



## Protocolo de gestão integrada do declínio em azinheiras e sobreiros mediterrânicos

Parte do relatório D4.1 do pacote de trabalho 4

Aplicação em larga escala de novos protocolos IPM personalizados

Autores:	
Francisco José Ruiz Gómez	Universidad de Córdoba
Rafael M. Navarro Cerrillo	Universidad de Córdoba
Rafael Sánchez Cuesta	Universidad de Córdoba
Carmen Morales Rodriguez	Università degli Studi della Tuscia
Andrea Brandano	Università degli Studi di Sassari
Bruno Scanu	Università degli Studi di Sassari
José Carlos Esteves Gomes Laranjo	University of Trás-os-Montes e Alto Douro

Acrónimo Projecto:	LIFE FAGESOS	
Título do Projecto:	Il declino indotto da Phytophthora negli ecosistemi di Fagaceae nell'Europa meridionale, esacerbato dal cambiamento climatico: preservare i servizi ecosistemici attraverso una migliore gestione integrata dei patogeni	
N° Acordo de Subvenção:	101074466	
identificação do convite:	LIFE-2021-SAP-CLIMA	
Data de início do projeto:	01/09/2022	
Duração:	60 mesi	
Website:	<a href="http://www.lifefagesos.it">www.lifefagesos.it</a> & <a href="#">EU Portal</a>	
<p>Este relatório foi produzido com o apoio financeiro do Programa LIFE da União Europeia ao abrigo do acordo de subvenção n.º 101074466. Os pontos de vista e opiniões expressos são da exclusiva responsabilidade dos autores e não refletem necessariamente os da União Europeia ou do CINEA. Nem a União Europeia nem o CINEA podem ser responsabilizados pelos mesmos.</p>		
		

## ÍNDICE

<b>1. Sumário executivo .....</b>	<b>3</b>
<b>2. Introduction .....</b>	<b>3</b>
<b>3. Declínio da azinheira.....</b>	<b>4</b>
<b>4. Produtos sustentáveis para aplicação na IPM .....</b>	<b>7</b>
4.1. Formulação de produtos e doses .....	8
4.1.1 Redução e controlo dos níveis de inóculo do oomiceta .....	8
4.1.2 Melhorar a saúde das árvores através do microbioma do solo .....	11
4.1.3 Indutores de resistência .....	13
4.2. Período de aplicação e calendário.....	14
<b>5. Medidas de higiene .....</b>	<b>16</b>
5.1. Sinalização .....	20
<b>6. Melhores práticas em povoamentos “montado” de azinheira .....</b>	<b>21</b>
<b>7. Bibliografia .....</b>	<b>23</b>

## 1. Sumário executivo

O declínio florestal é um fator importante para a Gestão dos ecossistemas. Os agentes patogénicos florestais invasores exóticos e os seus efeitos, exacerbados pela mudança climática, implicam uma grande ameaça à sustentabilidade socioeconómica e ecológica das espécies de carvalhos e castanheiros da região mediterrânica. Um dos principais objetivos do projeto Life FAGESOS é desenvolver protocolos de gestão integrada de pragas sob medida, baseados em produtos e recomendações de gestão amigáveis do meio ambiente.

Durante a primeira fase do projeto, foram testados diferentes produtos para mitigar o impacto causado por *P. cinnamomi* nas plantas de azinheira (*Quercus ilex*) e sobreiro (*Quercus suber*). Este documento, inclui o primeiro protocolo de IPM (Gestão Integrada de pragas) desenvolvido com base nestes resultados para ecossistemas de sobreiro e azinheira. Inclui informações contextuais sobre o problema e os tratamentos, informações detalhadas sobre os produtos selecionados e sua aplicação, recomendações para a aplicação de medidas de higiene e controle, e esquemas gerais de gestão de locais de degradação.

## 2. Introduction

O manejo integrado de pragas (MIP) é uma estratégia de controle de pragas baseada em soluções sustentáveis desde o ponto de vista ambiental e projetada para prevenir, a longo prazo, o impacto de pragas e doenças por meio da combinação de planos de acompanhamento, detecção precoce, uso de agentes de biocontrole, microrganismos promotores de crescimento vegetal, manipulação de habitat, modificação de práticas culturais e uso de germoplasma resistente. Os tratamentos, preferencialmente à base de moléculas inócuas para o meio ambiente, são utilizados apenas quando o acompanhamento indica que são necessários de acordo com as diretrizes estabelecidas. Além disso, os produtos de controle de pragas devem ser selecionados e aplicados de forma que minimizem os riscos para a saúde humana, e benéficos para o meio ambiente.

Em vez de atacar diretamente a praga, o MIP pretende criar condições ambientais desfavoráveis para os agentes patogénicos, reforçando também a capacidade de reação da planta ou do aumento da população hospedeira pelo incremento da sua resiliência.

Os programas do MIP combinam abordagens de gestão para obter maior eficácia. A forma mais eficaz e duradoura de controlar as placas é usar uma combinação de métodos que funcionam melhor juntos do que separados. Os métodos de Gestão das pragas serão agrupados nas seguintes categorias.

### I) Controlo biológico

O controle biológico é a utilização de inimigos naturais (predadores, parasitas, antagonistas e competidores) para controlar organismos patogénicos e seus danos. Um conceito mais amplo também inclui moléculas produzidas por inimigos naturais.

### II) Controlo cultural

As práticas culturais são ações que reduzem o estabelecimento, a reprodução, a dispersão e a sobrevivência da praga. Por exemplo, aplicar medidas de higiene à maquinaria, aos veículos e ao

peçoal para reduzir a dispersão do agente patogénico, reduzindo a intensidade da exploração, ou aplicar um tratamento de fertilização do solo para aumentar a vitalidade da planta.

### III) Controlos físicos e mecânicos

Os controlos mecânicos e físicos têm como objetivo controlar a praga matando, bloqueando ou fazendo com que o ambiente seja inadequado para o agente patogénico. As caixas para roedores são exemplos de controle mecânico. Os controlos físicos incluem mantimentos para a gestão de ervas, a esterilização por vapor do solo para o gestão de doenças, ou barreiras como malhas para manter afastados, pássaros ou insetos

### IV) Controlo químico

O controle químico é o uso de pesticidas. No MIP, os pesticidas são utilizados apenas quando são necessários, e sempre em combinação com outros métodos para um controle mais eficaz e de longo prazo. Os pesticidas são selecionados e aplicados de forma a reduzir ao mínimo seus possíveis efeitos nefastos nas pessoas, noutros organismos e no meio ambiente. Nas estratégias do MIP, é fomentada a escolha de moléculas seletivas para minimizar o impacto nos organismos não visados no tratamento, preservar a qualidade do ar, do solo e da água.

## 3. Declínio da azinheira

O declínio da azinheira é um dos principais desafios que os ecossistemas mediterrânicos estão a enfrentar nas últimas décadas (Jung et al., 2000; Burgess et al., 2017; Ruiz-Gómez et al., 2019). A azinheira e o sobreiro são as espécies mais ameaçadas devido aos episódios de mortalidade do declínio da azinheira, impulsionados principalmente pela podridão radicular causada pelo agente patogénico florestal invasor (AIFP) *Phytophthora cinnamomi*.

Os ecossistemas de sobreiro (*Quercus suber* L.) são de grande relevância em termos de valor económico, cultural e ecológico nas regiões mediterrânicas (Aronson *et al.*, 2009). Nas últimas três décadas, um declínio crescente dos sobreiros tem sido relatado como um problema crescente em toda a sua distribuição geográfica (Brasier et al. 1993; Camilo-Alves et al. 2013; Moricca et al. 2016). Vários factores, incluindo doenças e pragas, incêndios florestais, alterações climáticas, sobrepastoreio, degradação e fragmentação, têm sido associados ao declínio do sobreiro (Jung et al., 1996, Sanchez et al., 2002, Gomez-Aparicio et al., 2012). No entanto, o agente patogénico *Phytophthora cinnamomi*, transmitido pelo solo, é um dos principais responsáveis por este fenómeno (Brasier et al, 1993, Robin et al. 1998; Scanu et al. 2013), embora muitas outras espécies de *Phytophthora* também estejam envolvidas (Seddaiu et al. 2020; Aurangzeb et al. 2023) Os sintomas do declínio do sobreiro são o desbaste da copa, resultando num aumento significativo da transparência da copa; a presença de rebentos epicórmicos nos galhos e ramos; ao nível das raízes, necrose progressiva das raízes alimentadoras finas e a presença de cancrios nas raízes maiores e suberizadas; necrose da casca, associada a exsudado enegrecido, que ocasionalmente envolve todo o caule (Brasier, 1996; Robin et al, 1998; Scanu et al., 2013) (Fig. 1).

A azinheira (*Quercus ilex* L.) é uma das espécies mais extensas da bacia mediterrânica e a principal espécie que domina o estrato arbóreo dos ecossistemas de montado, cobrindo uma superfície

estimada em mais de 4,6 milhões de hectares na Península Ibérica. Os valores da distribuição da azinheira nesta área representam cerca de 2,2 milhões de hectares de ecossistemas de pastagens “montado” de *Q. ilex* (Díaz Esteban e Pulido Díaz, 2009), para além de outros 1,42 milhões de hectares de florestas mediterrânicas naturais de azinheira (Rodá et al., 2009).

O declínio da azinheira, também conhecido como síndrome de “da seca”, está a devastar áreas inteiras da parte ocidental da região Andaluza (Andévalo) e das montanhas da Sierra Morena, devido à morte de árvores jovens e adultas (Ruiz-Gómez et al., 2019) e ao fracasso da florestação (Sánchez-Cuesta et al., 2022). Considera-se que o principal fator que desencadeia a mortalidade das árvores é a podridão radicular causada pelo agente patogénico florestal invasor alienígena (AIFP) *Phytophthora cinnamomi* e outras espécies de *Phytophthora*.

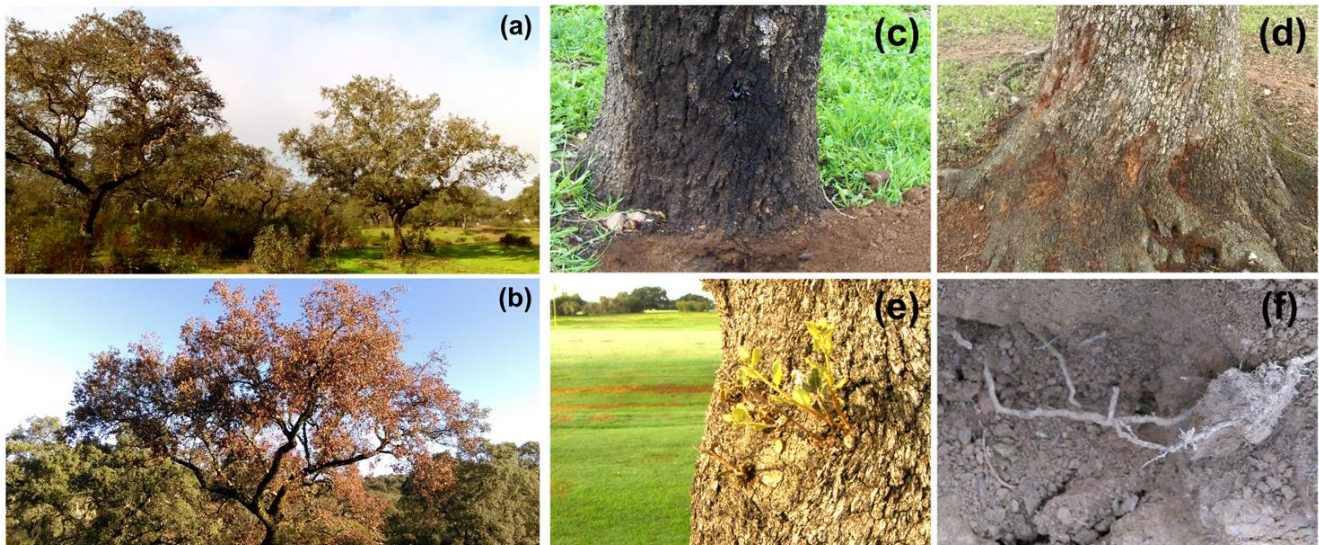


**Figura 1.** Morte severa e mortalidade de sobreiros devido a infeção por *Phytophthora*.

Os sintomas da podridão radicular são inespecíficos e tornam-se identificáveis quando a maior parte do sistema radicular já está comprometida, exceto no caso de morte súbita, caso em que o problema só é identificável quando a árvore está morta (Carrasco Gotarredona et al., 2009) (Figura 2)

Embora não existam dados precisos sobre a incidência ou a extensão do declínio da azinheira, no ano de 2010, fontes oficiais estimaram a perda de povoamentos de azinheiras em mais de 8 000 ha por ano apenas em Espanha (Senado, 2010). Este declínio causa graves perdas ambientais e económicas num ecossistema particularmente vulnerável localizado em zonas rurais, exacerbado por outros problemas como a intensificação das práticas agrícolas e pecuárias, a retirada e abandono de terras e

os efeitos diretos das alterações climáticas (Hernández-Lambrano et al., 2018; Sánchez-Cuesta et al., 2021). Assim, a proteção do ecossistema “montado” e a recuperação de áreas já degradadas está na linha da frente das políticas de gestão florestal da administração regional.



**Figure 2.** Principais sintomas de declínio da azinheira. (a) Declínio regressivo com desfoliação progressiva. (b) Morte súbita. A folhagem infestada permanece na copa da árvore. (c) Cancro na base do tronco. (d) Galerias de insectos xilófagos com serradura na base do tronco. (e) Rebentos epicórmicos no tronco. (f) Perda de raízes finas em raízes absorventes superficiais. Fonte: Arquivo do autor.

**Epidemiologia** da doença está associada às condições climáticas e à gestão, juntamente com outros fatores relevantes, como a qualidade do solo e a poluição. A precipitação média não é um fator principal, uma vez que *Q. ilex* é uma espécie esclerofila, bem adaptada a zonas secas, mas episódios de precipitação intensa e inundações do solo estão relacionados com episódios de mortalidade e desfoliação intensa. Além disso, a elevada recorrência de episódios de seca extrema e o aumento global das temperaturas parecem exacerbar estes episódios, provavelmente devido aos seus efeitos no estado de saúde global dos povoamentos de azinheiras (fator de incitação) (Sánchez-Cuesta et al., 2021). Períodos prolongados de seca, encharcamento, flutuações imprevisíveis dos níveis de água, solos arenosos ou pouco profundos, chuvas fortes inesperadas, bem como agentes patogénicos e pragas oportunistas, podem acelerar o progresso da doença e levar à murchidão súbita e à morte das árvores (Brasier et al., 1993; Jung et al. 1996; Balci & Halmschlager 2003; Jönsson et al., 2005; Moreira & Martins, 2005). Concordando com os padrões observados no castanheiro, foi demonstrada a associação da doença da tinta com as faixas de drenagem natural e a rede de estradas florestais e locais (Cardillo et al., 2018).

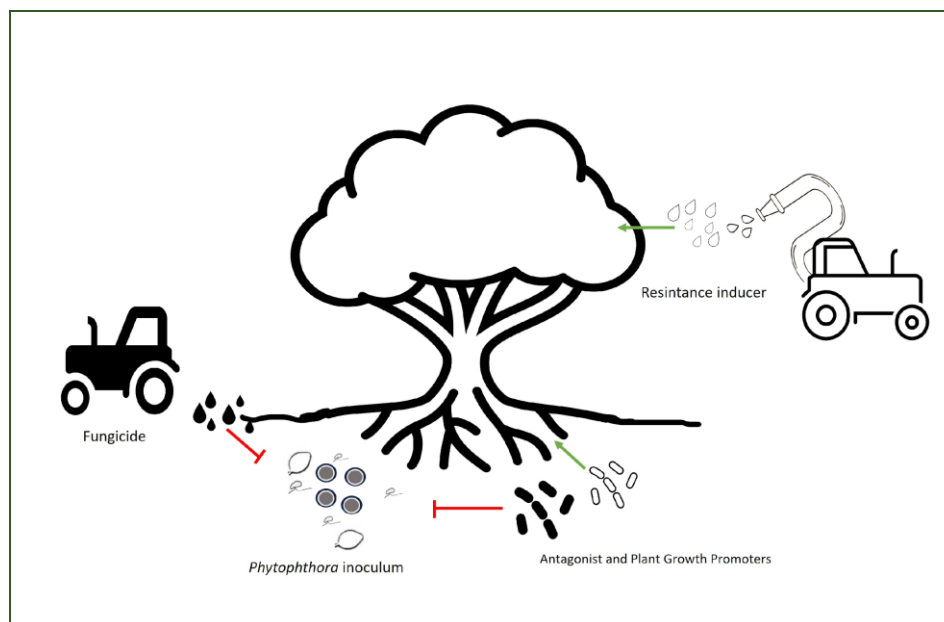
**Gestão Integrada do Declínio da Azinheira** é difícil e deve ter em consideração diversas variáveis e fatores associados à sua propagação, incidência e gravidade. Essas variáveis podem ser consideradas num contexto geral de heterogeneidade da área e da paisagem. As infraestruturas físicas e humanas, como a rede de drenagem natural e as estradas existentes, oferecem corredores preferenciais para a propagação e dispersão da *Phytophthora*. Outras variáveis incluem as práticas culturais e a resistência do hospedeiro. É igualmente relevante a pressão exercida por atividades relacionadas com usos específicos do solo, como a presença de viveiros ou outro tipo de plantações nas áreas vizinhas, que

podem funcionar como ponte para a mudança de hospedeiro e a introdução de agentes patogénicos em áreas indemnes. Por último, mas não menos importante, a qualidade e o nível de monitorização do território podem alterar a eficácia da aplicação das medidas de controlo (Vannini e Morales-Rodriguez, 2019).

#### 4. Produtos sustentáveis para aplicação na IPM

Em vez de uma reação instintiva a um problema específico, a gestão “holística” das pragas é uma série de processos inter-relacionados que são incorporados em todo o espectro da estratégia de gestão integrada de pragas. O holismo é a teoria segundo a qual os sistemas, e cada parte de um sistema, devem ser vistos como um todo e não como partes isoladas. “Holística”, portanto, é uma abordagem que olha para o quadro geral e considera todas as partes. A gestão holística de pragas é uma abordagem integrada e preventiva que considera a saúde geral da planta e o ambiente do castanheiro para evitar problemas e geri-los sabiamente se surgirem.

A estratégia desta IPM baseia-se na aplicação das medidas de higiene corretas descritas na secção 5 para evitar a propagação do agente patogénico e no tratamento em três fases das áreas afetadas. Estes tratamentos baseiam-se em 1) aplicação de um fungicida para diminuir a concentração do inóculo presente no solo; 2) incorporação de microrganismos que ocupam o espaço deixado pelo agente patogénico, com função antagonista contra o agente patogénico e estimulação do crescimento da planta; 3) tratamentos com indutores de defesa da planta que protegem a árvore do impacto do agente patogénico (Figura 3).



**Figura 3.** Abordagem holística de tratamento para mitigar o impacto de *P. cinnamomi* em povoamentos de castanheiro.

## 4.1. Formulação de produtos e doses

### 4.1.1 Redução e controlo dos níveis de inóculo do oomiceta

As plantas de *Brassica* contêm elevadas concentrações de glucosinolatos (GLS) em tipos de células específicas que fazem parte dos sistemas de defesa natural destas plantas (Koroleva et al. 2010). Estas moléculas são um substrato para enzimas hidrolíticas (mirosinases), armazenadas em vacúolos ou células específicas de mirosina das plantas de *Brassicaceae*. Após a rutura dos tecidos, os GSLs entram em contacto com as mirosinases e são hidrolisados em isotiocianatos (ITCs). Sabe-se que os ITCs têm uma ampla atividade de biocontrolo contra artrópodes, fungos e oomicetas (Brown e Morra 1997; Rosa et al., 1997).

O produto escolhido nos ensaios de mesocosmos do FAGESOS para controlar os níveis de inóculo de *P. cinnamomi* no solo é um produto comercial, já disponível para utilização como fertilizante (BioFence FL, Nutrien Italia S.p.a, Livorno, IT). Na sua forma comercial, o BioFence é produzido a partir da seleção ISCI7 de *Brassica carinata*, utilizando um método de desengorduramento parcial que limita a degradação da GSL e da mirosinase, otimizando assim a eficácia do produto (Lazzeri et al. 2004). A eficácia de biocontrolo (96,5%) dos pellets de *Brassica* sobre *P. cinnamomi* foi relatada em experiências *in vitro* e em mesocosmos, proporcionando uma alternativa aos pesticidas sintéticos nos programas de gestão de doenças (Morales-Rodriguez et al., 2016). Para além da sua atividade biocida, este produto tem um efeito positivo e duradouro como fertilizante do solo. Além disso, favorece a emissão de novas raízes, melhorando a capacidade das plantas para absorver nutrientes e, conseqüentemente, a resiliência contra o stress abiótico (por exemplo, temperaturas extremas e seca).

O BioFence está disponível comercialmente sob a forma de granulado para aplicações secas e de um produto de dois componentes (figura 4), constituído por uma formulação líquida e outra de farinha de *Brassica* a combinar e a aplicar como um melhorador no solo. A eficácia de ambas as formulações foi comparada em ensaios de mesocosmos, sendo a formulação líquida a que teve melhor desempenho na redução do inóculo de *P. cinnamomi*.

Produto de 2 componentes Biofence FL, composto por uma formulação líquida e outra em farinha derivada de pellets de espécies seleccionadas de *Brassicaceae*. A embalagem inclui um saco de filtro para facilitar o processo de infusão.

#### Contenido nutricional:

- Farinha de azoto orgánico 6%
- Enxofre total 15%
- Magnésio 0.5%

- Conteúdo de aminoácidos livres em N >50%
- Azoto líquido orgânico 3%



**Figura 4.** Biofence FL. 10 litros + 5 KG formato farinha.

#### **Preparação (Figura 4):**

1) Diluir com água num recipiente adequado e agitar a fórmula para misturar bem os componentes.

*Aproximadamente 4 litros de água por cada litro de formulação líquida.*

2) Deitar a farinha necessária para o tratamento num filtro especial e depois mergulhar no recipiente com a solução acima referida.

*0.9 kg de pellets por cada unidade (4 litros de água + 1 litro de formulação líquida).*

*Para a embalagem comercial (5 kg de pellets e 10 litros de formulação líquida) será necessário utilizar 22 litros de água. Preparar num recipiente de 50 litros.*

3) Deixar os *pellets* em infusão durante, pelo menos, uma hora e não mais de 4/5 horas. Durante este tempo, agitar regularmente o filtro para que toda a farinha entre em contacto com a solução líquida.

4) Decorrido o tempo mínimo de infusão, levantar o filtro do composto líquido e mantê-lo suspenso de modo a poder ser espremido para permitir a saída do isotiocianato e a sua integração na solução.

5) Lavar o filtro num outro recipiente com água limpa. Agitar o filtro para dissolver a quantidade máxima de produto na água. Em seguida, espremer o filtro e adicionar a água à infusão.

*Enxaguar num recipiente de 10 litros.*

6) A solução obtida deve ser levada ao volume necessário para poder ser distribuída com o pulverizador, tendo o cuidado de pulverizar especialmente a base das plantas sob a zona de projeção da copa da árvore.

*Para a embalagem comercial, teremos nesta altura cerca de 40-41 L de infusão.*

*Misturar com 1460 L de água para obter um volume final de 1500 L.*



**Figure 5.** Preparação do Biofence FL. A) Misturar a solução líquida em 22 litros de água limpa e preparar os pellets, colocando-os no saco filtrante. B) Mergulhar o saco de filtro na mistura de água e solução líquida. Agitar vigorosamente para melhorar a infusão. C) Após 1 h, enxaguar o saco de filtro e adicionar a solução a um tanque de pulverização ou de fertilização com 1460 L de água.

**Modo de aplicação e dose:** (for 1 pack, 1500 L diluição final; 35-45 árvores)

- O produto só deve ser aplicado em árvores claramente afectadas pela doença e/ou localizadas em frente da zona de avanço dos focos de doença.
- O produto deve ser aplicado por tratamento de superfície abaixo da copa da árvore, no início da primavera e após um período de chuva. O objetivo é eliminar o inóculo nas camadas exteriores do solo (10-15 cm) para reduzir o risco de dispersão através do movimento passivo de partículas de solo contaminadas.
- Aplicar um volume de diluição adequado em função da dimensão da copa (Tabela 1):

**Tabela 1:** Volume de solução para aplicação no solo em função do tamanho da copa

Diâmetro de copa (m)	Volume (L)
< 10	25
10 a 20	35
> 20	45



**ATENÇÃO!!! USAR ANTES DE 4 HORAS DESDE A PREPARAÇÃO**

#### 4.1.2 Melhorar a saúde das árvores através do microbioma do solo

Este tratamento tem por objetivo melhorar a fisiologia das plantas e limitar a aptidão do habitat para o agente patogénico através da correção com bioprodutos à base de microrganismos promotores do crescimento das plantas e antagonistas *Trichoderma* spp. A correção do solo com micróbios promotores do crescimento das plantas (PGPM) é uma alternativa ecológica à fertilização química. Estes organismos podem colonizar as raízes das plantas, trazendo benefícios para os seus hospedeiros: aumentam a disponibilidade de nutrientes no solo e a resistência aos agentes patogénicos, modulando a produção de fito-hormonas. Assim, atenuam os stresses bióticos e abióticos e aumentam a produção vegetal.

*Trichoderma* é um género com grande potencial no controlo biológico e na aplicação de IPM. *Trichoderma* inclui vários simbioses oportunistas, que são os principais colonizadores do solo em todos os tipos de ecossistemas, capazes de controlar muitos agentes patogénicos do solo através de vários mecanismos, como a indução de resistência das plantas, a competição direta, a inibição e o parasitismo (Vinale et al., 2008). Os simbioses oportunistas de plantas são organismos que não precisam de ser simbioses para sobreviver, mas que se desenvolvem consideravelmente melhor quando têm um hospedeiro vegetal. Algumas estirpes de *Trichoderma* são bem conhecidas como agentes de biocontrolo competentes, diminuindo a gravidade das doenças das plantas, principalmente no solo ou no solo.

Entre os produtos testados nos ensaios em mesocosmos FAGESOS, todos os produtos à base de PGPB e 2 produtos à base de *Trichoderma* spp. tiveram um efeito positivo no estado sanitário das plantas infetadas de azinheira. Finalmente, foram escolhidos dois produtos para os protocolos IPM devido à sua eficácia, e também considerando a sua disponibilidade atual no mercado: *Bactrium*® e *Tricoten*® de Atens (Agrotecnologías Naturales, S.L., Tarragona, Espanha).

##### **Bactrium (Atens)**

O *Bactrium*® (Fig. 6) possui bactérias rizosféricas altamente competitivas que colonizam o sistema radicular. Estas bactérias melhoram a nutrição das plantas, aumentam a eficiência da utilização de fertilizantes e desbloqueiam elementos bloqueados no solo. Ambas as estirpes de *Bacillus megaterium* contidas no *Bactrium* foram completamente sequenciadas no NGA lab. Graças a este trabalho, podemos afirmar que contêm genes codificadores que contribuem para:

- Captação e assimilação de azoto (transportador de nitritos e enzimas da família das nitroreductases).
- Aumento da resistência à contaminação por cobre (proteína de resistência ao cobre).
- Captação de ferro (sideróforos).
- Solubilização do fósforo (fosfatases ácidas e fitases).

**Composição:**

- *Bacillus megaterium* MHBM06: 5x10<sup>9</sup> UFC/g
- *Bacillus megaterium* MHBM77: 5x10<sup>9</sup> UFC/g
- Bacterias da rizosfera: 1x10<sup>10</sup> UFC/g

**Figura 6.** Bactrium, Atens®**Tricoten® (Atens)**

Tricoten® é uma formulação em pó molhável à base de *Trichoderma atroviride*. A sua eficácia no controlo de agentes patogénicos como *Fusarium*, *Sclerotinia* e *Botrytis* já foi comprovada, tendo demonstrado uma redução significativa dos sintomas da doença em azinheiras infectadas com *Phytophthora cinnamomi* nos ensaios de mesocosmos realizados no âmbito do projeto FAGESOS. Existem outras formulações com *T. atroviride* disponíveis no mercado, embora não possamos fornecer informações sobre a sua eficácia em azinheiras contra *P. cinnamomi* porque não foram incluídas nos ensaios de mesocosmos. No entanto, se a sua formulação for baseada em *T. atroviride*, é provável que os efeitos sejam semelhantes.

**ATENÇÃO!!! NÃO UTILIZAR PRODUTOS BASEADOS EM *T. KONINGII*.**

*Este microrganismo pode estimular o homotalismo em P. cinnamomi (Pratt et al., 1972; Brassier, 1978).*

**Composição:**

*Trichoderma atroviride* AT10, pó molhável conidial, 5x10<sup>9</sup> UFC/g

**Figura 7.** Tricoten, Atens®

**Modo de aplicação e doses:**

- Dose de Bactrium: 2L / ha
- Dose de Tricoten: 4 Kg / ha

Ambos os produtos podem ser aplicados diretamente no solo, por pulverização, dissolvidos na água necessária, dependendo da taxa de consumo de cada barra de pulverização.

*Exemplo: Para um tanque de 2000 litros com uma barra de 6 metros, a uma taxa de 200 L/ha, adicionar 20 litros de Bactrium e 30 kg de Tricoten para 10 ha.*

- O tratamento deve ser aplicado em conjunto na primavera, durante os meses de março-abril e, de preferência, após um período de chuva.

**4.1.3 Indutores de resistência**

Os indutores de resistência das plantas (PRI) podem ser úteis para reduzir a utilização de pesticidas. Trata-se de moléculas de natureza diferente que conduzem a uma maior proteção contra os ataques de agentes patogénicos, induzindo os mecanismos de defesa das plantas, a chamada imunidade desencadeada pelas plantas (PTI). São também conhecidas como indutores de resistência ou de defesa das plantas. Sabe-se que os PTI são eficazes contra uma variedade de agentes patogénicos, como vírus, bactérias, oomicetas e fungos que atacam as plantas. Este tratamento é altamente recomendado no declínio do sobreiro porque *P. cinnamomi* não é um agente patogénico primário da azinheira e do sobreiro, mas um fator desencadeante da mortalidade no sintoma de declínio. Assim, a melhoria dos mecanismos de defesa natural das árvores protegê-las-á contra eventos limiares que podem levar a episódios de podridão radicular intensa e à morte das árvores.

Entre os produtos testados nos ensaios em mesocosmos FAGESOS, o produto que apresentou a maior eficácia na redução dos sintomas e da mortalidade nas plantas infectadas foi o Kalex EVO® (Alba Milagro International S.p.A.; Parabiagio, Itália). Kalex EVO® é um estimulante natural das defesas que inclui substâncias fertilizantes (cobre e molibdénio) e vários compostos orgânicos activadores (ácido carboxílico, polissacáridos e extractos naturais), cuja eficácia contra uma vasta gama de doenças fúngicas e bacterianas foi comprovada. KALEX EVO foi formulado de forma a que as substâncias que contém sejam rapidamente absorvidas e transportadas das raízes para as folhas e vice-versa. Devido ao seu efeito transportador, pode ser combinado com pesticidas, para melhorar o seu sistema e funcionamento, após verificação da compatibilidade.

Não utilizar durante a floração.

**Composition:**

- Cobrer (Cu), 4.1 % w/w
- Molibdénio (Mo), 0.03 % w/w
- Extractos vegetais: Polissacarídeos, vitaminas, minerais, gorduras, aminoácidos, polifenóis e pigmentos.
- Ácido Carboxílico



**Figura 8.** Kalex EVO® apresentação comercial, Milagro International

**Modo de aplicação e dosagem:**

- O tratamento recomendado consiste em 2 aplicações foliares com um intervalo de 15 dias entre elas.
- A aplicação deve ser efectuada na primavera (abril-maio), após a floração, e sem previsão de chuva nas 24 horas seguintes.
- Dosagem: 2 L /ha.
  - No caso de um montado de sobreiro (azinheira e sobreiro) com uma densidade arbórea entre 60 e 90 árvores/ha, pode preparar-se um depósito de 2000 L adicionando 20 L de produto e aplicando-o seguindo as recomendações do Quadro 2.
  - Para o controlo do declínio do sobreiro em florestas jovens ou plantações densas, utilizar uma dose de 3 L/ha

**Tabela 2:** Volume de solução orientativa para aplicação por pulverização da coroa em azinheiras em função do tamanho da coroa

Crown diameter (m)	Solution volume (L)
< 10	18
10 to 20	25
> 20	32

**4.2. Período de aplicação e calendário**

Os tratamentos devem seguir uma ordem determinada, começando pela redução do inóculo, como passo crítico. Este produto deve ser aplicado após um período chuvoso, sobre solo húmido, para garantir a penetração, e coincidindo com o período de máxima probabilidade de atividade de proliferação de *P. cinnamomi*.

Após o tratamento com BioFence FL, deve ser respeitado um período de 30 dias antes do tratamento com microrganismos ou qualquer outro bioproduto, para garantir que os isotiocianatos são degradados, de modo a evitar interferências com a emenda.

Relativamente ao tratamento foliar, o aspeto mais importante a ter em conta é a floração. O produto deve ser aplicado quando o período de floração já terminou e as flores já foram fertilizadas para garantir uma melhor produção de frutos.

Observando todos estes aspetos, e tomando como exemplo o calendário da zona demonstrativa de La Tejera (Andaluzia, Espanha), o calendário proposto para a aplicação em “montado” seria o seguinte (Tabela 3):

**Tabela 3:** Calendário de tratamentos para a Área Demonstrativa FAGESOS de La Tejera (Villaviciosa de Córdoba, Espanha)

	Semana					
	I	II	III	IV	V	VI
BioFence	20-21 Março					
Kalex EVO				18-19 Abr		1-2 Maio
Bactrium+Tricoten				22-23 Abr		

As datas seriam ajustadas tendo em conta os episódios de chuva e os períodos de floração.

No caso de plantações ou florestas naturais de folha perene não ligadas à suinicultura ibérica, é possível adiantar o tratamento com Biofence, realizando-o durante o inverno, quando o solo está húmido e o crescimento da vegetação herbácea é menor. Um exemplo de tratamento nestas zonas é apresentado na Tabela 4.

**Tabela 4:** Calendário de tratamentos para plantações ou florestas naturais de folha perene

	Semana					
	I	II	III	IV	V	VI
BioFence	20-21 Fev					
Kalex EVO				18-19 Abr		1-2 Maio
Bactrium+Tricoten		22-23 Mar				

As datas seriam ajustadas tendo em conta possíveis episódios de chuva e períodos de floração.

## 5. Medidas de higiene

As medidas de higiene são métodos preventivos para evitar o transporte passivo do inóculo de *P. cinnamomi* de locais infectados para zonas saudáveis. Qualquer coisa que favoreça o transporte passivo de solo infetado pode atuar como portador da doença. Isto inclui pneus de veículos, calçado e animais selvagens e de criação. Vannini et al. (2021) mostraram que a maior parte do inóculo se desloca ao longo da rede de estradas que ladeiam ou atravessam os castanheiros e da rede de drenagem de águas superficiais, coincidindo com outros trabalhos em defesa de pastagens de azinheiras (Cardillo et al., 2018). Por conseguinte, as medidas higiénicas são uma parte fundamental da estratégia de gestão integrada.

Vannini et al. (2010) sugeriram as seguintes precauções e práticas higiénicas:

(1) restrição do trânsito humano, animal e de máquinas nas áreas infetadas (focos) e ao longo das estradas e caminhos que atravessam ou fazem fronteira com os povoamentos e/ou soutos afetados. Esta medida é muito importante durante os períodos de chuvas fortes e inundações;

(2) desinfeção dos pneus e do calçado à saída das zonas infectadas, especialmente na estação das chuvas;

(3) gestão dos fluxos de águas superficiais, recolhendo e canalizando as águas de escoamento das zonas afectadas.

As medidas enumeradas nos pontos (1) e (2) têm custo efetivo, mas a sua aplicação bem sucedida depende da educação e sensibilização das partes interessadas no sector e dos cidadãos. Esta última medida é dispendiosa e não é fácil de aplicar em grandes focos de infeção.

No caso das medidas de higiene, é necessário o apoio de todos; uma abordagem multi-stakeholder é altamente recomendada, onde é implementada em estreita colaboração com os municípios locais, associações sem fins lucrativos, grupos de cidadãos, associações de proprietários e produtores florestais, e outras partes interessadas.

No âmbito do projeto FAGESOS, as seguintes medidas de higiene serão implementadas e mantidas nas áreas de demonstração em Espanha e Itália:

**I) Estabilização de vias e melhoria de valas:** As explorações agrícolas e as zonas florestais estão repletas de estradas rurais utilizadas para actividades culturais e pecuárias. Na maioria das vezes, o pavimento das estradas é altamente instável, propenso a poças de lama e buracos capazes de conter o inóculo do agente patogénico, que pode ser espalhado por carros e maquinaria pesada. Neste caso, como a maioria das estradas consiste em plataformas naturais de solo compactado, com pouco movimento do solo, é fácil e económico reparar a superfície da estrada com uma simples viga ou máquina de alisamento. Além disso, as valas ao longo das estradas principais que atravessam as zonas afectadas serão limpas e melhoradas para recolher a água das cheias, canalizando o escoamento para os principais cursos de água e limitando assim a propagação do inóculo (Fig. 9)



**Figure 9:** Melhoria de estradas rurais em La Tejera, O revestimento das estradas pode ser facilmente compactado com uma viga pesada. Devem ser limpas as valas nas zonas de escoamento próximas dos focos e/ou zonas fortemente afectadas, canalizando o escoamento para os cursos de água principais.

**II) Estações de limpeza de calçado:** Estas estações são constituídas por um módulo de escovagem para remover a sujidade. As estações de limpeza de sapatos do projeto FAGESOS também incluíam dispositivos laterais para remover o excesso de lama antes de limpar os sapatos, escovas laterais para auxiliar a limpeza e um módulo de pulverização com desinfetante integrado no módulo de escovagem. (Figura 10).



**Figure 10:** Estações de limpeza de calçado concebidas para o projeto FAGESOS. As estações incluíam escovas laterais, placas laterais para remover o excesso de lama e um dispensador de desinfetante.

**III) Estações de limpeza de veículos** constituem uma importante medida de higiene preventiva. No caso de caminhos rurais constituídos por plataformas naturais de compactação do solo, o aspeto mais importante a considerar é a limpeza dos pneus e das cavas das rodas com desinfetante. A medida mais económica e eficaz para este fim é a instalação de pés-dilúvios para pneus nos principais pontos de saída das estradas rurais da exploração/propriedade (Fig. 11). Os pés-dilúvios devem ser enchidos com uma solução desinfetante e devem ter uma profundidade suficiente para molhar eficazmente todo o arco da roda a baixa velocidade, sem constituir um obstáculo significativo para o veículo.



**Figure 11:** Exemplo de um pé-dilúvio na entrada principal de uma quinta.

As estações de limpeza de calçado e os pés-dilúvios para pneus devem ser dotados de uma solução desinfetante que não represente um perigo de contaminação ambiental, para o solo, a vegetação e a fauna. Para este efeito, os desinfetantes à base de sais quaternários constituem uma solução óptima. Estes desinfetantes, numa dose adequada, não prejudicam os animais e são inofensivos para a vegetação. No âmbito do projeto FAGESOS, foram testados em laboratório vários produtos à base destas substâncias e sem substâncias químicas ou contaminantes na sua composição. Entre os produtos testados, e tendo também em conta a sua composição, preço e disponibilidade, o produto escolhido para inclusão nas ações demonstrativas do FAGESOS foi o Sanibacter® (Quimpa S.L.; Madrid, Espanha). Em Itália, o produto escolhido para incluir nas ações demonstrativas do FAGESOS foi o Blue® (grupo químico Arco). Em Portugal o produto escolhido para incluir nas ações demonstrativas foi o Ultrasan® (Würth) (Fig. 12). O produto é utilizado diluindo-o em água numa proporção de 1/200. Desta forma, uma embalagem de 1l produzirá um total de 200 litros de líquido desinfetante.

---

#### Composição:

- Sais de amónio quaternário (4.5% v/v)



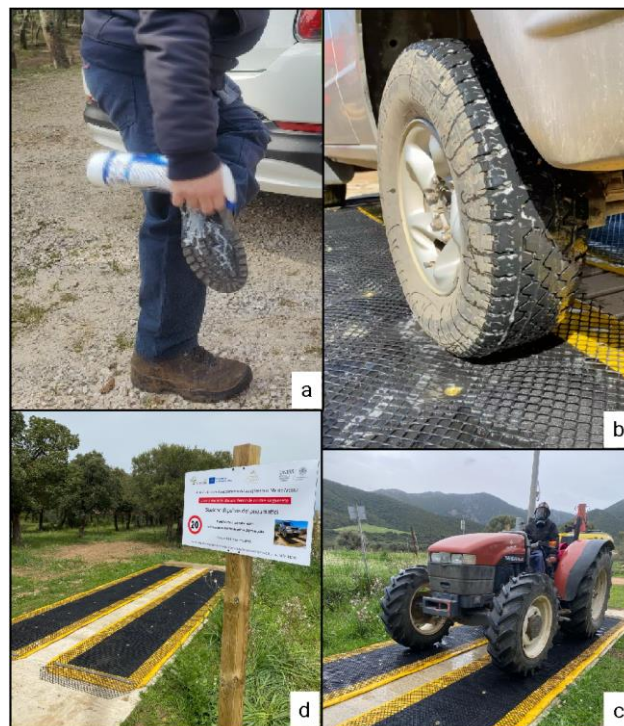
**Figure 12.** Ultrasan®, Würt

**Tabela 5:** Dosagem de Ultrasan® para diferentes aplicações. A dose indica a concentração na qual nenhum inóculo viável de *P. cinnamomi* foi recuperado dos testes.

Application	Dose	Recommendation
<i>Estações de limpeza de calçado e desinfetantes para as mãos</i>	7 µL / mL	Os dispensadores de desinfetantes serão preenchidos com uma solução 0.7% v/v de Ultrasan® (7 mL/L água)
<i>Pés-dilúvios para pneus</i>	2.5 µL / mL	Para um pé-dilúvio com 1000 L de água, adicionar 2,5 L de Ultrasan®. Repetir a operação após episódios de chuva intensa

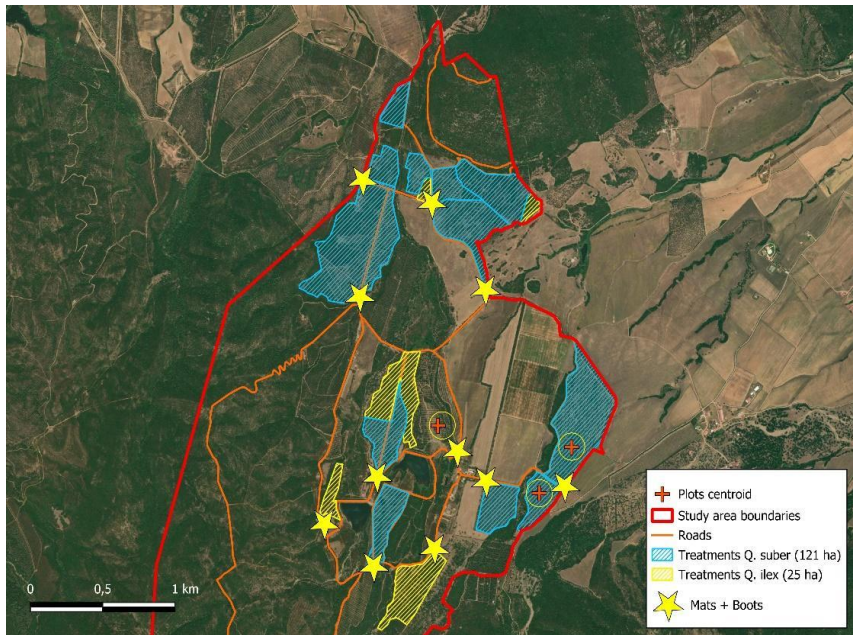
Para uma outra opção, os tapetes desinfetantes (Fosse Ltd) (Figura 13 b,c), podem ser colocados à entrada e à saída dos caminhos que atravessam ou fazem fronteira com zonas infetadas, para contrariar o movimento passivo do inóculo. Os tapetes são preenchidos com uma das soluções desinfetantes, humedecendo os pneus quando os veículos passam por cima. Serão acompanhados por placas de sinalização concebidas especificamente para o efeito e que chamam a atenção (Figura 13 d). Estes painéis de sinalização: 1) detalham os passos necessários para limpar com sucesso os veículos e, especialmente, os pneus dos veículos do inóculo sempre que se utiliza um dos caminhos que atravessam ou fazem fronteira com áreas infetadas; 2) sublinham a gravidade das infeções causadas pela *Phytophthora* e os danos causados por elas em termos geralmente compreensíveis, fazendo um apelo significativo à ação.

**IV) Kits móveis de limpeza:** Kits de limpeza fáceis de utilizar, incluindo um spray desinfetante e uma escova para higienizar botas e outras ferramentas para as pessoas (caminhantes, trabalhadores, técnicos) que interagem frequentemente ou necessariamente com as áreas infetadas (Figure 13a).



**Figure 13.** Kits de limpeza móveis (a), estações de limpeza de veículos (b e c), sinalização (d).

Toda a implementação da PMI pode ser observada na figura 14, que representa as atividades realizadas na exploração Monte Arcosu (Sardenia, Italy).



**Figure 14.** Mapas dos povoamentos de sobreiro e azinheira, incluindo a localização da estação de limpeza de veículos na exploração Monte Arcosu.

### 5.1. Sinalização

As medidas de higiene serão acompanhadas por sinalética especificamente concebida e apelativa (Fig. 15). Estes sinais têm principalmente os seguintes objetivos:

- Detalhar os passos necessários para utilizar com sucesso as estações de limpeza de calçado
- Sublinhar a gravidade das infeções por *Phytophthora* e os danos causados por este agente patogénico em termos geralmente compreensíveis, embalados num apelo significativo à ação.
- Aviso sobre a presença de pé-dilúvio de pneus e a velocidade recomendada para a sua utilização.
- Indicação da área em que os tratamentos serão efetuados.



**Figure 15.** Sinalética para medidas de higiene e sensibilização dos cidadãos instalada na Área Demonstrativa de La Tejera (Villaviciosa de Córdoba, Spain).

## 6. Melhores práticas em povoamentos “montado” de azinheira

Finalmente, a gestão é considerada uma parte altamente relevante dos protocolos IPM. As práticas culturais incorrectas estão incluídas entre os fatores que incitam ao declínio. Para a gestão dos povoamentos “montado” de azinheiras, pode ser implementada uma série de medidas, a seguir enumeradas, no que diz respeito à sua relação com o declínio do carvalho e a propagação de agentes patogénicos.

### 1. Gestão contínua dos “montados”

O abandono dos montados leva à invasão de arbustos e à deterioração das árvores. A sustentabilidade económica dos montados deve estar no centro dos protocolos IPM, uma vez que os montados economicamente rentáveis são mais provavelmente bem geridos do que os pobres. A pecuária extensiva e as práticas agrícolas que oferecem produtos de alta qualidade são as melhores opções.

### 2. Monitorizar regularmente o estado de saúde das azinheiras

Avaliar regularmente a desfoliação das árvores e a abundância de pragas e doenças (insetos e cancro). Se a desfoliação começar a aumentar numa área limitada, afetando várias árvores, ou se for evidente o declínio generalizado e a disseminação de agentes patogénicos, contacte prontamente um

técnico florestal ou agrónomo especializado para diagnóstico e terapêutica adequada. Tenha em conta que a deteção precoce aumenta consideravelmente a eficácia das medidas de controlo e reduz sensivelmente os custos.

### 3. Efetuar podas regulares

A poda é importante para i) remover partes mortas da planta que são uma fonte de proliferação de pragas e agentes patogénicos, e ii) estimular uma atividade vegetativa e reprodutiva vigorosa. Assim, recomenda-se a realização de uma poda de manutenção a cada 3,5 anos. A poda deve ser efetuada por arboristas especializados, no final do inverno ou no início da primavera, em função das condições locais, mas antes do fim do período de repouso invernal. A poda deve ser efetuada apenas em ramos com um diâmetro superior a 15 cm e deve ter-se o cuidado de não causar danos à árvore devido a uma inclinação incorreta do corte ou a danos não intencionais causados por uma utilização incorreta da ferramenta. Práticas incorretas de poda enfraquecem as árvores, favorecendo o processo de declínio.

### 4. Evitar a lavoura com alfaias de aiveca ou de lavoura profunda.

Estas alfaias têm efeitos negativos no processo de declínio, tanto devido à danificação do sistema radicular do carvalho, principalmente das suas raízes secundárias, que são muito superficiais, como ao espalhamento de solo infetado. A remoção do mato deve ser efectuada com meios que removam o mínimo de solo possível, incluindo, sempre que possível, roçadoras de corrente ou martelos. A plantação deve ser efectuada com alfaias pouco profundas, se possível, evitando a lavoura. Estas medidas são muito relevantes quando é identificado um foco de doença e o diagnóstico de *P. cinnamomi* é positivo.

### 5. Desinfecção de máquinas pesadas:

Nas zonas de declínio da azinheira, o controlo dos movimentos do solo e do material vegetal é fundamental. O inóculo de *P. cinnamomi* está presente nas camadas superiores do solo e, muito provavelmente, nos detritos e na matéria orgânica do solo. Assim, pode ser facilmente transportado com maquinaria e alfaias pesadas.

Por conseguinte, é obrigatória a desinfecção da maquinaria pesada após as práticas culturais. Esta desinfecção pode ser facilmente efectuada em condições normais, utilizando uma solução de hipoclorito de sódio a 5% (lixívia comum a 10%). Pode preparar-se um pulverizador com 1 litro de lixívia e 9 litros de água, que se aplica nos órgãos rotativos, nas partes sujas e se aplica depois de terminado o trabalho.

A desinfecção também pode ser feita com sais de amónio quaternário, adicionando uma quantidade aproximada de 250 mL em 10 L no pulverizador.

Quando o solo estiver muito húmido, se a acumulação de lama for relevante para a maquinaria, recomenda-se que se remova o máximo de lama possível antes da desinfecção.

Isto também se aplica a qualquer veículo que entre na zona afetada. Quando os veículos saem das estradas, a probabilidade de acumularem terra e detritos é maior e, por isso, a sua desinfeção deve incluir as partes mais sujas, bem como as rodas, pelo que o banho dos pneus pode não ser suficiente.

## 6. Qualidade do solo

O solo é fundamental para o estado de saúde das árvores. Solos pesados, com baixa capacidade de troca catiónica, e solos muito deficientes em nutrientes são considerados fatores predisponentes ao declínio da azinheira. Assim, seria recomendada uma análise do solo nas áreas em declínio.

A correção do solo calcário pode ser positiva quando a fertilidade do solo é muito fraca. Os solos ricos em calcário são menos propensos ao apodrecimento das raízes, principalmente devido ao seu efeito no estado de saúde da árvore. Quando a fertilidade do solo é demasiado rica ou os solos são deficientes, seria recomendável uma correção do calcário.

Se o montado for cultivado regularmente, recomenda-se também a implementação da rotação de culturas com culturas leguminosas. Neste caso, evite o uso de tremçoço (*Lupinus luteus* L). Esta cultura tem sido tradicionalmente utilizada em montados devido ao seu valor nutritivo. No entanto, não é recomendado em montados em declínio, pois pode funcionar como reservatório de inóculo de *P. cinnamomi* (é um hospedeiro assintomático).

A correção da matéria orgânica deve ser cuidadosamente ponderada e utilizada em diversas ocasiões, muito limitadas. A *Phytophthora cinnamomi* pode sobreviver como saprófita alimentando-se de detritos e restos de matéria vegetal e orgânica do solo. No entanto, este agente patogénico é considerado um mau competidor em condições saprofíticas. Portanto, o elevado teor de MO no solo pode ter um efeito positivo no inóculo através do aumento da diversidade e abundância microbiana, mas não é um meio de controlo do inóculo. Além disso, sob baixas concentrações de matéria orgânica, um aumento do seu conteúdo poderia até melhorar as condições de sobrevivência dos agentes patogénicos.

## 7. Bibliografia

- Akilli Şimşek, S., Katircioğlu, Y.Z., Ulubaş Serçe, Ç., Çakar, D., Rigling, D., Maden, S., 2019. *Phytophthora* species associated with dieback of sweet chestnut in Western Turkey. For. Pathol. 49 (4), e12533.
- Aleandri, M. P., Chilosi, G., Bruni, N., Tomassini, A., Vettrano, A. M., & Vannini, A., 2015. Use of nursery potting mixes amended with local *Trichoderma* strains with multiple complementary mechanisms to control soil-borne diseases. Crop Prot., 67, 269-278.
- Aronson, J.; Pereira, J.S.; Pausas, J.G. 2009. *Cork Oak Woodlands on the Edge: Ecology, Adaptive Management, and Restoration*; Island Press: Washington, DC, USA.
- Aurangzeb, W., Guidoni, L., Rodríguez, C. M., Cecca, D., & Vannini, A. 2023. Exploring the diversity of *Phytophthora* spp. and the role of *Phytophthora multivora* in cork and holm oak coastal forests in Italy. Mycol Progress, 22(7), 51.

- Balci, Y.; Halmschlager, E. 2003. First report of *Phytophthora quercina* from oak forests in Austria. *Plant Pathol.*, 52, 403.
- Brasier, C.M.; Robredo, F.; Ferraz, J.F.P. 1993. Evidence for *Phytophthora cinnamomi* involvement in Iberian oak decline. *Plant Pathol.*, 42, 140–145
- Brasier, C.M., 1978. Stimulation of oospore formation in *Phytophthora* by antagonistic species of *Trichoderma* and its ecological implications. *Annals of Applied Biol.*, 89(1), 135-139.
- Camilo-Alves, C.S.P.; da Clara, M.I.E.; Ribeiro, N.A. 2013. Decline of Mediterranean oak trees and its association with *Phytophthora cinnamomi*: a review. *Eur. J. For. Res.*, 132, 411–432.
- Cardillo, E., Acedo, A., Abad, E., 2018. Topographic effects on dispersal patterns of *Phytophthora cinnamomi* at a stand scale in a Spanish heathland. *PLOS ONE* 13, e0195060. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0195060>
- Carrasco Gotarredona, Á., Fernández Cancio, Á., Trapero Casas, A., López Pantoja, G., Sánchez Osorio, I., Ruiz Navarro, J.M., Jiménez Molina, J.J., Domínguez Nevado, L., Romero Martín, M. de los Á., Carbonero Muñoz, M.D., Sánchez Hernández, M.E., Lucas Caetano, P.C., Gil Hernández, P., Fernández Rebollo, P., Navarro Cerrillo, R.M., Sánchez de la Cuesta, R., Raposo Llobet, R., Rodríguez Reviriego, S., 2009. Procesos de Decaimiento Forestal (la Seca): Situación del Conocimiento, 1ª edición. ed. Consejería de Medio Ambiente, Córdoba, España.
- Díaz Esteban, M., Pulido Díaz, F., 2009. 6310: “dehesas” perennifolias de *Quercus* spp, in: Bases ecológicas preliminares para la conservación de los tipos de hábitat de interés comunitario en España. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino, Madrid.
- Gallego, F.J.; Perez de Algaba, A.; Fernandez-Escobar, R. 1999. Etiology of oak decline in Spain. *Eur. J. For. Pathol.*, 29, 17–27.
- Gómez-Aparicio, L.; Ibáñez, B.; Serrano, M.S.; De Vita, P.; Ávila, J.M.; Perez-Ramos, I.M.; Garcia, L.V.; Sanchez, M.E.; Maranon, T. 2012. Spatial patterns of soil pathogens in declining Mediterranean forests: implications for tree species regeneration. *New Phyt.*, 194, 1014–1024.
- Hernández-Lambraño, R.E., González-Moreno, P., Sánchez-Agudo, J.Á., 2018. Environmental factors associated with the spatial distribution of invasive plant pathogens in the Iberian Peninsula: The case of *Phytophthora cinnamomi* Rands. *Forest Ecology and Management* 419–420, 101–109. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2018.03.026>
- Jönsson, U., Lundberg, L., Sonesson, K., Jung, T . 2003. First records of soilborne *Phytophthora* species in Swedish oak forests. *Forest Pathol.*, 33(3), 175-179.
- Jung, T., Blaschke, H., Neumann, P. 1996. Isolation, identification and pathogenicity of *Phytophthora* species from declining oak stands. *Eur. J. Plant Pathol.* 26(5), 253-272.
- Martins, L., Castro, J., Macedo, W., Marques, C., Abreu, C., 2007. Assessment of the spread of chestnut ink disease using remote sensing and geostatistical methods. *Eur. J. Plant Pathol.* 119 (2), 159–164.
- Martins, L., Oliveira, M., Abreu, C., 1998. Soils and climatic characteristic of chestnut stands that differ on the presence of the ink disease. In: II International Symposium on Chestnut, p. 494.
- Moricca, S.; Linaldeddu, B.T.; Ginetti, B.; Scanu, B.; Franceschini, A.; Ragazzi, A. 2016. Endemic and emerging pathogens threatening cork oak trees: Management options for conserving a unique forest ecosystem. *Plant Dis.*, 100, 2184–2193.
- Moreira, A.C., Martins, J.M.S. 2005. Influence of site factors on the impact of *Phytophthora cinnamomi* in cork oak stands in Portugal. *Forest Pathol.* 35(3), 145-162.

- Pratt, B.H., Sedgley, J.H., Heater, W.A., Shepherd, C.J., 1972. Oospore Production in *Phytophthora Cinnamomi* in the Presence of *Trichoderma Koningii*. Australian Journal of Biological Sciences, 25(4), 861-864. <https://doi.org/10.1071/BI9720861>
- Robin, C., Desprez-Loustau, M. L., Capron, G., Delatour, C. 1998. First record of *Phytophthora cinnamomi* on cork and holm oaks in France and evidence of pathogenicity. In Annales des sciences forestières (Vol. 55, No. 8, pp. 869-883). EDP Sciences.
- Rodá, F., Vayreda, J., Ninyerola, M., 2009. 9340: Encinares de *Quercus ilex* y *Quercus rotundifolia*, in: Bases ecológicas preliminares para la conservación de los tipos de hábitat de interés comunitario en España. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino, Madrid.
- Ruiz-Gómez, F.J., Pérez-de-Luque, A., Navarro-Cerrillo, R.M., 2019. The Involvement of Phytophthora Root Rot and Drought Stress in Holm Oak Decline: from Ecophysiology to Microbiome Influence. Curr Forestry Rep 5, 251–266. <https://doi.org/10.1007/s40725-019-00105-3>
- Ruiz-Gómez, F.J.; Miguel-Rojas, C., 2021. Antagonistic Potential of Native *Trichoderma* spp. against *Phytophthora cinnamomi* in the Control of Holm Oak Decline in “dehesas” Ecosystems. Forests, 12(7), 945. <https://doi.org/10.3390/f12070945>.
- Sánchez-Cuesta, R., González-Moreno, P., Cortés-Márquez, A., Navarro-Cerrillo, R.M., Ruiz-Gómez, F.J., 2022. Soil distribution of *Phytophthora cinnamomi* inoculum in oak afforestation depends on site characteristics rather than host availability. New Forests. <https://doi.org/10.1007/s11056-022-09951-9>
- Sánchez-Cuesta, R., Ruiz-Gómez, F.J., Duque-Lazo, J., González-Moreno, P., Navarro-Cerrillo, R.M., 2021. The environmental drivers influencing spatio-temporal dynamics of oak defoliation and mortality in “dehesas” of Southern Spain. Forest Ecology and Management 485, 118946. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2021.118946>
- Scanu, B., Linaldeddu, B.T., Franceschini, A., Anselmi, N., Vannini, A., Vettraino, A.M. 2013. Occurrence of *Phytophthora cinnamomi* in cork oak forests in Italy. Forest Patho. 43:340-343.
- Seddaiu, S., Brandano, A., Ruiu, P.A., Sechi, C., Scanu, B., 2020. An overview of *Phytophthora* species inhabiting declining *Quercus suber* stands in Sardinia (Italy). Forests 11, 971.
- Senado, 2010. Ponencia de Estudio sobre la protección del ecosistema de la dehesa. (Boletín Oficial de las Cortes Generales, IX Legislatura, nº 8 No. 543/000009). Senado.
- Sharma, A. K., & Sharma, P. (2020). *Trichoderma*. Springer Singapore.
- Vannini, A., and Morales-Rodríguez, C. "Phytophthora diseases." Forest Microbiology. Academic Press, 2022. 379-402.
- Vannini, A., Natili, G., Anselmi, N., Montagni, A. and Vettraino, A. M. 2010. Distribution and gradient analysis of Ink disease in chestnut forests. Forest Pathol. 40(2), 73–86. doi:10.1111/j.1439-0329.2009.00609.x.
- Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E. L., Marra, R., Woo, S. L., & Lorito, M. (2008). *Trichoderma*–plant-pathogen interactions. Soil Biology and Biochemistry, 40(1), 1-10.