

DOSAGENS DE FUNGICIDAS: AVALIAÇÃO DE SEUS EFEITOS NA RESISTÊNCIA DE FUNGOS, ATRAVÉS DE UM MODELO MATEMÁTICO

RAQUEL GHINI¹; LAÉRCIO LUIS VENDITE² & ANDREA ARRAIS PETRUCCI²

¹Embrapa/CNPMA C.P.69, 13820.000 Jaguariuna-SP; ²Imecc, UNICAMP C.P.6065, 13081.970 Campinas-SP

(Aceito para publicação em 15/07/94)

GHINI, R.; VENDITE, L.L.; PETRUCCI, A.A. Dosagens de fungicidas: avaliação de seus efeitos na resistência de fungos, através de um modelo matemático. *Fitopatol. bras.* 19: 514-519. 1994.

RESUMO

Um modelo matemático determinístico, sujeito a impulsos a tempo fixo, foi construído com a finalidade de verificar o efeito de dosagens de fungicidas na dinâmica de populações de fungos resistentes. Os parâmetros utilizados no modelo foram: r_S e r_R (as taxas aparentes de infecção no sentido de Vanderplank, das populações de fungos sensíveis e resistentes, respectivamente), α (a taxa de mudança da população sensível para a resistente) e F (a porcentagem de controle resultante da aplicação de diferentes doses do fungicida). Inicialmente, o modelo foi

resolvido sem a presença do fungicida, com a intenção de estabelecer a frequência de resistência na população inicial. A seguir, simulações numéricas foram feitas considerando-se uma dosagem alta e uma dosagem baixa, com variações de α , r_S e r_R . Os resultados encontrados mostram que a dosagem baixa retarda o processo de desenvolvimento da resistência.

Palavras chave: fungicida, resistência, modelo matemático.

ABSTRACT

Dosage: Evaluation of its effects in fungicide resistance with the use of mathematical modelling.

A deterministic mathematical model, which includes impulses occurring at fixed time periods, has been obtained for the purpose of studying and verifying the effects of different dosages in the population dynamics of resistant fungi. The parameters that characterize the phenomenon included in the modelling were: r_S and r_R (the apparent infection rates in the sense of Vanderplank for susceptible and resistant fungi), α (rate of change from susceptible to resistant populations) and F (percentage of population control with of fungicide applications).

Initially, the model was solved in the absence of the fungicide, with the intention of establishing the resistance frequency in the initial population.

Numerical simulations were then carried out considering low dosages and high dosages, with variations of the parameters α , r_R and r_S .

Results showed that low dosages retard the development of resistance processes.

INTRODUÇÃO

A resistência de fungos a fungicidas é um dos principais problemas que ameaçam a eficiência do controle

* Trabalho apresentado no XVI Congresso Paulista de Fitopatologia; Campinas (SP), fevereiro 1993 (*Summa Phytopathologica* 19(1):29, 1993).

químico de doenças de plantas. O surgimento da resistência resulta em perdas tanto para o agricultor quanto para a indústria de agroquímicos, além do consumidor, afetando todos os segmentos da sociedade. Assim sendo, a adoção de medidas para o controle da resistência se faz necessária, principalmente através de trabalhos interdisciplinares que permitem uma abordagem holística do problema.

O estudo da dinâmica de populações de fungos resistentes e sensíveis, através de modelos matemáticos, é fundamental para o desenvolvimento de estratégias anti-resistência. Diversos modelos desenvolvidos têm auxiliado o estabelecimento dos princípios gerais que governam a seleção de populações de fungos resistentes em resposta à aplicação de fungicidas (Kable & Jeffery, 1980; Chin, 1987; Levy *et al.*, 1983; Shaw, 1989; Josepovits, 1989).

As medidas para se evitar os problemas com resistência não podem ser generalizadas, visto que há um grande número de combinações: cultura-patógeno-fungicida-ambiente (Wade, 1988). Assim, as extrapolações dos resultados de um caso para outro devem ser realizadas com critérios. Porém, a principal recomendação tem sido a redução da pressão de seleção, considerando-se a dosagem, a frequência, o modo de aplicação, a extensão da área tratada com um único fungicida, a mistura ou alternância de produtos e o uso de outros métodos de controle (Dekker, 1982 e 1985; Staub & Sozzi, 1984; Wade, 1988).

A redução da dosagem do fungicida vulnerável à ocorrência de resistência, até a menor quantidade do produto necessária para um controle adequado da doença, também foi recomendada por Dekker (1986) e Delp (1988) para os benzimidazóis, além de Gilpatrick (1983), Delp (1980 e 1981) e Wade (1988) para os fungicidas em misturas.

O presente trabalho teve por objetivo construir um modelo matemático determinístico, sujeito a impulsos a tempo fixo, e através dele verificar o efeito de diferentes dosagens de fungicidas na dinâmica de populações de fungos resistentes. Este modelo constitui uma variação dos trabalhos de Vendite (1986) para o estudo dos efeitos da resistência de células cancerígenas a quimioterápicos.

O MODELO E SUA INTERPRETAÇÃO

Para a elaboração do modelo, foi estabelecido que $N_o = N(o)$ é a medida da área da lesão ou número de propágulos de um determinado fungo fitopatogênico presente em uma cultura antes do início da primeira aplicação de um certo fungicida, $S_o = S(o)$ representa a população de fungos sensíveis, $R_o = R(o)$ a população de fungos resistentes e $N_o = S_o + R_o$. Por outro lado, os elementos de S_o sofrem mudança em direção a R_o (adquirindo resistência genética ao fungicida através de mutação, anastomose de hifas, reprodução sexual ou qualquer outro mecanismo de transferência de material genético) com uma frequência constante igual a α . No modelo foram consideradas somente duas categorias de indivíduos (sensíveis e resistentes) sendo a resistência do tipo monogênica, e não considerou-se a entrada ou saída de conídios da cultura. Ainda por hipótese, esse fungicida será

aplicado repetidas vezes, sempre empregando a mesma dose em intervalos constantes de T dias.

Cada aplicação de fungicida elimina uma fração constante F população total de fungos sensíveis.

Assim sendo, a população de fungos sensíveis de N_o , logo após a primeira aplicação, é dada pela relação:

$$S_o^+ = S_o - F S_o = (1 - F)S_o$$

e após T dias antes da segunda aplicação, a população de fungos sensíveis S_1 de N_1 será dada por:

$$S_1 = S_o^+ e^{r_s T} \cdot e^{-\alpha r_s T} = S_o^+ e^{(1 - \alpha) r_s T} \\ = (1 - F) S_o e^{(1 - \alpha) r_s T}$$

onde S_o^+ cresce para S_1 exponencialmente com taxa aparente de infecção r_s (no sentido de Vanderplank, 1963) durante o intervalo entre as duas aplicações e $1 - e^{-\alpha r_s T}$ representa a fração da população de fungos sensíveis que após a primeira aplicação adquiriram resistência com taxa de mudança α .

E a população de fungos resistentes R_1 de N_1 será dada por:

$$R_1 = R_o e^{r_R T} + \frac{\alpha r_s S_o^+}{r_s (1 - \alpha) - r_R} (e^{r_s (1 - \alpha) T} - e^{r_R T})$$

e

$$N_1 = S_1 + R_1$$

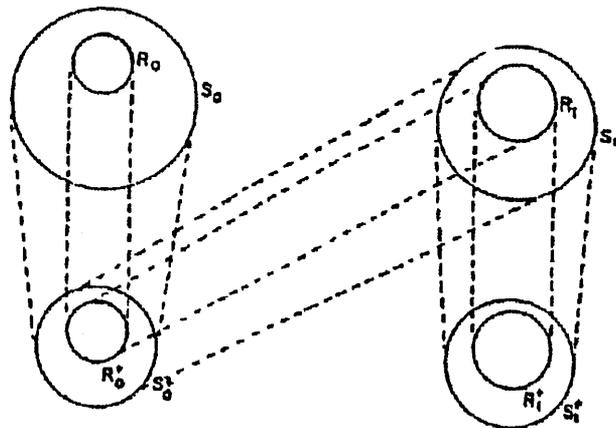


FIG. 1 - Diagrama do modelo.

Portanto, isso é equivalente a considerar-se um sistema linear sujeito a impulsos a tempo fixo (Samoilenko & Perestyuk, 1977).

A cada intervalo de período T fixo, o fungicida reduz a população $S(kT)$ a $(1 - F) S(kT)$, $k = 0, 1, 2, 3 \dots$

$$\begin{cases} \frac{dx}{dt} = A x, t \neq kT \quad k=0, 1, 2, 3, \dots \\ \Delta|_{t=kT} = x(kT)^+ - x(kT)^- = B x(kT) \end{cases}$$

onde

$$A = \begin{pmatrix} r_s(1 - \alpha) & 0 \\ r_s \alpha & r_R \end{pmatrix} \quad B = \begin{pmatrix} -F & 0 \\ 0 & 0 \end{pmatrix}$$

$$x(t) = \begin{pmatrix} S(t) \\ R(t) \end{pmatrix} \quad x(0) = \begin{pmatrix} S_0^+ \\ R_0 \end{pmatrix}$$

logo a solução para t entre kT e $(k + 1)T$:

$$x(t) = e^{(t-kT)A} [(I + B) e^{kTA}] x(0) \quad (f)$$

Assim, basta analisar-se o comportamento dos autovalores da matriz monodrômica $X(T) = (I + B) e^{TA}$ para se conhecer o comportamento das soluções.

Essa análise será feita em termos do ponto de equilíbrio $(0,0)$ para verificar a possibilidade de eliminação total da população de fungos.

De (f) tem-se que:

$$X(T) = (I + B) e^{TA} = \begin{pmatrix} 1 - F & 0 \\ 0 & 1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} e^{r_S(1-\alpha)T} & 0 \\ \alpha r_S (e^{r_S(1-\alpha)T} - e^{r_R T}) & e^{r_R T} \end{pmatrix}$$

e a matriz:

$$X(T) = \begin{pmatrix} (1 - F) e^{r_S(1-\alpha)T} & 0 \\ \frac{\alpha r_S (e^{r_S(1-\alpha)T})}{r_S(1-\alpha) - r_R} & e^{r_R T} \end{pmatrix}$$

Resolvendo-se a equação característica $\det(X(T) - \lambda I) = 0$ obtendo os seus autovalores:

$$\lambda_1 = (1 - F) e^{r_S(1-\alpha)T}$$

$$\lambda_2 = e^{r_R T}$$

Então para $F > 1 - e^{-r_S(1-\alpha)T}$ tem-se que $\lambda_1 < 1$, ou seja, a população de fungos sensíveis tende a extinção. Como $\lambda_2 = e^{r_R T}$ e $r_R > 0$, conclui-se que λ_2 é sempre maior que 1 e então existe solução ilimitada, isto é um caso de instabilidade, ou seja, ao insistir com o mesmo tipo de fungicida a população de fungos tenderá a se tornar toda resistente.

NÚMERO DE INDIVÍDUOS RESISTENTES DA POPULAÇÃO ANTES DA PRIMEIRA APLICAÇÃO DO FUNGICIDA

Pode-se estudar o comportamento da resistência sem a presença do fungicida, visto que para cada medida N e frequência α de mudança, existe a possibilidade de se conhecer o número de propágulos resistentes da população. Este resultado tornará possível uma escolha correta do programa de controle a ser empregado.

Para isso, basta considerar o seguinte sistema inicial de equações:

$$\begin{cases} \frac{dS}{dt} = r_S S - \alpha r_S S \\ \frac{dR}{dt} = r_R R + \alpha r_S S \end{cases}$$

onde r_S, r_R representam taxas aparentes de infecção segundo Vanderplank (1963).

Usando $N = S + R, N(0) = 1, R(0) = 0$, obtém-se:

$$\frac{dR}{dN} = \frac{R}{N} + \alpha \left(1 - \frac{R}{N}\right)$$

Assim,

$$\ln N = \frac{-r_R \ln \left(\frac{R}{N} - 1\right)}{r_R - r_S(1-\alpha)} + \frac{(1-\alpha) r_S \ln \left(r_S \left(\alpha - \frac{N}{R}\right) + r_R \frac{N}{R}\right)}{r_R - r_S(1-\alpha)}$$

Se $r_S = r_R = r$ então:

$$R = N(1 - N^{-\alpha}) = \alpha N \ln N$$

Logo uma população com $N = 10^8$ propágulos de fungos e com uma frequência de mudança de $\alpha = 10^{-5}$ terá uma população resistente $R_o = 1,8 \times 10^3$ propágulos de fungos resistentes.

O NÚMERO DE APLICAÇÕES DO FUNGICIDA PARA O NADIR

O Nadir é o ponto em que a população total de fungos pára de regredir, não é mais controlada pelas aplicações de fungicida devido à alta frequência de indivíduos resistentes, e consequentemente a doença retorna ao crescimento. Se isso ocorre após a i -ésima aplicação, então i é o mínimo n tal que $N(nT) \geq N((n - 1)T)$.

Isso é interpretado como sendo o momento em que se deve interromper a série de aplicações e fazer a troca do tipo de fungicida onde o resíduo da população de fungos é sensível a esse produto.

A partir de estimativas para as populações de sensíveis e resistentes pode-se escrever $N(nT) = S(nT) + R(nT)$, logo:

$$N(nT) = \frac{[-F(1-F)^n a^n (a+b) - b^n (b(1-F) + a)] S_o + b^n R_o}{(1-F)a - b}$$

onde $a = e^{r_S(1-\alpha)T}$ e $b = e^{r_R T}$

Usando a condição $N(nT) \geq N((n - 1)T)$ para se atingir o ponto Nadir obtém-se que:

$$n \geq \frac{\ln X}{\ln(1-F)a - \ln b} \quad (2)$$

onde

$$X = \frac{(1-b)[(b(1-F) + a) S_o + ((1-F)a - b) R_o]}{-F(a+b)(1-a(1-F))}$$

Assim, é possível determinar o momento exato onde o fungicida não faz mais efeito.

Por exemplo, se $N_o = 10^{10}$ propágulos de fungos $r_S = r_R = 0,023$ (taxa aparente de infecção), $\alpha = 10^{-6}$ (taxa de mudança) e $T = 21$ dias (o intervalo entre as aplicações). Então substituindo em (2) tem-se que após a décima quarta dose de aplicação do fungicida, a população de fungos pára de decrescer e retoma o crescimento.

SIMULAÇÕES NUMÉRICAS E DISCUSSÃO

Simulações numéricas foram feitas para se avaliar os efeitos de diferentes dosagens no desenvolvimento da resistência de fungos a fungicidas.

Para tanto, considerou-se uma população total inicial $N_0 = 10^{10}$ indivíduos e adotou-se valores baixos e altos para r_S , r_R , α e F .

Assim, as taxas aparentes de infecção r_S e $r_R = 0,023$ ou $0,04$; a taxa de mudança $\alpha = 10^{-5}$ ou 10^{-9} e a taxa de controle (eficácia) obtida com a aplicação do fungicida $F = 0,9$ ou $0,5$. Segundo Kable & Jeffery (1980) e Milgroom (1990), a eficácia é função de duas características dos fungicidas: 1) a toxicidade intrínseca contra um organismo alvo e 2) a concentração em que está sendo usado. Para Kable & Jeffery (1980), os valores da eficácia podem ser considerados como pontos de uma curva dose-mortalidade. Nas simulações numéricas foi considerada a aplicação de um único fungicida, em intervalos de $T = 1$ semana, em condições constantes de aplicação. Dessa forma, considerou-se que $F = 0,9$ (alta eficácia) é devido a aplicação de uma alta dosagem do fungicida e $F = 0,5$, a uma menor dosagem. Todas as combinações possíveis foram analisadas com diferentes valores de F , α , r_S e r_R (Tabela 1). Para obtenção dos resultados, foi utilizado o "software" de resolução numérica LODE.

Inicialmente, foram estimados os valores de R_0 , antes da primeira aplicação do fungicida. Quando $r_S < r_R$, o controle da doença pelo fungicida é inviabilizado pela alta frequência inicial de indivíduos resistentes, resultando num

reduzido número de aplicações para se atingir o Nadir ($0 \leq n \leq 2$). Em condições de campo, com pouca frequência são observados biótipos resistentes mais adaptados do que os sensíveis, ou seja, $r_S < r_R$. Porém, biótipos resistentes a benzimidazóis de diversos patógenos podem permanecer em uma alta frequência na população, mesmo na ausência de aplicações do fungicida (Delp, 1988) demonstrando uma alta adaptabilidade do biótipo resistente.

Como era esperado, quanto maior for α , maior será R_0 e, conseqüentemente, menor é o número de aplicações para atingir o ponto mínimo, e vice-versa. Porém, a taxa de mudança (α) é resultante das características do patógeno, e por este motivo, não pode ser manipulada.

O modelo apresentado confirma os três princípios epidemiológicos que, segundo Milgroom & Fry (1988), descrevem a dinâmica de populações de fungos fitopatogênicos resistentes a fungicidas. Segundo tais princípios, a resistência se desenvolverá mais lentamente se: 1) a frequência inicial da subpopulação resistente é reduzida; 2) a taxa aparente de infecção dos genótipos resistentes e sensíveis (r_R e r_S , respectivamente) são reduzidas; 3) r_R é menor que r_S .

Nas simulações apresentadas, a menor dosagem ($F = 0,5$) retardou o processo de desenvolvimento da resistência, isto é, garantiu um maior número de aplicações do produto,

TABELA 1. Efeito da taxa de controle, taxa de mudança e taxa aparente de infecção no desenvolvimento de populações resistentes e no número de aplicações do fungicida para atingir o Nadir.

F^1	α^2	r_S^3 r_R^4	n^5	R_0^6	R_n^7	N_n^8
0,9	10^{-5}	$r_S > r_R$	4	$2,3 \cdot 10^5$	$1,7 \cdot 10^6$	$2,8 \cdot 10^6$
		$r_S < r_R$	0	$9,8 \cdot 10^9$	$9,8 \cdot 10^9$	—
		$r_S = r_R$ (baixo)	4	$2,3 \cdot 10^6$	$1,6 \cdot 10^7$	$1,7 \cdot 10^7$
	10^{-9}	$r_S = r_R$ (alto)	3	$2,3 \cdot 10^6$	$2,9 \cdot 10^7$	$3,9 \cdot 10^7$
		$r_S > r_R$	8	$2,3 \cdot 10^1$	$1,2 \cdot 10^3$	$1,4 \cdot 10^3$
		$r_S < r_R$	1	$2,9 \cdot 10^8$	$6,9 \cdot 10^8$	$1,7 \cdot 10^9$
0,5	10^{-5}	$r_S = r_R$ (baixo)	7	$2,3 \cdot 10^2$	$6,9 \cdot 10^3$	$7,9 \cdot 10^3$
		$r_S = r_R$ (alto)	6	$2,3 \cdot 10^2$	$3,6 \cdot 10^4$	$4,6 \cdot 10^4$
		$r_S > r_R$	9	$2,3 \cdot 10^5$	$2,3 \cdot 10^7$	$4,3 \cdot 10^7$
		$r_S < r_R$	0	$9,8 \cdot 10^9$	$9,8 \cdot 10^9$	—
		$r_S = r_R$ (baixo)	7	$2,3 \cdot 10^6$	$6,8 \cdot 10^7$	$1,5 \cdot 10^8$
		$r_S = r_R$ (alto)	5	$2,3 \cdot 10^6$	$1,6 \cdot 10^8$	$4,7 \cdot 10^8$
	10^{-9}	$r_S > r_R$	17	$2,3 \cdot 10^1$	$1,1 \cdot 10^5$	$1,9 \cdot 10^5$
		$r_S < r_R$	2	$2,9 \cdot 10^8$	$1,5 \cdot 10^9$	$4,0 \cdot 10^9$
		$r_S = r_R$ (baixo)	15	$2,3 \cdot 10^2$	$3,3 \cdot 10^5$	$6,4 \cdot 10^5$
		$r_S = r_R$ (alto)	11	$2,3 \cdot 10^2$	$2,5 \cdot 10^6$	$7,4 \cdot 10^6$

¹ F = taxa de controle do patógeno obtida com a aplicação do fungicida

² α = taxa de mudança da população de sensível para resistente

³ r_S = taxa de crescimento da população sensível

⁴ r_R = taxa de crescimento da população resistente

⁵ n = número de aplicações do fungicida para o Nadir

⁶ R_0 = população inicial de indivíduos resistentes

⁷ R_n = população de indivíduos resistentes no Nadir

⁸ N_n = população total no Nadir

antes de atingir o ponto de mínimo n (Tabela 1). Os modelos desenvolvidos por Kable & Jeffery (1980), Skilakakis (1981) e Milgroom & Fry (1988), confirmam o resultado obtido, visto que, quanto maior a eficácia do produto, menor o número de aplicações necessárias para a população atingir um nível de resistência capaz de inviabilizar o controle. Para Milgroom (1990), a eficácia é também um parâmetro que mede a pressão de seleção, ou seja, quanto maior a eficácia, um maior número de indivíduos sensíveis é eliminado e, portanto a seleção em favor da resistência é mais forte.

Por outro lado, a maior dosagem ($F = 0,9$) proporcionou um maior controle da população, mantendo N_n e R_n em níveis inferiores aos observados com a menor dosagem. Entretanto, quando foi usada a menor dosagem, no ponto de Nadir, a população não é totalmente resistente, existindo ainda indivíduos sensíveis. Com a maior dosagem, a população total é constituída somente por indivíduos resistentes no ponto de mínimo (Figuras 2 e 3). A eliminação da população sensível pode significar uma menor competição exercida sobre a população resistente, sendo prejudicial para o controle.

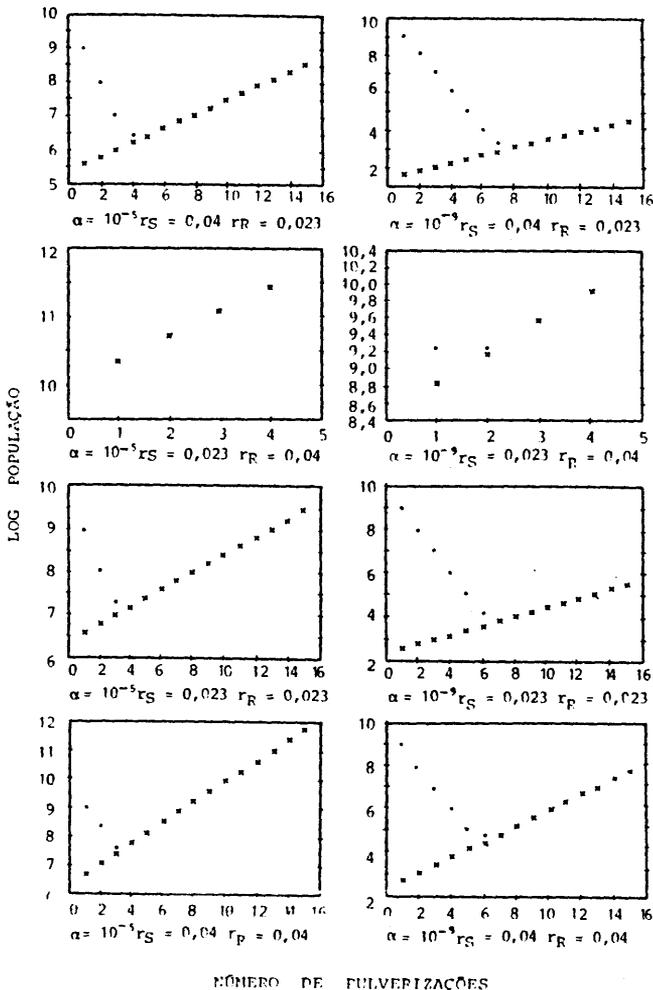


FIG. 2. Evolução das populações total e resistente considerando-se a taxa de controle obtida com a aplicação do fungicida $F = 0,9$.

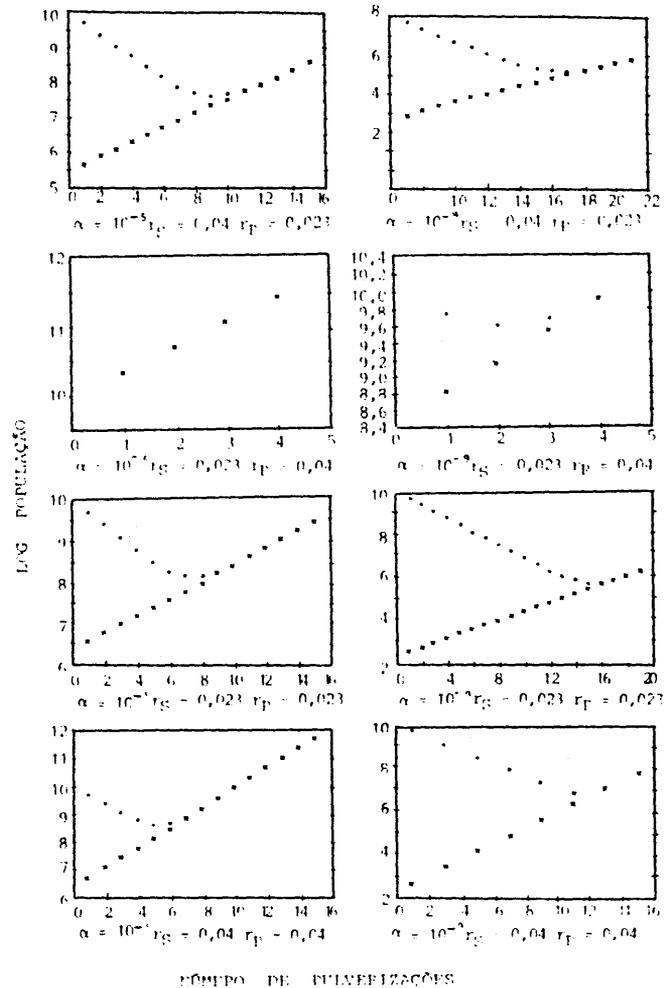


FIG. 3. Evolução das populações total e resistente considerando-se a taxa de controle obtida com a aplicação do fungicida $F = 0,5$.

Os modelos desenvolvidos por Kable & Jeffery (1980), Skilakakis (1981) e Milgroom & Fry (1988), assim como o apresentado, resultam em um dilema: o uso de um fungicida sistêmico altamente ativo contra uma população sensível é muito eficiente para reduzir a incidência da doença, mas aumenta a seleção da subpopulação resistente. Segundo Wolfe & Barrett (1986), se a dosagem é reduzida até um nível no qual há a sobrevivência de alguns indivíduos sensíveis, então pode resultar no menor desenvolvimento da resistência, porém a população do patógeno não deve atingir o nível de dano econômico. Além disso, qualquer atraso na ocorrência de resistência pelo uso de uma alta dosagem, pode ser seguido do surgimento de biótipos altamente resistentes.

Além dos fatores analisados, segundo Milgroom (1990), os efeitos da eficácia do fungicida dependem do tamanho inicial da população. Quando N_0 é pequeno, há uma menor subpopulação resistente do que se N_0 for alto. Sabendo-se que quanto menor a subpopulação resistente, mais tempo levará para atingir-se o n , este parâmetro também deve ser considerado na escolha da estratégia anti-resistência. Por esse motivo, recomenda-se reduzir o tamanho da população de patógenos através de outros

métodos de controle, como por exemplo, o uso de variedades resistentes, métodos culturais, fungicidas de diferentes grupos e outros.

As simulações numéricas do presente trabalho demonstram que a maior dosagem acelera o processo de desenvolvimento da resistência, nos casos estudados. Estratégias de uso intensivo do fungicida, segundo Milgroom (1980), podem ser consideradas se o risco de ocorrência de resistência puder ser avaliado adequadamente. Uma avaliação dos riscos requer o entendimento das relações entre o tamanho da população, a probabilidade de resistência e a pressão de seleção. Os modelos matemáticos constituem uma ferramenta fundamental no desenvolvimento de estratégias anti-resistência, através do conhecimento de tais relações. O modelo apresentado não considera, por exemplo, o crescimento da planta hospedeira, nem a variação de susceptibilidade nos diferentes estádios de crescimento. Porém, pode ser aplicado em condições, por exemplo, de casa de vegetação, onde as populações estão isoladas. O aprimoramento do modelo, através da introdução de outras variáveis, assim como sua validação em condições de campo, poderão resultar em novas estratégias anti-resistência.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CHIN, K.M. A simple model of selection for fungicide resistance in plant pathogen populations. *Phytopathology* 77:666-669. 1987.
- DEKKER, J. Countmeasures for avoiding fungicide resistance. In: Dekker, J. & Georgopoulos, S.G., eds. *Fungicide resistance in crop protection*. Wageningen. Centre for Agricultural Publishing and Documentation, 1982 p.177-186.
- DEKKER, J. The fungicide resistance problem: will it grow worse? *Bulletin OEPP* 15:337-344. 1985.
- DEKKER, J. Preventing and managing fungicide resistance. In: Committee on strategies for the management of pesticide resistant pest populations. *Pesticide resistance: strategies and tactics for management*. Washington. Academic Press 1986. p.347-354.
- DELP, C.J. Coping with resistance to plant disease control agents. *Plant Disease* 64:652-657, 1980.
- DELP, C.J. Strategies for dealing with fungicide resistance problems. *Proceedings, 1981 British Crop Protection Conference*. p.865-871.
- DELP, C.J. Resistance management strategies for benzimidazoles. In: Delp, C.J. ed. *Fungicide resistance in North America*. St. Paul, APS Press. 1988 p.41-43.
- GILPATRICK, J.D. Management of resistance in plant pathogens. In: Georghiou, G. P., ed. *Pest resistance to pesticides*. New York and London Plenum Press. 1983. p.735-767.
- JOSEPOVITS, G. A model for evaluating factors affecting the development of insensitivity to fungicides. *Crop Protection* 8:106-113. 1989.
- KABLE, P.F. & JEFFERY, H. Selection for tolerance in organisms exposed to sprays of biocide mixtures: a theoretical model. *Phytopathology* 70:8-12. 1980.
- LEVY, Y.; LEVI, R. & COHEN, Y. Buildup of a pathogen subpopulation resistant to a systemic fungicide under various control strategies: a flexible simulation model. *Phytopathology* 73:1475-1480. 1983.
- MILGROOM, M.G. A stochastic model for the initial occurrence and development of fungicide resistance in plant pathogen populations. *Phytopathology* 80:410-416. 1990.
- MILGROOM, M.G. & FRY, W.E. A simulation analysis of the epidemiological principles for fungicide resistance management in pathogen populations. *Phytopathology* 78:565-570. 1988.
- SAMOILENKO, A.M. & PERESTYUK, N.A. The stability of differential equations with instantaneous variations. *Diferentsial'nye. Uravneya*, 13, 11, p.1981-1992, 1977.
- SHAW, M. W. A model of the evolution of polygenically controlled fungicide resistance. *Plant Pathology* 38:44-55, 1989.
- SKILAKAKIS, G. Effects of alternating and mixing pesticides on the building of fungal resistance. *Phytopathology* 71:1119-1121. 1981.
- STAUB, T. & SOZZI, D. Fungicide resistance: a continuing challenge. *Plant Dis.* 68:1026-1031. 1984.
- VANDERPLANK, J.E. *Plant disease: epidemics and control*. New York, Academic Press, 1963. 349 p.
- VENDITE, L.L. Un modello matematico per lo studio della resistenza tumorale ai farmaci anti-neoplastici I trattamento con un solo farmaco. *Pillola e Mammella* (Firenze). Ed. Il Sedicésimo p.314-319, 1986.
- WADE, M. Strategies for preventing or delaying the onset of resistance to fungicide and for managing resistance occurrences. In: DELP, C. J., ed. *Fungicide resistance in North America*. St. Paul, APS Press. 1988. p.14-15.
- WOLFE, M.S. & BARRETT, J.A. Response of plant pathogens to fungicides. In: Committee on strategies for the management of pesticides resistant pest populations. *Pesticide resistance. strategies and tactics for management*. Washington. Academic Press 1986. p.245-256.