa variedade é o resultado do cruzamento das cultivares Moore e Success no ano de 1937, no pomar de John Barton no Texas – EUA. Apresenta alta resistência à sarna (*Venturia effusa* (G. Winter) Rossman & WC Allen), mas é sensível à antracnose (*Glomerella cingulata* (Stoneman) Spauld. & Schrenk) (HAMANN et al., 2018). A variedade Shawnee foi o resultado do cruzamento entre Scheley e Barton, em 1949. É caracterizada por ser sensível à sarna (*Venturia effusa*), sendo de muita importância o manejo sanitário para obtenção da produção. A Choctaw é originária do cruzamento entre as cultivares Mahan e Success no ano de 1946, nos EUA (EMBRAPA, 2018).

Estudos de Freiberg et al. (2021) mostraram que a espécie Barton, juntamente com a espécie Importada são hospedeiros adequados para as espécies de fungos ectomicorrízicos *Tuber aestivum* e *T. brumale*. Ambas as

espécies de noqueira-pecã também apresentam alto potencial para o cultivo de trufas nas condições subtropicais do Sul (FREIBERG et al., 2021).

De acordo com estudos feitos pela Emater-RS (2017), a cultura da noqueira-pecã está sendo cultivada para fins econômicos em mais de 148 municípios, representando aproximadamente 30% dos municípios do estado, com uma extensão que se aproxima dos 5 mil hectares e mais de mil agricultores envolvidos. Os municípios com maiores produções dessa cultura são Anta Gorda e Cachoeira do Sul, seguido de municípios centrais, como Santa Maria, Minas do Leão, Sentinela do Sul, Canguçu, Rio Pardo e General Câmara (EMATER/RS, 2017).

2.2 FUNGOS ECTOMICORRÍZICOS E NOGUEIRA-PECÃ

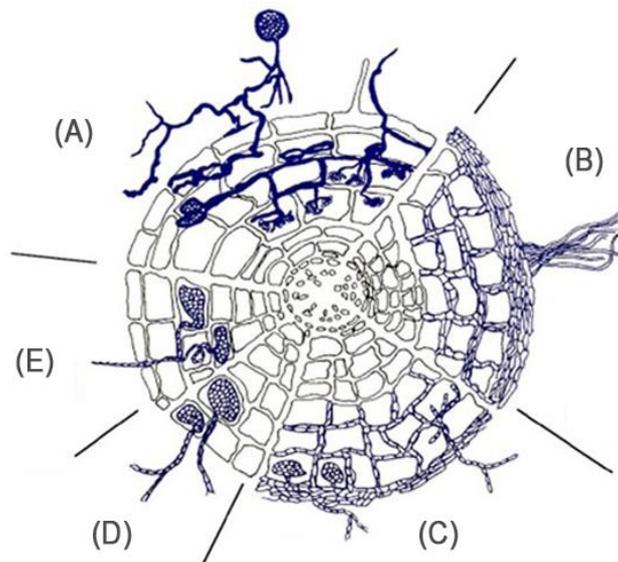
Os fungos são microrganismos heterotróficos, ou seja, não possuem a capacidade de absorver energia para sintetizar aminoácidos a partir de gás carbônico, mesmo possuindo pigmentos responsáveis por suas variadas cores. A nutrição desses organismos por absorção ocorre pela liberação de enzimas (pectinases, celulasas, amilases, entre outras) no ambiente onde se desenvolvem. Estas enzimas liberadas decompõem as moléculas maiores, que podem ser de procedência animal, vegetal e até mesmo fúngica, em moléculas menores que poderão ser absorvidas pelos fungos na sequência (STAMETS, et al., 2005; ALMEIDA, 2015).

Acredita-se que as micorrizas surgiram há cerca de 400 milhões de anos, a partir de uma condição micorrízica arbuscular ancestral, quando os vegetais davam os primeiros passos no ambiente terrestre (BRUNDRETT, 2002). A expressão “micorriza” foi apresentada pelo botânico alemão Albert Bernard Frank, no ano de 1885, de origem grega, em que “mico” significa fungo e “riza”, raízes (FRANK, 1885). Os experimentos de Frank, em 1894, revelaram que esse tipo de associação tinha atuação na nutrição e no desenvolvimento das plantas, caracterizando, assim, uma relação mutualística. Até então, eles eram vistos como de natureza parasítica (SIQUEIRA; FRANCO, 1988; BONNASSIS, 2007).

Os fungos micorrízicos são classificados de acordo com a sua morfoanatomia, como endomicorrizas arbusculares, ectomicorrizas, ectendomicorrizas, endomicorrizas ericoides e endomicorrizas orquidoides

(Figura 5). As ectomicorrizas são fungos que penetram o córtex da raiz intercelular, formando a rede de Hartig. Ectoendomicorrizas são associações parecidas com as ectomicorrizas, porém com penetração intercelular, mantendo as hifas externas na raiz (TEDERSOO et al., 2010). Já as endomicorrizas são caracterizadas pela penetração inter e intracelular e pela ausência de mantos externos. Esse grupo apresenta três tipos de diferenciações: as ericoides (associações das raízes de plantas da ordem ericales com os fungos dos gêneros *Pezizella* e *Clavaria*), as orquidoides (associações das orquideaceae com fungos pertencentes aos gêneros *Rhizoctonia* e *Armillaria*) e as arbusculares (formação de um emaranhado denso, muitas vezes em forma de bobina, dentro das células) (LOPES, 1986; ZAMBOLIM; SIQUEIRA, 1985; TEDERSOO et al., 2010). Essa forma de bobina origina uma estrutura chamada de arbúsculos ou vesículas (TORRES, 2010).

Figura 5 - Endomicorrizas arbusculares (A), Ectomicorrizas (ECM) (B), ectendomicorrizas (C), Endomicorrizas ericoides (D) e Endomicorrizas orquidoides (E).



Fonte: Adaptado da University of Coimbra, 2009.

O termo “ectomicorrizas” (do grego, *ektos* = externo; *mykes* = fungo; *rhiza* = raiz) foi sugerido numa pesquisa realizada pela Universidade Estadual de Oregon, Estados Unidos, por Bruno Peyronel (PEYRONEL et al., 1969). Esses fungos evoluíram de forma paralela e independente das micorrizas conhecidas

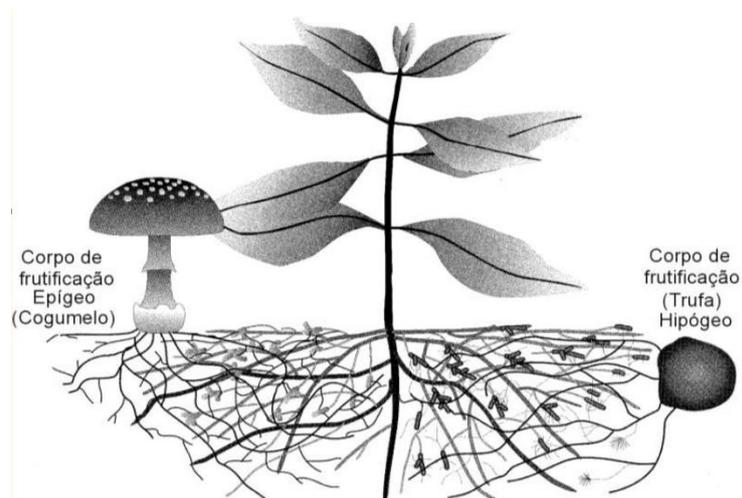
como arbusculares. A coevolução entre os fungos e as plantas tem auxiliado para a diversificação de espécies tanto do vegetal hospedeiro quanto das ectomicorrizas simbióticas (WANG; QIU, 2006). As associações ectomicorrízicas (ECM) ocorrem em aproximadamente 6.000 espécies de plantas, principalmente em culturas arbóreas (VAN DER HEIJDEN et al., 2015). Nessas culturas, já foram identificadas mais de 20 mil espécies de fungos ectomicorrízicos (TEDERSOO; MAY; SMITH, 2010).

Um dos primeiros registros fósseis do surgimento das ectomicorrizas é datado em 50 Ma (Eoceno) e, mesmo não sendo possível datar precisamente a sua origem, acredita-se que a associação tenha ocorrido bem antes, em 200 Ma, juntamente com o aparecimento dos basidiomicetos ressupinados (CAIRNEY, 2000).

Os fungos ECM pertencem aos mais diversos filos, mas a maioria deles faz parte dos Basidiomycotas e Ascomycota, sendo assim, um grupo polifilético (SMITH; READ, 2008). No processo reprodutivo, tem-se duas estruturas possíveis e não-intercambiáveis para a produção, proteção e dispersão dos esporos do fungo. Existem os fungos epígeos, que produzem estruturas acima da superfície do solo, com denominação popular de cogumelos e os fungos hipógeos, que produzem sua estrutura reprodutiva abaixo do nível do solo (Figura 6), onde pode-se encontrar as trufas (PEGLER; SPOONER; YOUNG, 1993; SULZBACHER, 2017). Algumas espécies de fungos ECM hipógeos são classificadas como comestíveis, como por exemplo o gênero *Tuber*, com alta valorização de mercado (BONITO; BRENNERMAN; VILGALYS, 2010; BENUCCI et al., 2012).

Figura 6 – A) Aspectos da colonização ectomicorrízica: corpo de frutificação epígea e hipógea. B) Morfologia de uma trufa (hipógeo) da espécie *Tuber aestivum*. C – Perídio externo de um corpo frutífero de *Tuber aestivum*. D– Seção transversal de um corpo de frutificação mostrando gleba marmorizada, característica de tubérculo de *Tuber aestivum*.

A)



Fonte: Santos, 2016.

B)



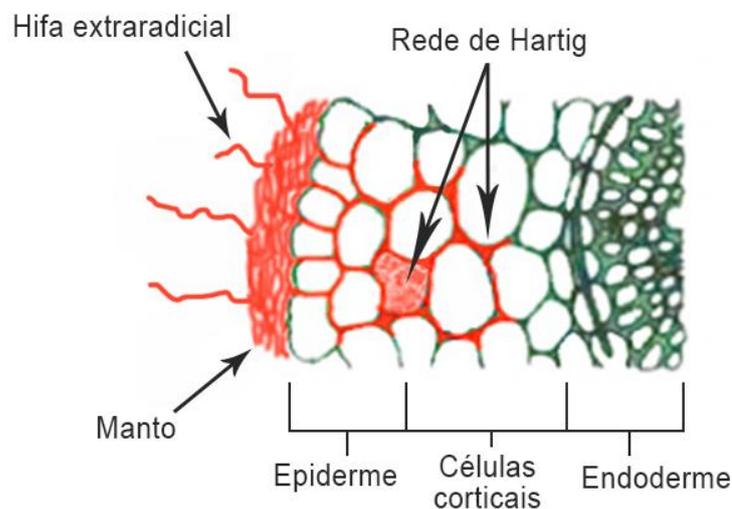
Fonte: Joice Aline Freiberg.

Os fungos ECM possuem células que não penetram na parede celular de plantas e, portanto, não causam danos, essa é a razão que os diferencia de fungos patogênicos. Esses organismos formam uma rede chamada de Hartig,

que consiste em uma malha intercelular, formada entre o espaço da epiderme e do córtex da raiz. Somado a isso, há um revestimento derivado desta rede em torno da raiz, chamado de manto (WANG; QIU, 2006). Essa rede aumenta o tempo de vida, tanto da raiz como das células, funcionando como interface entre o vegetal e o microrganismo. Além disso, o manto de hifas possibilita maior eficiência na busca de minerais na solução do solo, pois os cordões miceliais se estendem para o solo vizinho. Essas estruturas (Figura 7) possibilitam maior aproveitamento de nutrientes e água, ajudando na fixação, no crescimento e no desenvolvimento dessas plantas, mesmo em solos quimicamente pobres e degradados (SOUZA et al., 2004; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Experimentos realizados por Ashford et al. (1999) mostraram que altas concentrações dos nutrientes P e K permaneceram na rede de Hartig e na organela vacúolo das células fúngicas de *Pisholithus tinctorius* em plantas de *Eucalyptus pilularis* (ASHFORD et al., 1999).

Figura 7 - Corte transversal de uma raiz ectomicorrizada com hifas penetrando entre as células corticais e formando no seu interior a Rede de Hartig e o manto sob a epiderme.



Fonte: Adaptado de Souza et al., 2004.

De modo geral, as espécies arbóreas podem ter sua taxa de sobrevivência significativamente influenciada pela associação de fungos micorrízicos (ANDREZZA et al., 2003). Em um trabalho científico, que foi comparado o comportamento agrônomo de quatro espécies de fabáceas em relação à

inoculação micorrízica, concluiu-se que as mudas micorrizadas mostraram maior porcentagem de colonização micorrízica de raízes finas e maior taxa de sobrevivência das plantas (CALDEIRA et al., 1997; 1999). Além da maior sobrevivência das mudas, os fungos micorrízicos são importantes fixadores de carbono em solos ocupados por florestas, por meio dos processos chamados *turnover* das hifas, aumento da agregação do solo, produção de glicoproteína (glomalina) e fonte de quitina (BRAGHIROLI et al., 2012).

No Brasil, a interação do fungo ECM com plantas ocorrem de forma natural, principalmente em espécie das famílias *Fabaceae*, *Nyctaginaceae* e *Polygonaceae*, e também se encontram largamente distribuídas em espécies arbóreas exóticas, trazidas para o Brasil, como *Acacia*, *Carya*, *Eucalyptus*, *Quercus* e *Pinus* (SULZBACHER et al., 2013). Juntamente com a cultura da castanheira (*Castanea* spp., Fagaceae) e das avelãs (*Corylus* spp., Betulaceae), a noqueira-pecã é uma das espécies arbóreas comercialmente cultivadas conhecidas por formar ectomicorrizas, tanto na natureza como em pomares (WOODROOF 1933; BENUCCI et al., 2012; SULZBACHER et al., 2013; FRONZA et al., 2018). As raízes das noqueiras estabelecem associações positivas com determinados fungos micorrízicos. Essa simbiose desenvolve frutos saudáveis de um modo mais sustentável (BENUCCI et al., 2012).

Um dos primeiros estudos de micorrizas na cultura da noqueira-pecã foi estimulado pelo aparecimento da “Doença de Rossette”, posteriormente, foi descoberta como sendo causada por deficiência de zinco (ALBEN; BOGGS, 1936; WOODROOF, 1933).

A simbiose entre o fungo ECM e a noqueira-pecã favorece a maior produtividade do vegetal, pois se tem maior área explorada de solo, e, com isso, maior absorção de água e nutrientes, entre eles, os macronutrientes nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K) e micronutrientes zinco (Zn) (VAN DER HEIJDER et al., 2015). Essa relação mutualística traz outros benefícios, como os processos de ciclagem de nutriente, a agregação e aeração do solo, a proteção da planta contra patógenos indesejáveis e a manutenção das diversidades de organismos do solo, que correspondem à micro, meso e macrofauna (SMITH; READ, 2008; VAN DER HEIJDEN et al., 2015).

2.2 TRUFAS E NOGUEIRA-PECÃ

Os fungos ectomicorrízicos, que possuem importância para a manutenção dos ecossistemas naturais e apresentam alto potencial biológico cada vez mais estão sendo estudados. Esses estudos estão mais voltados para fungos ectomicorrízicos epígeos, em comparação aos fungos ectomicorrízicos hipógeos (SULZBACHER, 2010). Os esporos dos fungos epígeos (cogumelos) são dispersos pelos fenômenos naturais, como vento e água da chuva e córregos, enquanto a dispersão dos esporos dos fungos hipógeos (por exemplo trufas) depende de atividades de organismos micófagos, como gastrópodes, artrópode, entre outros (CASTELLANO; TRAPPE; LUOMA, 2004; TEDERSOO; MAY; SMITH, 2010). Essas trufas, quando possuem os esporos completamente desenvolvidos, liberam um odor atrativo para chamar a atenção desses organismos. Esses animais ingerem o poro e dispersam nas diferentes camadas do solo, por meio de fezes (SULZBACHER et al., 2017).

Várias espécies de fungos ECM são comestíveis, com alto valor econômico. Entre elas, estão algumas espécies de trufas do gênero *Tuber*, que são cultivadas com a finalidade de consumo humano. Essa é uma área da agricultura, denominada de truficultura (GE et al., 2017).

Com o aparecimento desse fungo em pomares brasileiros, tem-se a possibilidade de aumentar os estudos e as pesquisas desse gênero de fungo para a exploração de mercado consumidor. Pesquisas internacionais mostraram que espécies do gênero *Tuber* podem ser comuns em pomares de noqueira-pecã, surgindo então perspectivas nesse ramo comercial no Brasil. A associação de trufas com a noqueira-pecã forma um sistema de cultivo duplo e varia entre pomares e regiões (BONITO et al., 2010; SULZBACHER et al., 2013; GE et al., 2017). Somente nos últimos anos, fungos ECMs foram coletados em pomares de noqueira-pecã no Sul do país, no estado do Rio Grande do Sul (SULZBACHER et al., 2019). Após essas coletas, foi documentada a ocorrência de uma nova espécie de trufa (*Tuber floridanum* A. Grupe, Sulzbacher e ME Smith), mostrando, assim, que espécies de trufas associadas à noqueira-pecã podem crescer e produzir frutos em solos subtropicais e condições climáticas, fora da sua região de distribuição natural (GRUPE et al., 2018; SULZBACHER et al., 2019).

O aroma único e característico das trufas, fez com que se tornassem uma iguaria gastronômica no mundo todo. Vale salientar que essas trufas são raras de encontrar e difíceis de coletar por terem sua frutificação abaixo do nível do solo. Por tais motivos, o valor do quilo da trufa pode variar de centenas a milhares de euros, dependendo da época, espécie e qualidade da trufa. Para realizar a coleta, utilizam-se animais com olfatos aguçados, principalmente cães e suínos treinados para farejar as trufas (REYNA; GARCIA-BARREDA, 2014). Esse aroma é exalado apenas das trufas maduras, que são requisitadas na gastronomia. Já as trufas imaturas não apresentam o odor característico e, com isso, devem permanecer no solo (CASTELLANO, TRAPPE; LUOMA, 2004; SULZBACHER et al., 2017).

2.4 RELAÇÃO ENTRE AS ECTOMICORRIZAS E A NUTRIÇÃO DE PLANTAS

A noqueira-pecã é conhecida, dentre as espécies frutíferas perenes, como a que possui maior longevidade, porém um dos fatores que limita o crescimento e desenvolvimento positivo da cultura é o tipo de solo. Os solos para implantar o pomar da noqueira-pecã têm que apresentar pH 6,0, bem como alta profundidade e boa drenagem, evitando solos alagados ou que possuam barreiras físicas para o crescimento radicular (STELLA; LUCCHESI, 2015; CQFS-RS, SC, 2016). Sobretudo, a cultura exige alta fertilidade do solo e disponibilidade de água, ou seja, os solos devem ter, além de adequados teores de nutrientes, bons níveis de matéria orgânica e boa capacidade de retenção de água, promovendo ótimas condições para o crescimento das raízes (CALL; GIBSON; KILBY, 2006; WELLS, 2017). Os solos com elevada umidade e pouco drenados provocam estresse no sistema radicular das plantas, pois ocorre diminuição na disponibilidade de oxigênio, o que causa redução na produção e/ou morte das mesmas. Além do mais, as noqueiras-pecã são vulneráveis a solos salinos (GRAGEDA et al., 2013).

Para que haja boa produção e qualidade de mudas, são necessários solos que forneçam elementos químicos específicos como o fósforo (PRADO, 2020). Entretanto, os solos das regiões tropicais, incluindo solos brasileiros, possuem déficit desse nutriente. Uma atenção maior deve se voltar a esse fato, pois

durante a fase inicial do crescimento de plantas perenes, há uma alta demanda de fósforo (NOVAIS; SMYTH, 1999; PRADO; VALE; ROMUALDO, 2005).

Depois do nitrogênio, o fósforo é o elemento mais limitante para o crescimento das plantas na maioria dos solos. Para a cultura da noqueira-pecã, ele é importante no armazenamento de energia, para a produção de madeira e nozes (WELLS, 2013). A dose de fertilizante fosfatado a ser adicionado no solo, para a noqueira-pecã, deve ser ajustada para repor a exportação do nutriente pela cultura e alcançar ou manter um ótimo teor no solo (SANTOS; GATIBONI; KAMINSKI, 2008). A fertilização da noqueira-pecã, segundo o Manual de Calagem e Adubação (2016), refere-se à adubação de implantação (pré-plantio), de crescimento e de manutenção, que visa incrementar a disponibilidade do fósforo a partir de doses de fertilizantes recomendadas (CQFS-RS, SC, 2016).

No solo, a disponibilidade de fósforo (P) está relacionada a diversos fatores e, entre eles, estão os fatores ambientais que influenciam as atividades dos microrganismos, que liberam ou imobilizam os íons ortofosfatos, e as propriedades químicas, físicas e mineralógicas presentes no solo (SANTOS; GATIBONI; KAMINSKI, 2008). É importante salientar que, nas plantas, o P é um componente importante nos processos bioquímicos por faz parte de enzimas que catalisam reações químicas de biossíntese e transferência de energia nas plantas. O P também é constituinte dos fosfolipídios das células vegetais, do ácido nucléico e da fitina. Porém, seu conteúdo total no tecido da folha da maioria das espécies vegetais é considerado baixo, variando entre 0,2 a 0,4% da matéria seca total (BHATTACHARYA, 2019).

Os vegetais absorvem o fósforo na forma de ortofosfatos inorgânicos (H_2PO_4^- , HPO_4^{2-} ou PO_4^{3-}), mas no solo, esse nutriente, está presente nas formas orgânicas e inorgânicas. As formas orgânicas mais comuns de P no solo são fosfato de mioinositol, hexacifosfato, glicose-6-fosfato, fosfato de paranitrofenil e nucleotídeos. As formas inorgânicas são majoritariamente inseridas no solo através do uso de fertilizantes comerciais, produzidos por indústrias (BRADY; WEIL, 2013; KOMINKO et al., 2017).

Os fertilizantes com P em sua composição são utilizados para atender à demanda das plantas nas condições de cultivo e, conseqüentemente, aumentar a produção. A rocha, chamada de fosfática, é a principal matéria-prima usada para produzir os fertilizantes. Porém, é um recurso escasso e considerado finito,

e estima-se que nos próximos anos, sua disponibilidade diminua acentuadamente. Isso ocorrerá devido à grande exploração desse elemento para atuar como insumo industrial na produção de fertilizantes, explosivos, pesticidas e detergentes (CORDELL; DRANGERT; WHITE, 2009). Desse modo, supõe-se que haja um grande desafio para a agricultura e as indústrias de fertilizantes, por consequência a disponibilidade suficiente de alimentos em decorrência do declínio das reservas de P, demonstrando claramente o desequilíbrio entre oferta e demanda pelo elemento (KARUNANITHI et al., 2015).

Outra possibilidade de grande importância para manter a disponibilidade de P no solo é a utilização de fontes orgânicas de P na agricultura. Esse processo exige que ocorra a mineralização, ou seja, a conversão do P imobilizado, presente nos resíduos orgânicos, em compostos inorgânicos simples a serem utilizados pelas plantas (BRADY; WEIL, 2013). Essa mineralização do fósforo ocorre pela degradação fúngica, que dissolvem o fosfato de rochas naturais, disponibilizando-o para as plantas na forma iônica por meio da solução do solo. A utilização de fungos solubilizadores de fósforo na agricultura pode diminuir o custo de produção e maximizar a eficiência do uso de fósforo (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

A associação fúngica está intimamente ligada com o estado nutricional da planta hospedeira (EPSTEIN; BLOMM, 2006). Em solos nutricionalmente pobres, os micélios externos dos fungos aumentam a estabilidade da relação água-planta e agregados do solo, possibilitam o crescimento da produção em solos marginais e facilitam a recuperação de áreas degradadas (CARDOSO et al., 2010). Com isso, resulta-se na diminuição do uso de insumos agrícolas e se adquire aminoácidos e vitaminas das plantas hospedeiras (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Estudos de Farias et al. (2017) apresentaram informações sobre o uso potencial de fungos ECMs para a remediação de poluentes orgânicos persistentes e de metais pesados. Concluiu-se, nessa pesquisa, que as possibilidades de uso de micorrizas na biorremediação são eminentes, com recuperação de áreas contaminadas com o reflorestamento com plantas que desenvolvam associação micorrízica. A utilização de ectomicorrizas, associada a plantas tolerantes a metais, como a espécie de *Eucalyptus* spp. são consideradas uma alternativa viável no processo de fitorremediação de solos

contaminados com metais pesados, principalmente o zinco e o ferro (ALEXANDRE et al., 2012).

Estudo realizado por Santos (2016), demonstrou que o fungo ectomicorrízico é eficiente na redução do estresse de plantas impostas pelo metal cádmio. O fungo ECM foi eficaz para induzir fitoproteção de plantas de eucalipto sob alta concentração de cádmio via respostas ecofisiológicas e bioquímicas (SANTOS, 2016).

É relevante evidenciar que a deficiência de nutrientes pode estimular a presença de fungos micorrízicos, enquanto que em solos mais férteis, o fungo obterá carboidratos das plantas hospedeiras e não a beneficiará igualmente. Essas plantas podem passar a liberar substâncias antimicrobianas, pois as mesmas passam a considerar que o fungo micorrízico é um patógeno (EPSTEIN; BLOMM, 2006).

A simbiose entre planta e fungo é reputada por nutrir a planta com fósforo, em contrapartida, o uso exagerado do mesmo provoca impactos negativos sobre as associações micorrizas (CASTELLANO; MOLINA, 1989; BELLER; CARVALHO, 1992). A maior parte dos experimentos está voltada para a absorção de P, o mesmo transita pelo manto até a rede de Hartig por fosfato inorgânico (EPSTEIN; BLOMM, 2006). A concentração de fósforo irá depender da planta e do fungo correspondente, ou seja, se o solo possuir quantidades suficientes de P, as ectomicorrizas passam somente a drenar fotossintatos (KASUYA et al., 2010). Entretanto, plantas ectomicorrizadas possibilitarão maior absorção de P do que plantas não colonizadas com esses fungos (SANTOS, 2006).

Estudos mostraram que os elementos químicos mais absorvidos pelos fungos micorrízicos são os macronutrientes nitrogênio, fósforo e potássio do solo. Segundo Moreira e Siqueira (2006), a absorção de N pelos fungos resultou em 50 a 60% de N total absorvido pela planta, para P e K, esses mesmos fungos absorveram de 80 a 90% de P e 60 a 70% de K do total absorvido pela planta. Vale salientar que, no estudo, também foi observado que os nutrientes absorvidos pela colonização fúngica ficaram acumulados nos tecidos dos mesmos e, posteriormente, foram transportados para a planta (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Foi observada a importância de fungos ectomicorrízicos no estabelecimento de reflorestamento de *Pinus taeda* em baixas condições de

fertilização, onde o melhor resultado, em associação ECM, foi observado no tratamento sem aplicação de calcário, micro e macronutrientes, comparado ao tratamento completo com aplicação de calagem, micro e macronutrientes (WINAGRASKI et al., 2013).

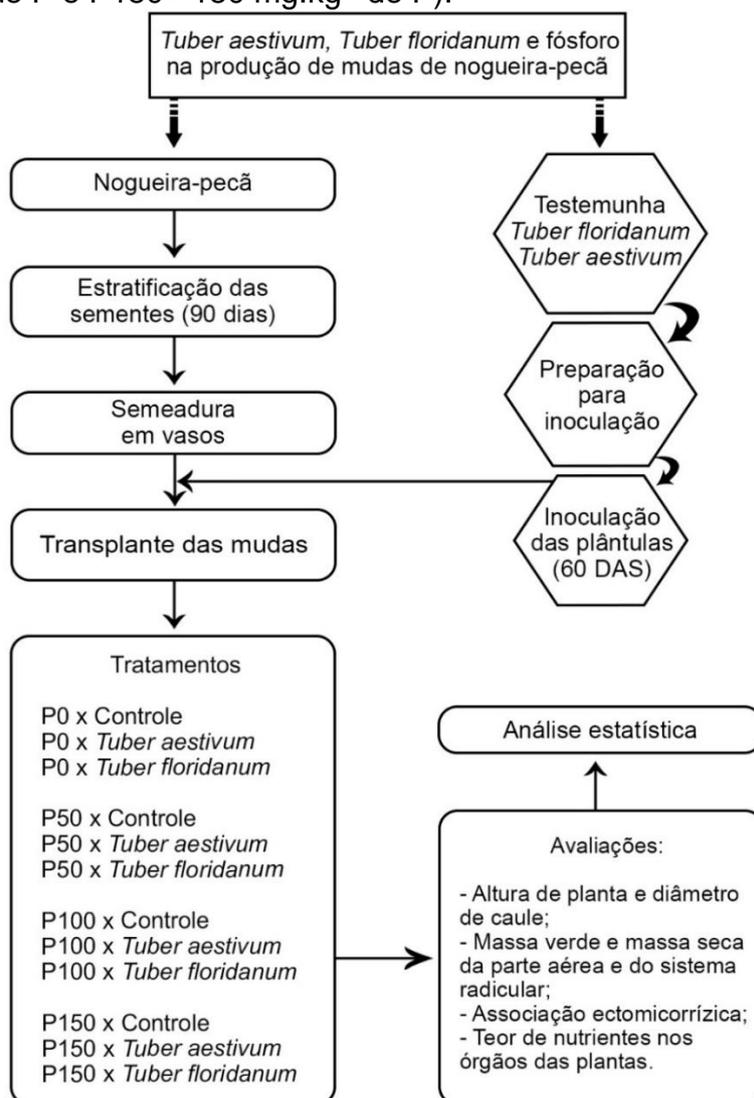
Para finalizar, a realização da inoculação de fungo ECM é indicada na produção das mudas de noqueira-pecã em viveiros, sendo essa prática necessária porque para a produção das mudas, utilizam-se, na maioria das vezes, substratos esterilizados para eliminar os possíveis patógenos. No entanto, o processo de estabilização do substrato elimina juntamente os fungos micorrízicos já presentes na raiz. A maioria das espécies arbóreas micorrizadas, incluindo a noqueira-pecã, cresce e se desenvolve mais rapidamente, ficando, conseqüentemente, menos tempo no viveiro e podendo ser entregues aos agricultores mais cedo (SOUZA et al., 2006). Somando a isso, as plantas micorrizadas são mais tolerantes ao estresse sofrido no transplante, apresentando, assim, maior sobrevivência no pomar (RIETH, 2012). Essa prática permite, ainda, reduzir a quantidade e aumentar a eficiência de usos de corretivos e fertilizantes adicionados nos substratos.

Portanto, no Brasil, o uso de fungos ECMs para a produção de mudas florestais ainda é recente e a utilização de trufas do gênero *Tuber* é uma abordagem totalmente faltosa na literatura especializada, do qual há poucos anos atrás o gênero foi descoberto no Brasil. Esta descoberta, que ocorreu em 2016 em pomares de noqueira-pecã do RS (GRUPE et al., 2018; SULZSBACHER et al., 2019), reforça a necessidade de novos estudos e levantamentos sobre as associações de fungos ectomicorrízicos em mudas de noqueira-pecã, além das condições nutricionais que favorecem o crescimento e desenvolvimento dos fungos e das plantas e a influência dos nutrientes sobre esses fungos ECMs e quais respostas eles causam nas plantas.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em casa de vegetação e laboratório, pertencentes ao Departamento de Solos da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul, no período de outubro de 2019 a abril de 2020. A temperatura regulada na casa de vegetação foi de 26 °C. O trabalho foi desenvolvido conforme o esquema da Figura 8, onde o tratamento testemunha representa a não inoculação fúngica e os tratamentos P0 a não aplicação de fósforo, P50= 50 mg.kg⁻¹ de P, P100= 100 mg.kg⁻¹ de P e P150= 150 mg.kg⁻¹ de P.

Figura 8 – Fluxograma das etapas realizadas na execução do experimento (P0 a não aplicação de fósforo, P50= 50 mg.kg⁻¹ de P, P100= 100 mg.kg⁻¹ de P e P150= 150 mg.kg⁻¹ de P).



3.1 OBTENÇÃO DAS SEMENTES E QUEBRA DE DORMÊNCIA

As sementes foram obtidas através da colheita de frutos maduros da cultivar Barton, com coloração marrom, durante o mês de abril de 2019. Os frutos foram colhidos manualmente. As sementes foram homogeneizadas quanto ao tamanho, onde foram escolhidas apenas aquelas com massa acima de 10 gramas e umidade de 5 - 6%.

Realizou-se a estratificação a frio para superar a dormência das sementes. Para isso, as sementes foram colocadas em areia esterilizada em autoclave de granulometria em torno de 2 mm de diâmetro. O recipiente em que a areia e as sementes foram colocadas possuía furos na base para permitir boa drenagem, evitando, assim, acúmulo de água no fundo e mantida em geladeira. As sementes foram colocadas entre duas camadas de areia, com espessura de 5 cm. O período da estratificação foi por 90 dias. Após a estratificação, a superfície das sementes foi esterilizada por imersão em solução de álcool 70% por um período de 20 minutos (BENUCCI et al., 2012). Depois das sementes serem esterilizadas, as mesmas foram semeadas imediatamente, pois corria o risco da ocorrência de dormência secundária (FOWLER; BIANCHETTI, 2000).

3.2 PREPARO E INOCULAÇÃO DAS PLÂNTULAS

Dois meses após a semeadura em bandejas com substrato areia, as plântulas de noqueira-pecã foram inoculadas para posteriormente serem transplantadas para os vasos. As plântulas receberam os fungos aos 60 dias após a semeadura, cujo preparo consistiu na maceração do inóculo do mesmo, posteriormente foi adicionada água destilada ao inóculo macerado. Após mergulhar as raízes das mudas na mistura água:inóculo, as plântulas foram medidas e transplantadas para os vasos. Fez-se na camada subsuperficial a aplicação de 1,5 g dos inóculos em estudo. Os fungos utilizados foram *Tuber aestivum* Vittad. e *Tuber floridanum* A. Grupe, Sulzbacher e ME Smith. Além disso, instalou-se vasos com mudas sem fungos, como tratamento testemunha.

O inóculo de *Tuber floridanum* foi coletado no mês de novembro de 2018 em um pomar da Paralelo 30, localizado no município de Cachoeira do Sul – RS. O inóculo de *T. aestivum* Vittad. foi importado do Instituto Florestal Esloveno/

Eslovênia. O processo de importação seguiu os protocolos da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA sob o número 4833831026, para finalidades exclusivamente científicas.

O substrato utilizado foi areia com vermiculita (70:30, v/v) previamente lavada e esterilizada (120 °C, durante 60 minutos). A adição de vermiculita ao meio de cultivo favorece a produção de biomassa fúngica (SMITH; READ, 1997).

3.3 CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO

O experimento foi instalado de acordo com o delineamento inteiramente casualizado. Os tratamentos constituíram de um arranjo bifatorial 4x3, sendo quatro doses de fósforo (P0, P50, P100 e P150 mg.kg⁻¹), duas inoculações (*Tuber aestivum* e *Tuber floridanum*) mais a testemunha, totalizando 12 tratamentos, e 5 repetições, ou seja, 60 unidades experimentais. As doses de fósforo seguiram as recomendações do Manual de Calagem e Adubação (CQFS-RS, SC, 2016) e em adubações da cultura da noqueira-pecã.

Cada unidade experimental foi constituída por um vaso plástico, contendo 1,7 L do substrato e umedecido por sistema de irrigação manual a cada 3 dias com irrigação mais frequentemente, a cada dois dias, nas semanas mais quentes.

3.4 ADUBAÇÃO DAS MUDAS

As mudas da noqueira-pecã, após o transplante para os vasos, receberam solução nutritiva. O protocolo da solução foi seguido conforme a indicação de Hoagland e Arnon (1950), com adaptações para micronutrientes e EDTA. A composição química da solução nutritiva aplicada nas mudas de noqueira-pecã foi: KNO₃ (6 mL.L⁻¹), Ca (NO₃)₂ * 4H₂O mol L⁻¹ (4 mL.L⁻¹), MgSO₄ * 7 H₂O (2 mL.L⁻¹), micronutrientes (1 mL.L⁻¹) e Fe – EDTA (1 mL.L⁻¹). A concentração de nutrientes na solução nutritiva foi: N= 196 mg.L⁻¹, K= 234 mg.L⁻¹, Ca= 160 mg.L⁻¹, Mg= 48 mg.L⁻¹, S= 64 mg.L⁻¹ e micronutrientes Zn= 0,05 mg.L⁻¹. A aplicação consistiu de 10 mL da solução por unidade experimental, duas vezes por semana.

3.5 PARÂMETROS AVALIADOS

Aos 250 dias após a semeadura, determinou-se: a altura da planta e diâmetro do caule, massa fresca e massa seca da parte aérea e do sistema radicular, porcentagem de associação ectomicorrízica e teor de nutrientes nos órgãos das plantas.

3.5.1 Altura da planta e diâmetro do caule

As alturas das plantas foram medidas utilizando régua graduada de 50 centímetros de comprimento. Esta variável foi obtida a partir do colo da planta até a extremidade das últimas axilas foliares. O diâmetro das plantas foi medido com paquímetro digital.

3.5.2 Massa fresca e massa seca da parte aérea e do sistema radicular

As mudas foram cortadas no colo da planta, em seguida, pesada a parte aérea, caracterizando o peso da massa fresca. Após a separação das raízes do substrato areia com vermiculita, as mesmas foram coletadas e pesadas. Após a pesagem da parte aérea e da raiz, ambas as partes foram colocadas em sacos de papel, identificadas e levadas à estufa com temperatura de 65°C, no qual permaneceram até atingirem o peso constante. Após pesou-se novamente, obtendo-se a massa seca da parte aérea.

Uma quantia de um terço de raízes foi separada do sistema radicular para ser determinada porcentagem de associação ectomicorrízica.

3.5.3 Associação ectomicorrízica

As avaliações da associação ectomicorrízica foram realizadas em duas etapas. A primeira etapa se caracterizou por uma identificação visual das raízes sob o auxílio de lupas para observar se havia alterações morfológicas na raiz provocadas pelos fungos ectomicorrízicos (BRUNDRETT et al., 1996).

Posteriormente, realizaram-se cortes histológicos de modo transversal nas raízes, onde foram avaliados 200 segmentos de aproximadamente 1 cm de cada planta, colocados em lâminas e lamínulas para serem visualizadas na lupa. Analisou-se a ocorrência da presença de micélio e outras estruturas do fungo ectomicorrízico.

Para o cálculo da porcentagem de associação ectomicorrízica, utilizou-se a seguinte fórmula:

$$\text{Associação Ectomicorrízica (\%)} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de segmentos ectomicorrizados}}{\text{N}^\circ \text{ total de segmentos}} \times 100$$

3.5.4 Teor de nutrientes nos órgãos da planta

Após a determinação da matéria seca, as folhas da parte aérea e as raízes do sistema radicular foram trituradas para determinar os teores de macro e micronutrientes (SILVA, 1999).

Para a determinação dos teores de nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), zinco (Zn), e manganês (Mn), o material vegetal seco e moído foi submetido à solução nitricoperclórica (JOHNSON; ULRICH, 1959). O P foi determinado pela espectrometria com amarelo de vanadato. O K foi determinado por fotometria de chama. Os nutrientes Ca e Mg foram quantificados por espectrometria de absorção atômica (AOAC, 1975). Mn e Zn foram determinados pela espectrometria de emissão atômica com indução de plasma (ICP).

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados dos parâmetros avaliados foram submetidos ao teste de normalidade (Shapiro-Wilk) e homocedasticidade (Bartlett) e quando necessário, foram aplicadas transformações logarítmicas aos dados. A análise de variância (ANOVA) e o teste de comparação de médias foram realizados no *software* R (R Core Team, 2019) com auxílio do pacote ExpDes.pt. (FERREIRA et al., 2018).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A inoculação com *Tuber aestivum* e *T. floridanum* bem como a adição de fósforo (P) promoveram diferenças significativas no crescimento e desenvolvimento das mudas de noqueira-pecã, cultivar Barton. Os resultados de efeito dos inóculos e a interação entre dose de P e inóculos foi significativa para a colonização ($p < 0.001$) (Tabela 2). Os resultados de efeito da dose de P foram significativos para o comprimento de raiz e para a massa fresca da parte aérea. Já os resultados de efeito do inóculo foi significativo para o diâmetro de caule ($p < 0.05$) (Tabela 2).

Tabela 2 – Valores de P segundo teste F para os parâmetros avaliados no experimento com mudas de noqueira-pecã, cultivar Barton, inoculadas com *Tuber aestivum* e *T. floridanum*, com 250 dias, em casa de vegetação.

Parâmetros	Dose	Inóculo	Dose x Inóculo
	P value	P value	P value
Colonização	0,036	0,000*	0,000*
Comprimento de parte aérea	0,125	0,161	0,098
Comprimento de raiz	0,034**	0,113	0,234
Massa fresca da raiz	0,146	0,329	0,761
Massa fresca da parte aérea	0,047**	0,114	0,756
Massa seca da raiz	0,226	0,090	0,371
Massa seca da folha	0,102	0,219	0,549
Massa seca do caule	0,300	0,050	0,439
Massa seca da parte aérea	0,199	0,084	0,781
Diâmetro	0,545	0,001**	0,930

* Valores de P volue com $p < 0.001$ no parâmetro colonização.

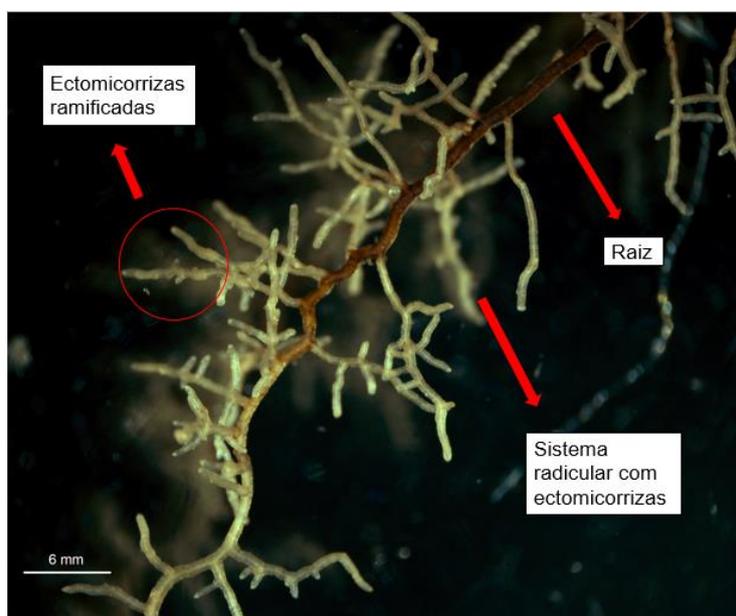
** Valores de P volue com $p < 0.05$ nos parâmetros comprimento de parte aérea, comprimento de raiz, massa fresca da raiz, massa fresca da parte aérea, massa seca da raiz, massa seca da folha, massa seca do caule, massa seca da parte aérea e diâmetro.

A partir da análise das raízes das mudas de noqueira-pecã, foi possível observar, a olho nu e em lupa, modificações em sua estrutura morfológica quando associadas aos fungos ectomicorrízicos *T. aestivum* e *T. floridanum*. Essas modificações indicam a presença de estruturas como: o manto fúngico, composto por hifas que armazenam temporariamente os elementos nutricionais

absorvidos pelo fungo ectomicorrízico (ECM); e a presença da rede de Hartig, responsável pela troca de elementos, carboidratos, nutrientes entre os fungos e o sistema radicular do vegetal (SMITH; READ, 2008). As mudas não inoculadas não apresentaram modificação morfológica fúngica na estrutura da raiz.

As raízes das mudas de noqueira-pecã inoculadas apresentaram desenvolvimento normal, demonstrando indícios de colonização ectomicorrízica em sua morfologia externa e interna (Figura 9 e 10). A morfologia externa das raízes foi caracterizada pela presença de raízes mais curtas e grossas em relação às raízes não colonizadas. Modificações do sistema radicular de plantas ectomicorrizadas com fungos são comuns, o que mostra uma interação simbiótica entre o fungo e a planta (BENTO, 2020). Dessa forma, observa-se que as raízes de noqueira-pecã formaram associação ectomicorrízica com as espécies de *T. aestivum* e *T. floridanum* em condições controladas na casa de vegetação.

Figura 9 – Morfologia de *Tuber aestivum* Vittad. em raízes de mudas de noqueira-pecã, cultivar Barton, com 250 dias, em casa de vegetação (barra de escala = 6 mm).

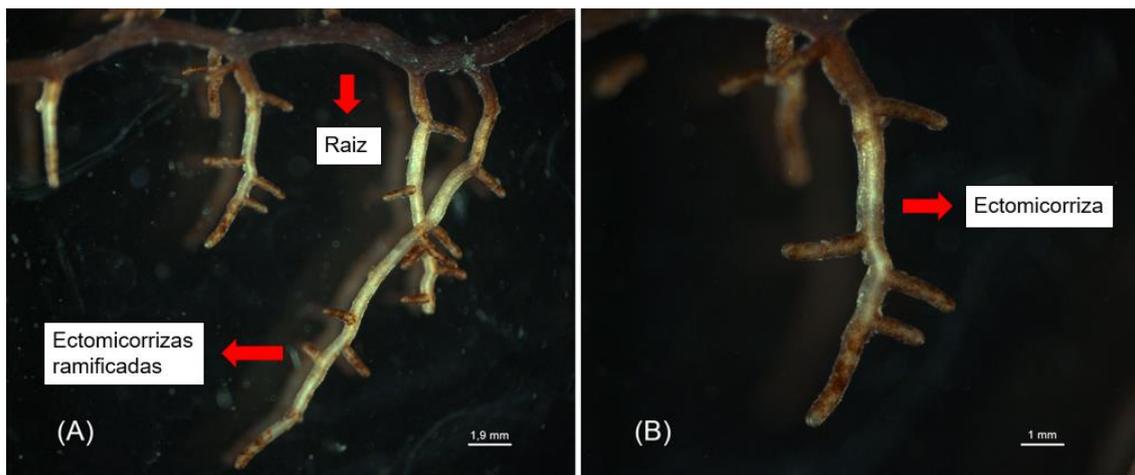


Fonte: SANTOS, 2021.

Outra característica que pôde ser identificada nas raízes inoculadas com as espécies de *T. aestivum* e *T. floridanum* foi a espessura dos ápices

radiculares. Esse espessamento é causado pelo desenvolvimento da estrutura fúngica, chamada de manto, na superfície do sistema radicular das mudas. Esse manto pode ser visível a olho nu, dispensando o uso de lupas ou microscópio (SILVA et al., 2009).

Figura 10 – Morfologia de *Tuber floridanum* em raízes de mudas de noqueira-pecã, cultivar Barton, com 250 dias, em casa de vegetação. (A) barra de escala = 1,9 mm; (B) barra de escala = 1 mm.



Fonte: SANTOS, 2021.

A análise e a observação da morfologia interna em lupa confirmam a hipótese da presença de fungos ECMs nas raízes das mudas inoculadas de noqueira-pecã. Observaram-se estruturas características de cada espécie de fungo estudada, diferentemente das raízes não inoculadas, nas quais não foi observado o desenvolvimento de nenhuma estrutura fúngica.

As ectomicorrizas da espécie *Tuber aestivum* (Figura 10) apresentam estrutura considerada simples, com ramificações presentes após um padrão regular, chamado de monopodial-piramidal (BENUCCI et al., 2012). As pontas das raízes colonizadas pelo fungo ECM apresentaram forma de corpo cilíndrico com alargamento na extremidade. A cor da estrutura vai variar conforme o estágio de desenvolvimento do fungo (BENUCCI et al., 2012). A coloração encontrada em lupa dos fungos ECMs estudadas foi a âmbar, característico nos fungos mais jovens.

A organização da camada externa do manto na noqueira-pecã é pseudoparenquimatosa e a superfície externa do manto é densamente

espinhosa (BENUCCI et al., 2012). Essas estruturas não foram vistas na raiz. Isso pode ter acontecido devido ao curto tempo entre a inoculação e a coleta das mudas, não ocorrendo o completo desenvolvimento do fungo.

Muitas espécies do gênero *Tuber* são conhecidas apenas por suas sequências de DNA e não descritas taxonomicamente (GRUPE et al., 2018). A espécie *Tuber floridanum* é uma espécie recentemente descrita no clado Maculatum (grupo especioso caracterizado por ascomas pequenos e de cor clara que possuem esporos reticulados com alveolato). Essa espécie, anteriormente chamada de *Tuber* sp. 47, caracteriza-se por apresentar superfície lisa do perídio, dermatocistídios de dois a quatro esporos (dificilmente cinco esporos por asco) e ascósporos subglobosos a amplamente elipsoidais (GRUPE et al., 2018).

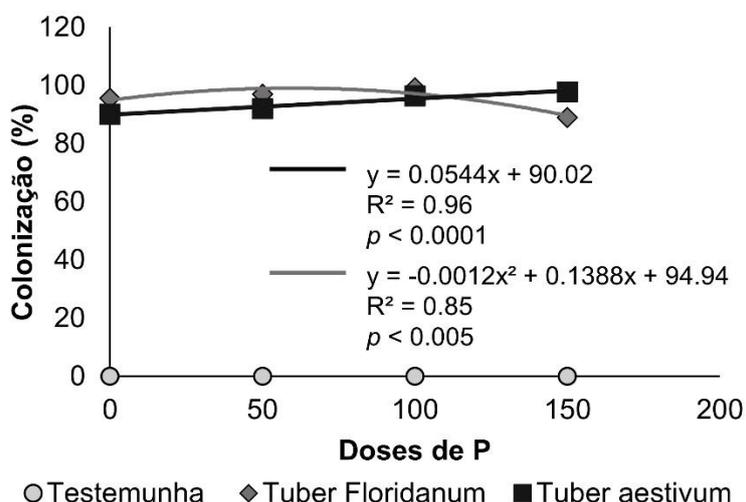
A presença dos fungos ECMs não depende somente da espécie fúngica e da planta envolvida, mas também de outros fatores, como a disponibilidade de nutrientes na solução do solo. As mudas não inoculadas não tiveram presença de ectomicorrízica em suas raízes, diferentemente das mudas inoculadas. As mudas de noqueira-pecã inoculadas, tanto com *T. aestivum* como com *T. floridanum*, apresentaram elevada porcentagem de colonização ectomicorrízica, independente da dose de P utilizada (Figura 11). No entanto, para *T. floridanum*, a colonização diminuiu com aumento da dose de P acima de 100 mg.kg⁻¹ (Figura 11).

Na dose 0 mg.kg⁻¹ de P, houve uma diferença significativa de médias, sendo que a espécie *T. floridanum* apresentou maior porcentagem de associação ectomicorrízica comparada à espécie *Tuber aestivum* (Figura 11). O mesmo comportamento ocorreu nas doses 50 e 150 mg.kg⁻¹ de P, onde a *T. floridanum* obteve maior porcentagem de associação ECM (94,94%). Na dose 100 mg.kg⁻¹, não foi apresentada diferença significativa entre as espécies fúngicas (Figura 11). Segundo Grazzioti (2011), isso acontece porque a capacidade de tolerância das ECM aos metais pesados ou essenciais em excesso é conhecida, pois as ligações a polímeros da parede celular (quitina e/ou melanina) e precipitações de nutrientes e metais são alguns dos mecanismos adaptativos utilizados pelas ectomicorrizas para sobreviver em locais com excesso de nutrientes. Essa tolerância dos fungos ECMs aos metais e nutrientes difere entre as espécies de fungos e o tipo de elemento, mostrando,

assim, que a espécie *Tuber floridanum* é mais resistente à elevada dose de nutrientes, nesse caso o fósforo.

Todas as doses apresentaram alta porcentagem de associação ectomicorrízica. Isso demonstra que os fungos tiveram boa resposta associativa, independente da dose de fósforo aplicada. Estudos de Vieira e Peres (1990) mostraram que os efeitos mutualísticos das ectomicorrizas tendem a diminuir com o aumento do nível de disponibilidade de fósforo. Porém, esses resultados não foram encontrados nesse experimento, pois todas as doses foram benéficas para as mudas, com alta colonização fúngica.

Figura 11 – Associação ectomicorrízica (%) sob efeito das diferentes doses de fósforo (mg.kg^{-1}), em mudas de noqueira-pecã, cultivar Barton, com 250 dias, em casa de vegetação.



O comprimento de raiz e a massa fresca da parte aérea das mudas no 250º dia após a semeadura de *Carya illinoensis* (Wangenh) C. Koch variaram entre os tratamentos (Tabela 2). Foi observado comportamento linear do comprimento da raiz em função da dose de P, onde o aumento da dose de P resultou na diminuição do comprimento da raiz (Figura 12). A redução do comprimento radicular para a cultura da noqueira-pecã em doses elevadas de fósforo, como 150 mg.kg^{-1} , pode estar associada aos efeitos morfogenéticos causados pelos fungos ECMs quando associados às raízes, como deformações das raízes e redução da dominância apical.

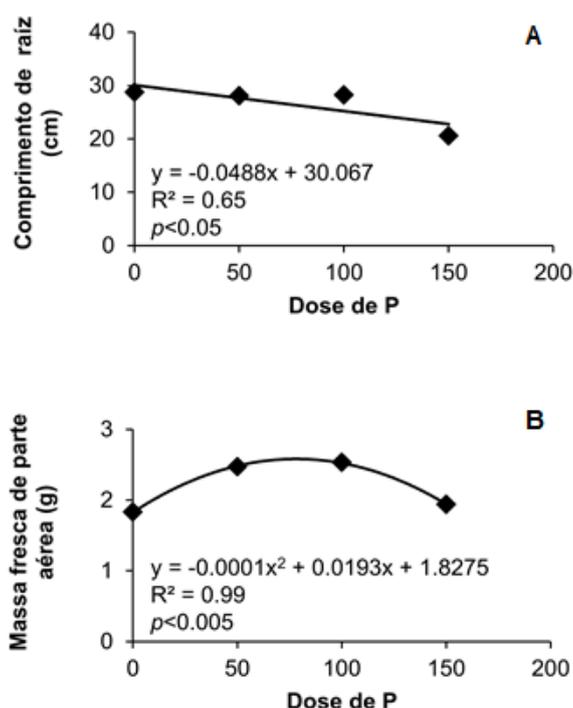
As plantas inoculadas e adubadas com diferentes doses de fósforo não apresentaram diferenças significativas no comprimento da parte aérea em

relação à testemunha. Entretanto, após o transplante da noqueira-pecã para o pomar, a associação entre planta e fungo pode ser vantajosa (SILVA, 2009).

As mudas não apresentaram diferenças estatísticas na massa fresca radicular entre os tratamentos de inoculação e as doses de fósforo. Esse resultado pode ser justificado pelo espessamento das raízes quando submetidas a fungos ectomicorrízicos (BRUNDRETT et al., 1996). Quando o fungo ECM está presente na raiz da planta, ele pode estar suprimindo a necessidade do comprimento da raiz principal em razão da presença do manto fúngico.

A massa fresca da parte aérea apresentou comportamento polinomial de segundo grau em função da dose de P, sendo que as doses de 50 e 100 mg.kg⁻¹ favoreceram essa variável (Figura 12 B). Doses muito elevadas de nutriente, em especial o fósforo (150 mg.kg⁻¹), podem prejudicar a captação de outros elementos e da água.

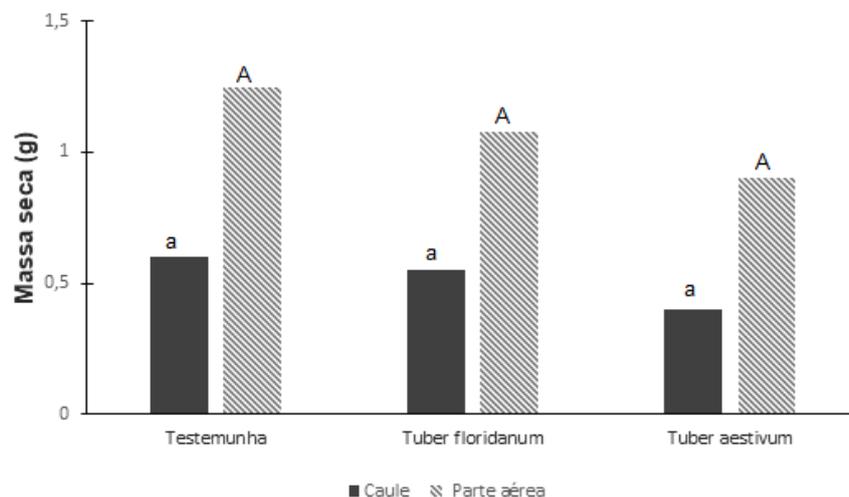
Figura 12 – Comprimento de raiz (cm) submetida às diferentes doses de fósforo (mg.kg⁻¹) (A) e Massa fresca da parte aérea (g) sob efeito das diferentes doses de fósforo (mg.kg⁻¹) (B), em mudas de noqueira-pecã, cultivar Barton, com 250 dias, em casa de vegetação.



Na comparação das médias, os valores de massa seca do caule e massa seca da parte aérea ($p < 0.05$) não apresentaram diferenças significativas quanto ao tratamento inoculado com *T. floridanum* e *T. aestivum* e ao tratamento não inoculado (Figura 13).

As plantas inoculadas não apresentaram maior acúmulo de massa da parte aérea. O fósforo é um elemento essencial para a planta, pois é um componente estrutural dos ácidos nucleicos e fosfolípidios e tem fundamental importância na fotossíntese (LATORRE et al., 2010). Contudo, o fósforo, em alta concentração na solução do solo, pode proporcionar alterações no crescimento vegetal em nível metabólico e bioquímico, o que pode resultar em perdas no potencial produtivo do vegetal. A disponibilidade de fósforo está intimamente ligada com os fungos ECMs, ocorrendo assim, alta absorção de fósforo pela planta com o auxílio dos mesmos. Esse efeito pode explicar, em partes, a tendência da diminuição na massa seca de caule e parte aérea das mudas de noqueira-pecã com a inoculação de *T. aestivum* e *T. floridanum*. Outra situação que pode explicar a diminuição da massa seca de caule das mudas inoculadas é o estágio de desenvolvimento, ou seja, necessidade de maior tempo de condução do experimento para poder obter maior massa da parte aérea. O tempo de simbiose pode ter sido curto, pois o inóculo não afetou positivamente as características morfológicas da noqueira-pecã. Os resultados de Gandini et al. (2015) se assemelham ao desse estudo, onde níveis elevados de P inibiram os efeitos benéficos das associações ectomicorrízicas.

Figura 13 – Massa seca do caule e massa seca da parte aérea sob efeito das diferentes espécies de inóculos e testemunha, em mudas de nogueira-pecã, cultivar Barton, com 250 dias, em casa de vegetação.



Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna, não diferem significativamente entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

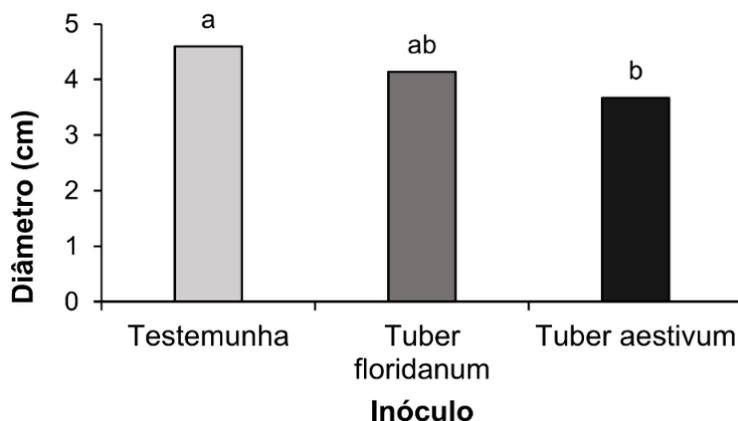
Os resultados obtidos para diâmetro de caule das mudas apresentaram diferenças significativas (Figura 14) entre os tratamentos de inoculação. As mudas não inoculadas apresentaram maior diâmetro de caule do que as mudas inoculadas com *T. floridanum* e *T. aestivum*. As mudas inoculadas com *T. floridanum* apresentaram maior média de diâmetro de caule em comparação àquelas inoculadas com *T. aestivum* (Figura 14).

O maior diâmetro da planta é considerado efeito benéfico, pois é um indicador de qualidade das mudas que confere maior resistência em condições de campo, com a redução da possibilidade de tombamento das mesmas após transplante (REIS et al., 2008). Esperava-se que o maior incremento de diâmetro de caule fosse ocorrer nas mudas que receberam os inóculos, entretanto, o que não ocorreu. O parâmetro testado não apresentou uma interferência positiva na inoculação com os fungos *Tuber floridanum* e *Tuber aestivum*. É possível que os fungos não conseguiram estabelecer uma simbiose perfeita com as mudas de *Carya illinoensis*, assim, os efeitos das ECMs não foram claramente vistos em todas as variáveis respostas.

Os resultados de Souza et al. (2012) se assemelham ao desse estudo. Estes autores constataram que as medidas de diâmetro de caule têm pouca

finalidade para avaliar o efeito da inoculação nesta fase inicial de desenvolvimento do vegetal, pois as primeiras respostas da associação ectomicorrízica estão associadas ao aumento de absorção de água e nutrientes, tendo, assim, maior reação no crescimento de ramos e folhas.

Figura 14 – Diâmetro do caule (cm) sob o efeito das diferentes espécies de inóculos e testemunha, em mudas de noqueira-pecã, cultivar Barton, com 250 dias, em casa de vegetação.



Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna, não diferem significativamente entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Foram analisados os teores de nitrogênio (N) no sistema radicular e na massa seca das folhas. Os teores de fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), zinco (Zn) e manganês (Mn) foram analisados na massa seca da folha (Tabela 3). A digestão dos tecidos foi realizada no 250º dia de idade, após serem secos em estufa.

Tabela 3 – Significância dos fatores doses de P, inoculação ectomicorrízica e interação entre doses de P (0, 50, 100 e 150 mg.kg⁻¹) e inoculação ectomicorrízica nos parâmetros químicos nutricionais de mudas de noqueira-pecã, cultivar Barton, com 250 dias, em casa de vegetação.

Variável resposta	p valor			CV (%)
	Dose	Ectomicorriza	Dose*ectomicorriza	
K (g.kg ⁻¹)	0.00000*	0.54263	0.68009	29.80
Ca (g.kg ⁻¹)	0.44237	0.49378	0.32628	24.92
Mg (g.kg ⁻¹)	0.41509	0.81486	0.02365*	34.87
Mn (mg.kg ⁻¹)	0.00719*	0.86299	0.02213*	50.71
Zn (mg.kg ⁻¹)	0.16500	0.30691	0.39625	12.55
N (folha) (g.kg ⁻¹)	0.26088	0.80703	0.46643	42.20
N (raiz) (g.kg ⁻¹)	0.65941	0.52508	0.22734	81.01
P (raiz) (g.kg ⁻¹)	<0.0010*	0.25721	<0,0010*	34.31
P (folha) (g.kg ⁻¹)	<0.0010*	<0,001*	0,00165*	35.68

* Valores de P volue com p<0.05.

As concentrações de N nos tecidos do sistema radicular e da parte aérea das mudas não apresentaram interações significativas em suas médias. As médias foram estatisticamente semelhantes no fator dose e no fator inóculo tanto para o N na raiz como para o N no inóculo.

Tabela 4 – Teor de fósforo em raízes e folhas de noqueira-pecã, cultivar Barton, após a micorrização com *Tuber floridanum*, *Tuber aestivum* ou testemunha e submetidas a adubação de diferentes doses de fósforo (0, 50, 100 e 150 mg.kg⁻¹).

Raízes				
Ectomicorriza/Inóculo	Doses de P			
	0	50	100	150
Testemunha	0.4375184 ^{ns}	0.9844115 b	2.672436 b	2.06923 b
<i>Tuber aestivum</i>	0.3041245	1.871921 ab	3.052236 a	3.970384 a
<i>T.floridanum</i>	0.8732452	2.866986 a	2.300659 b	1.253951 b
Folhas				
Ectomicorriza/Inóculo	Doses de P			
	0	50	100	150
Testemunha	0.4533876 ^{ns}	1.060278 b	2.614781 b	1.535814 ^{ns}
<i>Tuber aestivum</i>	0.6541403	1.330087 b	2.074812 b	2.439353
<i>T.floridanum</i>	0.6207960	3.157025 a	4.16404 a	1.928668

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna, não diferem significativamente entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

ns = não significativo

A concentração de P nas raízes das mudas de noqueira-pecã apresentou interação significativa entre as suas médias (Figura 15). Na dose 0, os inóculos não diferiram entre si significativamente (Tabela 4). Já na dose 50 mg.kg⁻¹ houve diferença significativa, onde a espécie *T. floridanum* apresentou maior média (2,86 g.kg⁻¹) comparada a espécie *T. aestivum* (1,87 g.kg⁻¹) e à testemunha (0,94 g.kg⁻¹) (Tabela 4). Na dose 100 mg.kg⁻¹ de P a *T. aestivum* (3,05 g.kg⁻¹) apresentou maior média, seguida da testemunha (2,67 g.kg⁻¹) e *T. floridanum* (2,30 g.kg⁻¹) (Tabela 4). Por último, na dose 150 mg.kg⁻¹ de P, a maior média foi apresentada na espécie *T. aestivum* (3,97 g.kg⁻¹), seguido da testemunha (2,07 g.kg⁻¹) e *T. floridanum* (1,25 g.kg⁻¹) que não diferiram significativamente entre si (Tabela 4).

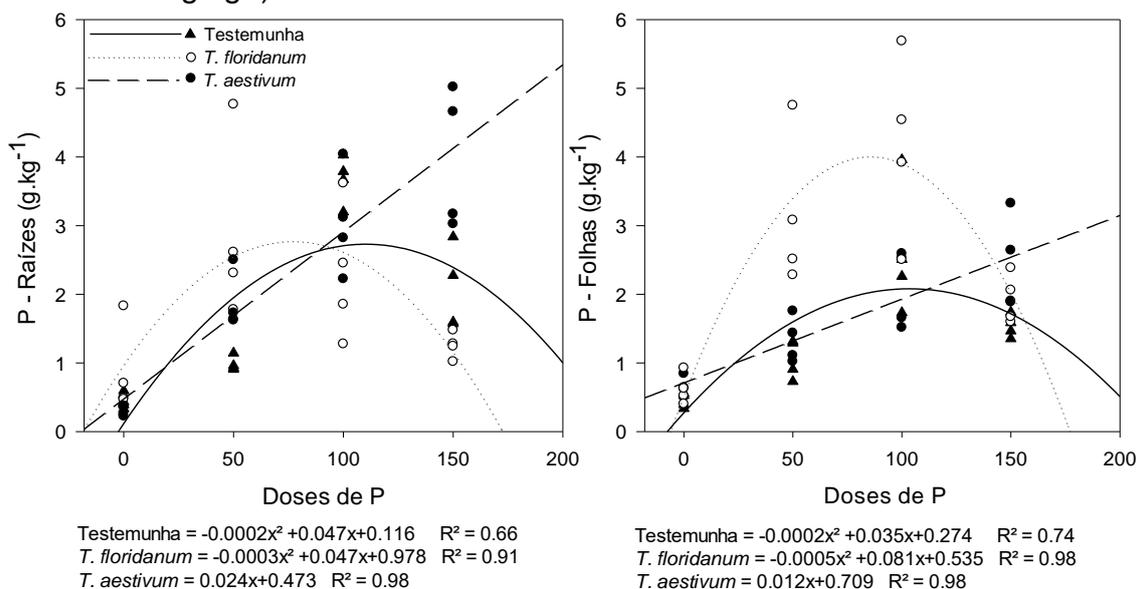
Quanto à concentração de P nas folhas das mudas de noqueira-pecã, verificou-se interação significativa entre as suas médias (Figura 15). A dose 0 e 150 mg.kg⁻¹ não apresentaram diferenças significativas entre suas médias, diferente das demais doses (50 e 100 mg.kg⁻¹). Na dose 50 mg.kg⁻¹ a espécie *T. floridanum* apresentou maior média (3,15 g.kg⁻¹), comparado a espécie *T. aestivum* (1,33 g.kg⁻¹) e testemunha (1,06 g.kg⁻¹), que diferiram significativamente (Tabela 4). A dose 100 mg.kg⁻¹ apresentou o mesmo comportamento da dose 50 mg.kg⁻¹, onde a espécie *T. floridanum* apresentou maior média (4,16 g.kg⁻¹), seguido da testemunha (2,61 g.kg⁻¹) e *T. aestivum* (2,07 g.kg⁻¹).

Na maioria dos parâmetros avaliados, as diferenças entre os inóculos, ou entre estes e a testemunha, tenderam a serem maiores nas menores doses de P em estudo, indicando uma inibição do efeito ectomicorrízico em condições de alta fertilidade. Esse comportamento, embora já observado por outros autores com diferentes combinações de espécies vegetais e espécies de fungos ectomicorrízicos (HEINRICH et al., 1988; BOUGHER et al., 1990; SOARES et al., 1990), indica que doses intermediárias de P seriam mais adequadas para compatibilizar uma colonização radicular significativa com um bom crescimento das mudas de noqueira-pecã, cultivar Barton.

Nas raízes das mudas em estudo, a espécie *T. floridanum* apresentou melhores resultados na dose intermediária de P (50 mg.kg⁻¹). Nas doses 100 e 150 mg.kg⁻¹ o melhor resultado foi observado na espécie *T. aestivum*, seguido

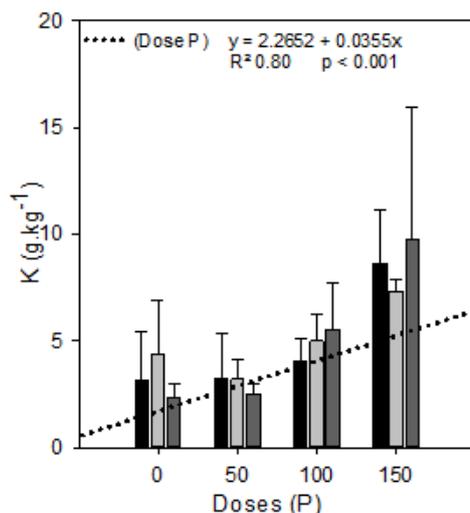
da testemunha. Já nas folhas, as doses com médias significativas foram as intermediárias (50 e 100 mg.kg⁻¹), com a espécie *T. floridanum* em destaque.

Figura 15 - Teor de fósforo em folhas e raízes de noqueira-pecã, cultivar Barton, inoculadas com fungos ectomicorrízicos (*T. floridanum* ou *T. aestivum*) e submetidas à adubação fosfatada (0, 50, 100 e 150 mg.kg⁻¹).



Para o nutriente K, a interação dose e inóculo não foi significativa. O fator inóculo apresentou as médias significativamente iguais. Já para o fator dose de P, as médias foram significativas, a linha de regressão no gráfico abaixo representa esse efeito (Figura 16). A dose de P de 150 mg.kg⁻¹ apresentou maior valor comparada às demais doses de P. Mesmo apresentando pouca variação na concentração do nutriente K nos tecidos das mudas do presente estudo, o K teve forte relação com a muda micorrizadas (GARCIA; ZIMMERMANN, 2014). Os autores estudaram a presença do íon potássio concentrado nas hifas e nas vesículas do fungo. Há outras pesquisas que também não apresentaram diferenças entre vegetais micorrizados ou não micorrizados para o K, como aconteceu nos estudos de Domínguez-Núñez et al. (2006), com plantas de *Quercus robur* L.

Figura 16 - Concentração de potássio (g.kg^{-1}) em folhas de noqueira-pecã, cultivar Barton, após a micorrização com *Tuber floridanum*, *Tuber aestivum* ou testemunha e crescimento em diferentes doses de fósforo (0, 50, 100 e 150 mg.kg^{-1}).



*Linha de regressão refere-se ao efeito significativo do fator “doses de P”.

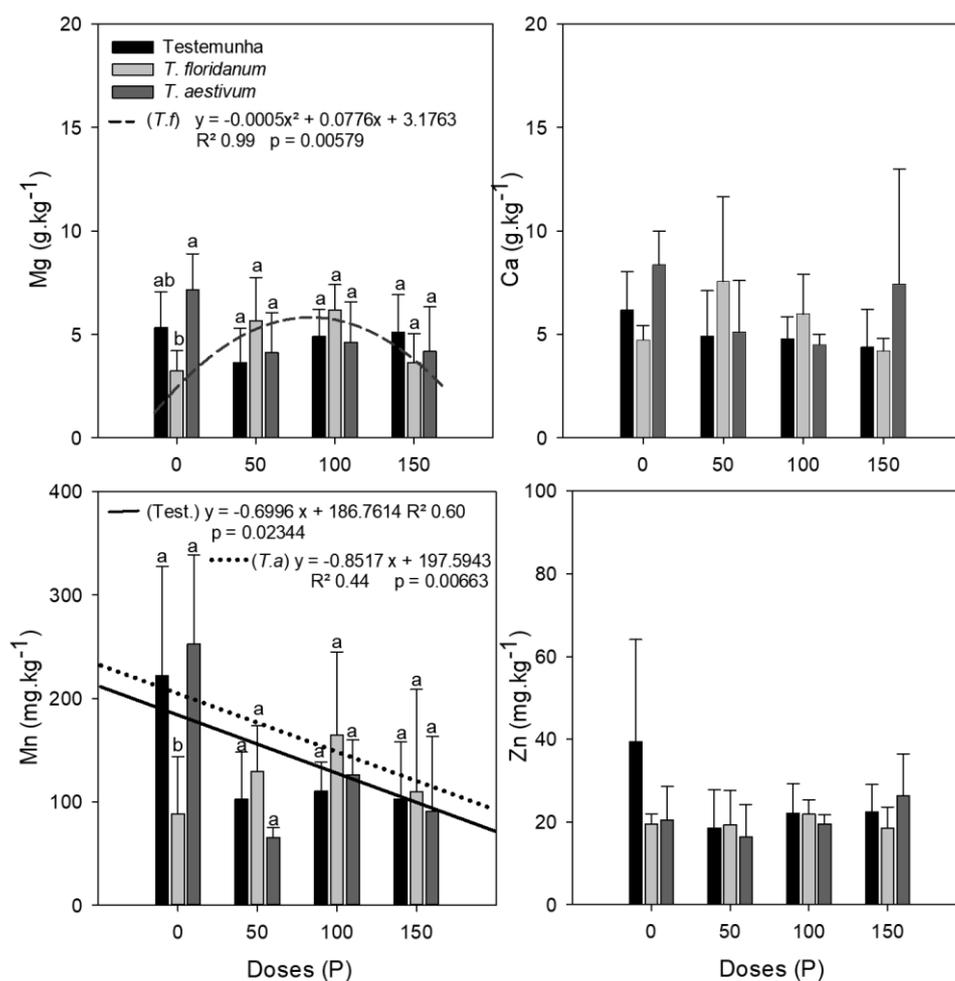
As micorrizas possuem a capacidade de absorver o cálcio, o magnésio e micronutrientes, como o manganês e o zinco, além dos nutrientes nitrogênio, fósforo e potássio (MIRANSARI, 2013).

A concentração de Ca nos tecidos das folhas (Figura 17) não apresentou interação significativa entre dose e inóculo. As médias foram significativamente iguais para os fatores doses de P e inóculos. O resultado dessa concentração pode ser explicado pela forma como o Ca é translocado do solo para a muda, a qual é realizada por polifosfatos. A entrada do nutriente Ca pode ser prejudicada pela necessidade do fungo em manter concentrações baixas desse nutriente na região das hifas, fazendo com que não difira significativamente entre as doses de P, que variam de 0 a 150 mg.kg^{-1} (MARSCHNER; DELL, 1994).

A concentração do Mg apresentou interação significativa na interação dos fatores dose e inóculo. No desdobramento da dose dentro de cada nível do inóculo, a testemunha de inóculo e a *T. aestivum* apresentaram-se semelhantes, diferente do inóculo *T. floridanum*, sendo caracterizado por uma curva de concavidade virada para baixo ($a < 0$) no gráfico (Figura 17). No desdobramento do inóculo dentro de cada nível da dose de P, as doses 50, 100 e 150 mg.kg^{-1} obtiveram médias significativamente iguais. A dose 0 apresentou médias diferentes, onde a *T. aestivum* resultou em maior valor, com 7,1 g.kg^{-1} , seguida da testemunha com 5,3 g.kg^{-1} e da *T. floridanum*, com 3,2 g.kg^{-1} .

Para o micronutriente Mn, o efeito dose e a interação dose e inóculo foram significativas. Essa interação é representada pelas linhas de regressão, ambas linearmente decrescentes (Figura 17). No desdobramento do inóculo dentro de cada nível de dose, a dose 0 de P apresentou médias significativamente diferentes, onde os maiores valores foram a testemunha (221,8 mg.kg⁻¹) e a espécie *T. aestivum* (252,7 mg.kg⁻¹), não diferindo significativamente, e a espécie *T. floridanum* (88,4 mg.kg⁻¹) de menor valor. Os demais desdobramentos de inóculo das doses 50, 100 e 150 mg.kg⁻¹ apresentaram médias significativamente iguais (Figura 17).

Figura 17 - Concentração de Ca e Mg (g.kg⁻¹) e Mn e Zn (mg.kg⁻¹) em folhas de noqueira-pecã após a micorrização com *Tuber floridanum*, *Tuber aestivum* ou testemunha e crescimento em diferentes doses de fósforo (0, 50, 100 e 150 mg.kg⁻¹).



*Linhas de regressão referem-se ao efeito significativo da interação entre doses de P e a inoculação das ectomicorrizas (*T.a* = *T. aestivum*, *T.f* = *T. floridanum*, Test. = Testemunha).

**Médias seguidas pela mesma letra minúscula comparam o efeito da inoculação.

O Mn é um nutriente que apresenta baixas concentrações nos tecidos das plantas com a inoculação com fungos micorrízicos. Isso pode estar ligado com a relação simbiótica do fungo para a nutrição da planta. Ao aumentar os teores de fósforo nos tecidos do vegetal, devido à micorrização, a muda consegue manter as concentrações de Mn mais baixas por diversos mecanismos, entre eles, o de proteção contra toxicidade de alguns elementos (NOGUEIRA et al., 2007).

O Zn não apresentou interação significativa entre os seus fatores. A média dos fatores dose de P e inóculos foram significativamente iguais. Estudos realizados por Li et al. (2011) mostraram que esse metal em altas concentrações é potencialmente tóxico. Essa toxidez em mudas acarreta da diminuição de massa seca da parte aérea, da massa seca do sistema radicular, na morte de plântulas e na inibição de crescimento. Alguns experimentos comprovam a tolerância de fungos ectomicorrízicos com o excesso de Zn, ou seja, o estabelecimento da associação micorrízica não é afetado e ainda é capaz de diminuir a concentração de Zn em plantas hospedeiras (LI et al., 2002).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os fungos *Tuber aestivum* e *Tuber floricolum* são promissores na associação ectomicorrízica, que favorece o crescimento das mudas de noqueira-pecã, cultivar Barton.

A associação ectomicorrízica não foi inibida pelo aumento das doses de fósforo. As doses intermediárias 50 e 100 mg.kg⁻¹ de P mostraram-se mais adequadas em compatibilizar a associação radicular com o crescimento das mudas de noqueira-pecã, cultivar Barton.

Os inóculos de fungos *T. aestivum* e *T. floricolum* e as doses de P em estudo influenciaram diretamente a concentração de alguns nutrientes nas folhas das plantas. Dentre os nutrientes, estão o P, K, Mg e Mn. Na ausência de adubação fosfatada, o inóculo *T. aestivum* obteve maior concentração de Mg e Mn nas folhas.

Os nutrientes N, Ca e Zn não apresentaram interações significativas com as doses e os inóculos nas folhas das mudas de noqueira-pecã.

Nas raízes, a dose de 50 mg.kg⁻¹ de P apresentou maior concentração de P pelo inóculo *T. floricolum*, porém, à medida que a dose aumentava (150 mg.kg⁻¹ de P), a maior concentração de P foi caracterizada pelo inóculo *T. aestivum*. Nas folhas, obteve-se maior concentração de P nas doses 50 e 100 mg.kg⁻¹ de P, ambas inoculadas com o inóculo *T. floricolum*.

Há necessidade de estudos futuros que utilizem estes fungos ectomicorrízicos visando à produção de trufas, concomitantemente à produção de noqueira-pecã. Além do benefício que o fungo fornece ao desenvolvimento da noqueira-pecã.

AGRADECIMENTO

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES). Os recursos financeiros foram do Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq), com o processo 423477/2018-8.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, L. **Imigrantes norte-americanos no Brasil: mito e realidade, o caso de Santa Bárbara**. 150 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Econômicas) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.

ALEXANDRE, J. Zinco e ferro: de micronutrientes a contaminantes do solo. **Natureza online**, [s. l.], v. 10, ed. 1, p. 23-28, fev. 2012. <Disponível em: <<http://www.naturezaonline.com.br>>. Acesso em: 10 jun. 2021.

ALBEN, A. O.; BOGGS, H. M. **Conteúdo de zinco dos solos em relação à roseta de noz-pecã**. doi: 41: 329-332. 1936.

ALMEIDA, M. V. A. **Identificação de fungos filamentosos presentes em um biorreator de resíduos sólidos urbanos**. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Campina grande. Campina Grande, 2015.

AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E A. (Ed.). **Manual de fitopatologia**. 5. ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres, v.2, p. 772. 2016.

ANDREZZA, R., et al. Avaliação de mudas de Eucalipto inoculadas com fungos ectomicorrízicos em solo arenoso. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIAS DO SOLO, 29. Ribeirão Preto, 2003. **Anais...** Ribeirão Preto: UESP, 2003.1 CD-ROM.

ASHFORD, A. E.; VESK, P. A.; ORLOVICH, D. A.; MARKOVINA, A. L.; ALLAWAY, W. G. Dispersed polyphosphate in fungal vacuoles in *Eucalyptus pilularis* *Pisolithus tinctorius* ectomycorrhizas. **Fungal Genetics and Biology**, v. 28, p. 21-33, 1999.

BENTO, B. C. **Análise estatística de dados de metabolômica: identificação dos compostos envolvidos na resposta das plantas à simbiose com fungos ectomicorrízicos**. [s.l.], 2020. Disponível em: <https://repositorio.ul.pt/bitstream/10451/45262/1/ulfc125968_tm_Bruno_Bento.pdf>. Acesso em: 23 mar. 2021.

BENUCCI, G. M. N. et al. Mycorrhizal inoculation of pecan seedlings with some marketable truffles. **Acta Mycologica**, Durham, v. 47, n. 2, p. 179-184, 2012.

BENUCCI, G. M. et al. Mycorrhization of pecan trees (*Carya illinoensis*) with commercial truffle species: *Tuber aestivum* Vittad. And *Tuber borchii* Vittad. **Mycorrhiza** 22:383–392. 2012. doi: 10.1007/s00572-011-0413-z.

BERBARA, R. L. L; SOUZA, F. A.; FONSECA, H. M. A. C. Fungos micorrízicos arbusculares: muito além da nutrição. In: FERNADES, M. S. (Ed.). **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, p. 53-88. 2006.

BHATTACHARYA A. Changing Environmental Condition and Phosphorus-Use Efficiency in Plants. in.: **Changing Climate and Resource Use Efficiency in Plants**. 2019. Disponível em <<https://doi.org/10.1016/b978-0-12-816209-5.00005-2>>. Acesso em: 05/04/2021.

BILHARVA, M. G.; MARTINS, C. R.; HAMANN, J. J.; FRONZA, D.; DE MARCO, R.; MALGARIM, M. B. Pecan: from Research to the Brazilian Reality. **Journal of Experimental Agriculture International**. v. 23, n. 6, p. 1-16, 2018. Disponível em: <<http://www.sciencedomain.org/abstract/25141>>. Acesso em 19 ago. 2019.

BONNASSIS, P. A. P. **Caracterização de isolados fúngicos ectomicorrízicos na promoção do crescimento e na colonização radicular de *Eucalyptus dunnii* Maiden**. Dissertação (Mestrado). Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, p. 73. 2007.

BONITO, G.; BRENNEMAN, T.; VILGALYS, R. Ectomycorrhizal fungal diversity in orchards of cultivated pecan (*Carya illinoensis*; Juglandaceae). **Mycorrhiza**, Berlin, v. 21, n. 7, p. 601-612, 2010.

BOUGHER, N.L.; GROVE, T.S.; MALAJCZUK, N. Growth and phosphorus acquisition of karri (*Eucalyptus diversicolor* B. Muell.) seedlings inoculated with ectomycorrhizal fungi in relation to phosphorus supply. **New Phytologist**, v.114, p.77-85, 1990.

BRADY N. C, WEIL R. R. Nutrient cycling and soil fertility, in: **Elements of Nature and Soil Properties**. Porto Alegre: Bookman, p. 437–499. 2013.

BRAGHIROLI, F. L. et al. Fungos micorrízicos arbusculares na recuperação de florestas ciliares e fixação de carbono no solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 36, n. 3, p. 733–744, jun. 2012.

BRAUNA, K. C. F. **Residual da adubação fosfatada e inoculação com azospirillum brasilense sobre a micorrização e a produtividade de culturas em sucessão**. Unesp, Ilha Solteira, 2016.

BRUNDRETT, M. C. et al. **Working with mycorrhizas in forestry and agriculture**. Canberra (Australia), ACIAR, 1996. 400 p.

BRUNDRETT, M.C. Coevolution of roots and mycorrhizas of land plants. **New Phytologist**, v.154, p.275-304, 2002.

BRUNETTO, G. et al. Frutíferas. **Manual de calagem e adubação**. Santa Maria: Palloti, 2016.

CAIRNEY, J. W. G. Evolution of mycorrhizal systems. **Naturwissenschaften**, v.87, p.467-475, 2000.

CALDEIRA, M. V. et al. Crescimento de leguminosas arbóreas em resposta a inoculação com fungos micorrízicos arbusculares. **Ciência Florestal**, v. 7, n. 1, p. 1-10, 1997.

CALDEIRA, M. V. et al. Efeito de fungos micorrízicos arbusculares no desenvolvimento de duas leguminosas arbóreas. **Ciência Florestal**, v. 9, n. 1, p. 63-70, 1999.

CALL, R. E.; GIBSON, R.; KILBY, M. W. **Pecan production guidelines for small orchards and home yards**. Tucson-AZ: College of Agriculture and Life Sciences. University of Arizona. 2006. 12 p. Disponível em: <<https://repository.arizona.edu/bitstream/handle/10150/144751/az1400-2006.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 22 set. 2019.

CASTELLANO, M. A.; MOLINA, R. Mycorrhizae. In: LANDIS, T. D.; TINUS, R. W.; McDONALD, S. E.; BARNETT, J. P. **The Container tree nursery manual Agriculture handbook 674**. Washington: US Department of Agriculture, Forest Service, v. 5, p. 101-167. 1989.

CASTELLANO, M. A.; TRAPPE, J. M.; LUOMA, D. L. Sequestrate Fungi. In: MUELLER, G. M.; BILLS, G. F.; FOSTER, M. S. (Ed.). Biodiversity of fungi. **Inventory and monitoring methods**. Boston: Elsevier, 2004. v. 1. p. 197-213.

CORDELL, D.; DRANGERT, J. O.; WHITE, S. The story of phosphorus: global food security and food for thought. **Global Environmental Change**, v. 19, p. 292-305, 2009. Disponível em <<http://dx.doi.org/10.1016/j.gloenvcha.2008.10.009>> Acesso em 17/04/2019.

CQFS-RS, SC – Comissão de Química e Fertilidade do Solo. **Manual de adubação e calagem para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina**, 11th edn. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Porto Alegre. 2016.

DEPARTAMENTO DE AGRICULTURA DOS ESTADOS UNIDOS (2009). **Censo agrícola**. Dados estaduais e municipais. USDA. Disponível em: <http://www.agcensus.usda.gov/Publications/2007/Full_Report/Census_by_State/Georgia/index.asp>. Acesso em 16 de ago. 2020.

DIVINUT. **DVD do Produtor Parceiro**. Conhecendo a Divinut – Orientação técnica, plantio e manejo da nogueira-pecã. Variedades. 1 CD-ROM. 2013.

DORESTE, P. Frutas Secas: nuez pecan. In: GONZÁLES, C.C. **Alimentos Argentinos**. Argentina: Secretaria de Agricultura. Ganadería y Pesca, 2011.

EMATER/RS. **Levantamento da pecanicultura comercial do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre, 2017. (Comunicação verbal Antônio Contes).

EMATER - RS. Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural, Rio Grande do Sul. 2019. Disponível em: <<http://www.emater.tche.br/site/>>. Acesso: 17 mar. 2021.

EMBRAPA. **Situação e Perspectiva da Nogueira-pecã no Brasil**. [s.l.: s.n.], 2018. Disponível em:

<<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/187187/1/documento-462.pdf>>. Acesso em 19 jun. 2020.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A. **Nutrição Mineral de Plantas: Princípios e Perspectivas**. 2ª ed. Londrina: Editora Planta, 2006.

FARIA, A. B. DE C. et al. USO DE ECTOMICORRIZAS NA BIORREMEDIAÇÃO FLORESTAL. **Ciência Florestal**, v. 27, n. 1, p. 21. 2017.

FERREIRA, E. B.; CAVALCANTI, P. P.; NOGUEIRA, D. A. ExpDes.pt: Pacote Experimental Designs (Portuguese). **R package version 1.2.0**. 2018. Disponível em: <<https://CRAN.R-project.org/package=ExpDes.pt>>. Acesso em: 20 mai. 2021.

FOWLER, A.J.P.; BIANCHETTI, A. Dormência em sementes florestais. **Colombo: Embrapa Florestas**, 2000. 27p. (Embrapa Florestas. Documentos, 40).

FRANK, A. B. **Über die aufwurzelymbiose beruhend. Ernährung gewisser Bäume durch unterirdiche**. Pilz. Ber.dt. Bot. Ges, v.3, p.128-145, 1885.

FRONZA, D.; POLETTO, T.; HAMANN, J. J. **O cultivo da noqueira-pecã**. Santa Maria: Colégio Politécnico, 2016.

FRONZA, D. et al. Pecan cultivation: general aspects. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 48, n. 2, p. 1-9, 2018. doi: 10.1590/0103-8478cr20170179.

FREIBERG, J. A. et al. Mycorrhization of pecans with European truffles (*Tuber* spp., *Tuberaceae*) under southern subtropical conditions. **Applied Soil Ecology**, v. 168, dez. 2021. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0929139321002304>>. Acesso em 08 jul. 2021.

GANDINI, A.M.M. et al. Growth and nutrition of eucalypt rooted cuttings promoted by ectomycorrhizal fungi in commercial nurseries. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.39, p.1554-1565, 2015.

GARCIA, K.; ZIMMERMANN, S. D. The role of mycorrhizal associations in plant potassium nutrition. **Frontiers in Plant Science**. 2014. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00337>.

GARDEA, A. A.; MARTÍNEZ-TÉLLEZ, M. A.; YAHIA, E. M. Pecan (*Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch.). In: Yahia EM (ed) **Postharvest biology and technology of tropical and subtropical fruits**. Woodhead Publishing Ltd, Cambridge pp 143–165, 2011.

GATTO, D.A. Características tecnológicas do vergamento das madeiras de *Luehea divaricata*, *Carya illinoensis* e *Platanus x acerifolia* como subsídio para o manejo florestal. 115f. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) -

Curso de Pós-graduação em Engenharia Florestal, Universidade Federal de Santa Maria, RS, 2006.

GE, Zai-Wei *et al.* Soil pH and mineral nutrients strongly influence truffles and other ectomycorrhizal fungi associated with commercial pecans (*Carya illinoensis*). **Plant and soil**, 2017.

GRAGEDA, J. G.; CASTILLO, A. A. F.; GASCÓN, B. V.; MORENO, J. H. N.; LAGUNES, A. J.; PALMA, R. S.; GARCÍA, E. U. El clima y la producción de nogal pecanero. In: SIMPOSIO INTERNACIONAL DE NOGAL PECANEIRO, 14., 2013, México. **Anais...** México: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, 2013. p. 55-66. Disponível em: <http://xxx.zohrabsamani.com/research_material/files/lnifabmemoria-2013.pdf#page=57>. Acesso em 29 ago. 2019.

GRAZZIOTTI, P. H.; SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S. Efeito do Zn, Cd e Cu no comportamento de fungos ectomicorrízicos em meio de cultura. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. V. 25, n. 10, p. 831-838, 2011.

GREBENC, T; KRAIGHER, H. Mudanças na comunidade de fungos MEC e aumento da renovação da raiz sob faia adulta cronicamente fumigada com concentração de ozônio em ambiente duplo. **Planta Biol**, 9: 279 – 287. 2007.

GRUPE, A. C. *et al.* *Tuber brennemanii* and *Tuber floridanum*: two new *Tuber* species (Pezizales, Ascomycota) are among the most commonly detected ectomycorrhizal taxa within commercial pecan (*Carya illinoensis*) orchards. **Mycologia**, New York, v. 110, n. 4, p. 780-790, 2018. doi: 10.1080/00275514.2018.1490121.

HAMANN, J. J. **Determinação do período de receptividade do estigma e liberação de pólen em cultivares de noqueira-pecã (*Carya illinoensis* K) cultivadas em Cachoeira do Sul e Santa Maria**. Dissertação (Pós-graduação em Agronomia) - UFSM, Santa Maria, 2018.

HEINRICH, P.A.; MULLIGAN, D.R.; PATRICK, J.W. The effect of ectomycorrhizas on the phosphorus and dry weight acquisition of *Eucalyptus* seedlings. **Plant and Soil**, v.109, p.147-149, 1988.

HOAGLAND D. R.; ARNON D. I. The water culture method for growing plants without soils. Berkeley, California **Agricultural Experimental Station**. 32p. (Circular, 347). 1950.

IBGE – **INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA**. Sistema IBGE de recuperação automática (SIDRA): banco de dados agregados. Sistema de produção da extração vegetal e da silvicultura. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/>>. Acesso em: 13 mai. 2019.

INC, Internacional Nut&Dried Frut. (2017-2018). **Global Statistical Review**. Antalya Turkey: 1-72.

INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGIA AGROPECUÁRIA. **Guía para la plantación y cuidado de árboles jóvenes de pecán**. Buenos Aires: Ediciones INTA, 2013.

JOHNSON, C. M.; ULRICH, A. **Analytical methods for use in plants analyses**. Los Angeles, University of California, 1959. V.766. p.32-33.

KARUNANITHI R. et al. Phosphorus recovery and reuse from waste streams **Advances in Agronomy** 131:173-250. 2015. <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2014.12.005>.

KASUYA, M. C.; COSTA, M. D.; ARAÚJO, E. F.; BORGES, A. C.; MENDONÇA, M. M. Ectomicorrizas no Brasil: biologia e nutrição de plantas. In: SIQUEIRA, J. O.; SOUZA, F. A.; CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M. **Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil**. Lavras: Editora UFLA. p. 153-214. 2010.

KOMINKO H.; GORAZDA K.; WZOREK Z. The Possibility of Organo-Mineral Fertilizer Production from Sewage Sludge. **Waste and Biomass Valorization**. 2017. 8:1781–1791. <https://doi.org/10.1007/s12649-016-9805-9>.

LATORRE, D. O. ARAÚJO, D. M.; CORRER, A. C. D.; GRANATO, M.; PEREZ, L. L.; IBRAHIM, F. N.; ALVEZ, E. Efeito da interação de glyphosate e fósforo sobre a cultura do milho. XXVII Congresso Brasileiro da Ciência das Plantas Daninhas, 321, Ribeirão Preto. **Anais...** Ribeirão Preto: XXVII CBCPD, P. 1517-1521, 2010.

LI T.; DI Z.; ISLAM E.; JIANG H., YANG X. Rhizosphere characteristics of zinc hyperaccumulator *Sedum alfredii* involved in zinc accumulation. **Journal of Hazardous Materials**. 2011. 185: 818-823.

LI X.; CHEN, B.; FENG G.; CHRISTIE P. Role of arbuscular mycorrhizal fungi in alleviation of Zn phytotoxicity and mineral nutrition of host plants. In 17th **WCSS**, Thailand. 2002.

LOPES, E.S. Micorrizas: Produção de inoculo e Inoculação. In: **REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS**, 1985, Lavras-MG. (Programa Resumos), Lavras, ESAL-FAEPE-CAPEL, p. 28. 1986.

MADERO, E. R.; FRUSSO, E. A.; BRUNO, N. R. **Desarrollo del cultivo de la nuez pecan en la Argentina**. ProPecan. Argentina: INTA, 2012.

MARSCHNER, H.; DELL, B. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. **Plant and Soil**, 159(1), 89–102. 1994. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/BF00000098>>. Acesso em: 11 ago. 2020.

MARTINS, C. R. *et al.* Noz Pecan, a rainha dos frutos secos. Pelotas. **Hortifruti**. Campo e negócios, 2017.

MARTINS, C. R. et al. Informe Técnico: Noz-pecã Panorama Mundial. **Campo e Negócios**. out. 2019. Disponível em:

<<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/1114158/1/NozpecaPanoramaMundial.pdf>>. Acesso em: 4 jun. 2021.

MCWILLIAMS, J. **The pecan**: A history of America's native nut. Austin: Hardcover, p. 178, 2013.

MIRANSARI, M. Arbuscular mycorrhizal fungi and uptake of nutrients. In **Symbiotic Endophytes** (Vol. 37, pp. 253–270). 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/978-3-642-39317-4_13>. Acesso em 08 de mai. 2021.

MOREIRA, F. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2. ed. Lavras: Ed. da UFLA, 2006.

MURRIETA, A. L. La germinación prematura de la nuez pecanera (viviparidad). In: XIII SIMPOSIO INTERNACIONAL DE NOGAL PECANERO. **Anais...** Sonora: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. p. 58-66. 2012.

NOGUEIRA, M. A.; NEHLS, U.; HAMPP, R.; PORALLA, K.; CARDOSO, E. J. B. N. Mycorrhiza and soil bacteria influence extractable iron and manganese in soil and uptake by soybean. **Plant and Soil**, 298(1–2), 273–284. 2007. <https://doi.org/10.1007/s11104-007-9379-1>.

NOVAIS, R. F.; SMYTH, T. J. **Fósforo em solos e planta em condições tropicais**. Viçosa, MG: UFV, p. 399. 1999.

OJEDA-BARROS. D.L. et al. Evolución de los sistemas de producción de nuez em México. **Tecnociencia**, Chihuahua, v. 3, n. 3, p. 115-120, set. /dez.2009.

PEGLER, D. N.; SPOONER, B. M.; YOUNG, T. W. K. **British truffles**: a revision of british hypogeous fungi. London: Kew Publishing: p. 216, 1993.

PEYRONEL, B. et al. Technology of micorrhiza. **Mycologia**, Oregon, v. 61, n. 1, p. 410-411, 1969.

POLETTTO, T. et al. Análise de características dos frutos de cultivares de noqueira-pecã cultivadas no Rio Grande do Sul. 2012. In: XVI SIMPOSIO DE ENSINO, PESQUISA E EXTENÇÃO. **Anais...** Santa Maria: UNIFRA, 2012.

POLETTTO, T.; MUNIZ, M. F. B.; BAGGIOTTO, C.; CECONI, D. E.; POLETTTO, I. Fungos associados às flores e sementes da noqueira-pecã (*Carya illinoensis*). **Revista de Ciências Ambientais**, v. 8, n. 1, Canoas, p. 5-13, 2014.

POLETTTO, T. et al. Propagação de noz-pecã: massa de semente como uma ferramenta confiável para seleção de sementes. **Horticulturae**, v. 4, p. 26, 2018.

POLETTTO, T. et al. Superação de dormência e qualidade de mudas de noqueira-pecã *Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch em viveiros. **Ciência Rural**, v.46, n. 11, p.1980-1985, 2016. Disponível em: Acesso em: 23 mar. 2019.

PRADO R. M. **Nutrição de Plantas**, 2ª. ed., São Paulo: Unesp 414 p, 2020.

PRADO, R. M.; VALE, D. W.; ROMUALDO, L. M. Fósforo na nutrição e produção de mudas de maracujazeiro. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 27, n. 03, p. 493-498, 2005.

RASEIRA, A. A Cultura da Nogueira Pecã. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**, Pelotas, p. 1-3, abr. 1990. Disponível em: <www.infoteca.cnptia.embrapa.br>. Acesso em: 22 mar. 2019.

R Core Team. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2019. Disponível em: <www.R-project.org/> Acesso em: 20 mai. 2021.

RECKZIEGEL, P. **Efeitos benéficos do extrato das cascas de noz pecã (*Carya illinoensis*) sobre parâmetros bioquímicos e comportamentais de camundongos expostos ao fumo passivo**. 2011. 96 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2011.

REIS, E. R. et al. Período de Permanência de mudas de *Eucalyptus grandis* em viveiro baseado em parâmetros morfológicos. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 32, p. 809-814, 2008.

RIETH, S.; **DESINFESTAÇÃO DE SUBSTRATOS E FUNGOS MICORRÍZICOS NA PRODUÇÃO DE PORTA-ENXERTO DE CITROS**. [s.l.], mar. 2012. Disponível em: <<https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/60479/000851222.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 15 jun. 2021.

ROVANI, F. F. M.; WOLLMANN, C. A.; MONTEIRO, A. Exigências bioclimáticas e riscos climáticos ao cultivo da noqueira pecã (*Carya illinoensis*) no Rio Grande do Sul, Brasil. In: X CONGRESSO DA GEOGRAFIA PORTUGUESA OS VALORES DA GEOGRAFIA, 2015, Lisboa. **Atas** [...]. [S. l.]: Associação Portuguesa de Geógrafos, 2015.

SANTOS, D. R.; GATIBONI, L. C.; KAMINSKI, J. Fatores que afetam a disponibilidade do fósforo e o manejo da adubação fosfatada em solos sob sistema plantio direto. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 2, p. 576-586, 2008.

SANTOS, W. **ECOFISIOLOGIA DO FUNGO ECTOMICORRÍZICO *Pisoliyhus tinctorius* E DA ASSOCIAÇÃO *P. tinctorius*-*E. grandis* SOB ESTRESSE POR CÁDMIO**. [s.l.], 2016. Disponível em: <<https://repositorio.uvv.br/bitstream/123456789/471/1/TESE%20FINAL%20DE%20WOLMEN%20OLIVEIRA%20DOS%20SANTOS.pdf>>. Acesso em: 14 jun. 2021.

SILVA, F.C. (Org.). **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Brasília: Embrapa SCT; Embrapa CNPS; Embrapa CNPTIA, 1999. 370p.

SILVA, R. et al. OCORRÊNCIA DE FUNGOS MICORRÍZICOS EM ESPÉCIES FLORESTAIS NA REGIÃO CENTRAL DO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL. **Current Agricultural Science and Technology**, v. 15, n. 1-4, 2009.

SILVA, R. F et al. Produção de mudas de *Eucalyptus grandis* em substrato orgânico alternativo. **Ciência Florestal**, v. 24, n. 3, p. 609-619, 2014.

SILVA, R. F. **UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DO SOLO TOLERÂNCIA DE ESPÉCIES FLORESTAIS ARBÓREAS E FUNGOS ECTOMICORRÍZICOS AO COBRE**. [s.l.], 2007. Disponível em: <<https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/3305/RODRIGO%20DA%20SILVA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 24 fev. 2021.

SIQUEIRA, J. O.; FRANCO, A. A. 1988. **Biotecnologia do solo: fundamentos e perspectivas**. Brasília: MEC/ABEAS/ESAL/FAEPE, 236p.

SMITH, S. E.; READ, D. J. **Mycorrhizal symbiosis**. London: Academic, 1997. 605p.

SMITH, S. E.; READ, D. J. **Mycorrhizal symbiosis**. 3th ed. San Diego: Academic Press, 2008. 787 p.

SOARES, I.; BORGES, A.C.; BARROS, N.F.; BELLEI, M.M. Níveis de fósforo na formação de ectomicorizas em mudas de eucalipto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.14, p.327-332, 1990.

SOUZA, E. L. et al. EFEITO DA INOCULAÇÃO COM ISOLADOS DE FUNGOS ECTOMICORRÍZICOS SOBRE O DESENVOLVIMENTO DE MUDAS DE *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden EFFECT OF ECTOMYCORRHIZAL FUNGI ISOLATES INOCULATION IN *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden SEEDLINGS DEVELOPMENT. **Ciência Florestal**, v. 22, n. 2, p. 251–261, 2012.

SOUZA, L. A. B.; SILVA FILHO, G.N.; OLIVEIRA, V. L. de. Eficiência de fungos ectomicorrízicos na absorção de fósforo e na promoção de crescimento de eucalipto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. 2004.

SOUZA, V. C. de *et al.* Estudos sobre Fungos Micorrízicos. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 10, n. 3, p. 612-618, 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbeaa/v10n3/v10n3a11>. Acesso em: 25 mar. 2019.

STELLA, A. L. S.; LUCHESE, O. A. **Avaliação da bibliografia livre como subsídio aos sistemas de cultivo de nogueira-pecã (*Carya illinoensis* (Wangenh) K. Koch)**. In: Salão do Conhecimento, ago. 2015, Ijuí. Anais. Ijuí: UNIJUÍ, 2015. Disponível em: <<https://publicacoeseventos.unijui.edu.br/index.php/salaconhecimento/article/view/4-977>>. Acesso em 18 set. 2019.

SULZBACHER, M. A. **Fungos Ectomicorrízicos do Sul do Brasil, com Ênfase no Habito Hipógeo**. 2010. Dissertação (Pós-graduação em Ciência do Solo) - UFSM, Santa Maria, 2010.

SULZBACHER, M. A. et al. Ectomycorrhizal fungi from southern Brazil – a literature-based review, their origin and potential hosts. **Mycosphere**, China, v. 4, n. 1, p. 61-95, 2013.

SULZBACHER, M.A., Grebenc, T., García, M.Á., Silva, B.D., Silveira, A., Antonioli, Z.I., Marinho, P., Münzenberger, B., Telleria, M.T., Baseia, I.G., Martín, M.P. Molecular and morphological analyses confirm *Rhizopogon verii* as a widely distributed ectomycorrhizal false truffle in Europe, and its presence in South America. **Mycorrhiza** 26, 377–388. 2016. Disponível em <doi.org/10.1007/s00572-015-0678-8> Acesso em 20/05/2021.

SULZBACHER, M. A. *et al.* Hypogeous sequestrate fungi in South America - how well do we know them? **Symbiosis**, Florida, v. 71, n. 1, p. 9-17, 2017. doi: 10.1007/s13199-016-0461-4.

SULZBACHER M. A. et al. Fungos ectomicorrízicos em plantações de noqueira-pecã e o potencial da truficultura no Brasil. **Cienc. Florest.** , 29, pp. 975 - 987. 2019.

TEDERSOO, L.; MAY, T. W.; SMITH, M. E. Ectomycorrhizal lifestyle in fungi: global diversity, distribution, and evolution of phylogenetic lineages. **Mycorrhiza**, Berlin, v. 20, n. 4, p. 217-263, 2010.

TORRES, A. A. Micorrizas: antigua interacción entre plantas y hongos. **Revista Ciencia**, 84-90, 2010.

VAN DER HEIJDEN, M. G. A. et al. Mycorrhizal ecology and evolution: the past, the present, and the future. **Ney Phytologist**, United Kingdom, v. 205, n. 4, p. 1406-1423, 2015.

VIEIRA, R. F.; PERES, J. R. R. Fungos ectomicorrízicos para *Pinus* spp. cultivados em solos sob vegetação de cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.14, n.1, p.33-39, 1990.

WANG, B; QIU, Y. L. Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants. **Mycorrhiza**. 16: 299-363, 2006.

WELLS, L. **Southeastern pecan growers' handbook**. Georgia: University of Georgia, p. 236. 2013.

WHITE, T.; BRUNS, T.; LEE, S. & TAYLOR, J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: INNIS, M.A.; GELFAND, D.H.J.J.; SNINSKY, J.J. & WITHE, T.J. PCR Protocols: A guide to methods and applications. New York, **Academic Press**, p. 315-322. 2009.

WINAGRASK, E. **Variação na presença de ectomicorrizas em serapilheira de Pinus taeda submetido a teste de omissão de nutrientes em Jaguariaíva, PR.** XXXIV CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, Santa Catarina, p. 1-4, 28 jun. 2013. Disponível em: <<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/968535/1/CelsoACBCSVariacaoEctomicorrizas.pdf>>. Acesso em: 14 jun. 2021.

WOODROOF, N. **Pecan mycorrhizae.** Ga Exp Sta Bull 178: 1–26, 1933.
ZAMBOLIM, L., SIQUEIRA, J.O. **Importância e Potencial das Associações Micorrizicas para a Agricultura.** Belo Horizonte: EPAMIG, 36 p. Série Documentos, 26. 1985.