



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

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

Fitopatología, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires

El control químico de las enfermedades es una de las medidas de manejo más empleadas en la agricultura, 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 el uso de herbicidas e insecticidas, 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). La vida útil o efectiva de un fungicida se define como el 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 la enfermedad que se pretende controlar (Hobbelen et al., 2013). La aparición de resistencia a los diferentes principios activos fungicidas es hoy en día uno de los aspectos más importantes de la agricultura moderna (Deising et al., 2008; Hollomon, 2015; Lucas et al., 2015).

La resistencia a los fungicidas es un término que refiere a una adquirida y heredable reducción de la sensibilidad de un hongo a un principio activo anti-fúngico específico (Beckerman, 2013). Es decir que constituye una propiedad fundamental, heredable y estable, de los organismos fúngicos por la cual obtienen la habilidad de adaptación a diferentes condiciones ambientales (normalmente adversas), lo que les permite sobrevivir. En simples palabras “los hongos comienzan a acostumbrarse” a los fungicidas. Este proceso se explica por el hecho de que 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 raras, tan raras que en un inicio 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 escasas y raras mutaciones 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 definido 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). Adicionalmente, estas cepas de hongos que son resistentes a ese fungicida, muy probablemente serán también resistentes a otros fungicidas relacionados, aun cuando todavía no han sido expuestos a aquellos, ya que poseen el mismo mecanismo bioquímico de acción (MOA) (resistencia cruzada).

El desarrollo de resistencia a los fungicidas en patógenos está directamente influenciado por la biología y la variabilidad intrínseca del patógeno (diferentes cepas, etc), así como el sitio y modo (o mecanismo bioquímico) de acción del fungicida en la célula fúngica (Brent y Hollomon 2007). La resistencia a un determinado fungicida generalmente resulta de una alteración en el sitio de acción del fungicida en la célula del patógeno objeto de control, determinado por un cambio genético heredable (molécula de ADN). De esta manera, los fungicidas, por su propia naturaleza, pueden ser productos químicos altamente específicos que afectan a hongos patógenos. Esta especificidad a menudo puede resultar en una rápida evolución de los patógenos. 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 (estrobilurinas) (Gisi et al., 2002; Fisher y Meunier, 2008; Ishii, 2010; Sierotzki H, 2015) y los inhibidores de la succinato deshidrogenasa (carboxamidas), entre otros (Avenot y Michailides, 2010; Fraaije et al., 2012; Scalliet et al., 2012; Stammler et al., 2015). Este

fenómeno se denomina resistencia “cualitativa” y puede extenderse hacia todas las moléculas con el mismo modo o mecanismo bioquímico de acción (FRAC, 2015). 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 desmetilación (DMI ej triazoles) y por lo tanto de la biosíntesis de esteroides fúngicos como el ergosterol (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 modo o mecanismo bioquímico de acción fungicida (MOA) de un principio activo puede indicar el nivel de riesgo a generar resistencia por parte de los hongos patógenos. Un MOA de acción mono-sitio, 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 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 mecanismo bioquímico de acción (gobernados por el mismo factor genético), tienen la 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).

Entre las principales y posibles causas agronómicas que originan la aparición de cepas fúngicas resistentes a los fungicidas se destacan: 1) Uso continuo de moléculas con el mismo mecanismo de acción, 2) utilización de sub-dosis, y/o aplicaciones divididas, 3) cambios en los intervalos de aplicación u aplicaciones tardías, 4) inexistencia de medidas de manejo integrado, 5) ausencia del uso de diversidad química en las aplicaciones, etc.

Este año ha sido categorizado como Niño casi en forma unánime por la mayoría de los climatólogos del mundo (CIIFEN, 2015; NOAA, 2015; SMN, 2015). La consecuente mayor temperatura invernal, y los excesos de lluvia repercuten y lo seguirán haciendo sobre varios aspectos del control químico con fungicidas. Entre ellos se pueden destacar:

- Mayor severidad de ataque de patógenos que dañan la parte aérea (debido a la mayor humedad del canopeo) y más horas de mojado predisponentes, mayor número de ciclos de infección, aumento significativo de la cantidad de esporas de cada población, mayor variabilidad, y por todo ello, mayor presión de enfermedades y el consecuente mayor riesgo de generación de resistencia a moléculas.
- Asimismo, este año los productores y asesores sufren una inestabilidad de precios y condiciones financieras que los obligan a repensar sus inversiones y costos como nunca.
- En este complejo escenario llama la atención la difusión de una recomendación que se está generalizando y que consiste en usar mitad de dosis de marbete comercial de fungicidas, especialmente en cultivos de cebada y trigo para frenar las explosiones tempranas de manchas foliares y roya naranja.

- Principalmente para el caso de la cebada cervecera, existe una firme recomendación de bajar a la mitad la dosis de fungicidas formulados a base de carboxamidas en mezclas para el control del hongo *Ramularia* (causante del salpicado necrótico), especialmente en regiones donde este patógeno está presente en rastrojos y semillas a consecuencia de epidemias previas.

La recomendación de aplicar a la mitad de dosis o aplicar la dosis dividida, es parte del arte de seducir y proponer complicidad a los productores en medio de una crisis económica financiera inédita, soslayando los principios del manejo integrado de enfermedades con la falsa idea de bajar costos sin perder eficiencia y rentabilidad. Es más una recomendación psicológica que técnica, que busca la tranquilidad solo en miras de un supuesto ahorro de costos y una mayor rentabilidad.

Debe quedar claro que cualquier medida que signifique disminuir dosis o hacer aplicaciones divididas, debe necesariamente ser comprobada científicamente en laboratorio y a campo antes de ser recomendada y siempre dentro de un programa de manejo integrado que implique monitoreo de la resistencia de la población de cepas en la región, uso de variedades resistentes, rotación de cultivos, tratamiento de semillas efectivo, y prácticas culturales entre otras medidas.

Si bien se trata de adversidades diferentes, el gran riesgo que existe de generar resistencia concreta a campo quedó ampliamente demostrado ante la utilización de las mismas moléculas herbicidas con subdosis y dosis crecientes en un mismo lote durante años, con la consecuente actual falta de rentabilidad ante el manejo de malezas resistentes.

Se deja constancia de que el empleo de subdosis (es decir, por debajo de lo recomendado), aun en mezclas de principios activos, lleva a aumentar el riesgo de generar resistencia a esos fungicidas que se utilicen.

Los motivos fundamentales de esta afirmación son:

1) La mayoría de la evidencia científica mundial sugiere que la división de una dosis de fungicida dada entre dos o más aplicaciones selecciona con más fuerza cepas resistentes a fungicidas, que 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 por 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 cepas dentro de la población de hongos que no sean tan sensibles a los principios activos aplicados. El fungicida está ejerciendo una fuerte presión de selección sobre la población de patógenos ya que está matando 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 baja de patógenos puede recibir dosis subletales, siendo sometidos a un gran estrés por la molécula fungicida y, sin embargo, sobrevivir. El estrés es un promotor general de las tasas de mutación. Por lo tanto, es muy probable que los supervivientes tengan más mutaciones que lo normal, y que éstas incluyan 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, amplificación de genes, mutaciones alélicas secuenciales), lo que puede ocurrir en los genes nucleares, así como en los genes citoplasmáticos (Gressel, 2011; 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 disminuida. De un total de 11 combinaciones patógeno-fungicida estudiadas y publicadas, en 10 se observó un incremento de la selección de resistencia en aplicaciones con dosis dividida.

La evidencia experimental que describe el efecto de la de dosis de campo en la selección para la resistencia a los fungicidas, tales como los azoles, conferidos 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; Porrás et al., 1990; Metcalfe et al., 2000; Mavroeidi y Shaw, 2006). Por lo tanto, si bien algunas corrientes apoyan la teoría del uso de la dosis mínima eficaz (Shaw, 2006), la dosis efectiva más baja posible es difícil, sino imposible, de cuantificar debido a la continua evolución de las variantes del gen que confiere resistencia (*CYP51*) 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 el 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 1) (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.,

2015). De todas maneras, una dosis completa de fungicida (recomendada por el marbete) retrasa la emergencia de la resistencia al reducir el tamaño de la población sensible del patógeno y por lo tanto el número de mutantes resistentes producidos por unidad de tiempo (Figura 1). Durante la fase de selección es poco probable que otras mutaciones adicionales que ocurren en la población tengan un efecto cuantitativo en el curso de la selección. El nivel de la sub-población de la cepa resistente está más allá de la fase donde su extinción es probable, por lo tanto es relativamente grande. Las mutaciones adicionales que emerjan durante la fase de selección son poco probable que afecten la dinámica del sistema hasta tal punto que un aumento de dosis reducirá selección (van der Bosch et al., 2011; Hobbelen et al., 2014).

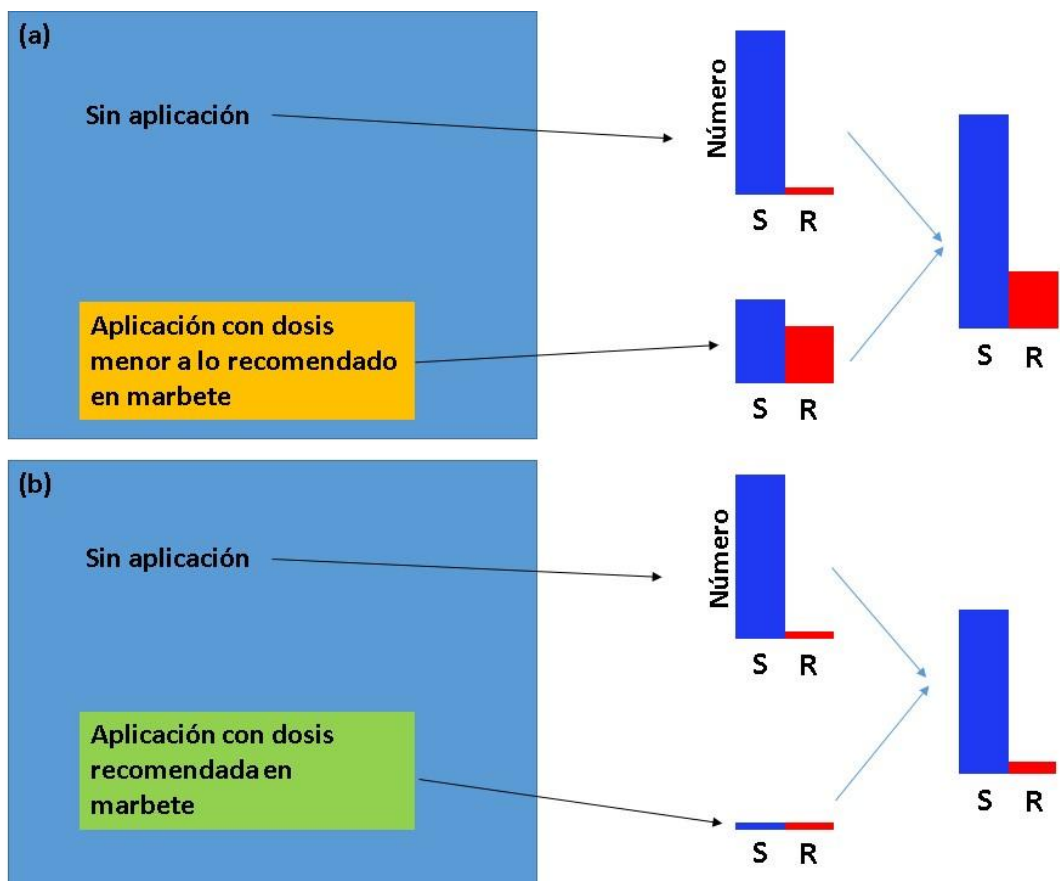


Figura 1. Efecto de áreas no tratadas, que actúan como fuente de inóculo, en la fuerza de la selección para la resistencia. (a) A la izquierda se muestra un área que contiene el cultivo de interés. Una porción es pulverizada con fungicida. El número de individuos resistentes y susceptibles en cada porción se muestran en las dos primeras barras de la derecha. Debido a que la población está bien mezclada, el cambio general, que se muestra en el gráfico de barras final, es menor que en la parte tratada del cultivo. (b) A dosis más altas, aunque la selección es más fuerte en el área tratada, el cambio global es menor. Si se reducen a la mitad el número absoluto de individuos resistentes que

sobreviven en la parte tratada con dosis completa, así será la frecuencia en la próxima generación. (Fuente: Shaw, 2009)

3) Las mezclas de fungicidas han sido cuidadosamente desarrolladas por las empresas fabricantes seleccionando los principios activos que la componen (mezclas de carboxamida con estrobilurina o de éstas con triazol en forma de triple mezcla), la proporción de cada uno dentro de la mezcla, la dosis y la formulación, de tal modo que la recomendación de dosis de campo del marbete (y no 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 eficiencia 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 mecanismo bioquímico de acción 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 componente 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; Mavroeidi y Shaw, 2006).

4) El uso de dosis en menores proporciones 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 solo no logra los efectos esperados al aplicar el producto, sino que tarde o temprano potencia la capacidad de generar resistencia. El uso de dosis completas (recomendadas en el marbete) minimiza la selección de cepas con sensibilidad intermedia cuando la resistencia es poligénica (resistencia cuantitativa), como en el caso de los triazoles y estrobilurinas (FRAC, 2015). 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. El mencionado factor surge de años de investigación, desarrollo y testeo a campo, antes de liberar comercialmente cada producto (Mikaberidze y McDonald, 2015). La dosis recomendada por el fabricante en los marbetes (Figura 2) es aquella que consistentemente otorga un alto nivel de control de enfermedades a campo (Figura 3), 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). 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 apropiada o recomendada en el marbete por el fabricante, de que si se aumentara por encima de aquella. 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 logrado de enfermedad entre diferentes localidades, campañas agrícolas y variedades u híbridos comerciales de cada cultivo, es decir, diferentes patosistemas con diferente presión de enfermedad.

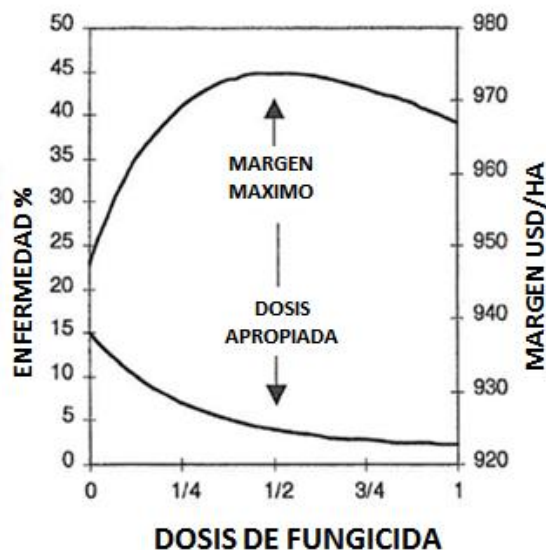


Figura 2. Curva de respuesta a la dosis de fungicida. El costo de la aplicación de fungicida se incrementa en proporción directa a la dosis aplicada. Como el nivel de daño y pérdida de calidad es proporcional al nivel de enfermedad, puede encontrarse un punto en la curva de respuesta en el cual incrementos 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 minimizado, 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 o recomendada en el marbete 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 .Fuente: Paveley, 2000.

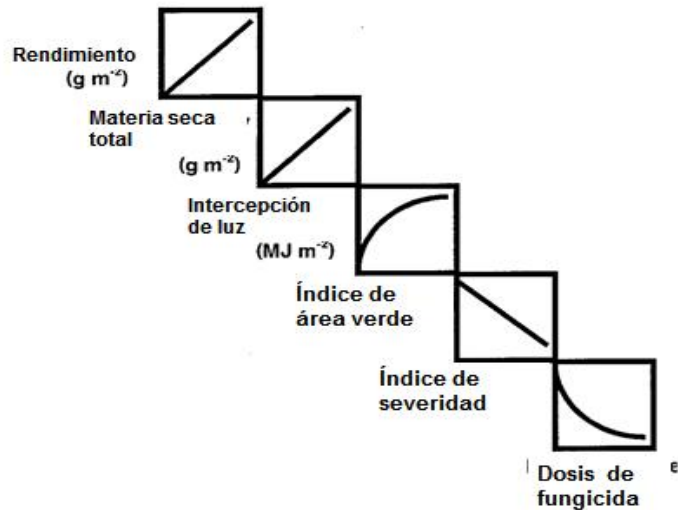


Figura 3. Representación diagramática de los procesos que vinculan la aplicación de fungicida (gr i.a.m^{-2}) con el rendimiento en grano (g m^{-2}) en un cultivo de trigo afectado por enfermedades foliares. La variable dependiente de una relación se convierte en la variable independiente para el paso siguiente dentro del proceso global: (i) el incremento de la dosis de fungicida disminuye la intensidad de enfermedad (severidad foliar), de acuerdo con la curva de respuesta a la dosis, (ii) la disminución de la severidad foliar incrementa el índice de área foliar verde IAF (iii) el incremento del IAF incrementa la intercepción de la radiación fotosintéticamente activa, (iv) el incremento de la radiación aumenta la acumulación de materia seca y (v) el rendimiento se incrementa, dependiendo de la partición de materia seca al destino cosechable. Fuente: Paveley et al., 2001.

5) Si se reduce la dosis recomendada en una mezcla de fungicidas, no existe “el factor compensación” de unas con otras, pues como ya fuera dicho existe una proporción balanceada de principios activos, formulada para lograr la eficiencia de control que garantice el control a campo.

6) 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).

7) en un año Niño (CIIFEN, 2015; NOAA, 2015; SMN, 2015), con la consecuente mayor multiplicación de los patógenos, con hongos de alto a mediano riesgo de generar resistencia, y la alta presión de inóculo en rastrojos, la alta susceptibilidad de los genotipos sembrados (Factor múltiple de riesgos), la probabilidad de generar resistencia, aún es mucho mayor.

Como conclusión: 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 presión de la enfermedad. Sin embargo, asesorar el uso de media dosis recomendada para el control de enfermedades es una simplificación de este complejo proceso. Por lo tanto, hasta tanto no se realicen experiencias in situ en campos argentinos, 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. Debería más bien enfatizarse que el uso de mezclas de fungicidas (dos MOA que muestra la eficacia y persistencia similar) es crítica para la buena gestión anti-resistencia.

Cabe destacar que *Ramularia* es considerado internacionalmente 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 fungicidas, así como otros agentes causales de manchas foliares y royas en cebada y trigo, son consideradas de mediano riesgo (FRAC, 2015). Se destaca la experiencia europea, ya que hacia fines de la década de 1990, la Ramulariosis fue inicialmente controlada en Europa con aplicaciones aisladas de fungicidas del grupo QoI (estrobilurinas). 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 & Hunter 2005). Luego, investigadores europeos detectaron que estas “fallas” se debieron a la existencia de cepas o razas de *R. collo-cygnii* resistentes a las estrobilurinas, desarrolladas en Reino Unido entre 2001 y 2002 (Fountaine & 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, como por ejemplo los SDHIs (inhibidores de la succinato deshidrogenasa, ej carboxamidas), fungicidas que inhiben la respiración fúngica mediante la unión al complejo II de la respiración mitocondrial. Todos los datos actualmente disponibles sugieren que el Rcc es todavía sensible a todos los fungicidas SDHIs (Frey y Sierotzki, 2011; Piotrowska M., com. personal). Sin embargo, el desarrollo de resistencia a este grupo químico se clasifica actualmente por FRAC (Fungicide Resistance Action Committee) de “medio a alto riesgo”. Rcc ya ha sido expuesto a los fungicidas SDHIs durante algunas campañas agrícolas. Por lo tanto, se hace notar que si bien actualmente no se ha verificado aún la presencia de razas de *R. collo-cygnii* resistentes a los fungicidas SDHIs (carboxamidas), la probabilidad de generación de resistencia a tal grupo (riesgo) es muy elevada, dado que sólo un único punto de mutación en el gen que codifica para el complejo II (Succinato Deshidrogenasa) es necesario para desarrollar altos niveles de resistencia a los fungicidas en otros patógenos de plantas

relacionados; debido en parte a la gran diversidad genética poblacional, y en parte al perfil histórico de alta velocidad de generación de resistencia de este patógeno (Hjortshøj et al., 2013; Piotrowska et al., 2011, 2013; FRAC, 2015); y al mediano a elevado riesgo de este grupo químico a generar resistencia cualitativa (Fraaije et al., 2012). Por esta razón, actualmente no se utilizan más los Qols (inhibidores de la quinona externa, ej estrobilurinas) para el control de Rcc en Reino Unido, sino que se utilizan mezclas de SDHIs (carboxamidas) con DMIs (triazoles) y un fungicida con mecanismo de acción multisitio, de bajo riesgo de generación de resistencia, como el clorotalonil (Piotrowska M., com. personal). Esta situación recuerda a la actual estrategia de control de la roya asiática de la soja (*Phakopsora pachyrhizi*) en Brasil, en donde a las mezclas de Qols, DMIs y SDHIs se las mezcla con el fungicida multisitio mancozeb.

Desde hace algunos años se ha reportado resistencia a SDHIs en patógenos de frutas y verduras, muy poco tiempo después de la introducción de este grupo de fungicidas que se ajustan al modelo de simple mutación/baja aptitud, por ejemplo la mancha por *Alternaria* en pistachos, *Botrytis* en manzanas y frutillas, la mancha por *Corynespora* en pepinos (FRAC, 2015). Asimismo, en 2012 un extenso monitoreo detectó dos aislamientos de *Septoria* (*Mycosphaerella graminicola*) en Francia y Reino Unido, y dos aislamientos de Mancha en red de la cebada (*Pyrenophora teres*) en Alemania con sensibilidad fuera de la línea de base (FRAC, 2015). Los factores de resistencia en ambos casos eran muy bajos y la performance a campo no se vio afectada. En 2013 aislamientos de la mancha en red con mutaciones que confieren sensibilidad reducida a los fungicidas SDHI se detectaron comúnmente a través de Europa, incluyendo el Reino Unido (FRAC, 2015). Recientemente, la Dra. Marta Piotrowska (investigadora postdoctoral en the Crop Protection Team del SRUC, Scotland's Rural College) realizó su tesis doctoral, examinando posibles mutaciones de Rcc responsables del desarrollo de resistencia a SDHI (Piotrowska et al., 2011). Los mutantes se caracterizaron morfológicamente y por su patogenicidad, se describió la diversidad de la población y su posible evolución, en términos de resistencia a los fungicidas, por último, se desarrolló un ensayo eficaz para el seguimiento de los cambios genéticos que se correlacionan con la resistencia a los fungicidas. Si bien Piotrowska encontró que los SDHIs (carboxamidas) aún siguen siendo eficaces contra Rcc en el Reino Unido (comunicación personal), estas técnicas permitirán el monitoreo rutinario y la detección de cepas resistentes de Rcc y la producción de estrategias de control de la resistencia. Los resultados serán publicados dentro de 1 año.

Como se mencionara anteriormente, se han detectado y confirmado casos de resistencia en otras enfermedades de cereales de invierno. Sierotzki y Scalliet (2013) han realizado una revisión de casos documentados de resistencia a SDHIs (carboxamidas) en la que se detallan los casos de resistencia de *Septoria tritici* (= *Zymoseptoria tritici*, forma sexual *Mycosphaerella graminicola*), causante de la Septoriosis del trigo, y de *Drechslera teres* (forma sexual *Pyrenophora teres*), causante de la Mancha en red de la cebada, frente a fungicidas carboxamidas. En estas investigaciones recientes, con aislamientos individuales de *M. graminicola* y *P. teres*, reportadas en los grupos de trabajo de SDHIs de la FRAC (FRAC, 2015), se detectaron cepas portadoras de mutaciones en los genes SDH que conducen a la sensibilidad reducida a los fungicidas SDHIs. En un aislado de *M.*

graminicola se detectó la substitución de T (treonina) por N (asparagina), en la posición 79 de la subunidad SDHC. En este caso el factor de resistencia se describe como bajo, supuestamente sin afectar el desempeño de los fungicidas SDHI. Esta mutación particular, no se ha habia detectado antes, incluso a través de mutagénesis artificial. Sin embargo, una alteración similar de T (treonina) por I (isoleucina) en la misma posición condujo a un factor de resistencia de ~20 para isopirazam y boscalid. La mutación encontrada en *P. teres* en el gen SDHB en la posición 277 que conduce a un cambio de H (histidina) por Y (tyrosina), es bien conocido a partir de otros patógenos y tiene características similares en la mancha en red.

En cuanto a los DMIs (triazoles), considerados por el FRAC de mediano riesgo a generar resistencia (resistencia cuantitativa o poligénica), en 6 países europeos se ha confirmado que hasta un 70% de la variabilidad de aislamientos de *Rhynchosporium secalis* resistentes a triazoles (propiconazole, tebuconazole, epoxiconazole y prothioconazole) correspondió a resistencia cruzada (Hawkins et al., 2011). De entre todos los principios activos testeados, el prothioconazole fue el de menor reducción de sensibilidad. Cabe destacar que este p.a. no es un triazol sino una triazolinthiona, es decir posee un átomo de azufre en el anillo triazol, que el resto de los triazoles no lo tiene, y que luego de ingresado a la planta sufre una transformación, transformándose en su forma activa, el prothioconazol-desthio (Parker et al., 2011, 2013; Warrilow et al., 2013). Esta molécula actúa como competidor directo del substrato (eburicol) de la enzima lanosterol desmetilasa (codificada por el gen CYP51) (Parker et al., 2013; Warrilow et al., 2013), por el contrario de los triazoles comunes que actúan como inhibidores no competitivos, uniéndose al grupo hemo de la mencionada enzima (Parker et al., 2011). De esta manera, el prothioconazole se lo considera una "nueva generación" de inhibidores de la biosíntesis de esteroides (ISE) fúngicos. También es necesario considerar que esta molécula fue recién registrada en Argentina para el control de enfermedades de cereales en Agosto del año 2015. Por lo tanto, por su comportamiento a campo y por su menor tiempo en el mercado (menor tiempo de exposición a los hongos), tiene mejor comportamiento que el resto de los ISE y es el que mejor se comportaría dentro de este grupo contra Rcc (Oxley, 2004; HGCA, 2013), y es por ello que puede formar parte de las moléculas (en mezclas) que ejercerían un mejor control contra Rcc.

Asimismo, 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), **Africa** (Siah et al., 2014); **Australia** (Tucker et al., 2015); **América del Norte** (Zhang, 2012; Estep et al., 2013; Price, 2013; Avenot et al., 2014; Estep et al., 2015; McGrath, 2012), **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 **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 y Andreatta, 2015).

Por todo ello, y tomando en cuenta que el medio rural y social argentino actualmente sufre casos ejemplificadores en 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 (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 de anti-resistencia que retrasen desarrollo de subpoblaciones de patógenos resistentes (Hobbelen et al., 2011; Lo lacono 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):

Buenas prácticas para evitar la resistencia de los hongos a fungicidas

- 1) 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)
- 2) No llegar tarde, 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).
- 3) 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).
- 4) 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)

- 5) 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)
- 6) Respetar las dosis de marbete y obedecer las restricciones indicadas en los mismos. Respetar las indicaciones de marbete 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).
- 7) Desarrollar un programa de monitoreo de la sensibilidad de las poblaciones de los patógenos principales objeto de control, y de valoración de la fungitoxicidad de los principales moléculas químicas y de determinación de dosis óptima a campo
- 8) 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 de la nutrición como complemento para el manejo de enfermedades, etc

El FRAC (2015) ha establecido directrices de manejo de resistencia SDHI para varios sistemas hospedante-patógeno. Estas directrices se basan en la restricción de aplicaciones y mezclas de SDHIs 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 SDHIs (carboxamidas) con Qols (estrobilurinas). Desafortunadamente, en regiones como Europa, estos productos se han utilizado para el control de combinaciones patógeno-hospedante para los que la resistencia a Qols ya era relativamente frecuente (Gisi et al., 2002). Por lo tanto, en muchos casos, los fungicidas SDHIs 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 SDHIs 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 Qols está bien establecida o está progresando más aún 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, 2012) y *Rhizoctonia solani* en arroz (Olaya et al., 2012). De la misma manera, la adaptación de los patógenos a los fungicidas DMIs continúa, como por ejemplo en el caso de los agentes patógenos de cereales tales como *M. graminicola* en trigo (FRAC, 2015) y *P. pachyrhizi* en soja (FRAC, 2015). La nueva clase de compuestos altamente activos SDHI está siendo rápidamente adoptada por los mercados. Los principales formulados presentados hasta la fecha se basan en mezclas de SDHIs con DMIs e incluso con Qol (o de triple mezcla SDHIs + Qols + DMIs). Éstas 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 de los SDHIs 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 SDHIs solos o en mezclas con fungicidas Qols (Sierotzki y Scalliet, 2013).

En el caso de las carboxamidas que se utilizan exclusivamente como un tratamiento de semillas (sedaxane o penflufen) (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 un 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 de presión (FRAC, 2015).

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 la cepa resistente ya está presente a una frecuencia de uno por ciento o más en ciertas áreas. Para llegar a ese punto, la subpoblación resistente del patógeno ha ido evolucionando por aparición (emergencia) y selección durante muchas generaciones. Por lo tanto, gran parte de la posibilidad de retrasar la evolución ya se ha perdido si las estrategias anti-resistencia se ponen en marcha en respuesta a la detección. 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, patogenicidad, y la competitividad (Cina et al., 2009; Carmona et al., 2014c; Andreatta et al., 2014; 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 patógenos, 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, 2015b; 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; Rusell, 2003; Ishii, 2006; Hollomon e Ishii, 2015). 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 via internet, permitiendo el monitoreo oportuno de los perfiles de resistencia específicos para cada ubicación geográfica (Schnabel et al., 2012). Esta será la 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 anti-resistencia dentro de un programa de manejo integrado de enfermedades, la historia volverá a repetirse: solo es cuestión de tiempo.

Bibliografía

Agaras B, Scandiani MM, Luque A, Carmona M, Wall L, Valverde C (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.

Andreatta M, Scandiani M, Carmona M (2015) Sensibilidad *in vitro* de *Phomopsis phaseoli*, *Colletotrichum truncatum* y *Cercospora kikuchii* a pyraclostrobina + epoxyconazole y fluxapyroxad + pyraclostrobina + epoxyconazole. Premio categoría investigador Top Ciencia 2014 BASF Latinoamérica, 26 y 27 de junio de 2014.

Arduim FS, Reis EM, Barcellos AL, Turra C (2012) *In vivo* sensitivity reduction of *Puccinia triticina* races, causal agent of wheat leaf rust, to DMI and QoI fungicides. Summa Phytopathologica, v.38, n.4, p.306-311.

Avenot HF, Michailides TJ (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 HF, van den Biggelaar H, Morgan DP, Moral J, Joosten M, Michailides TJ (2014) Sensitivities of baseline isolates and boscalid-resistant mutants of *Alternaria alternata* from pistachio to fluopyram, penthiopyrad, and fluxapyroxad. Plant Dis. 98: 197-205.

Beckerman (2013) Detection of Fungicide Resistance. Chapter 11, pp. 281-310. In: Fungicides – Showcases of Integrated Plant Disease Management from Around the

- World. Mizuho Nita (Eds.), ISBN 978-953-51-1130-6, Publisher: InTech, Chapters published May 15, 2013 under CC BY 3.0 license.
- Brent, K J, Hollomon, D W and Shaw, M W (1990) Predicting the evolution of fungicide resistance. In: Managing Resistance to Agrochemicals, Green, M B, Le Baron, H M, and Moberg, W K eds. American Chemical Society, Washington DC, 303-319.
- Brent KJ, Hollomon DW (1998) Fungicide resistance: the assessment of risk. FRAC Monograph No.2. GCPF (Brussels). 50 pp.
- Brent KJ, Hollomon DW (2007) Fungicide resistance in crop protection, how can it be managed. FRAC Monograph 1, 2nd edition. FRAC, Brussels, Belgium, 56pp.
- Carmona M, Cortese P, Moschini R, Pioli R, Ferrazzini M, Reis E (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. p.119.
- 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 Tucuman, 2 al 4 de octubre de 2007. Tucuman. pp. 20- 22, 2007
- 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 <http://www.agro.uba.ar/noticias/node/166>
- Carmona MA (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, Sautua F (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, Abello A, Sautua F (2011a) Resistencia de los hongos a los fungicidas. Guía de Productos Fitosanitarios, pp161-168, CASAFE.
- Carmona MA, Sautua FJ, Gally M (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 9° Encuentro Nacional de Monitoreo de Plagas, Enfermedades y Malezas, Córdoba, 18 y 19 de junio de 2013

Carmona M, Sautua F, Reis EM (2014a) Control de enfermedades fúngicas del trigo mediante fungicidas. En: Enfermedades del trigo: avances científico en la Argentina. Cordo C., Sisterna M. (Eds.). Editorial de la Universidad Nacional de La Plata (EDULP), La Plata, Bs. As. pp. 349-370. ISBN 9789871985357.

Carmona M, Viotti G, Sautua F (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 (2014c) Sensibilidad *in vitro* de hongos causantes de enfermedades de fin de ciclo de la soja a fungicidas. Proyecto UBACyT Resol. (CS) N° 3302 /11. Código: 20020100100493.

Carmona MA y Andreatta M (2015) Fungicidas y criterios de manejo. Resistencia de *Cercospora kikuchii* a carbendazim? Reunion Latinoamerica Top Ciencia Basf, Mendoza, julio 2015.

Carmona MA, Sautua FJ, Perelman S, Gally M, Reis EM (2015a) Development and validation of a fungicide scoring system for management of late season soybean diseases in Argentina. Crop Protection 70: 83 -91.

Carmona MA, Sautua F, Reis EM (2015b) Soybean frog-eye leaf spot (*Cercospora sojina*): First economic damage threshold determination. Advances in Applied Agricultural Science, 3:01-07.

Chen Y, Zhang A-F, Wang W-X, Zhang Y, Gao T-C (2012) Baseline sensitivity and efficacy of thifluzamide in *Rhizoctonia solani*. Annals of Applied Biology Volume 161, Issue 3, pages 247–254.

CIIFEN (2015) www.ciifen.org

Cina RP, Carmona MA, Reis EM, Lopez SE (2009) Fungitoxicidad *in vivo* de ciproconazole y su mezcla con azoxistrobina a *Puccinia sorghi*. Tropical Plant Pathology vol 34: S85 XLII Congreso Brasileiro de Fitopatología, Rio de Janeiro 3 al 5 de agosto de 2009.

Cools H, Fraaije BA (2012) Resistance to Azole Fungicides in *Mycosphaerella graminicola*: Mechanisms and Management. In: Fungicide Resistance in Crop Protection: Risk and Management (ed. T.S. Thind). CAB International. 64-77 pp.

Corio-Costet MF (2015) Monitoring Resistance in Obligate Pathogens by Bioassays Relating to Field Use: Grapevine Powdery and Downy Mildews. In: Fungicide Resistance in Plant Pathogens. Principles and a Guide to Practical Management. Hideo Ishii, Derek William Hollomon (Eds.). Springer Japan, ISBN: 978-4-431-55641-1 (Print) 978-4-431-55642-8 (Online). pp. 251-279.

Deising HB, Reimann S, Pascholati SF (2008) Mechanisms and significance of fungicide resistance. Brazilian Journal of Microbiology 39:286-295.

- De Miccolis Angelini RM, Pollastro S, Faretra F (2015) Genetics of Fungicide Resistance. In: Fungicide Resistance in Plant Pathogens. Principles and a Guide to Practical Management. Hideo Ishii, Derek William Hollomon (Eds.). Springer Japan, ISBN: 978-4-431-55641-1 (Print) 978-4-431-55642-8 (Online). pp. 13-34.
- Dirchwolf P, Gutiérrez S, Carmona M (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, Shaw M, Spink J, Kildea S (2015) Effect of azole fungicide mixtures, alternations and dose on azole sensitivity in the wheat pathogen *Zymoseptoria tritici*. Plant Pathology (in press). DOI: 10.1111/ppa.12395.
- Elesgaray A, Zilli C, Balestrasse K, Carmona M (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 LK, Zala M, Anderson NP, Sackett KE, Flowers M, McDonald BA, Mundt CC (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 LK, Torriani SFF, Zala M, Anderson NP, Flowers MD, McDonald BA, Mundt CC, Brunner PC (2015) Emergence and early evolution of fungicide resistance in North American populations of *Zymoseptoria tritici*. Plant Pathology 64(4): 961-971.
- Felipini RB, Luiz C, Costa MEB, Di Piero RM (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, Meunier B (2008) Molecular basis of resistance to cytochrome bc1 inhibitors. FEMS Yeast Res 8: 183–192.
- Fontaine JM, Fraaije BA (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.
- Fontaine JM, Piotrowska M, Havis ND, Burnett FJ (2014) Fungicide resistance in *Ramularia collo-cygni*. Proceedings Crop Protection in Northern Britain 2014. pp. 101-106.
- Fraaije BA, Burnett FJ, Cools HJ, Clark WS, Pavely N, Norman K, Lucas JA (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 BA, Bayon C, Atkins S, Cools HJ, Lucas JA, Fraaije MW (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 (fungicide resistance action committee), Crop Life. www.frac.info, acceso 2015.

Frey R, Sierotzki H (2011) *In vitro* assessment of QoI and SDHI fungicide sensitivity of *Ramularia collo-cygni* (B1). In: 4th International workshop on barley leaf blights, Dundee, Scotland, Junio 27-29, 2011.

Gallian JJ, Miller JS, Nolte P (2006) Managing Fungicide Resistance. University of Idaho Extension. CIS 1130 September 2006.

Garrán S, Montangie G, Mika R (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 JL, Jaworska G, Deparis F (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, Chin KM, Knapova G, KuKng FaKerber R, Mohr U, Parisi S, Sierotzki H, Steinfeld U (2000) Recent developments in elucidating modes of resistance to phenylamide, DMI and strobilurin fungicides. *Crop Protection* 19: 863-872.

Gisi U, Sierotzki H, Cook A, McCaffery A (2002) Mechanisms influencing the evolution of resistance to Qo inhibitor fungicides. *Pest Management Science* 58: 859–867.

Godoy CV, Xavier SA, Koga LJ, Molina JPE (2014) Resistencia a fungicidas en soja. 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 MK, van den Bosch F, Powers SJ, Paveley ND (2015) Fungicide resistance risk assessmentit based on traits associated with the rate of pathogen evolution. *Pest Management Science* 71(2): 207-215.

Hawkins NJ, Cools HJ, Sierotzki H, Shaw MW, Fraaije BA (2011) Triazole sensitivity and cross-resistance patterns in *Rhynchosporium secalis* populations. 4th International workshop on barley leaf blights. Dundee Scotland, UK, June 27-29, 2011.

Heger M, Cavell P, Wetjen T, Groeger U (2012) Systiva: A new concept for cereal disease control. Page 293 in: Proc. 58th German Plant Prot. Conf. Braunschweig, Quedlinburg, JKI, Berlin.

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

Hjortshøj RL, Ravnshøj AR, Nyman M, Orabi J, Backes G, Pinnschmidt H, Havis N, Stougaard J, Stukenbrock EH (2013) High levels of genetic and genotypic diversity in field populations of the barley pathogen *Ramularia collo-cygni*. European Journal of Plant Pathology 136: 51–60.

Hobbelen PHF, Paveley ND, van den Bosch F (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 PHF, Paveley ND, Oliver RP, van den Bosch F (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 PHF, Paveley ND, van den Bosch F (2014) The Emergence of Resistance to Fungicides. PLoS ONE 9(3): e91910. doi:10.1371/journal.pone.0091910.

Hollomon D, Cooke L, Locke T (2002) Maintaining the effectiveness of DMI fungicides in cereal disease control strategies. HGCA Project Report No. 275. 26 pp.

Hollomon DW (2012) Do we have the tools to manage resistance in the future? Pest Management Science 68: 149–154.

Hollomon DW (2015) Fungicide Resistance: 40 Years on and Still a Major Problem. In: Fungicide Resistance in Plant Pathogens. Principles and a Guide to Practical Management. Hideo Ishii, Derek William Hollomon (Eds.). Springer Japan, ISBN: 978-4-431-55641-1 (Print) 978-4-431-55642-8 (Online). pp. 3-11.

Hollomon DW, Ishii H (2015) Monitoring Resistance Using Molecular Methods. In: Fungicide Resistance in Plant Pathogens. Principles and a Guide to Practical Management. Hideo Ishii, Derek William Hollomon (Eds.). Springer Japan, ISBN: 978-4-431-55641-1 (Print) 978-4-431-55642-8 (Online). pp. 295-309.

Hunter T, Brent KJ, Carter GA (1984) Effects of fungicide regimes on sensitivity and control of barley mildews. In: Proceedings 1984 British Crop Protection Conference - Pests and Diseases. BCPC, Alton, UK, pp. 471-482.

Ishii H (2004) Studies on fungicide resistance in phytopathogenic fungi. Journal of General Plant Pathology 70:379–381.

- Ishii (2006) Impact of Fungicide Resistance in Plant Pathogens on Crop Disease Control and Agricultural Environment. JARQ 40 (3): 205 – 211.
- Ishii (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. 37-45 pp.
- Ishii H (2012) Resistance to QoI and SDHI Fungicides in Japan. In: Fungicide Resistance in Crop Protection: Risk and Management (ed. T.S. Thind). CAB International. 223-234 pp.
- Ishii (2015) Stability of Resistance. In: Fungicide Resistance in Plant Pathogens. Principles and a Guide to Practical Management. Hideo Ishii, Derek William Hollomon (Eds.). Springer Japan, ISBN: 978-4-431-55641-1 (Print) 978-4-431-55642-8 (Online). pp. 35-48.
- Jørgensen LN (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. Page 293 in: Proc. 58th German Plant Prot. Conf. Braunschweig, Quedlinburg, JKI, Berlin
- Leadbeater A (2012a) Resistance Risk to QoI Fungicides and Anti-Resistance Strategies. In: Fungicide Resistance in Crop Protection: Risk and Management (ed. T.S. Thind). CAB International. 141-154 pp.
- Leadbeater A (2012b) The Role of the Fungicide Resistance Action Committee in Managing Resistance. In: Fungicide Resistance in Crop Protection: Risk and Management (ed. T.S. Thind). CAB International. 271-278 pp.
- Leroux P, Walker AS (2011) Multiple mechanisms account for resistance to sterol 14 α - demethylation inhibitors in field isolates of *Mycosphaerella graminicola*. Pest Management Science 67: 44–59.
- Lo Iacono G, van den Bosch F, Gilligan CA (2013) Durable Resistance to Crop Pathogens: An Epidemiological Framework to Predict Risk under Uncertainty. PLoS Comput Biol 9(1): e1002870. doi:10.1371/journal.pcbi.1002870.
- Lovato Echeverria A, Carmona M, Gutierrez S (2014a) Fungitoxicidad *in vitro* de fungicidas terapicos de semillas sobre el crecimiento micelial de *Trichoconiella padwickii*. Pag. 384 Libro de Resúmenes del 3er Congreso Argentino de Fitopatología, 4, 5, y 6 de junio de 2014, San Miguel de Tucumán.
- Lovato Echeverria A, Carmona M, Gutierrez S (2014b) Sensibilidad *in vitro* de *Bipolaris oryzae* a fungicidas terapico de semillas. Pag. 385 Libro de Resúmenes del 3er Congreso Argentino de Fitopatología, 4, 5, y 6 de junio de 2014, San Miguel de Tucumán.

- Lucas JA, Hawkins NJ, Fraaije BA (2015) The Evolution of Fungicide Resistance. *Advances in Applied Microbiology*, 90: 29-92
<http://dx.doi.org/10.1016/bs.aambs.2014.09.001>
- Ma Z, Michailides TJ (2005) Advances in understanding molecular mechanisms of fungicide resistance and molecular detection of resistant genotypes in phytopathogenic fungi. *Crop Protection* 24: 853 – 863.
- McGrath MT (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 VI, Shaw MW (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, Svobodova-Leisova L, Marik P, Tvaruzek L, Stemberkova L, Hanusova M, Minarikova V, Vysohlidova M, Spitzer T (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, Manger-Jacob F (2015) Banana Diseases. In: *Fungicide Resistance in Plant Pathogens. Principles and a Guide to Practical Management*. Hideo Ishii, Derek William Hollomon (Eds.). Springer Japan, ISBN: 978-4-431-55641-1 (Print) 978-4-431-55642-8 (Online). pp. 467-479.
- Mercado Cárdenas G, Chocobar M, Carmona M, Monge J (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 RJ, Shaw MW, Russel PE (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, McDonald BA, Bonhoeffer S (2014) Can high risk fungicides be used in mixtures without selecting for fungicide resistance? *Phytopathology* 104:324-331.
- Mikaberidze A, McDonald BA (2015) Fitness Cost of Resistance: Impact on Management. In: *Fungicide Resistance in Plant Pathogens. Principles and a Guide to Practical Management*. Hideo Ishii, Derek William Hollomon (Eds.). Springer Japan, ISBN: 978-4-431-55641-1 (Print) 978-4-431-55642-8 (Online). pp. 77-89.
- Miyamoto T, Ishii H, Stammler G, Koch A, Ogawara T, Tomita Y, Fountaine JM, Ushio S, Seko T, Kobori S (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. Pages 43-44 in: 53. Österreichische Pflanzenschutztage, Wels, Austria. www.oeaip.at
- NOA National Oceanic and Atmospheric Administration (2015) ENSO: Recent Evolution, Current Status and Predictions, www.noaa.gov, acceso 2015.
- Olaya G, Buitrago C, Pearsaul D, Sierotzki H, Tally A (2012) Detection of resistance to QoI fungicides in *Rhizoctonia solani* isolates from rice. Page 241 in: Proc. Am. Phytopathol. Soc. Annu. Meet. Rhode Island
- Oliver RP (2014) A reassessment of the risk of rust fungi developing resistance to fungicides. *Pest Management Science* 70(11): 1641–1645.
- Oliver R, Hewitt HG (2014) Fungicide Resistance. In: *Fungicides in Crop Protection*. Oliver RP y Hewitt HG (Eds.) CABI, 2nd Edition. pp 123-149.
- Oxley S (2004) Barley Disease Control. SAC Technical Note N°558. ISSN 0142 7695, ISBN 185482 799 5.
- Oxley SJP, Hunter EA (2005) Appropriate fungicide doses on winter barley: producing dose-response data for a decision guide. HGCA Project Report No 366. HGCA publications.
- Parker JE, Warrilow AGS, Cools HJ, Martel CM, Nes WD, Fraaije BA, Lucas JA, Kelly DE, Kelly SL. 2011. Mechanism of binding of prothioconazole to *Mycosphaerella graminicola* CYP51 differs from that of other azole antifungals. *Applied and Environmental Microbiology* 77:1460 –1465.
- Parker JE, Warrilow AGS, Cools HJ, Fraaije BA, Lucas JA, Rigdova K, Griffiths WJ, Kelly DE, Kelly SL (2013) Prothioconazole and Prothioconazole-Desthio Activities against *Candida albicans* Sterol 14- α -Demethylase. *Applied and Environmental Microbiology* 79(5): 1639 –1645.
- Paveley ND (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: <http://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>
- Paveley ND, Sylvester-Bradley R, Scott RK, Craigon J, Day W (2001) Steps in predicting the relationship of yield on fungicide dose. *Phytopathology* 91: 708-716.
- Panebianco A, Castello I, Cirvilleri G, Perrone G, Epifani F, Ferrara M, Polizzi G, Walters DR, Vitale A (2015) Detection of *Botrytis cinerea* field isolates with multiple fungicide resistance from table grape in Sicily. *Crop Protection* 77: 65-73.

- Piotrowskaa M, Burnetta F, Fountainea J, Hoebea P, Ennosb R, Ranner D (2011) Characterisation of mutations in the succinate dehydrogenase gene for potential fungicide resistance in *Ramularia collo-cygni* (B7). In: 4th International workshop on barley leaf blights, Dundee, Scotland, Junio 27-29, 2011.
- Piotrowska M, Burnett F, Hoebe P, Ennos R, Fountaine JM (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.
- Porras L, Gisi U, Staehle-Csech U (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 PP (2013) Sensitivity and resistance of *Cercospora kikuchii*, causal agent of Cercospora leaf blight and Purple seed stain of soybean, to selected fungicides. PhD Thesis, Louisiana State University. 120 pp.
- Ravotti M, Simonetti E, Scandiani M, Luque A, Formento N, Carmona M (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 EM, Carmona MA (2011) Capítulo: Sensibilidade de razas de *Puccinia triticina* a fungicidas II SIMPOSIO NACIONAL DE AGRICULTURA, FAGRO - GTI Agricultura y IPNI Cono Sur, pp 89-94; 29 y 30 de setiembre de 2011 Paysandu, Uruguay Ed Universidad de la República, Montevideo, Uruguay- Hemisferio Sur ISBN 978-9974-0-0781-9.
- Reis EM, Carmona MA (2013) Integrated disease management of Fusarium Head Blight, in: "Fusarium Head Bligh in Latin America. Teresa Aconada and Dr Sofia Noemí Chulze, Editores. Chapter 10, 159-173 pp, Editorial: Springer, 2013.
- Reis EM, Carregal Pereira da Silva LH, Siqueri FV, Campos Silva JR (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 EM, Zanatta M, Carmona M, Menten JOM (2015) Relationship between IC50 determined *in vitro* / *in vivo* and the fungicide rate used in the field. Summa Phytopathologica, v.41, n.1, p.49-53.
- Russell P (2003) Sensitivity baselines in fungicide resistance research and management. Ed: FRAC. pp. 60.
- Scalliet G, Bowler J, Luksch T, Kirchhofer-Allan L, Steinhauer D, Ward K, Niklaus M, Verras A, Csukai M, Daina A, Fonné-Pfister R (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, Amiri A, Brannen PM (2012) Field Kit- and Internet-Supported Fungicide Resistance Monitoring. In: Fungicide Resistance in Crop Protection: Risk and Management (ed. T.S. Thind). CAB International. 116-132 pp.
- Schnabel G, Hu M-j, Fernández-Ortuño D (2015) Monitoring Resistance by Bioassay: Relating Results to Field Use Using Culturing Methods. In: Fungicide Resistance in Plant Pathogens. Principles and a Guide to Practical Management. Hideo Ishii, Derek William Hollomon (Eds.). Springer Japan, ISBN: 978-4-431-55641-1 (Print) 978-4-431-55642-8 (Online). pp. 281-293.
- Shaw MW (2009) Fungicide resistance: the dose rate debate. Outlooks on Pest Management June 2009: 100-103. Doi: 10.1564/20jun02
- Siah A, Elbekali AY, Ramdani A, Reignault P, Torriani SFF, Brunner PC, Halama P (2014) Qol resistance and mitochondrial genetic structure of *Zymoseptoria tritici* in Morocco. Plant Disease 98: 1138-1144.
- Sierotzki H, Scalliet G (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: Fungicide Resistance in Plant Pathogens. Principles and a Guide to Practical Management. Hideo Ishii, Derek William Hollomon (Eds.). Springer Japan, ISBN: 978-4-431-55641-1 (Print) 978-4-431-55642-8 (Online). pp. 119-143.
- Simonetti E, Pin Viso N, Montecchia M, Zilli C, Balestrasse K, Carmona M (2015) Evaluation of native bacteria and manganese phosphite for alternative control of charcoal root of soybean. Microbiological Research 180: 40-48.
- SMN (2015) El fenómeno El Niño – Oscilación del sur (ENOS), www.smn.gov.ar, 5 de Agosto de 2015.
- Stammler G, Wolf A, Glaettli A, Klappach K (2015) Respiration Inhibitors: Complex II. In: Fungicide Resistance in Plant Pathogens. Principles and a Guide to Practical Management. Hideo Ishii, Derek William Hollomon (Eds.). Springer Japan, 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 JJ, Pell EJ, Tien M (1996) Mechanisms of fungicide resistance in phytopathogenic fungi. Current Opinion in biotechnology 7: 348-355.

- Stergiopoulos I, van Nistelrooy JGM, Kema GHJ, De Waard MA (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, McDonald BA (2015) Significant variation in sensitivity to a DMI fungicide in field populations of *Fusarium graminearum*. *Plant Pathology* 64: 664–670.
- Thind TS (2012) Fungicide Resistance in India: Status and Management Strategies. In: *Fungicide Resistance in Crop Protection: Risk and Management* (ed. T.S. Thind). CAB International. 208-222 pp.
- Tucker MA, Lopez-Ruiz F, Jayasena K, Oliver RP (2015) Origin of Fungicide-Resistant Barley Powdery Mildew in Western Australia: Lessons to Be Learned. In: *Fungicide Resistance in Plant Pathogens. Principles and a Guide to Practical Management*. Hideo Ishii, Derek William Hollomon (Eds.). Springer Japan, ISBN: 978-4-431-55641-1 (Print) 978-4-431-55642-8 (Online). pp. 329-340.
- van den Bosch F, Paveley N, Shaw M, Hobbelen P, Oliver R (2011) The dose rate debate: does the risk of fungicide resistance increase or decrease with dose? *Plant Pathology* 60: 597–606.
- van den Berg F, van den Bosch F, Paveley ND (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, Oliver R, van den Berg F, Paveley N (2014a) Governing Principles Can Guide Fungicide-Resistance Management Tactics. *Annual Review of Phytopathology* 52: 175–195.
- van den Bosch F, Paveley N, van den Berg F, Hobbelen P, Oliver R (2014b) Mixtures as a fungicide resistance management tactic. *Phytopathology* 104:1264-1273.
- van den Bosch F, Paveley N, Fraaije B, van den Berg F, Oliver R (2015) Evidence-Based Resistance Management: A Review of Existing Evidence. In: *Fungicide Resistance in Plant Pathogens. Principles and a Guide to Practical Management*. Hideo Ishii, Derek William Hollomon (Eds.). Springer Japan, ISBN: 978-4-431-55641-1 (Print) 978-4-431-55642-8 (Online). pp. 63-76.
- Walklatea PJ, Crossb JV, Richardsona GM, Baker DE (2006) Optimising the adjustment of label-recommended dose rate for orchard spraying. *Crop Protection* 25: 1080 – 1086.
- Warrilow AG, Parker JE, Kelly DE, Kelly SL (2013) Azole Affinity of Sterol 14 α -Demethylase (CYP51) Enzymes from *Candida albicans* and *Homo sapiens*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 57(3): 1352–1360.

- Vincelli P (2014) Some Principles of Fungicide Resistance. Plant Pathology Fact Sheet PPF5-MISC-02, University of Kentucky, College of Agriculture, Plant Pathology Extension.
- Wieczorek TM, Berg G, Semaškienė R, Mehl A, Sierotzki H, Stammli G, Justesen AF, Jørgensen LN (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. pp 1-11 (online) DOI 10.1007/s10658-015-0737-1
- Xavier SA, Canteri MG, Barros DCM, Godoy CV (2013) Sensitivity of *Corynespora cassiicola* from soybean to carbendazim and prothioconazole. Tropical Plant Pathology 38(5): 431-435.
- Zeun R, Scalliet G, Oostendorp M (2012) Biological activity of sedaxane—a novel broad-spectrum fungicide for seed treatment. Pest Manage. Sci. Online publication. doi:10.1002/ps.3405.
- Zhang G (2012) *Cercospora sojina*: over-winter survival and fungicide resistance. PhD Thesis, University of Illinois at Urbana-Champaign. 117 pp.
- Zhang Y, Lu J, Wang J, Zhou M, Chen C (2015) Baseline sensitivity and resistance risk assessment of *Rhizoctonia cerealis* to thifluzamide, a succinate dehydrogenase inhibitor. Pesticide Biochemistry and Physiology (in press). doi:10.1016/j.pestbp.2015.05.004.
- Zhou M, Jia X (2015) Wheat Pathogens in China. In: Fungicide Resistance in Plant Pathogens. Principles and a Guide to Practical Management. Hideo Ishii, Derek William Hollomon (Eds.). Springer Japan, ISBN: 978-4-431-55641-1 (Print) 978-4-431-55642-8 (Online). pp. 313-328.
- Ziogas BN, Malandrakis AA (2015) Sterol Biosynthesis Inhibitors: C14 Demethylation (DMIs). In: Fungicide Resistance in Plant Pathogens. Principles and a Guide to Practical Management. Hideo Ishii, Derek William Hollomon (Eds.). Springer Japan, ISBN: 978-4-431-55641-1 (Print) 978-4-431-55642-8 (Online). pp. 199-216.