Silva Lusitana ***11****(1): 21 - 29, 2003*
© EFN, Lisboa. Portugal

Contribuição para o Conhecimento das Relações *Quercus suber – Biscogniauxia mediterranea* (syn. *Hypoxilon mediterraneum*)

Maria Natércia de Sousa Santos
Investigadora Principal c/habilitação
Estação Florestal Nacional. Departamento de Protecção Florestal. Quinta do Marquês, Av. da República, 2780-159 OEIRAS

Sumário. *Biscogniauxia mediterranea* (de Not) Kuntze, agente causal da doença designada por "carvão do entrecasco", está largamente disseminada em toda a região mediterrânea, incidindo em várias espécies florestais, principalmente em espécies do género *Quercus*. Apesar da estreita associação entre este agente e o declínio do montado de sobro, têm vindo a ser levantadas dúvidas quanto ao tipo de relações entre este fungo e o seu hospedeiro preferido, o sobreiro. Tendo como objectivo contribuir para uma melhor compreensão da situação, efectuou-se uma reavaliação dos dados disponíveis relativamente ao quadro sintomatológico das árvores afectadas, micoflora associada a árvores em diferentes fase de declínio e testes de patogenicidade, concluindo-se que *B. mediterranea* apresenta um comportamento predominantemente saprofítico.
Palavras-chave: sobreiro; declínio; *Biscogniauxia mediterranea*

Abstract. *Biscogniauxia mediterranea* (de Not). Kuntze, the causal agent of the well-known charcoal disease, is widely spread in mediterranean region affecting mainly several *Quercus* species. In spite of its close association with cork oak stand decline, several discordant opinions have been put forward regarding the relationships between this fungus and its preferred host - the cork oak.

An appraisal of the available data on this subject was done, having as main goal to elucidate some aspects of the symptomatology patterns, mycoflora associated with trees in different decline phases and fungus pathogenicity. A general analysis of the results achieved, points to the conclusion that *B. mediterranea* behaves mainly as saprophyte.
Key-words: cork oak; decline; *Biscogniauxia mediterranea*

Résumé. *Biscogniauxia mediterranea* (de Not) Kuntze, l'agent de la maladie «charbon du chêne liège» se trouve répandue dans toute la région méditerranéenne surtout sur les espèces du genre *Quercus*. Malgré la constatation d'une forte corrélation entre la maladie et le dépérissement des peuplements, différentes opinions ont été posées sur les relations entre le champignon et son hôte préféré - le chêne liège. Pour une meilleure compréhension de ce sujet, cet article fait la synthèse des resultats obtenus sur la symptomatologie des arbres affectés, la mycoflore associée aux arbres sous différents phases de déclin et la pathogenicité du champignon. L'analyse effectuée montre que *Biscogniauxia mediterranea* présente un comportement saprophytique prédominant.
Mots clés: Chêne liège; dépérissement; *Biscogniauxia mediterranea*

E-mail: natercia.santos@efn.com.pt

Introdução

B. mediterranea, detectada pela primeira vez em Portugal por CÂMARA (1930), incide em várias espécies florestais em fases adiantadas de declínio (BARBOSA, 1958) tendo, no entanto, uma forte incidência em espécies do género *Quercus* entre as quais se inclui o sobreiro.

A importância económica, social e ecológica do montado de sobro, principalmente em países da Bacia Mediterrânica, a elevada associação do fungo a povoamentos muito degradados e os exuberantes sinais que desenvolve nos hospedeiros, levou a que vários autores elegessem *B. mediterranea* como um dos factores com maior impacte na degradação deste ecossistema (AZEVEDO, 1958; AZEVEDO e MACARA, 1963; BARBOSA, 1958; TORRES, 1985). Contudo, novos estudos implementados nas duas últimas décadas sobre as relações fungo-hospedeiro vieram reforçar as dúvidas já anteriormente colocadas, por um lado, porque os resultados dos testes de patogenicidade não são claros sendo passíveis de diferentes interpretações e por outro, porque os métodos e critérios de avaliação usados não são uniformes. Nesta comunicação faz-se uma reavaliação do conhecimento sobre esta matéria, procurando seleccionar resultados que constituam avanços na interpretação do fenómeno e enquadrar esta situação pontual no contexto geral da patologia do sobreiro.

Tipos de sindromas e associação com a incidência de *B. mediterranea*

Têm sido observados dois tipos fundamentais de sindroma. O mais frequente caracteriza-se pela intensificação progressiva de um conjunto de sintomas reveladores do enfraquecimento, durante um período de tempo variável (mas quase sempre longo) e que, por norma, termina com a morte das árvores (MACARA, 1975; MALENÇON e MARION, 1951; TORRES, 1985). Outro tipo, frequentemente designado por "morte súbita", caracteriza-se, em termos gerais, pelo colapso de árvores aparentemente sãs num período de tempo muito curto. Neste último caso não tem sido observada a presença de *B. mediterranea*, contrariamente ao que se tem verificado no primeiro caso em que o fungo se encontra associado a cerca de 40% das árvores em fase muito avançada de declínio apresentando graus de desfolha entre 80-100% (SANTOS e MARTINS, 1992).

Uma apreciação da bibliografia disponível sobre os sintomas observados em árvores afectadas por enfraquecimento progressivo, mostra que são, de modo geral, semelhantes aos descritos para grande parte das Quercíneas (BARBOSA, 1958; VANNINI, 1990, 1992). Um dos sintomas que tem sido referido como o primeiro sintoma externo da actividade do fungo é a presença de manchas localizadas no tronco e ramos situados ao nível de tecidos subjacentes em degenerescência ou mortos e que exsudam um líquido viscoso (AZEVEDO, 1958; MALENÇON e MARION, 1952). O mesmo fenómeno tem contudo, sido observado noutras espécies florestais como o choupo (AFOCEL, 1981; CELLERINO, 1982; NAIDENOV, 1984) sendo atribuídas a desequilíbrio fisiológico causado por factores abióticos e práticas culturais erradas. Outras causas deste sintoma são também referidas: ataques de escolitídeos em *Fagus* sp. (KOWALSKI, 1991);

presença de *Platypus cylindrus* F. em sobreiro (SOUSA, 1993); perturbações no sistema radicular, nomeadamente os relacionados com a incidência de *Phytophthora cinnamomi* Rands (BRASIER, 1992). Por outro lado, verifica-se uma estreita associação entre a frequência deste tipo de manchas e a incidência de factores abióticos desfavoráveis como a seca prolongada (DAVID *et al.,* 1992), deficiência de teores de macro e micronutrientes (JACOBS *et al.,* 1992; SOUSA *et al.,* 1999, 2000) e a exposição das árvores a radiação solar intensa (SANTOS e MARTINS, 1992; DINIZ, 1989; TAVARES e CABRITA, 1990; BELISÁRIO et *al.,* 1992). Em conclusão, este sintoma tem sido observado em várias espécies florestais apontando-se como causas factores de stresse bióticos e abióticos diversos. Será que *B. mediterranea* se inclui neste grupo de factores? Não há uma resposta clara para esta questão mas há contudo uma certeza - este sintoma, tal como outros que lhe estão associados (descoloração e rarefacção na copa, seca dos ramos terminais e desenvolvimento de ramos epicórmicos, presença de manchas com exsudação no tronco e ramos) não são específicos da actividade de *B. mediterranea.*

Micoflora associada ao declínio do sobreiro

Desde o final do século XIX que têm vindo a ser noticiados vários surtos de mortalidade do sobreiro em Portugal, por norma, na sequência de longos períodos de seca (CABRAL e SARDINHA, 1992; DAVID *et al.*, 1992). Entre os vários factores que têm sido referidos como causas da mortalidade observada, encontram-se vários fungos considerados agentes aceleradores de declínio, num processo de contornos mal definidos, mas que se crê ser desencadeado pela destabilização fisiológica das árvores previamente sujeitas a múltiplos factores de stresse (AGOSTEO e GRANATA, 1992; AZEVEDO, 1958, 1970-1971, 1971; BARBOSA, 1958 BRASIER, 1993; COBOS, 1992; JACOBS *et al.,* 1992; MACARA, 1975; MARRAS *et al.,* 1992a, 1992b, 1992c; RAGAZZI *et al.*, 1995; SECHI *et al.*, 2002).

Sobretudo a partir da década de oitenta, a investigação no âmbito da Patologia, procura ao abordar as diferentes situações, considerar as interacções que se estabelecem entre as diferentes populações que coabitam um determinado espaço e que necessariamente constituem condicionantes no comportamento do binómio hospedeiro - - patogénio. No caso do sobreiro foi verificado, através do estudo da micoflora do tronco e ramos, que a grande maioria das populações apontadas como patogénicas têm carácter endofítico, permanecendo em estado latente nos tecidos sãos e aguardando que outros factores desfavoráveis actuem reduzindo a capacidade de defesa dos hospedeiros, criando assim, as condições propícias ao seu desenvolvimento. Entre o elevado número de populações simultaneamente isoladas de tecidos sãos e afectados do tronco e ramos, contam-se as consideradas como potenciais patogénios: *Fusarium* spp.; *Ophyostoma* spp.; *Endothiella gyrosa* Sacc.; *Diplodia mutila* Fr. apu Mont.; *Corineum modomium* (Tul.) Griff. & Maube; *Biscogniauxia mediterranea,*). Embora este tipo de populações não apresente diferenças em termos qualitativos quando colhidas em tecidos sãos e doentes, a sua frequência de ocorrência é significativamente mais elevada sempre que os isolados são provenientes de tecidos em degenerescência ou mortos, verificando-

-se também que a frequência de populações do género *Ophiostoma, E. gyrosa* e *D. mutila* é mais elevada que a de *B. mediterranea* (SANTOS, 1992). O mesmo tipo de resultados foi, em termos gerais, também referido para outras espécies de *Quercus* por BELIZÁRIO *et al*. (1992) e para o sobreiro por FRANCHESCHINI (2002), mas neste último caso é salientado que o fungo isolado com maior frequência è *B. mediterranea*.

Recentemente MAZZAGLIA *et al.* (2001) divulgaram uma técnica de PCR específica para a detecção de *B. mediterranea* em fase latente, o que constitui um avanço importante tendo em consideração que o isolamento, por métodos tradicionais, a partir dos tecidos é bastante falível dadas as limitações que apresenta, particularmente fenómenos de competitividade entre populações e uso de substratos que não são favoráveis ao desenvolvimento de todas as componentes da micoflora.

Uma apreciação global mostra assim que a presença simultânea de várias populações de agentes patogénicos torna difícil uma avaliação fidedigna sobre a contribuição de cada um destes agentes no processo evolutivo de enfraquecimento e morte das árvores. Para além destes agentes acrescem outros de observação e isolamento ainda mais dificeis como espécies dos géneros *Armillaria* e *Phytophthora,* principalmente *A. Mellea* (Fr.) Kummer e *P. cinnamomi* que são, comprovadamente, patogénicas para o sobreiro (AZEVEDO, 1970-1971; BRASIER, 1996). Uma observação sobre a sequência de sinais exteriores destes fungos nas árvores mostra que de modo geral, *B. mediterranea* é o último desta sequência a evidenciar-se e já numa fase adiantada de declínio (SANTOS e MARTINS, 1992), o que indica que muito provavelmente este agente não terá uma forte contribuição durante o período de tempo (normalmente longo) que decorre entre a detecção dos primeiros sintomas de enfraquecimento e a morte dos indivíduos afectados.

Testes de patogenicidade:
***B. mediterranea* - sobreiro**

A bibliografia disponível sobre as relações *B. mediterranea*-sobreiro tem, por norma, origem em países onde o montado de sobro tem representatividade e se assume de fundamental importância social, ecológica e económica.

A primeira referência sobre este tipo de ensaios foi efectuada por OLIVEIRA (1931) na sequência de fortes surtos de mortalidade observados em montados de sobro e relativamente ao "carvão do entrecasco" e à "ferrugem do entrecasco" (agente causal - *Endothiella gyrosa* Sacc.*)*. Face aos dados alietórios obtidos, o mesmo autor concluiu e passamos a citar: "os resultados até agora obtidos com o carvão do entrecasco são irregulares, sem mesmo podermos decidir se a *Nummularia regia* (de Not.) Sacc. (syn. *Biscogniauxia mediterranea*) é um verdadeiro parasita ou um simples saprófita que, em determinadas condições de enfraquecimento das árvores adquire uma virulência capaz de se tornar num parasita facultativo". Relativamente a *E. gyrosa,* este autor refere ainda: "a estirpe que mantemos em cultura e que isolámos de sobreiro com ferrugem do entrecasco da Mata das Virtudes, é de um parasita verdadeiro", assinalando que a morte do sobreiro se deve principalmente a este fungo. Posteriormente, BARBOSA (1958) assinala o insucesso de testes de patogenicidade relativamente a *B. mediterrânea,* atribuindo este insucesso ao facto das

árvores testadas não terem atingido o nível crítico de stresse. Por outro lado, AZEVEDO e MACARA (1963) dão como positivas as inoculações efectuadas em plantas previamente sujeitas a stresse hídrico, baseando esta decisão na ocorrência de um "estroma" mas referindo a ausência de frutificações do fungo. A este propósito convém salientar que o tipo de estroma que se gera na sequência da actividade *de B. mediterranea* possui características morfológicas e estruturais específicas contendo peritecas do fungo (BARBOSA, 1958; VANNINI, 1992). Assim, no nosso entender, apenas este tipo de estroma deverá ser considerado na avaliação do sucesso de inoculações experimentais. Ainda em relação a este tipo de ensaios, foram efectuadas inoculações em árvores adultas no campo (SANTOS, 1992) e em árvores com três anos de idade em condições de estufa (SANTOS, 1997a). No primeiro caso, as inoculações foram realizadas em zonas do tronco que apresentavam o entrecasco vivo e em zonas com entrecasco morto, tendo sido verificado que, embora se tivesse obtido o reisolamento do fungo num e noutro caso, só se observou o desenvolvimento progressivo de um estroma típico do fungo no entrecasco morto (ou em degenerescência evidente). No segundo caso, em que foram simultaneamente efectuadas inoculações em árvores sujeitas e não sujeitas a stresse hídrico e ainda em ramos das mesmas árvores, destacados da árvore um mês antes da inoculação, constatou-se a formação de estroma apenas nos ramos destacados. No caso de tecidos vivos, observa-se de facto, a formação de manchas enegrecidas (semelhantes ao estroma típico do fungo apenas no que respeita à cor) que ultrapassam, no sentido longitudinal, em 1-2 cm o ponto de contacto do inóculo, o que sugere que o fungo tem desenvolvimento limitado. Em todos os casos foram consideradas como inoculações positivas as que deram origem a um estroma característico de *B. mediterranea*. Mais recentemente num trabalho que incluiu testes de patogenicidade de 34 espécies de fungos em sobreiro, entre as quais *B. mediterrânea*, foi verificado que apenas 3 destas espécies (*Botryosphaeria stevensii*, telemorfo de *Diplodia mutila*, Phomopsis sp., *Phytophtora cinnamomi*) causam a morte das plantas inoculadas (LUQUE *et al.*, 2000). É assim legítimo concluir que o fungo não necessita de tecidos vivos para se desenvolver e que, mesmo sem se poder afirmar que é estritamente saprófita, tem seguramente um comportamento saprofítico predominante. Esta situação é semelhante à verificada no sistema choupo - *Cytospora crysosperma*.(Pers.) Fr. De facto, este fungo é frequentemente assinalado como patogénico para o choupo e está fortemente associado a árvores na última fase de declínio ou mortas e a ramos no solo (a maioria das vezes provenientes de podas) e constitui um dos fungos da sucessão de colonizadores de zonas do tronco e ramos de árvores previamente afectadas por *Discosporium populeum* (Sacc.) Sutton. (SANTOS, 1997b). Também neste caso foi verificado que apenas se obtiveram inoculações positivas em zonas do tronco previamente mortas por *D. populeum.*

Conclusões

Relativamente ao tipo de sintomas geralmente observados e apontados como efeito da actividade de *B. mediterranea,* verifica-se que coincidem, em grande parte, com os atribuídos a

outros factores desfavoráveis de carácter biótico e abiótico, quer em relação ao sobreiro quer para outras espécies florestais, pelo que não é legítimo inferir, para o caso do sobreiro, que são estritamente causadas por *B. mediterrânea*.

Os estudos sobre a micoflora do sobreiro revelam que várias populações conotadas como patogénicas para ocorrem simultaneamente com carácter endofitico nos tecidos do tronco e ramos vindo posteriormente, algumas delas, a expressar-se externamente com sinais evidentes sobre o hospedeiro. Este facto gera uma situação complexa de contornos mal definidos que retira credibilidade a diagnósticos etiológicos fidedignos. Também neste caso, não se nos afigura possível estabelecer uma relação simples e directa entre a incidência de *B. mediterranea* e o enfraquecimento e morte das árvores afectadas.

Em relação a testes de patogenicidade, uma revisão dos resultados alcançados através de ensaios conduzidos em condições de estufa e de campo, usando respectivamente árvores jovens e adultas revelam três tipos de situações: a grande maioria dos resultados não são conclusivos por falharem a reprodução de sintomas e desenvolvimento de estruturas do fungo; noutros casos francamente minoritários em que os resultados são referidos como positivos não tiveram como suporte de decisão uma constatação inequívoca de sinais específicos da micose; ainda noutros casos, também minoritários, em que a interpretação dos resultados se baseia no cumprimento de exigências relacionadas com a especificidade de sintomas e de sinais, as conclusões apontam no sentido de que *B. mediterranea* tem um comportamento prevalentemente saprofítico.

B. mediterranea ocorre em estreita associação com o sobreiro em árvores em fase muito adiantada de declínio ou mortas e ainda em despojos no solo, desenvolvendo (contrariamente ao que se observa para outros fungos patogénicos) sinais muito evidentes facilmente detectáveis, o que concentrou a atenção de vários agentes com interesses diversificados no montado de sobro. Acresce ainda que os surtos de mortalidade que se têm verificado ao longo do tempo sem uma explicação única e convincente, moldaram, e moldam ainda, opiniões baseadas no que se afigurava aparentemente mais provável - o grande impacte do fungo no processo de declínio. Contudo, uma reflexão atenta sobre os resultados obtidos mostra que não há suporte científico para legitimar este tipo de opinião se bem que, também não possamos concluir que *B. mediterranea* é estritamente saprófita, já que, a ausência de provas inequívocas da sua patogenicidade poderá ter resultado de prováveis falhas (não detectáveis ou difíceis de detectar) na reunião de condições favoráveis à expressão dessa patogenicidade.

Bibliografia

AFOCEL, 1981. *Les Maladies du Peuplier. Société d'Exploitation de l'Imprimerie COUESNON*. Champagne-sur–Seine, France, 196 pp.

AGOSTEO, G., GRANATA, E., 1992. Fungi associated with declined oaks in Sicily and Calabria. In *Proceedings of an International Congress Recent Advances in Studies on Oak Decline*. Selva di Fasano (Brindisi) Italy, pp. 71-75.

AZEVEDO, N.F.S., 1958. O carvão do entrecasco do sobreiro. *Publicações dos Serviços Florestais e Aquícolas* 25 : 159-179.

AZEVEDO, N.F.S., MACARA, A.M., 1963. *Quelques observations sur la patogenicité du «charbon du liège»*. FAO/SCM/LG/63. Annexe IV.

AZEVEDO, N.F.S., 1970-1971. Acerca da *Armillaria mellea* Fr.) Kmmer. Inoculações experimentais em *Cryptomeria japónica* (L. F.) de. Don e *Quercus suber* L. *Boletim da Sociedade Portuguesa de Ciências Naturais* XIII : 39-50.

BARBOSA, M.A., 1958. O carvão do entrecasco *Hypoxylon mediterraneum* (de Not.) Ces. et de Not. Contribuição para o seu estudo. Publicações da *Direcção Geral dos Serviços Florestais e Aquícolas* **XXV** : 93-132.

BELIZARIO, A., MOTTA, E., BIOCCA, M., 1992. Occurrence and role of exsudations in turkey oak in Central Italy. In *Proceedings of an International Congress Recent Advances in Studies on Oak Decline*. Selva di Fasano (Brindisi) Italy, pp. 149-154.

BRASIER, C., MOREIRA, A.C., FERRAZ, J.P.F., KIRK, S., 1992. High mortality in Portugal associated with *Phytophthora cinnamomi*. In *Proceedings of an International Congress Recent Advances in Studies on Oak Decline*. Selva di Fasano (Brindisi) Italy, pp. 461-462.

BRASIER, C.M., ROBREDO, F., FERRAZ, J.P.F., 1993. Evidence for *Phytophthora cinnamomi* involvement in iberian oak decline. *Plant Pathology* 42 : 140-145.

BRASIER, C.M., 1996. *Phytophthora cinnamomi* and oak decline in southern Europe. Environmental constraints including climate change. *Annales des Sciences Forestières* **53** : 347-358.

CABRAL, M.T., SARDINHA, R.M.A., 1992. Perspectiva integrada do declínio dos montados de sobro alentejanos. In *Actas do II Encontro sobre os Montados de sobro e azinho*. Évora, pp. 211-231

CÂMARA, M.S., 1930. Contributions ad Mycoflorum Lusitaniae Centuriae VIII. In *IX Anais do Instituto Superior de Agronomia* **3** : 84

CELLERINO J.P., 1982. Situation sanitaire des salicaceae en Italy. *Session du Groupe de d'Étude sur les Maladies du Peuplier*. FAO/CIP. Casale Monferrato, Italie (mimeog.)

COBOS, J.M., MONTOYA, R., TUSET, J.J., 1992. New damages to the oak woodlands in Spain. Preliminary evaluation of the possible implication of *Phytophthora cinnamomi*. *In Proceedings of an Internacional Congress Recent Advances in Studies on Oak Decline*. Selva di Fasano (Brindisi) Italy, pp. 163-169.

DAVID, T.S., CABRAL, M.T., SARDINHA, R.M.A., 1992. A mortalidade dos sobreiros e a seca. *Finisterra* **27** : 17-24.

DINIZ, A.C., 1989. Relatório do sub projecto 2. Projecto "*Determinação das Causas da Morte do Sobreiro na Região Alentejana*". EFN, Lisboa

FRANCHESCHINI, A., MADDAU, L., MARRAS, F., 2002. Incidence d'endophytes fongiques impliqués dans le dépérissement du chêne – liège. *Comptes Rendus de la Réunion de l'OILB Protection Intégré des Forêts de Chênes*. Oeiras, Portugal, pp. 29-36

JACOBS, K.A., ALVAREZ, I.F., LUQUE, J., 1992. Association of soil, site and stand with decline of *Quercus suber* in Catalonia, Spain. In *Proceedings of an International Congress Recent Advances in Studies on Oak Decline*. Selva di Fasano (Brindisi) Italy, pp.193-203.

KOWALSKI, T., 1991. Oak decline, fungi associated with various disease symptoms on overground portions of midlle aged and old oak. *European Journal of Forest Pathology* **21** : 136-214

LUQUE, J., PARLADE, J., PERA, J., 2000. Pathogenicity of fungi isolated from *Quercus suber* in Catalonia (NE Spain). *Forest Pathology* **30** : 247-263

MACARA, A.M., 1974. Acerca da avaliação das enfermidades do sobreiro em 1973. *Boletim do Instituto dos Produtos Florestais-Cortiça* nº 429. Lisboa

MACARA, A.M., 1975. Estimativa em 1975 dos prejuízos causados pelas principais doenças do sobreiro num montado da região ribatejana. Boletim do Instituto dos Podutos Florestais, *Cortiça* Nº444. Lisboa.

MALENÇON, G., MARION, J., 1951. Les modalités épidémiologiques de l'*Hypoxylon mediterraneum* (D. Ntrs.) & E. Ntrs. en Afrique du Nord. Extrait du fascicule IV du *70º Congrès de l'Afas*. Tunis.

MARRAS, F., FRANCESCHINI, A., MADDAU, L., 1992a. Notes on fungi of cork oak (*Quercus suber* L.) in Sardinia (Italy). I-A bark parasite: *Startuella formosa* Fabre. In *Proceedings of an International Congress Recent Advances in Studies on Oak Decline*. Selva di Fasano (Brindisi) Italy, pp. 247-253.

MARRAS F., FRANCESCHINI, A., SUTTON, C., 1992b. Notes on fungi of cork oak (*Quercus suber* L.) in Sardinia (Italy). II - *Endocoryneum quercus* sp. Nov.. In *Proceedings of an International Congress Recent Advances in Studies on Oak Decline*. Selva di Fasano (Brindisi) Italy, pp. 255-260.

MARRAS, F., FRANCESCHINI, A., MADDAU, L., 1992c. Notes on fungi of cork oak (*Quercus suber* L.) in Sardinia (Italy).). III *Ascodichaena rugosa* Butin. In *Proceedings of an International Congress Recent Advances in Studies on Oak Decline*. Selva di Fasano (Brindisi) Italy, pp. 261-268.

MAZZAGLIA, A., ANSELMI, N., GASBARRI, A., VANNINI, A., 2001. Development of a Polymerase Chain Reaction (PCR) assay for the specific detection of *Biscogniauxia mediterranea* living as an endophyte in oak tissues. *Mycological Research* **105** : 952-956.

NAIDNOV, Y., 1984. Les liaisons entre la dinamique de l'attaque de la maladie des taches brunes et la densité des cultures de peuplier. In *XII Session du Groupe sur les maladies du peuplier*. FAO/CIP. Ottawa, Canada.

OLIVEIRA, A.B., 1931. Apontamentos para o estudo de duas doenças do sobreiro. *Revista Agronómica* **19** : 7-24.

RAGAZZI, A., VAGUILUCA, S., MORICCA,S., 1995. European expansion of oak decline: involved microganisms and methodological approaches. *Phytopathologia Mediterranea* **XXXIV** : 207-226

SANTOS, M.N.S., MARTINS, A.M., 1992. Cork oak decline. Notes regarding damage and incidence of *Hypoxylon mediterraneum*. In *Proceedings of an International Congress Recent Advances in Studies on Oak Decline*. Selva di Fasano (Brindisi) Italy, pp. 115-121.

SANTOS, M.N.S., 1992. Micoflora do entrecasco de sobreiros em declínio. In *Actas do 2º Encontro sobre os Montados de Sobro e Azinho*. Évora, pp. 211-216

SANTOS, M.N.S., 1996. Declínio do montado de sobro em Portugal e impacte de pragas e doenças. In *Simpósio sobre o Sobreiro e a Cortiça*. Instituto Superior de Agronomia. Lisboa, 15 p.

SANTOS, M.N.S., 1997a. Cork oak - *Hypoxylon mediterraneum* (de Not) Mill.: pathogenicity tests. In *International Symposium Physiology and Genetics of Tree-phytophage Interactions*. Gugan, France, 279-283.

SANTOS, M.N.S., 1997b. Some considerations on relationships between forestry species and stem fungi: Specific case of the association poplar-*Cytospora crysosperma*. In *Symposium on Problems of Forest Pathology and Mycology*. Moskow, pp. 132-134.

SECHI, C., RUIU, P.A., FRANCHESCHINI, A., CORDA, P., 2002. Nouvelles recherches sur l'extension des phénomènes dans les soubérais de Sardaigne. Comptes Rendus de la *Réunion de l'OILB "Protection Intégrée des Forêts de Chênes*". Oeiras, Portugal, pp. 5-12

SOUSA, E.M.R., DEBOUZI, D., 1993. Contribution à la connaisance de quelques variables sylvicoles et ecologiques associés au coléoptère *Platypus cylindrus* F. Ravageur du chêne liège au Portugal. *Silva Lusitana* **1** : 183-197.

SOUSA, E.M.R., PINTO, J., SANTOS, M.N.S., GOMES, A., BONIFÁCIO, L., 1999. Association of soil macro and micronutrients and cork oak decline in Portugal. In *International Conference Recent Advances on Oak Health in Europe*. Varsow, Poland, pp.215-218.

SOUSA, E.M.R., SANTOS, M.N.S., PINTO, J.C., GOMES, A.A., BONIFÁCIO, L., 2000. Montado de sobro: associação entre alguns factores bióticos e declínio do ecossistema. In *Congresso Mundial sobre o Sobreiro e a Cortiça*. Lisboa, Portugal (aceite para publicação).

TAVARES, M., CABRITA, P., 1990. *Um caso de insucesso florestal. O montado de sobro, o eucaliptal e o pinhal manso nos perímetros florestais da Cabeça Gorda e Salvada*. Relatório. EFN, 73 pp.

TORRES, J., 1985. El *Hypoxylon mediterraneum* (de Not.) Mill. y su comportamiento en los encinares y alcornocales andaluces. *Boletín Servicio de Defesa contra las Plagas e Inspection Fitopatologica* **11** : 185-191.

VANNINI, A., 1990. Susceptibility of *Quercus cerris* to *Hypoxylon mediterraneum* at different levels of water stress. In *Proceedings. In International Symposium Oak Decline in Europe*. Kórnik, Poland, pp.165-172.

VANNINI, A., VALENTINI, R., SANTURBANO, M., TIRONE, G., 1992. Possible relationship among embolism, water potencial and susceptibility to *Hypoxylon mediterraneum* of some mediterranean oaks. In *Proceedings of an International Congress Recent Advances in Studies on Oak Decline*. Selva di Fasano (Brindisi) Italy, pp. 449-459.

Entregue para publicação em Fevereiro de 2003
Aceite para publicação em Maio de 2003