



LA PROBLEMÁTICA DE LA RESISTENCIA DE HONGOS A FUNGICIDAS. CAUSAS Y EFECTOS EN CULTIVOS EXTENSIVOS

Ing. Agr. M.Sc. Dr. Carmona Marcelo & Ing. Agr. Mg. Sautua Francisco

Universidad de Buenos Aires, Facultad de Agronomía, Cátedra de Fitopatología,
Buenos Aires, Argentina carmonam@agro.uba.ar

Recibido: 03/01/2017

Aceptado: 24/04/2017

RESUMEN

La resistencia a fungicidas tiene un costo financiero para productores agropecuarios, para los fabricantes de fungicidas y para la sociedad toda. Asimismo, el surgimiento de la resistencia reduce la disponibilidad de ingredientes activos con diferente modo de acción disponibles en la lucha contra los hongos fitopatógenos, dificultando sobremanera el manejo agronómico de las enfermedades. La resistencia depende del impacto de las propiedades de cada principio activo fungicida y de la estructura genética de las poblaciones de patógenos, como así también de las prácticas de manejo agronómico seleccionadas para cada patosistema. En consecuencia, para combatir la resistencia, el uso de los fungicidas debe enmarcarse dentro de un programa de manejo integrado de enfermedades en combinación con las buenas prácticas agrícolas que garantizan las estrategias de manejo de resistencia a fungicidas. Esta es la única manera de poder maximizar la vida útil y la eficacia de los principios activos fungicidas actualmente disponibles en el mercado, durante el mayor período de tiempo, garantizando la sustentabilidad económica y ambiental.

Palabras Clave: manejo integrado de enfermedades, inhibidores de la quinona externa, inhibidores de la succinato deshidrogenasa, inhibidores de la desmetilación, reducción de la sensibilidad

THE PROBLEM OF RESISTANCE OF FUNGI TO FUNGICIDES. CAUSES AND EFFECTS ON EXTENSIVE CROPS

SUMMARY

Resistance to fungicides has a financial cost for agricultural producers, for fungicide manufacturers and for the whole society. Also, the emergence of resistance reduces the availability of active ingredients with different modes of action available in the fight against phytopathogenic fungi, making the agronomic management of diseases very difficult. Resistance depends on the impact of the properties of each fungicide active ingredient and the genetic structure of pathogen populations, as well as on the agronomic management practices selected for each pathosystem. Therefore, to combat resistance, the use of fungicides should be framed within an integrated disease management program in combination with good agricultural practices that guarantee fungicide resistance management strategies. This is the only way to maximize the useful life and effectiveness of the fungicide active ingredients currently available on the market, over the longest period of time, ensuring economic and environmental sustainability.

Key words: integrated disease management, quinone outside inhibitors, succinate dehydrogenase inhibitors, demethylation inhibitors, sensitivity reduction.

INTRODUCCIÓN

El control químico de las enfermedades es una de las medidas de manejo más empleadas en la agricultura moderna, debido a que los fungicidas se han convertido en una parte integral de la producción eficiente de alimentos. En muchas ocasiones, la utilización de fungicidas constituye una medida eficiente, rápida, práctica, y económicamente viable. Sin embargo, y al igual de lo que sucede con malezas e insectos, las poblaciones de hongos objeto de control pueden generar resistencia, tornando a los insumos fitosanitarios destinados a la protección vegetal ineficientes, generando graves problemas a los productores, empresas y a la comunidad en general (Garrán *et al.*, 2001; Hollomon, 2015; Mikaberidze y McDonald, 2015; Carmona *et al.*, 2017b). La vida útil o efectiva de un fungicida se define como el período tiempo que va desde el inicio de uso en un cultivo, en una región, cuando se lanza al mercado, hasta que el mismo pierde el control efectivo de campo, de la enfermedad que se pretende controlar (Hobbelen *et al.*, 2013). Por lo tanto, el surgimiento de resistencia a los diferentes principios activos fungicidas es hoy en día uno de los aspectos más importantes de la agricultura actual (Deising *et al.*, 2008; Hollomon, 2015; Lucas *et al.*, 2015).

El control químico y la resistencia

La resistencia a los fungicidas es un término que refiere a una reducción adquirida y heredable de la sensibilidad de un hongo a un principio activo antifúngico específico (Bekerman, 2013). Es decir, la resistencia constituye una propiedad heredable y estable de los organismos fúngicos, por la cual obtienen la habilidad de adaptación a diferentes condiciones agronómicas normalmente adversas, y por lo tanto les permite sobrevivir. Por medio de este proceso de adquisición de resistencia, algunos individuos de la población fúngica logran sobrevivir, multiplicarse y propagarse, a pesar de haber sido expuestos a la aplicación de un fungicida que normalmente controlaba a esa población (Hobbelen *et al.*, 2014). Este

proceso involucra la sustitución genética de la población susceptible original del patógeno, mediante una nueva población genéticamente y bioquímicamente distinta, que confiere resistencia. Las cepas resistentes se originan de mutaciones genéticas caracterizadas por una baja tasa de ocurrencia, es decir que la probabilidad de aparición es tan baja que al principio la población apenas se ve alterada. La sustitución de formas susceptibles por las resistentes sucede porque, en presencia del fungicida, la forma resistente se multiplica más rápidamente que la forma susceptible. Finalmente, estas cepas sobrevivientes empiezan a dominar esa población haciendo totalmente ineficiente al fungicida en cuestión (van den Bosch *et al.*, 2011). De esta manera, la evolución de la resistencia a fungicidas puede ser dividida en dos fases: emergencia y selección (Brent *et al.*, 1990; Brent y Hollomon, 1998). Durante la fase de emergencia, las cepas resistentes surgen o se generan a través de mutaciones espontáneas, y subsecuentemente invaden la población del patógeno. En esta fase, el número de lesiones resistentes al fungicida es muy pequeño y las cepas resistentes pueden extinguirse debido a variación aleatoria. La longitud de la fase de emergencia (tiempo de emergencia) puede ser definida como el tiempo que va desde la introducción de un nuevo modo de acción fungicida hasta que la cepa resistente logra establecer una subpoblación suficiente como para no ser exterminada aleatoriamente. La evolución de la resistencia entra entonces en la fase de selección, en la cual la aplicación de fungicidas incrementa la frecuencia de las cepas resistentes en la población patogénica global. El tiempo de emergencia de la resistencia (tiempo en que tarda en surgir la resistencia a un determinado principio activo fungicida en la población de un determinado patógeno desde el inicio de uso) es función del efecto combinado de la dosis sobre la densidad de la población del patógeno, la tasa de mutación y la probabilidad de invasión (fase de selección) (Hobbelen *et al.*, 2014).

Causas que originan la resistencia

La resistencia a un determinado fungicida generalmente resulta de una alteración genética que determina una modificación en el sitio de acción del fungicida en la célula del patógeno objeto de control. Esta alteración está determinada por un cambio genético heredable, es decir en la molécula de ADN. El desarrollo de resistencia a los fungicidas en patógenos está directamente influenciado por la biología y la variabilidad intrínseca del patógeno, así como por el modo o mecanismo bioquímico de acción del fungicida en la célula fúngica (MoA) (Brent y Hollomon, 2007).

Los fungicidas, por su propia naturaleza, pueden ser productos químicos altamente específicos que afectan enzimas específicas de los patógenos. La mayor especificidad a menudo puede resultar en una rápida evolución de la resistencia en los patógenos. De esta manera, el sitio de acción del fungicida y el grado de especificidad de éste, es uno de los aspectos más importantes que impulsan la evolución de patógenos, de manera que fungicidas que tienen un solo sitio o mecanismo bioquímico de acción por lo general tienden a favorecer una evolución más rápida de la resistencia, como por ejemplo los inhibidores de la quinona externa (IQe, ejemplo químico: “estrobilurinas”) (Gisi *et al.*, 2002; Fisher y Meunier, 2008; Ishii, 2010; Sierotzki, 2015) y los inhibidores de la succinato deshidrogenasa (ISDH, ejemplo químico: “carboxamidas”) (Avenot y Michailides, 2010; Fraaije *et al.*, 2012; Scalliet *et al.*, 2012; Stammler *et al.*, 2015), entre otros. Este fenómeno se denomina resistencia “cualitativa” y puede extenderse hacia todas las moléculas con el mismo MoA (FRAC, 2017a). Este tipo de resistencia no puede ser invertido fácilmente, incluso si se interrumpen o discontinúan los tratamientos. Sin embargo, otros grupos de fungicidas, como por ejemplo los inhibidores de la biosíntesis de esteroides fúngicos como el ergosterol (IBE, ejemplo químico: “triazoles”), si bien poseen un solo sitio de acción, tienden a desarrollar resistencia “cuantitativa”, gobernada por varios factores

genéticos, la cual se acumula en el tiempo dando cambios graduales en la sensibilidad de la población de hongos, que pueden disminuir cuando se retiran las aplicaciones de fungicida (Stergiopoulos *et al.*, 2003; Fraaije *et al.*, 2011; Leroux y Walker, 2011; Ziogas y Malandrakis, 2015). Por lo tanto, el conocimiento del MoA de un principio activo puede indicar el nivel de riesgo a generar resistencia por parte de los hongos patógenos, pero el proceso de resistencia está regulado por la cantidad de genes que gobiernan las enzimas y rutas metabólicas específicas involucradas. Un MoA monositio altamente específico (un único sitio de acción en la célula fúngica donde actúa), en comparación con otro multi-sitio (varios sitios de control), es un indicador de mayor riesgo (Steffens *et al.*, 1996; Brent y Hollomon, 1998). Asimismo, la resistencia cruzada implica que moléculas fungitóxicas que pertenecen al mismo grupo químico con el mismo MoA (gobernados por el mismo factor genético), tienen mayor probabilidad de no ser efectivas contra una cepa que ha generado resistencia contra otra molécula del mismo grupo de resistencia cruzada, aun cuando nunca fueron utilizadas contra ese patógeno (Brent y Hollomon, 1998; Carmona, 2007a). Por el contrario, cuando un hongo se torna resistente a moléculas de diferentes MoA, se denomina resistencia múltiple.

La biología y epidemiología de los hongos son también factores claves al momento de analizar la resistencia. Así por ejemplo, un patógeno con elevado número de generaciones en el ciclo de cultivo, con alta tasa epidemiológica, cortos periodos de incubación y de latencia, alta variabilidad genética, con amplio rango de hospedantes, y con esporas que sean fácilmente dispersadas (Figura 1), tendrá mayor probabilidad de generar resistencia.

Otro de los factores importantes que influyen en el desarrollo de la resistencia a fungicidas es el manejo agronómico de las prácticas de control químico, tales como el número y momento de las aplicaciones, la dosis de campo, la falta de alternancia de diferentes MoA,

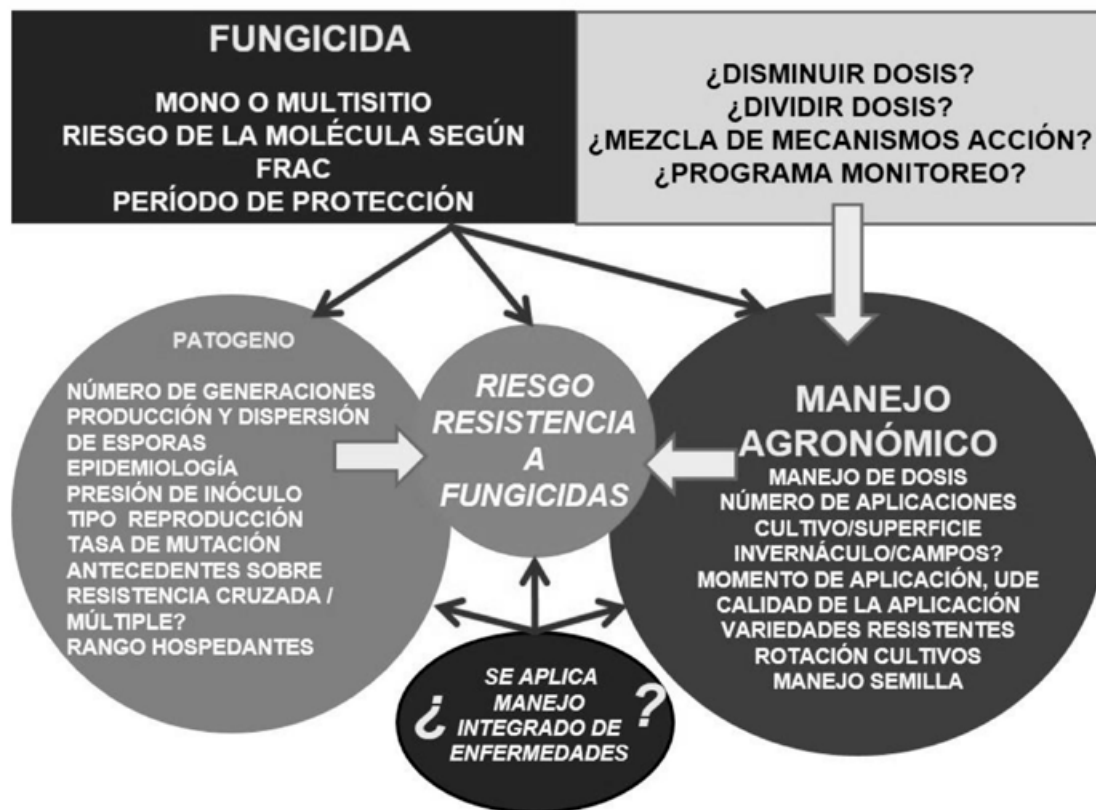


Figura 1. Interacción entre factores agronómicos, químicos y biológicos que influyen en la generación de resistencia a fungicidas en los hongos fitopatógenos (Carmona, 2016).

etc. A su vez, el manejo químico influye y es influido directamente por la presencia o ausencia de otras prácticas de Manejo Integrado de enfermedades (Figura 1). Entre las causas más frecuentes que originan la resistencia se destacan: 1) Uso continuo de moléculas con el idéntico mecanismo de acción, 2) Utilización de sub-dosis y/o aplicaciones divididas, 3) cambios en los intervalos de aplicación, 4) aplicaciones tardías y 5) fallas en la tecnología de aplicación.

El riesgo de las subdosis o dosis divididas

Es importante destacar que el empleo de subdosis o dosis divididas, es decir, por debajo de lo recomendado, aún en mezclas de principios activos, aumenta el riesgo de generar resistencia a los fungicidas que se utilicen.

Los motivos fundamentales de esta afirmación son:

1) La mayor parte de la evidencia científica mundial sugiere que la división de una determinada dosis de fungicida en dos o más aplicaciones, selecciona con más fuerza cepas resistentes, en comparación con la selección ejercida por una aplicación única a dosis más altas (van den Bosch *et al.*, 2011; Gressel, 2011; Hollomon, 2012; van den Bosch *et al.*, 2015). Esto se debe a que si la dosis de cada aplicación se reduce a la mitad o se divide, el periodo de tiempo durante el cual la selección se lleva a cabo se duplica (van den Bosch *et al.*, 2014a). Por lo tanto, la probabilidad de generación de resistencia aumenta con el uso de subdosis al generar una mayor presión de

selección favoreciendo la supervivencia de una fracción de la población de hongos que no son tan sensibles a los principios activos aplicados. El fungicida ejerce una fuerte presión de selección sobre la población de patógenos ya que mata a la población inicial sensible, pero no mata a la población que ha cambiado (o mutante) (Gressel, 2011). Al reproducirse, los microorganismos que fueron seleccionados por tal ambiente, darán futuras generaciones aumentando la proporción de genes de resistencia dentro de la población a controlar. Al incurrir en esta mala práctica agronómica, una cierta proporción relativamente baja de la población de patógenos objeto de control, puede recibir dosis subletales. Cuando esto sucede, esta proporción es sometida a estrés, ejercido por la acción de la molécula fungicida. Sin embargo, algunos individuos pueden sobrevivir, utilizando diversos mecanismos de resistencia al estrés. El estrés es un promotor general de las mutaciones. Por lo tanto, es muy probable que los sobrevivientes tengan más mutaciones que lo normal, incluyendo aquellas que conducen a la resistencia a los fungicidas, tanto la gobernada por genes mayores únicos (resistencia monogénica u oligogénica), como la gobernada por genes menores (resistencia poligénica, mutaciones alélicas secuenciales). Las mutaciones pueden ocurrir tanto en los genes nucleares, así como en los genes citoplasmáticos (contenidos en el cromosoma de mitocondrias) (De Miccolis Angelini *et al.*, 2015).

Van den Bosch *et al.* (2014a) mostraron cómo las dosis divididas incrementaron la selección para la resistencia, debido a que el aumento en el tiempo de exposición es mayor que el efecto de la dosis reducida. De un total de 11 combinaciones patógeno-fungicida publicadas, en 10 de ellas se observó un incremento de la selección de resistencia en aplicaciones con dosis dividida. La evidencia experimental que describe el efecto de la dosis de campo en la selección para la resistencia a los fungicidas, tales como los azoles, conferida por múltiples cambios genéticos (cada uno

contribuye a un cambio continuo en la sensibilidad), sugiere que las dosis más bajas reducen la selección para la resistencia (Hunter *et al.*, 1984; Porras *et al.*, 1990; Metcalfe *et al.*, 2000; Mavroeidi y Shaw, 2006). Por lo tanto, si bien algunos investigadores apoyan la teoría del uso de la dosis mínima eficaz (Shaw, 2009), la dosis efectiva más baja posible es difícil, sino imposible, de cuantificar debido a la continua evolución de las variantes de los genes que confieren resistencia, y a las diferencias en las clasificaciones de resistencia varietal frente a las diferentes enfermedades (Walklate *et al.*, 2006). Por lo tanto, la recomendación de utilizar los compuestos más eficaces en dosis más altas sigue siendo la mejor estrategia para el control de las enfermedades, aunque la selección de los fenotipos más resistentes podría ser más fuerte (Cools y Fraaije, 2012).

2) La teoría dice que la reducción de la dosis de aplicación de un fungicida abarata costos de producción y beneficia al medio ambiente. Sin embargo, las subdosis pueden aumentar el riesgo de resistencia a los fungicidas al permitir que las esporas con resistencia parcial se acumulen en el tiempo, de manera que cuanto mayor sea la oportunidad que tienen para multiplicarse, mayor será el riesgo de que surjan incluso esporas más resistentes (Figura 2) (Deising *et al.*, 2008; Vincelli, 2014; van den Bosch *et al.*, 2015). Si bien es cierto que las dosis muy altas (mayores a las recomendadas) pueden acelerar el proceso de selección de cepas resistentes (resistencia cualitativa, otorgada por genes "mayores") (Genet *et al.*, 2006; van den Bosch *et al.*, 2011; Oliver y Hewitt, 2014), la presión de selección causada por dosis más bajas, subletales, pueden aumentar las tasas de mutación de los hongos patogénicos y dar lugar a una evolución más rápida de la resistencia, principalmente de tipo cuantitativa (cepas "tolerantes"), como por ejemplo en el caso de los triazoles (Deising *et al.*, 2008; Gressel, 2011; Dooley *et al.*, 2016). De todas maneras, una dosis completa de fungicida (recomendada por el marbete) retrasa la emergencia de la resistencia al reducir el

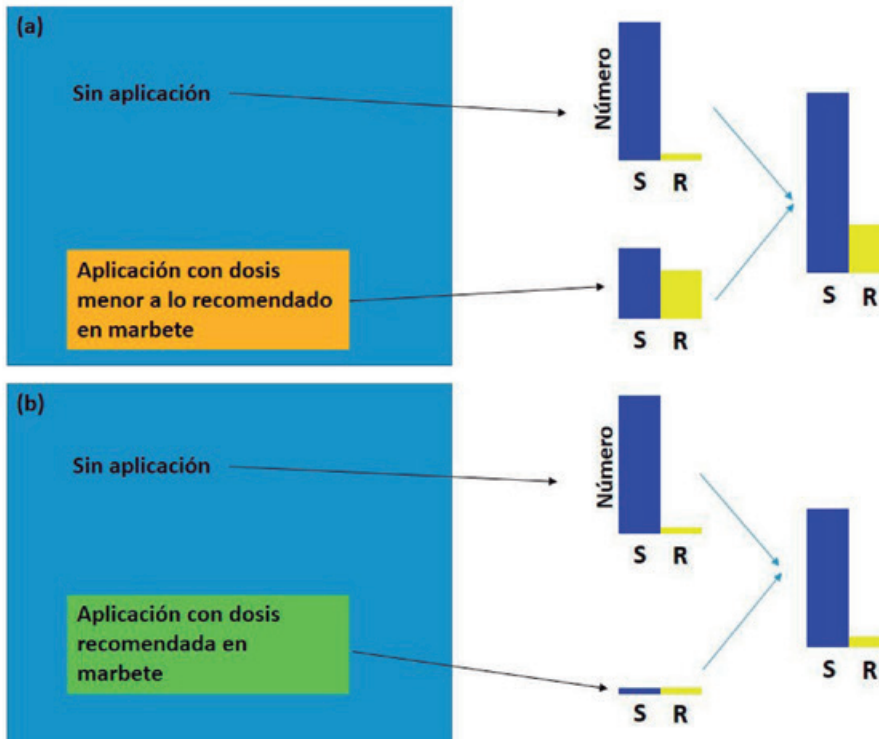


Figura 2. Efecto de áreas no tratadas, que actúan como fuente de inóculo, en la fuerza de la selección para la resistencia. (a) A la izquierda se muestra un área que contiene el cultivo de interés. Una porción del área es pulverizada con fungicida a una dosis menor que la recomendada. El número de individuos susceptibles (S) y resistentes (R) en cada porción se muestran en las dos primeras barras de la derecha. Debido a que las sub-poblaciones de R y S están bien mezcladas, el cambio general, que se muestra en el gráfico de barras final, es menor que en la parte tratada del cultivo, es decir, la proporción de R es menor respecto del área tratada. (b) A dosis recomendadas, aunque la selección es más fuerte en el área tratada, el cambio global implica una menor proporción de R. Si se reduce el número absoluto de R que sobreviven en la parte tratada con dosis completa, también se reducirá consecuentemente la frecuencia de R en la próxima generación (Fuente: Shaw, 2009).

tamaño de la población sensible del patógeno, y por lo tanto el número de mutantes resistentes producidos por unidad de tiempo (Figura 2). Durante la fase de selección, es poco probable que mutaciones adicionales que ocurran en la población tengan un efecto cuantitativo en el curso de la selección, ya que el tamaño de la sub-población de la cepa resistente es suficiente como para evitar su extinción. De esta manera, la probabilidad de que las mutaciones adicionales afecten la dinámica del sistema es muy baja, hasta el punto tal que un aumento de dosis reduce la selección (van den Bosch *et al.*, 2011; Hobbelen *et al.*, 2014).

3) Las mezclas de fungicidas son desarrolladas por las empresas fabricantes selec-

cionando los principios activos que las componen, estableciendo la proporción de cada uno dentro de la mezcla, la dosis y el tipo de formulación, de tal modo que la recomendación de dosis de campo del marbete, y no de subdosis, garantiza que la concentración de todos los componentes de la mezcla que se introduzcan en la planta no disminuya por debajo de un nivel crítico, garantizando la eficacia de control, y por lo tanto disminuyendo al mínimo las probabilidades de que los patógenos puedan tornarse resistentes a dichos principios activos (Mavroeidi y Shaw, 2006; FRAC, 2010; Mikaberidze *et al.*, 2014; Mikaberidze y McDonald, 2015). Si bien el uso de formulados a base de mezclas de principios

activos con diferente MoA forma parte de una estrategia anti-resistencia, pues minimiza la selección de cepas resistentes, también debe recordarse que ninguna mezcla probablemente evite por completo el eventual desarrollo de resistencia a un principio activo de la misma (FRAC, 2010; Mikaberidze *et al.*, 2014). La selección que favorece la resistencia es inversamente proporcional al control logrado, pero la relación es específica para cada mezcla. Las propiedades de toda mezcla específica de principios activos fungicidas y sus respectivas proporciones dentro de la mezcla y dosis global de campo necesitan ser demostrados experimentalmente (Genet *et al.*, 2006; Mavroei y Shaw, 2006).

4) La dosis recomendada por el fabricante en los marbetes, o dosis completa, es aquella que consistentemente otorga un alto nivel de control de enfermedades a campo, entre variadas localidades a lo largo de varias campañas agrícolas (múltiples ensayos de investigación), típicamente entre un 80-90% de control en el 80-90% de los ensayos (Paveley, 2000). El uso de dosis menores que las indicadas por el fabricante, ya sea para abaratar costos o porque se considera que la población a controlar no es lo suficientemente grande, no sólo no logra los efectos esperados al aplicar el producto, sino que tarde o temprano potencia la capacidad de generar resistencia por parte de los hongos fitopatógenos. El uso de dosis completas minimiza la selección de cepas con sensibilidad intermedia cuando la resistencia es poligénica (resistencia cuantitativa), como en el caso de los triazoles (FRAC, 2017a). Las dosis más bajas que lo recomendado no brindan un control efectivo, y de esta manera permiten que cepas o razas con resistencia intermedia sobrevivan (Gallian *et al.*, 2006). Las dosis recomendadas en los marbetes incluyen un factor de seguridad que garantiza el buen funcionamiento del producto bajo una amplia gama de condiciones agronómicas. El mencionado factor surge de años de investigación, desarrollo y testeo a campo, antes de liberar comercialmente cada producto (Mikaberidze y

McDonald, 2015). La relación entre la dosis de fungicida de campo y la respuesta de control de la enfermedad y del rendimiento del cultivo con el costo de aplicación se esquematiza en la Figura 3. Es importante notar que la pérdida de rentabilidad en el margen económico de la aplicación de fungicida es mayor si la dosis se reduce por debajo de la dosis recomendada o completa. Por lo tanto, si existiera incertidumbre sobre la dosis correcta a utilizar en un determinado patosistema, es más prudente aumentar la dosis que disminuirla. A mayor incertidumbre, mayor es el margen de seguridad requerido. El mencionado factor de seguridad toma en consideración la variabilidad en el control de enfermedad logrado entre diferentes localidades, campañas agrícolas y variedades u híbridos comerciales de cada cultivo, es decir, diferentes patosistemas con diferente presión de enfermedad (Paveley, 2000; Oliver y Hewitt, 2014).

5) Si se reduce la dosis recomendada en una mezcla de fungicidas, no existe el “factor de compensación” entre moléculas de principios activos, al no existir una proporción balanceada de aquellas, tal como fue formulada para lograr la eficacia que garantice un adecuado control a campo.

Por lo tanto, el punto clave es equilibrar el control efectivo de la enfermedad, y la estrategia anti-resistencia, con el beneficio económico para el productor. Si bien las dosis podrían ajustarse a niveles necesarios para el control eficaz de la enfermedad, denominada dosis óptima, ésta podría diferir entre campañas agrícolas dependiendo de la presión de la enfermedad. Sin embargo, asesorar el uso de dosis menores que la recomendada para el control de enfermedades es una simplificación de este complejo proceso. Por lo tanto, hasta tanto no se realicen experiencias a campo en cada región agroecológica, y en diferentes campañas agrícolas, no se debe tomar el camino de la simplificación, sin conocer las profundas implicancias biológicas y económicas que ello puede acarrear. Se enfatiza que

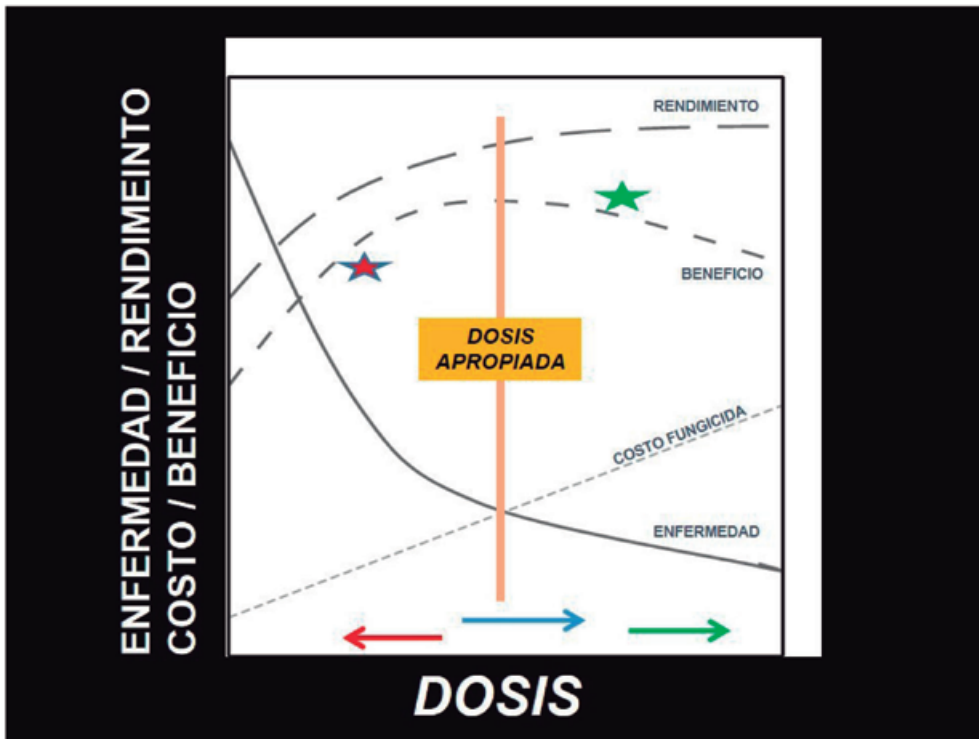


Figura 3. Curva de respuesta a la dosis de fungicida. El costo de la aplicación de fungicida se incrementa en proporción directa a la dosis aplicada. Como el nivel de daño y pérdida de calidad es proporcional al nivel de enfermedad, puede encontrarse un punto en la curva de respuesta en el cual incrementos adicionales de dosis no serán pagados por el resultante incremento de respuesta de rendimiento. En este punto el margen de la aplicación es maximizado y la cantidad de fungicida innecesaria es minimizada, por definición equivale a la dosis apropiada. Este nivel de dosis incluye un factor de seguridad, al estar promediado entre distintas localidades y distintas campañas agrícolas, con significancia estadística, lográndose el 80-90% de control en el 80-90% de los ensayos experimentales. La dosis apropiada es la dosis recomendada en el marbete, ya que es la que garantiza el máximo control posible a campo, y por lo tanto la que minimiza la probabilidad de generación de resistencia al fungicida o mezcla comercial formulada de fungicidas. Modificado de: Paveley, 2000; Oliver y Hewitt, 2014

el uso de mezclas de fungicidas, es decir al menos dos MoA que poseen similar eficacia y persistencia, es crítica para la buena gestión anti-resistencia.

***Ramularia collo-cygni*: un ejemplo de un patógeno con alta variabilidad**

Ramularia collo-cygni (*Rcc*), el agente causal de la Ramulariosis de la cebada, es internacionalmente considerado por el Comité de Acción para la Resistencia a Fungicidas (Fungicide Resistance Action Committee, FRAC por sus siglas en inglés) como un patógeno de alto riesgo a generar resistencia ante fungici-

das (FRAC, 2017b). *Rcc* es un ejemplo de un patógeno con una elevada variabilidad genética, lo cual implica un mayor riesgo de generación de resistencia a fungicidas (Piotrowska *et al.*, 2013, 2016a). En nuestro país es una enfermedad grave, pero esporádica, que genera daños de hasta 2000 kg/ha, dependiendo de las condiciones ambientales. Esta enfermedad ha orientado en el sur de la región pampeana el uso de fungicidas en cebada a base de carboxamidas.

De acuerdo con la experiencia europea, hacia fines de la década de 1990 la Ramulariosis fue inicialmente controlada con aplicaciones

aisladas de estrobilurinas. Al cabo de unas pocas campañas agrícolas, las primeras “fallas” de control o disminución de la actividad a campo de tales fungicidas se observaron durante el año 2002, en comparación con años anteriores (Oxley y Hunter, 2005). Luego, investigadores europeos comprobaron que estas “fallas” se debieron a la existencia de cepas o razas de *R. collo-cygni* resistentes a las estrobilurinas, desarrolladas en Reino Unido entre 2001 y 2002 (Fountaine y Fraaije, 2009). Desde 1999, la molécula azoxistrobina fue utilizada y recomendada como tratamiento fungicida efectivo contra *Rcc*, pero entre 2001/2002, después de tan solo un par de campañas agrícolas de uso generalizado, se detectaron las primeras cepas resistentes de *Rcc* desarrollados en el campo. Una simple sustitución de un solo aminoácido (glicina por alanina en la posición número 143 del gen que codifica para el citocromo b, integrante del complejo enzimático III, ubicado en la membrana mitocondrial, y que participa en la cadena de transporte de electrones para generar energía celular en forma de ATP), fue el responsable de la generación de este elevado nivel de resistencia cualitativa (Fountaine *et al.*, 2014).

Debido a este historial, *Rcc* se considera un patógeno de alto riesgo en términos de resistencia a otros grupos de fungicidas uni-sitio específicos que inhiben la respiración fúngica mediante la unión al complejo II de la respiración mitocondrial (carboxamidas). Hoy es posible afirmar que *Rcc* ha generado cepas resistentes a todas las moléculas fungicidas utilizadas, con excepción al protioconazole (Oxley, 2004; Fountaine y Fraaije, 2009; HGCA, 2013; Fountaine *et al.*, 2014; FRAG-UK, 2016; Piotrowska *et al.*, 2016b).

Debido a la aparición de cepas resistentes de *Rcc* en Reino Unido, actualmente no se utilizan más los IQe para su control, sino que se utilizan mezclas de ISDH, IBE y un fungicida con mecanismo de acción multisitio, de bajo riesgo de generación de resistencia, como el clortalonil (Piotrowska M., com. personal).

Esta táctica de control químico es similar a la actual estrategia de control de la roya asiática de la soja (*Phakopsora pachyrhizi*) en Brasil, donde a las mezclas de IQe, IBE e ISDH se las utiliza en mezcla con el fungicida multisitio mancozeb (Carmona *et al.*, 2017a).

Buenas prácticas agrícolas para evitar la resistencia de los hongos a fungicidas

Desde hace años, la comunidad científica internacional ha documentado ampliamente numerosos casos de resistencia a estrobilurinas, triazoles y carboxamidas en la **Unión Europea** (Reino Unido, Francia, Alemania, Italia, etc.) (Jørgensen, 2008; Fountaine y Fraaije, 2009; Matusinsky *et al.* 2010; Fountaine *et al.*, 2014; Cools y Fraaije, 2012; Leadbeater, 2012a; Lucas *et al.*, 2015; Panebianco *et al.*, 2015; Talas y McDonald, 2015; Wieczorek *et al.*, 2015), **Asia** (Miyamoto *et al.*, 2010; Chen *et al.*, 2012; Ishii, 2012; Thind, 2012; Zhang *et al.*, 2015; Zhou y Jia, 2015), **África** (Siah *et al.*, 2014); **Australia** (Tucker *et al.*, 2015); **América del Norte** (McGrath, 2012; Zhang *et al.*, 2012; Estep *et al.*, 2013; Avenot *et al.*, 2014; Estep *et al.*, 2015; Price *et al.*, 2015), **Centro América** (Mehl y Manger-Jacob, 2015); **América del Sur**, Brasil (Reis y Carmona, 2011; Arduim *et al.*, 2012; Xavier *et al.*, 2013; Godoy *et al.*, 2014; Reis *et al.*, 2014); y en la **Argentina** se ha informado sobre fallas de control de triazoles sobre la roya de la hoja del trigo (*P. triticina*) (Carmona, 2007b, 2008, 2013), la pérdida de sensibilidad *in vivo* de *Pyricularia grisea* a mezclas de fungicidas (Dirchwolf *et al.*, 2015), y de *Cercospora kikuchii* a carbendazim *in vitro* (Carmona *et al.*, 2014c). Por todo ello, y tomando en cuenta que el medio rural y social argentino actualmente sufre casos ejemplificadores de otras adversidades, tales como la resistencia de varias malezas que ya no pueden ser controladas por el glifosato, se hace notar la necesidad de recurrir más que nunca a los fundamentos científicos y técnicos de manejo integrado, para no repetir nuevamente la historia de lo acontecido en materia de resistencia

generada, en parte, por el uso de subdosis o dosis divididas (Staub, 1991).

En términos prácticos, tarde o temprano, los casos de resistencia surgirán en los cultivos y es muy difícil actuar eficientemente para eliminar la aparición de cepas resistentes a fungicidas en el campo. Sin embargo, el riesgo y por lo tanto el tiempo en que ello ocurra pueden ser minimizados en gran medida integrando la mayor cantidad de estrategias anti-resistencia que retrasen el desarrollo de subpoblaciones de patógenos resistentes (Hobbelen *et al.*, 2011; Iacono *et al.*, 2013; van den Bosch *et al.*, 2014a; Grimmer *et al.*, 2015; Hollomon, 2015), a un programa integrado de manejo de enfermedades (uso de variedades resistentes o tolerantes, rotaciones, uso de semilla libre de patógenos, etc.) (Garrán *et al.*, 2001; Ishii, 2006; Hollomon, 2015). Entre las buenas prácticas agrícolas para el manejo de la resistencia a fungicidas se recomiendan:

- Aplicar un fungicida solamente cuando es necesario, de acuerdo con los Umbrales de daño económico desarrollados y validados en el país (Carmona *et al.*, 1999; Carmona *et al.*, 2014a,b; Carmona *et al.*, 2015a,b).
- Aplicar en el momento óptimo de acuerdo con la metodología científica disponible y siempre que sea necesario (Reis y Carmona, 2013; van den Berg *et al.*, 2013; Carmona *et al.*, 2014a,b; Carmona *et al.*, 2015a,b).
- Utilizar mezclas de principios activos con diferente mecanismo bioquímico de acción (Hollomon *et al.*, 2002; Hobbelen *et al.*, 2011; Carmona *et al.*, 2011a; Hobbelen *et al.*, 2014; van den Bosch *et al.*, 2014b). Ambos principios activos deben tener alta eficiencia en el control del o de los patógenos que son objetivo de control. El retraso en la aparición de resistencia mediante la mezcla de un fungicida de alto riesgo con un fungicida de bajo riesgo se produce porque el fungicida de bajo riesgo: i) disminuye aún más el tamaño de la población

del patógeno sensible y por lo tanto el número de mutantes generados por unidad de tiempo, y ii) disminuye la eficiencia de infección y por lo tanto la probabilidad de supervivencia de la cepa resistente (Hobbelen *et al.*, 2011, 2014; van den Bosch *et al.*, 2014a,b). Si se detectara resistencia a uno o a todos los componentes de la mezcla, será un perjuicio directo al productor, a las empresas, a los técnicos y a la comunidad toda (Hollomon, 2015).

- Alternar principios activos (entre y dentro de un mismo mecanismo bioquímico de acción) (Hollomon *et al.*, 2002; Hobbelen *et al.*, 2011; Hobbelen *et al.*, 2014; van den Bosch *et al.*, 2014b)
- Complementar los fungicidas con inductores de la resistencia (ej. quitosanos, fosfitos) (Carmona y Sautua, 2011; Carmona *et al.*, 2011b; Mercado Cárdenas *et al.*, 2011; Ravotti *et al.*, 2012; Elesgaray *et al.*, 2014; Felipini *et al.*, 2015) y agentes de control biológico (Agaras *et al.*, 2012; Simonetti *et al.*, 2015; Pin Viso *et al.*, 2016)
- Respetar las dosis de marbete y obedecer las restricciones indicadas en los mismos es otro componente importante de la gestión de resistencia a los fungicidas (Gressel, 2011; Reis *et al.*, 2015). Tanto el tiempo de la vida efectiva de una molécula gastado durante la fase de aparición (emergencia), como el tiempo empleado durante la fase de selección se pueden maximizar, para un número fijo de aplicaciones de fungicidas por estación de crecimiento del cultivo, mediante el uso de la dosis más baja que pueda proporcionar un control eficaz de la enfermedad, es decir, la dosis desarrollada experimentalmente durante no menos de tres campañas agrícolas, que es la indicada por el fabricante en el marbete (Hobbelen *et al.*, 2014).
- Desarrollar un programa de monitoreo de la sensibilidad de las poblaciones de los principales patógenos objeto de control, y

de valoración de la fungitoxicidad de los principales moléculas químicas, y de determinación de las dosis óptimas a campo para cada mezcla comercial.

- Implementar un programa de manejo integrado de enfermedades que incluya: siembra de genotipos resistentes o tolerantes, rotaciones, uso de semilla libre de patógenos, aplicación de prácticas culturales, utilización del diagnóstico de la nutrición y de la fertilización como complemento para el manejo de enfermedades, etc.

El FRAC (2017a) ha establecido directrices de manejo de resistencia ISDH para varios sistemas hospedante-patógeno. Estas directrices se basan en la restricción de aplicaciones y mezclas de ISDH con otros fungicidas que no pertenezcan al mismo grupo de resistencia cruzada, con una actividad similar. Sin embargo, algunos de los productos disponibles en la actualidad son mezclas de ISDH (carboxamidas) con IQe (estrobilurinas). Desafortunadamente, en regiones como Europa, estos productos se han utilizado para el control de combinaciones patógeno-hospedante para los que la resistencia a IQe ya era relativamente frecuente (Gisi *et al.*, 2002). Por lo tanto, en muchos casos, los fungicidas ISDH fueron el componente importante de control de las enfermedades, y de esta manera se ejerció una considerable presión de selección sobre las poblaciones de patógenos. La introducción de los ISDH como una nueva clase de fungicidas para el control de muchos de los patógenos de las plantas más importantes fue oportuna. En general, la resistencia a IQe está bien establecida o está progresando aún más entre las poblaciones de patógenos, como por ejemplo en varios agentes patógenos de cereales, o más recientemente detectados en *Cercospora sojina* en la soja (Zhang *et al.*, 2012) y *Rhizoctonia solani* en arroz (Olaya *et al.*, 2012). De la misma manera, la adaptación de los patógenos a los fungicidas IBE es continua, como por ejemplo en el caso de los agentes patógenos de cereales tales como *Mycosphaerella gra-*

minicola en trigo (FRAC, 2017b) y *P. pachyrhizi* en soja (FRAC, 2017b). La nueva clase de compuestos ISDH, altamente activos, está siendo rápidamente adoptada por los mercados. Los principales formulados presentados hasta la fecha se basan en mezclas de ISDH con IBE e incluso con IQe (o de triple mezcla ISDH + IQe + IBE). Estas mezclas deben aplicarse en combinación con un programa de manejo integrado y de monitoreo de generación de resistencia. Sin embargo, la amplia aceptación, el uso generalizado, y una alta actividad del ISDH también podrían ser un obstáculo para su sustentabilidad, ya que el riesgo de desarrollo de resistencia es elevado y debe ser abordado y mitigado por las medidas anti-resistencia apropiadas. En algunos patosistemas, la resistencia se ha detectado después de unos pocos años de uso de cualquiera de los fungicidas ISDH solos o en mezclas con fungicidas IQe (Sierotzki y Scalliet, 2013).

En el caso de las carboxamidas que se utilizan exclusivamente como un tratamiento de semillas (sedaxane o penflufen o fluxapyroxad) (Kerz-Möhlendick, 2012; Zeun *et al.*, 2012), o como ambos tratamientos, foliares y de semillas (fluxapyroxad y fluopyram) (Heger *et al.*, 2012; Neubauer, 2012), deberían ser analizadas a la luz de su potencialidad y riesgo de generar resistencia. Esto debe ser considerado en términos de selección de la resistencia en relación con el momento de la siembra, la actividad en un punto particular en el tiempo, y las epidemias de múltiples patógenos en un determinado cultivo. El punto de discusión es importante con respecto a la actividad de un fungicida específico aplicado como tratamiento de semillas, que también es activo contra patógenos foliares de medio a alto riesgo de generación de resistencia, y más específicamente, si el tratamiento de la semilla debe ser contado como una aplicación dentro del sistema y, además, si modificadores de resistencia potenciales (mezclas de tratamiento de semillas, las tasas de alternancia, o dosis) pueden ser considerados como medios valiosos para

reducir la presión de selección (FRAC, 2017a, 2017b).

Las estrategias de manejo de resistencia a fungicidas sólo son útiles si al mismo tiempo retrasan la selección para la resistencia y dan un control de enfermedades suficiente (Hobbelen *et al.*, 2011). Lamentablemente, en muchos casos, las contra-medidas efectivas para evitar el surgimiento de la resistencia sólo se aplican cuando los productores y autoridades relacionadas a la problemática, han notado una disminución de la eficiencia de control de los fungicidas a campo. Cuando se detecta la resistencia en el campo por primera vez, es probable que en ciertas áreas la cepa resistente ya esté presente en una frecuencia de uno por ciento o mayor. Para llegar a ese punto, la subpoblación resistente del patógeno ha evolucionado a través de las diferentes etapas de aparición (emergencia) y selección, durante muchas generaciones. Por lo tanto, gran parte de la posibilidad de retrasar la evolución ya se ha perdido, y si las estrategias anti-resistencia se ponen en marcha en respuesta a la detección de la pérdida de eficiencia de control de los fungicidas a campo, ya no serán eficientes. Dichas estrategias deben ser implementadas desde la introducción de un nuevo principio activo al mercado (Brent y Hollomon, 1998; Ishii 2004, 2006; Hobbelen *et al.*, 2014). Asimismo, la sensibilidad de los aislamientos resistentes a menudo se examina en laboratorio y/o bajo experimentos de invernadero, mediante la medición, por ejemplo, del crecimiento micelial, la productividad y la capacidad de germinación de esporas, la patogenicidad, y la competitividad (Cina *et al.*, 2009; Carmona *et al.*, 2014c; 2017b; Lovato *et al.*, 2014a,b;. Dirchwolf *et al.*, 2015; Schnabel *et al.*, 2015). Por tanto, es importante controlar y retrasar en el tiempo lo máximo posible el surgimiento en el campo de la insensibilidad de los pató-

genos, antes de que la eficacia de las moléculas fungicidas se vean influenciadas por la resistencia (Ishii, 2015). En este sentido, uno de los desafíos futuros más importantes será el monitoreo nacional y regional de la sensibilidad y surgimiento de cepas resistentes de patógenos a cada principio activo en los distintos cultivos (Ishii, 2004, 2015; Leadbeater, 2012b; Carmona, 2013; Oliver, 2014; Corio-Costet, 2015; Hollomon, 2015). El modo o mecanismo de resistencia puede ser analizado en diferentes etapas tales como molecular, genética, bioquímica, fisiológica, y a nivel de población (Gisi *et al.*, 2000; Ishii, 2006; Hollomon e Ishii, 2015; R4P Network, 2016). Actualmente se han desarrollado diferentes “kits de campo” que facilitan la determinación de la resistencia *in situ*, ingresando la información en una base de datos coordinada vía internet, permitiendo el monitoreo oportuno de los perfiles de resistencia específicos para cada ubicación geográfica (Schnabel *et al.*, 2012).

CONCLUSIÓN

Las estrategias de manejo de resistencia a fungicidas en combinación con un programa de manejo integrado de enfermedades, aplicados en conjunto para cada patosistema, serán clave para poder maximizar la vida útil y la eficiencia de uso de los principios activos fungicidas actualmente disponibles en el mercado, durante el mayor período de tiempo, garantizando la sustentabilidad económica y ambiental (Ma y Michailides, 2005; Hollomon, 2012). Sin embargo, y una vez más, se deja constancia que sin la adopción de las medidas de manejo anti-resistencia dentro de un programa de manejo integrado de enfermedades, la historia volverá a repetirse: solo es cuestión de tiempo.

BIBLIOGRAFÍA

- Agaras, B.; M. M. Scandiani; A. Luque; M. A. Carmona; L. Wall and C. Valverde. 2012. Biological control of the soybean sudden-death-syndrome fungus *Fusarium tucumaniae* by *Pseudomonas* sp. strain SMMP3. Taller "Interacciones planta-microorganismos", 2012, Sociedad Argentina de Microbiología General (SAMIGE), Mar del Plata, Argentina.
- Arduim, F. S.; E. M. Reis; A. L. Barcellos and C. Turra. 2012. *In vivo* sensitivity reduction of *Puccinia triticina* races, causal agent of wheat leaf rust, to DMI and QoI fungicides. *Summa Phytopathologica* 38(4): 306-311.
- Avenot, H. F. and T. J. Michailides. 2010. Progress in understanding molecular mechanisms and evolution of resistance to succinate dehydrogenase inhibiting (SDHI) fungicides in phytopathogenic fungi. *Crop Protection* 29: 643-651.
- Avenot, H.F.; H. van den Biggelaar; D. P. Morgan; J. Moral; M. Joosten and T. J. Michailides. 2014. Sensitivities of baseline isolates and boscalid-resistant mutants of *Alternaria alternata* from pistachio to fluopyram, penthiopyrad, and fluxapyroxad. *Plant Disease* 98: 197-205.
- Beckerman, J. L. 2013. Detection of Fungicide Resistance. Chapter 11. In: Mizuho Nita (Ed.) Fungicides – Showcases of Integrated Plant Disease Management from Around the World. ISBN 978-953-51-1130-6, Publisher: InTech, Chapters published May 15, 2013 under CC BY 3.0 license. pp 281-310
- Brent, K J.; D. W. Hollomon and M. W. Shaw. 1990. Predicting the evolution of fungicide resistance. In: Green, M. B.; H. M. Le Baron and Moberg W. K. (eds). Managing Resistance to Agrochemicals. Washington DC. American Chemical Society. pp 303-319.
- Brent, K. J. and D. W. Hollomon. 1998. Fungicide resistance: the assessment of risk. FRAC Monograph No.2. Brussels, Belgium. FRAC. 50 p.
- Brent, K. J. and D. W. Hollomon. 2007. Fungicide resistance in crop protection, how can it be managed. FRAC Monograph 1. 2º Ed. Brussels, Belgium. FRAC. 56 p.
- Carmona, M.; P. Cortese; R. Moschini; R. Pioli; M. Ferrazzini and E. Reis. 1999. Economical damage threshold for fungicide control of leaf blotch and tan spot of wheat in Argentina. Expuesto y publicado en el XIVth International Plant Protection Congress Jerusalem, Israel, Julio 25-30, 1999. p119.
- Carmona, M. 2007a. Fungicidas: características, Clasificación, especificidad. Resistencia de hongos y principales usos. Manual de las jornadas de Actualización elementos fundamentales para el buen uso de fitoterápicos, Dosis, Modo de acción y Deriva. EEAOC, INTA y Sociedad Rural de Tucumán, 2 al 4 de octubre de 2007. Tucumán. pp 20- 22.
- Carmona, M. 2007b. La roya de la hoja de trigo plantea nuevos desafíos a este cereal en la Argentina. Cambios de la eficiencia de control de los triazoles. Obtenido de: <http://www.agro.uba.ar/noticias/node/166>
- Carmona, M. A. 2008. Nuevas razas de la roya naranja del trigo. INTA Rafaela. Información de trigo y otros cultivos de invierno. Campaña 2008. Pub. Miscelánea 109:50-55.
- Carmona, M. y F. Sautua. 2011. Impacto de la nutrición y de fosfitos en el manejo de enfermedades en cultivos extensivos de la región pampeana. Actas Simposio Fertilizar 2011. Ed IPNI (International Plant Nutrition Institute) y Fertilizar 73-82 pp. 18 y 19 de Mayo, Rosario, Argentina.
- Carmona, M.; A. Abello y F. Sautua. 2011a. Resistencia de los hongos a los fungicidas. Guía de Productos Fitosanitarios. Buenos Aires. CASAFE. pp 161-168.
- Carmona, M.A.; F. J. Sautua and M. Gally. 2011b. Phosphites as a complementary tool of integrated management of soybean late season diseases. XLIV Congresso Brasileiro de Fitopatologia, Bento Gonçalves RS, Publicado en *Tropical Plant Pathology* 36 (Suplemento), p. 387 agosto 2011.
- Carmona, M. 2013. Desafíos de la Fitopatología en los cultivos extensivos Actas del 9º Encuentro Nacional de Monitoreo de Plagas, Enfermedades y Malezas, Córdoba, 18 y 19 de junio de 2013
- Carmona, M.; F. Sautua y E. M. Reis. 2014a. Control de enfermedades fúngicas del trigo mediante fungicidas. En: Cordo, C. y Sisterna, M. (eds.). Enfermedades del trigo: avances científico en la Argentina. La Plata, Bs. As. Editorial de la Universidad Nacional de La Plata (EDULP).ISBN 9789871985357. pp 349-370.
- Carmona, M.; G. Viotti y F. Sautua. 2014b. Tizón del maíz. Cuantificación de daños y propuesta de umbral. Pag. 260 Libro de Resúmenes del 3er Congreso Argentino de Fitopatología, 4,5, y 6 de junio de 2014, San Miguel de Tucumán.
- Carmona, M. 2014c. Sensibilidad *in vitro* de hongos causantes de enfermedades de fin de ciclo de la soja a fungicidas. Proyecto UBACyT Resol. (CS) Nº 3302 /11. Código: 20020100100493.

- Carmona, M. A.; F. J. Sautua; S. Perelman; M. Gally and E. M. Reis. 2015a. Development and validation of a fungicide scoring system for management of late season soybean diseases in Argentina. *Crop Protection* 70: 83-91.
- Carmona, M.A.; F. Sautua and E. M. Reis. 2015b. Soybean frogeye leaf spot (*Cercospora sojina*): First economic damage threshold determination. *Advances in Applied Agricultural Science* 3:1-7.
- Carmona, M. 2016. Resistencia a fungicidas. Actas XII Encuentro de Monitoreo de Plagas, Enfermedades y Malezas, Córdoba 29 de junio de 2016
- Carmona, M. A.; E. M. Reis and F. J. Sautua. 2017a. Chapter 9 Sustainable Chemical Control of Main Soybean Diseases in South America 203-245 pp In: Fletcher, B. (Ed). Soybeans: Cultivation, Nutritional Properties and Effects on Health Editors. NOVA. ISBN978-1-63485-866-3.
- Carmona, M.; F. J. Sautua; M. Scandiani; R. Bello; V. Lopez and A. Luque. 2017b. *In vitro* sensitivity assessment of late season soybean pathogens to fungicide mixtures. *Australasian Plant Disease Notes* 12: 20. doi:10.1007/s13314-017-0244-7
- Chen, Y.; A-F. Zhang; W-X. Wang; Y. Zhang and T-C. Gao. 2012. Baseline sensitivity and efficacy of thifluzamide in *Rhizoctonia solani*. *Annals of Applied Biology* 161(3): 247-254.
- Cina, R. P.; M. A. Carmona; E. M. Reis; y S.E. López. 2009. Fungitoxicidad *in vivo* de ciproconazole y su mezcla con azoxistrobina a *Puccinia sorghi*. *Tropical Plant Pathology* 34: S85. XLII Congreso Brasileiro de Fitopatología, Rio de Janeiro 3 al 5 de agosto de 2009.
- Cools, H. and B. A. Fraaije. 2012. Resistance to Azole Fungicides in *Mycosphaerella graminicola*: Mechanisms and Management. In: Thind T. S. (ed). Fungicide Resistance in Crop Protection: Risk and Management. CAB International. pp 64-77.
- Corio-Costet, M. F. 2015. Monitoring Resistance in Obligate Pathogens by Bioassays Relating to Field Use: Grapevine Powdery and Downy Mildews. In: Ishii, H. y Hollomon D. W. (eds). Fungicide Resistance in Plant Pathogens. Principles and a Guide to Practical Management. Japan. Springer. ISBN 978-4-431-55641-1 (Print) 978-4-431-55642-8 (Online). pp 251-279.
- Deising, H. B.; S. Reimann and S. F. Pascholati. 2008. Mechanisms and significance of fungicide resistance. *Brazilian Journal of Microbiology* 39:286-295.
- De Miccolis Angelini, R. M.; S. Pollastro and F. Faretra. 2015. Genetics of Fungicide Resistance. In: Ishii, H. y Hollomon D. W. (eds). Fungicide Resistance in Plant Pathogens. Principles and a Guide to Practical Management. Japan. Springer. ISBN 978-4-431-55641-1 (Print) 978-4-431-55642-8 (Online). pp 13-34.
- Dirchwolf, P.; S. Gutiérrez y M. Carmona. 2015. Sensibilidad *in vitro* de *Pyricularia grisea* a tres mezclas de fungicidas. *In vitro* sensitivity of *Pyricularia grisea* to three fungicides mixtures. Presentado en el XXXVIII Congresso Paulista de Fitopatología, los días 10 a 12 de Febrero de 2015, en Araras, San Pablo, Brasil
- Dooley, H.; M. Shaw; J. Spink and S. Kildea. 2016. Effect of azole fungicide mixtures, alternations and dose on azole sensitivity in the wheat pathogen *Zymoseptoria tritici*. *Plant Pathology* 65(1): 124-136.
- Elesgaray, A.; C. Zilli; K. Balestrasse y M. Carmona. 2014. Podridão cinzenta da soja causada por *Macrophomina phaseolina*: Efeitos da associação de glifosato e fosfito de manganês. Uma nova ferramenta para seu manejo. Conferencia VII Reunião Brasileira sobre Indução de Resistência em Plantas a Patógenos", Universidad Estadual de Maringá, 19 al 21 de noviembre de 2014.
- Estep, L. K.; M. Zala; N. P. Anderson; K. E. Sackett; M. Flowers; B. A. McDonald and C. C. Mundt. 2013. First Report of Resistance to QoI Fungicides in North American Populations of *Zymoseptoria tritici*, Causal Agent of Septoria Tritici Blotch of Wheat. *Plant Disease* 97(11):1511.
- Estep, L. K.; S. F. F. Torriani; M. Zala; N. P. Anderson; M. D. Flowers; B. A. McDonald; C. C. Mundt and P. C. Brunner. 2015. Emergence and early evolution of fungicide resistance in North American populations of *Zymoseptoria tritici*. *Plant Pathology* 64(4): 961-971.
- Felipini, R. B.; C. Luiz; M. E. B. Costa and R. M. Di Piero. 2015. Mode of action of chitosan and ASM for the control of *Cercospora* leaf spot on table beet. *Tropical Plant Pathology* 40: 176-183.
- Fisher, N. and B. Meunier. 2008. Molecular basis of resistance to cytochrome bc1 inhibitors. *FEMS Yeast Research* 8: 183-192.

- Fountaine, J. M. and B. A. Fraaije. 2009. Development of QoI resistant alleles in populations of *Ramularia collo-cygni*. Paper presented at The second European Ramularia Workshop, Edinburgh, United Kingdom, 7/04/09 - 8/04/09, pp. 123.
- Fountaine, J. M.; M. Piotrowska; N. D. Havis and F. J. Burnett. 2014. Fungicide resistance in *Ramularia collo-cygni*. In: Proceedings Crop Protection in Northern Britain 2014. pp 101-106.
- Fraaije, B. A.; F. J. Burnett; H. J. Cools; W. S. Clark; N. Pavely; K. Norman and J. A. Lucas. 2011. Understanding evolution and selection of azole resistance mechanisms in UK populations of *Mycosphaerella graminicola*. HGCA Project Report No. 475, 125 pp. Available at <http://cereals.ahdb.org.uk/publications/2011/february/17/understanding-evolution-and-selection-of-azole-resistance-mechanisms-in-uk-populations-of-mycosphaerella-graminicola.aspx>
- Fraaije, B. A.; C. Bayon; S. Atkins; H. J. Cools; J. A. Lucas and M. W. Fraaije. 2012. Risk assessment studies on succinate dehydrogenase inhibitors, the new weapons in the battle to control Septoria leaf blotch in wheat. *Molecular Plant Pathology* 13(3): 263–275.
- FRAC. 2010. Recommendations for fungicide mixtures designed to delay resistance evolution. Disponible en: www.frac.info
- FRAC Code List©. 2017a. Fungicides sorted by mode of action (including FRAC Code numbering). Available at <http://www.frac.info/publications/downloads>
- FRAG-UK. 2017b. <https://cereals.ahdb.org.uk/frag>, acceso 2/1/2017.
- Gallian, J. J.; J. S. Miller and P. Nolte. 2006. Managing Fungicide Resistance. University of Idaho Extension. CIS 1130 September 2006.
- Garrán, S.; G. Montangie and R. Mika. 2001. Resistencia de los hongos a los fungicidas. Un tema central en la estrategia del control químico e integrado. INTA idiaXXI, pp. 33 - 36.
- Genet, J. L.; G. Jaworska and F. Deparis. 2006. Effect of dose rate and mixtures of fungicides on selection for QoI resistance in populations of *Plasmopara viticola*. *Pest Management Science* 62: 188–194.
- Gisi, U.; K. M. Chin; G. Knapova; R. KuKng FaKrbber; U. Mohr; S. Parisi; H. Sierotzki and U. Steinfeld. 2000. Recent developments in elucidating modes of resistance to phenylamide, DMI and strobilurin fungicides. *Crop Protection* 19: 863-872.
- Gisi, U.; H. Sierotzki; A. Cook and A. McCaffery. 2002. Mechanisms influencing the evolution of resistance to Qo inhibitor fungicides. *Pest Management Science* 58: 859–867.
- Godoy, C. V.; S. A. Xavier; L. J. Koga and J. P. E. Molina. 2014. Resistencia a fungicidas en soja. En: AAF (ed). Libro de resúmenes del 3º Congreso Argentino de Fitopatología. pp 43-47.
- Gressel, J. 2011. Low pesticide rates may hasten the evolution of resistance by increasing mutation frequencies. *Pest Management Science* 67:253–257.
- Grimmer, M. K.; F. van den Bosch; S. J. Powers and N. D. Paveley. 2015. Fungicide resistance risk assessment based on traits associated with the rate of pathogen evolution. *Pest Management Science* 71(2): 207-215.
- Heger, M.; P. Cavell; T. Wetjen and U. Groeger. 2012. Systiva: A new concept for cereal disease control. In: Proc. 58th German Plant Prot. Conf. Braunschweig, Quedlinburg, JKI, Berlin. p 293
- HGCA. 2013. *Ramularia* leaf spot in barley. Information Sheet 21, May 2013. Available at: http://cereals.ahdb.org.uk/media/175812/is21_ramularia_leaf_spot_in_barley.pdf
- Hobbelen, P. H. F.; N. D. Paveley and F. van den Bosch. 2011. Delaying selection for fungicide insensitivity by mixing fungicides at a low and high risk of resistance development: A modeling analysis. *Phytopathology* 101:1224-1233.
- Hobbelen, P. H. F.; N. D. Paveley; R. P. Oliver and F. van den Bosch. 2013. The usefulness of concurrent, alternating and mixture use of two high-risk fungicides for delaying the selection of resistance in populations of *Mycosphaerella graminicola* on winter wheat. *Phytopathology* 103: 690–707.
- Hobbelen, P. H. F.; N. D. Paveley and F. van den Bosch. 2014. The Emergence of Resistance to Fungicides. *PLoS ONE* 9(3): e91910. doi:10.1371/journal.pone.0091910.
- Hollomon, D.; L. Cooke and T. Locke. 2002. Maintaining the effectiveness of DMI fungicides in cereal disease control strategies. HGCA Project Report No. 275. 26 pp.

- Hollomon, D. W. 2012. Do we have the tools to manage resistance in the future? *Pest Management Science* 68: 149–154.
- Hollomon, D. W. 2015. Fungicide Resistance: 40 Years on and Still a Major Problem. In: Ishii, H. y Hollomon D. W. (eds). *Fungicide Resistance in Plant Pathogens. Principles and a Guide to Practical Management*. Japan. Springer. ISBN 978-4-431-55641-1 (Print) 978-4-431-55642-8 (Online). pp 3-11.
- Hollomon, D. W. and H. Ishii. 2015. Monitoring Resistance Using Molecular Methods. In: Ishii, H. y Hollomon D. W. (eds). *Fungicide Resistance in Plant Pathogens. Principles and a Guide to Practical Management*. Japan. Springer. ISBN 978-4-431-55641-1 (Print) 978-4-431-55642-8 (Online). pp 295-309.
- Hunter, T.; K. J. Brent and G. A. Carter. 1984. Effects of fungicide regimes on sensitivity and control of barley mildews. In: BCPC (ed). *Proceedings 1984 British Crop Protection Conference - Pests and Diseases*. Alton, UK. BCPC. pp 471-482.
- Iacono, G. L.; F. van den Bosch and C. A. Gilligan. 2013. Durable Resistance to Crop Pathogens: An Epidemiological Framework to Predict Risk under Uncertainty. *PLOS Computational Biology* 9(1): e1002870. doi:10.1371/journal.pcbi.1002870.
- Ishii, H. 2004. Studies on fungicide resistance in phytopathogenic fungi. *Journal of General Plant Pathology* 70:379–381.
- Ishii, H. 2006. Impact of Fungicide Resistance in Plant Pathogens on Crop Disease Control and Agricultural Environment. *JARQ* 40(3): 205-211.
- Ishii, H. 2010. QoI Fungicide Resistance: Current Status and the Problems Associated with DNA-Based Monitoring. In: Gisi et al. (eds). *Recent Developments in Management of Plant Diseases, Plant Pathology in the 21st Century 1*, DOI 10.1007/978-1-4020-8804-9_3, Springer Science+Business Media B.V. pp 37-45.
- Ishii, H. 2012. Resistance to QoI and SDHI Fungicides in Japan. In: Thind, T. S. (ed). *Fungicide Resistance in Crop Protection: Risk and Management*. CAB International. pp 223-234.
- Ishii, H. 2015. Stability of Resistance. In: Ishii, H. y Hollomon D. W. (eds). *Fungicide Resistance in Plant Pathogens. Principles and a Guide to Practical Management*. Japan. Springer. ISBN 978-4-431-55641-1 (Print) 978-4-431-55642-8 (Online). pp 35-48.
- Jørgensen, L. N. 2008. Resistance situation with fungicides in cereals. *Zemdirbyste-Agriculture* 95(3): 373–378.
- Kerz-Möhlendick, F. 2012. ErnestoR: The new standard for protecting potato tubers. In: Proc. 58th German Plant Prot. Conf. Braunschweig, Quedlinburg, JKI, Berlin. p 293
- Leadbeater, A. 2012a. Resistance Risk to QoI Fungicides and Anti-Resistance Strategies. In: Thind, T. S. (ed). *Fungicide Resistance in Crop Protection: Risk and Management*. CAB International. pp 141-154.
- Leadbeater, A. 2012b. The Role of the Fungicide Resistance Action Committee in Managing Resistance. In: Thind, T. S. (ed). *Fungicide Resistance in Crop Protection: Risk and Management*. CAB International. pp 271-278.
- Leroux, P. and A. S. Walker. 2011. Multiple mechanisms account for resistance to sterol 14 α -demethylation inhibitors in field isolates of *Mycosphaerella graminicola*. *Pest Management Science* 67: 44–59.
- Lovato Echeverria, A.; M. Carmona y S. Gutierrez. 2014a. Fungitoxicidad *in vitro* de fungicidas terapéuticos de semillas sobre el crecimiento micelial de *Trichoconiella padwickii*. En: AAF (ed). *Libro de Resúmenes del 3er Congreso Argentino de Fitopatología*, 4, 5, y 6 de junio de 2014, San Miguel de Tucumán. p 384.
- Lovato Echeverria, A.; M. Carmona y S. Gutierrez. 2014b. Sensibilidad *in vitro* de *Bipolaris oryzae* a fungicidas terapéuticos de semillas. En: AAF (ed). *Libro de Resúmenes del 3er Congreso Argentino de Fitopatología*, 4, 5, y 6 de junio de 2014, San Miguel de Tucumán. AAF. p 385.
- Lucas, J. A.; N. J. Hawkins and B. A. Fraaije. 2015. The Evolution of Fungicide Resistance. *Advances in Applied Microbiology* 90: 29-92.
- Ma, Z. and T. J. Michailides. 2005. Advances in understanding molecular mechanisms of fungicide resistance and molecular detection of resistant genotypes in phytopathogenic fungi. *Crop Protection* 24: 853–863.
- McGrath, M. T. 2012. Challenge of Fungicide Resistance and Anti-Resistance Strategies in Managing Vegetable Diseases in the USA. In: *Fungicide Resistance in Crop Protection: Risk and Management* (ed. T.S. Thind). CAB International. 191-207 pp.

- Mavroei, V. I. and M. W. Shaw. 2006. Effects of fungicide dose and mixtures on selection for triazole resistance in *Mycosphaerella graminicola* under field conditions. *Plant Pathology* 55: 715–725.
- Matusinsky, P.; L. Svobodova-Leisova; P. Marik; L. Tvaruzek; L. Stemberkova; M. Hanusova; V. Minarikova; M. Vysohli-dova and T. Spitzer. 2010. Frequency of a mutant allele of cytochrome b conferring resistance to QoI fungicides in the Czech population of *Ramularia collo-cygni*. *Journal of Plant Diseases and Protection* 117(6): 248–252.
- Mehl, A. and F. Manger-Jacob. 2015. Banana Diseases. In: Ishii, H. y Hollomon D. W. (eds). Fungicide Resistance in Plant Pathogens. Principles and a Guide to Practical Management. Japan. Springer. ISBN 978-4-431-55641-1 (Print) 978-4-431-55642-8 (Online). pp 467-479.
- Mercado Cárdenas, G.; M. Chocobar; M. Carmona and J. Monge. 2011. Effect of phosphites on charcoal rot control in soybean. XLIV Congresso Brasileiro de Fitopatologia, Bento Gonçalves RS, Publicado en Tropical Plant Pathology 36 (Suplemento), p. 942 Agosto 2011.
- Metcalfe, R. J.; M. W. Shaw and P. E. Russel. 2000. The effect of dose and mobility on the strength of selection for DMI fungicide resistance in inoculated field experiments. *Plant Pathology* 49: 546-557.
- Mikaberidze, A.; B. A. McDonald and S. Bonhoeffer. 2014. Can high risk fungicides be used in mixtures without selecting for fungicide resistance? *Phytopathology* 104:324-331.
- Mikaberidze, A. and B. A. McDonald. 2015. Fitness Cost of Resistance: Impact on Management. In: Ishii, H. y Hollomon D. W. (eds). Fungicide Resistance in Plant Pathogens. Principles and a Guide to Practical Management. Japan. Springer. ISBN 978-4-431-55641-1 (Print) 978-4-431-55642-8 (Online). pp 77-89.
- Miyamoto, T.; H. Ishii; G. Stammler; A. Koch; T. Ogawara; Y. Tomita; J. M. Fountaine; S. Ushio; T. Seko and S. Kobori. 2010. Distribution and molecular characterization of *Corynespora cassiicola* isolates resistant to boscalid. *Plant Pathology* 59: 873–881.
- Neubauer, K. 2012. EfA Universal-Ein neues Produkt zur Saatgutbehandlung von Getreide gegen Pilzkrankheiten. In: 53. Österreichische Pflanzenschutztag, Wels, Austria. pp 43-44. Disponible en: www.oeaip.at
- Olaya, G.; C. Buitrago; D. Pearsaul; H. Sierotzki and A. Tally. 2012. Detection of resistance to QoI fungicides in *Rhizoctonia solani* isolates from rice. In: Proc. Am. Phytopathol. Soc. Annu. Meet. Rhode Island. p 241
- Oliver, R. P. 2014. A reassessment of the risk of rust fungi developing resistance to fungicides. *Pest Management Science* 70(11): 1641–1645.
- Oliver, R. and H. G. Hewitt. 2014. Fungicide Resistance. In: Oliver, R. P. y Hewitt, H. G. (eds). Fungicides in Crop Protection. 2nd Edition. CABI. pp 123-149.
- Oxley, S. 2004. Barley Disease Control. SAC Technical Note N°558. ISSN 0142 7695, ISBN 185482 799 5.
- Oxley, S. J. P. and E. A. Hunter. 2005. Appropriate fungicide doses on winter barley: producing dose-response data for a decision guide. HGCA Project Report No 366. HGCA publications.
- Paveley, N. D. 2000. Appropriate fungicide doses on winter wheat: research information for growers on the control of powdery mildew, brown rust and *Septoria nodorum*. HGCA Project Number: 1297 and 2011. Available at: <https://cereals.ahdb.org.uk/publications/2000/january/01/appropriate-fungicide-doses-on-winter-wheat-research-information-for-growers-on-the-control-of-powdery-mildew,-brown-rust-and-septoria-nodorum.aspx>
- Panebianco, A.; I. Castello; G. Cirvilleri; G. Perrone; F. Epifani; M. Ferrara; G. Polizzi; D. R. Walters and A. Vitale. 2015. Detection of *Botrytis cinerea* field isolates with multiple fungicide resistance from table grape in Sicily. *Crop Protection* 77: 65-73.
- Pin Viso, N. D.; F. Sautua; M. Scandiani; A. Luque; E. Simonetti and M. Carmona. 2016. *In vitro* antagonistic activity of native bacteria isolated from soils of the argentine Pampas against *Fusarium tucumaniae* and *Fusarium virguliforme*. *African Journal of Microbiology Research* 10(27):1031-1035.
- Piotrowska, M.; F. Burnett; P. Hoebe; R. Ennos and J. M. Fountaine. 2013. Estimation of genetic diversity of *Ramularia collo-cygni* populations using SSR markers to infer its potential to adapt to environmental change. 27th Fungal Genetics Conference, Asilomar, CA, USA. 12th – 17th March 2013.
- Piotrowska, M. J.; R. A. Ennos; J. M. Fountaine; F. J. Burnett; M. Kaczmarek and P. N. Hoebe. 2016a. Development and use of microsatellite markers to study diversity, reproduction and population genetic structure of the cereal pathogen *Ramularia collo-cygni*. *Fungal Genetics and Biology* 87:64-71.

- Piotrowska, M.; J. Fountaine; R. Ennos; M. Kaczmarek and F. Burnett. 2016b. Characterisation of *Ramularia collo-cygni* Laboratory Mutants Resistant to Succinate Dehydrogenase Inhibitors. *Pest Management Science*(Early View Articles Online Version of Record published before inclusion in an issue) DOI 10.1002/ps.4442
- Porras, L.; U. Gisi and U. Staehle-Csech. 1990. Selection dynamics in triazole treated populations of *Erysiphe graminis*. *Proceedings 1990 British Crop Protection Conference - Pests and Diseases*. BCPC, Alton, UK. pp 1163-1168.
- Price III, P. P.; M. A. Purvis; G. Cai; G. B. Padgett; C. L. Robertson; R. W. Schneider and S. Albu. 2015. Fungicide Resistance in *Cercospora kikuchii*, a Soybean Pathogen. *Plant Disease* 99:1596-1603.
- R4P Network. 2016. Trends and Challenges in Pesticide Resistance Detection. *Trends in Plant Science* 21(10):834-853.
- Ravotti, M.; E. Simonetti; M. Scandiani; A. Luque; N. Formento y M. Carmona. 2012. Control *in vitro* de fitopatógenos habitantes del suelo que atacan al cultivo de soja mediante el uso de fosfitos. XIV Jornadas Fitosanitarias Argentinas JFA, 3, 4 y 5 Octubre 2012, Potrero de los Funes, San Luis, Argentina. p 16.
- Reis, E. M. y C. M. Carmona. 2011. Capítulo: Sensibilidade de razas de *Puccinia triticina* a fungicidas II SIMPOSIO NACIONAL DE AGRICULTURA, FAGRO - GTI Agricultura y IPNI Cono Sur; 29 y 30 de setiembre de 2011 Paysandu, Uruguay. Ed Universidad de la República, Montevideo, Uruguay- Hemisferio Sur. ISBN 978-9974-0-0781-9. pp 89-94.
- Reis, E.M. and M. A. Carmona. 2013. Integrated disease management of Fusarium Head Blight, in: "Fusarium Head Bligh in Latin America. Teresa Aconada and Dr Sofía Noemí Chulze, Editores. Chapter 10, 159-173 pp, Editorial: Springer, 2013.
- Reis, E. M.; L. H. Carregal Pereira da Silva; F. V. Siqueri y J. R. Campos Silva. 2014. Redução da sensibilidade de *Phakopsora pachyrhizi* a fungicidas e estratégias para recuperar a eficiência de controle. Passo Fundo: Berthier. 56 pp. ISBN: 978-85-7912-141-8.
- Reis, E. M.; M. Zanatta; M. Carmona and J. O. M. Menten. 2015. Relationship between IC50 determined *in vitro* / *in vivo* and the fungicide rate used in the field. *Summa Phytopathologica* 41(1): 49-53.
- Scalliet, G.; J. Bowler; T. Luksch; L. Kirchofer-Allan; D. Steinhauer; K. Ward; M. Niklaus; A. Verras; M. Csukai; A. Daina and R. Fonné-Pfister. 2012. Mutagenesis and Functional Studies with Succinate Dehydrogenase Inhibitors in the Wheat Pathogen *Mycosphaerella graminicola*. *PLoS ONE* 7(4): e35429. doi:10.1371/journal.pone.0035429
- Schnabel, G.; A. Amiri and P. M. Brannen. 2012. Field Kit- and Internet-Supported Fungicide Resistance Monitoring. In: Thind, T. S. (ed). *Fungicide Resistance in Crop Protection: Risk and Management*. CAB International. pp 116-132.
- Schnabel, G.; M-J. Hu and D. Fernández-Ortuño. 2015. Monitoring Resistance by Bioassay: Relating Results to Field Use Using Culturing Methods. In: Ishii, H. y Hollomon D. W. (eds). *Fungicide Resistance in Plant Pathogens. Principles and a Guide to Practical Management*. Japan. Springer. ISBN 978-4-431-55641-1 (Print) 978-4-431-55642-8 (Online). pp 281-293.
- Shaw, M. W. 2009. Fungicide resistance: the dose rate debate. *Outlooks on Pest Management* June 2009: 100-103. Doi: 10.1564/20jun02
- Siah, A.; A. Y. Elbekali; A. Ramdani; P. Reignault; S. F. F. Torriani; P. C. Brunner and P. Halama. 2014. QoI resistance and mitochondrial genetic structure of *Zymoseptoria tritici* in Morocco. *Plant Disease* 98: 1138-1144.
- Sierotzki, H. and G. Scalliet. 2013. A review of current knowledge of resistance aspects for the next-generation succinate dehydrogenase inhibitor fungicides. *Phytopathology* 103: 880-887.
- Sierotzki, H. 2015. Respiration Inhibitors: Complex III. In: Ishii, H. y Hollomon D. W. (eds). *Fungicide Resistance in Plant Pathogens. Principles and a Guide to Practical Management*. Japan. Springer. ISBN 978-4-431-55641-1 (Print) 978-4-431-55642-8 (Online). pp 119-143.
- Simonetti, E.; N. Pin Viso; M. Montecchia; C. Zilli; K. Balestrasse and M. Carmona. 2015. Evaluation of native bacteria and manganese phosphite for alternative control of charcoal root of soybean. *Microbiological Research* 180: 40-48.
- Stammler, G.; A. Wolf; A. Glaetli and K. Klappach. 2015. Respiration Inhibitors: Complex II. In: Ishii, H. y Hollomon D. W. (eds). *Fungicide Resistance in Plant Pathogens. Principles and a Guide to Practical Management*. Japan. Springer. ISBN 978-4-431-55641-1 (Print) 978-4-431-55642-8 (Online). pp 105-117.
- Staub, T. 1991. Fungicide resistance: Practical Experience with Antiresistance Strategies and the Role of Integrated Use. *Annual Review of Phytopathology* 29: 421-442.

- Steffens, J. J.; E. J. Pell and M. Tien. 1996. Mechanisms of fungicide resistance in phytopathogenic fungi. *Current Opinion in biotechnology* 7: 348-355.
- Stergiopoulos, I.; J. G. M. van Nistelrooy; G. H. J. Kema and M. A. De Waard. 2003. Multiple mechanisms account for variation in base-line sensitivity to azole fungicides in field isolates of *Mycosphaerella graminicola*. *Pest Management Science* 59: 1333–1343.
- Talas, F. and B. A. McDonald. 2015. Significant variation in sensitivity to a DMI fungicide in field populations of *Fusarium graminearum*. *Plant Pathology* 64: 664–670.
- Thind, T. S. 2012. Fungicide Resistance in India: Status and Management Strategies. In: Thind, T. S. (ed). Fungicide Resistance in Crop Protection: Risk and Management. CAB International. pp 208-222.
- Tucker, M. A.; F. Lopez-Ruiz; K. Jayasena and R. P. Oliver. 2015. Origin of Fungicide-Resistant Barley Powdery Mildew in Western Australia: Lessons to Be Learned. In: Ishii, H. y Hollomon D. W. (eds). Fungicide Resistance in Plant Pathogens. Principles and a Guide to Practical Management. Japan. Springer. ISBN 978-4-431-55641-1 (Print) 978-4-431-55642-8 (Online). pp 329-340.
- van den Berg, F.; F. van den Bosch and N. D. Paveley. 2013. Optimal fungicide application timings for disease control are also an effective anti-resistance strategy: A case study for *Zymoseptoria tritici* (*Mycosphaerella graminicola*) on wheat. *Phytopathology* 103: 1209-1219.
- van den Bosch, F.; N. Paveley; M. Shaw; P. Hobbelen and R. Oliver. 2011. The dose rate debate: does the risk of fungicide resistance increase or decrease with dose? *Plant Pathology* 60: 597–606.
- van den Bosch, F.; R. Oliver; F. van den Berg and N. Paveley. 2014a. Governing Principles Can Guide Fungicide-Resistance Management Tactics. *Annual Review of Phytopathology* 52: 175–195.
- van den Bosch, F.; N. Paveley; F. van den Berg; P. Hobbelen and R. Oliver. 2014b. Mixtures as a fungicide resistance management tactic. *Phytopathology* 104:1264-1273.
- van den Bosch, F.; N. Paveley; B. Fraaije; F. van den Berg and R. Oliver. 2015. Evidence-Based Resistance Management: A Review of Existing Evidence. In: Ishii, H. y Hollomon D. W. (eds). Fungicide Resistance in Plant Pathogens. Principles and a Guide to Practical Management. Japan. Springer. ISBN 978-4-431-55641-1 (Print) 978-4-431-55642-8 (Online). pp 63-76.
- Walklatea, P. J.; J. V. Crossb; G. M. Richardsona and D. E. Baker. 2006. Optimising the adjustment of label-recommended dose rate for orchard spraying. *Crop Protection* 25: 1080–1086.
- Vincelli, P. 2014. Some Principles of Fungicide Resistance. Plant Pathology Fact Sheet PPFs-MISC-02, University of Kentucky, College of Agriculture, Plant Pathology Extension.
- Wieczorek, T. M.; G. Berg; R. Semaškienė; A. Mehl; H. Sierotzki; G. Stammer; A. F. Justesen and L. N. Jørgensen. 2015. Impact of DMI and SDHI fungicides on disease control and CYP51 mutations in populations of *Zymoseptoria tritici* from Northern Europe. *European Journal of Plant Pathology*(online): 1-11. DOI 10.1007/s10658-015-0737-1
- Xavier, S. A.; M. G. Canteri; D. C. M. Barros and C. V. Godoy. 2013. Sensitivity of *Corynespora cassicola* from soybean to carbendazim and prothioconazole. *Tropical Plant Pathology* 38(5): 431-435.
- Zeun, R.; G. Scalliet and M. Oostendorp. 2012. Biological activity of sedaxane—a novel broad-spectrum fungicide for seed treatment. *Pest Manage. Science* (Online publication). doi:10.1002/ps.3405.
- Zhang, G. R.; M. A. Newman and C. A. Bradley. 2012. First report of the soybean frog-eye leaf spot fungus (*Cercospora sojina*) resistant to quinone outside inhibitor fungicides in North America. *Plant Disease* 96(5): 767.
- Zhang, Y.; J. Lu; J. Wang; M. Zhou and C. Chen. 2015. Baseline sensitivity and resistance risk assessment of *Rhizoctonia cerealis* to thifluzamide, a succinate dehydrogenase inhibitor. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 124: 97-102.
- Zhou, M. and X. Jia. 2015. Wheat Pathogens in China. In: Ishii, H. y Hollomon D. W. (eds). Fungicide Resistance in Plant Pathogens. Principles and a Guide to Practical Management. Japan. Springer. ISBN 978-4-431-55641-1 (Print) 978-4-431-55642-8 (Online). pp 313-328.
- Ziogas, B. N. and A. A. Malandrakis. 2015. Sterol Biosynthesis Inhibitors: C14 Demethylation (DMIs). In: Ishii, H. y Hollomon D. W. (eds). Fungicide Resistance in Plant Pathogens. Principles and a Guide to Practical Management. Japan. Springer. ISBN 978-4-431-55641-1 (Print) 978-4-431-55642-8 (Online). pp 199-216.