

# RESISTÊNCIA DE FUNGOS A FUNGICIDAS

Raquel Ghini  
Hiroshi Kimati

**brapa**  
Ambiente

BRASIL  
**FRAC**  
COMITÊ DE AÇÃO A RESISTÊNCIA A FUNGICIDAS

**Raquel Ghini** é Engenheira Agrônoma, formada pela Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (ESALQ), da Universidade de São Paulo (USP). Fez seu mestrado e doutoramento na mesma universidade, na área de Fitopatologia, com a caracterização de espécies de *Botrytis* que ocorrem na cultura da cebola e a ocorrência e adaptabilidade de linhagens de *Botrytis* resistentes a fungicidas, respectivamente. Tem pós-doutoramento pela Universidade de Torino (Itália) na área de impacto ambiental de agentes de controle biológico. É pesquisadora da Embrapa Meio Ambiente, desde 1986, onde desenvolve trabalhos com resistência de fungos a fungicidas e controle físico de doenças de plantas, e é consultora do FRAC-Brasil, desde 1999.

**Hiroshi Kimati** é Engenheiro Agrônomo, formado pela Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (ESALQ), da Universidade de São Paulo (USP). Em 1964, foi contratado pela ESALQ para integrar o corpo docente da Cadeira de Fitopatologia e Microbiologia Agrícola. A seguir, obteve os títulos de mestre, doutor, livre-docente, professor adjunto e titular, pela mesma universidade. Durante o período, orientou diversas dissertações e teses sobre resistência de fungos a fungicidas, controle químico e biológico de doenças de plantas e fisiologia de fungos, entre outras linhas de pesquisa. Atualmente é professor aposentado e consultor do FRAC-Brasil.

---

# **RESISTÊNCIA DE FUNGOS A FUNGICIDAS**

---

**REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL**

**Presidente:** Fernando Henrique Cardoso

**Ministro da Agricultura e do Abastecimento:** Marcus Vinícius Pratini de Moraes

**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa**

**Presidente:** Alberto Duque Portugal

**Diretores:** Dante Daniel Giacomelli Scolari

José Roberto Rodrigues Peres

Elza Angela Battaglia Brito da Cunha

**Embrapa Meio Ambiente**

**Chefe Geral:** Bernardo van Raij

**Chefe Adjunto de Pesquisa e Desenvolvimento:** Deise Maria Fontana Capalbo

**Chefe Adjunto Administrativo:** Vander Roberto Bisinoto

---

---

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Embrapa Meio Ambiente  
Ministério da Agricultura e do Abastecimento*

# **RESISTÊNCIA DE FUNGOS A FUNGICIDAS**

**Raquel Ghini  
e  
Hiroshi Kimati**

---

---

Exemplares dessa publicação podem ser solicitados a:

Embrapa Meio Ambiente  
Rodovia SP 340 - km 127,5 - Tanquinho Velho  
Caixa Postal 69  
13820-000. Jaguariúna, SP  
Fone: (19) 3867-8750 Fax: (19) 3867-8740  
*sac@cnpma.embrapa.br*  
*www.cnpma.embrapa.br*

FRAC-BRASIL - Comitê de Ação a Resistência a Fungicidas  
Rodovia SP 147 - Km 71,5  
C. P. 111  
13800-970, Mogi Mirim, SP

**Normatização:** Maria Amélia de Toledo Leme

**Projeto Gráfico, Editoração e Capa:** Franco Ferreira de Moraes

**Foto da Capa:** *Botrytis cinerea de eucalipto* (Eloísa Aparecida das Graças Leite)

**Tiragem:** 1000 exemplares - 2ª Edição

R433

Resistência de fungos a fungicidas / Raquel Ghini, Hiroshi Kimati. -  
Jaguariúna, SP: Embrapa Meio Ambiente, 2002.  
78p., II., 22cm.

ISBN 85 - 85771 - 10 - 0

Inclui bibliografia

1. Fungos fitopatogênicos. 2. Resistência a fungicidas. I. Ghini,  
Raquel. II. Kimati, Hiroshi. III. Embrapa Meio Ambiente.

CDD-632-4

# APRESENTAÇÃO

FRAC-Brasil está completando pouco mais de dois anos de atividades. Apesar de ter um nome herdado do inglês (“Fungicide Resistance Action Committee”, em português, Comitê de Ação a Resistência a Fungicidas), ele tem um importante tempero brasileiro na sua composição: na Europa, o FRAC congrega apenas membros da indústria de agroquímicos; o FRAC-Brasil reúne colaboradores da área de pesquisa e desenvolvimento das empresas, bem como professores e pesquisadores das nossas universidades e institutos de pesquisa, enriquecendo muito o trabalho do grupo, o qual visa discutir a resistência de patógenos aos diversos grupos de fungicidas, elaborar e comunicar recomendações de bom uso desses produtos e, assim evitar ou administrar situações de ocorrência de resistência.

O FRAC-Brasil já produziu nesse curto tempo de vida contribuições bastante interessantes: um simpósio internacional sobre “Resistência” no XXXV Congresso Brasileiro de Fitopatologia em Belém em 2000; três cursos sobre “Resistência de fungos a fungicidas” (para 2002 já temos mais dois cursos agendados); uma recomendação oficial e adaptada ao nosso país para gerenciamento de resistência de fungicidas do grupo Qol (do qual fazem parte as estrobilurinas); e também o livro “Resistência de fungos a fungicidas”, escrito pela Dra. Raquel Ghini da Embrapa Meio Ambiente e pelo Prof. Hiroshi Kimati da ESALQ / USP, cuja 1ª edição foi um sucesso, esgotando-se em pouco mais de um ano.

É com muito prazer que o FRAC-Brasil patrocina a 2ª edição desse livro, que já se tornou uma importante referência em resistência de fungos a fungicidas no Brasil.

Sergio Bueno de Paiva  
Presidente do FRAC-Brasil

---



# SUMÁRIO

<b>APRESENTAÇÃO</b>	<b>.....5</b>
<b>SUMÁRIO</b>	<b>.....7</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b>	<b>.....9</b>
<b>2. HISTÓRICO</b>	<b>.....13</b>
<b>3. CONCEITOS E DEFINIÇÕES</b>	<b>.....19</b>
<b>4. GRUPOS DE FUNGICIDAS</b>	<b>.....23</b>
<b>5. MECANISMOS DE AÇÃO DOS FUNGICIDAS</b>	<b>.....31</b>
<b>6. RESISTÊNCIA CRUZADA</b>	<b>.....37</b>
<b>7. MECANISMOS DE RESISTÊNCIA</b>	<b>.....41</b>
<b>8. GENÉTICA DA RESISTÊNCIA</b>	<b>.....45</b>
<b>9. FATORES DE RISCO</b>	<b>.....51</b>
<b>BASE GENÉTICA DA RESISTÊNCIA</b>	<b>.....51</b>
<b>ADAPTABILIDADE DA LINHAGEM RESISTENTE</b>	<b>.....52</b>
<b>NATUREZA DO PATÓGENO E DA DOENÇA</b>	<b>.....54</b>
<b>PRESSÃO DE SELEÇÃO EXERCIDA PELO FUNGICIDA</b>	<b>.....55</b>
<b>OUTROS FATORES</b>	<b>.....56</b>
<b>10. ESTRATÉGIAS ANTI-RESISTÊNCIA</b>	<b>.....59</b>
<b>MONITORAMENTO</b>	<b>.....59</b>
<b>REDUÇÃO DA PRESSÃO DE SELEÇÃO</b>	<b>.....65</b>
<b>CONSCIENTIZAÇÃO DO PROBLEMA</b>	<b>.....68</b>
<b>MODELOS MATEMÁTICOS</b>	<b>.....69</b>
<b>LITERATURA CITADA</b>	<b>.....71</b>





# INTRODUÇÃO

O uso de fungicidas representa um dos principais métodos de controle de doenças de plantas. A facilidade de aplicação e os resultados imediatos obtidos os tornaram amplamente difundidos em diversas culturas. Porém, o uso contínuo pode promover a seleção de fungos fitopatogênicos resistentes, não controlados pelo fungicida anteriormente eficaz, colocando em risco a eficiência do método. Atualmente, a resistência é um dos mais importantes problemas do controle químico de doenças de plantas.

A resistência de organismos aos produtos químicos usados para o seu controle tem sido um sério problema em diversas áreas. Na saúde pública, a resistência de insetos, vetores de doenças humanas, já causou graves impactos socio-econômicos, em diversas regiões. No caso da malária, por exemplo, a resistência do mosquito transmissor resultou na exposição da população ao risco de contrair a doença, aumentando custos e mobilizando verbas que poderiam ser usadas em outras atividades (Dekker & Georgopoulos, 1982). A resistência de bactérias a antibióticos é de ocorrência freqüente, sendo um fator muito importante no controle de doenças infecciosas, especialmente em infecções hospitalares. A resistência

a alguns fungicidas do grupo dos inibidores da biossíntese do ergosterol se tornou um obstáculo no tratamento de pacientes com AIDS, que apresentavam infecção fúngica (Hitchcock, 1993).

Na agricultura, quando surgem problemas de resistência de fungos a fungicidas, as consequências podem ser desastrosas para os vários segmentos da sociedade envolvidos na cadeia produtiva (Figura 1). A empresa, que fez altos investimentos para lançar o produto, perde a confiabilidade dos clientes e tem sua posição abalada no mercado devido à redução das vendas. O desenvolvimento de novos produtos ficou mais caro, pois as empresas são propensas a não registrar um fungicida com chances de ocorrência de resistência. O agricultor, aplicando um fungicida que não controla a doença da cultura, tende a intensificar as aplicações sem obter os resultados esperados, encarecendo a produção. Quando descobre a causa do problema, as perdas já ocorreram. O consumidor pode receber um produto com resíduos de pesticidas, além da possibilidade de maiores preços. Assim, a sociedade, de um modo geral, é prejudicada, visto que vários segmentos sofrem prejuízos e uma maior quantidade de fungicidas é aplicada, contaminando o ambiente. Os extensionistas nem sempre estão preparados para se deparar com o problema, assim como os pesquisadores e outros profissionais de órgãos públicos e do setor privado. O treinamento de todos resulta em um ônus para a sociedade.

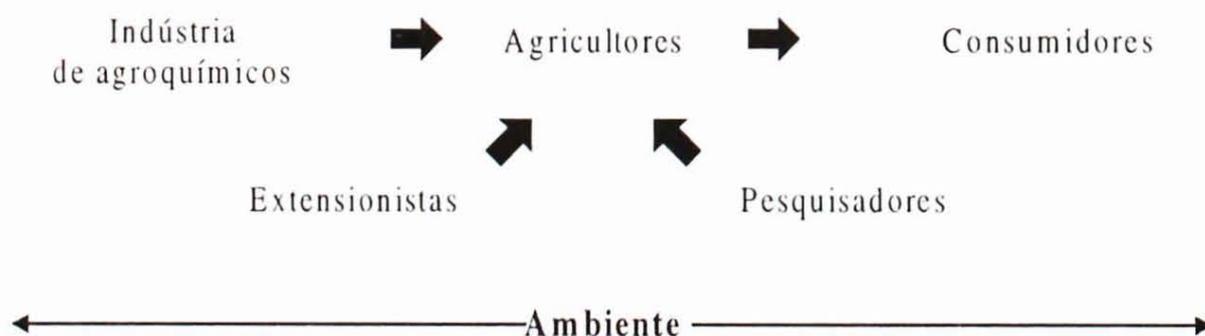


Figura 1. Segmentos da cadeia produtiva afetados pela resistência de fungos a fungicidas.

Devido a essas conseqüências, a avaliação do risco, isto é, da probabilidade de desenvolvimento de resistência em proporções que causem falha ou significativa diminuição do controle da doença em campos comerciais, tem uma importância fundamental para a indústria de fungicidas. Tal avaliação influencia as decisões sobre a seleção e o lançamento de novos produtos no mercado, a estratégia de uso de forma a garantir a eficiência por um longo prazo e o tipo de monitoramento que deve ser realizado.

Tentativas isoladas por parte das empresas para desenvolver e implantar estratégias anti-resistência foram apenas parcialmente bem sucedidas (Urech & Egli, 1991). Em um curso sobre resistência de fungos a fungicidas, realizado em Wageningen, Holanda, em 1980, surgiu a idéia da criação de um comitê integrado pelas diversas companhias de fungicidas. Isto porque, sem a estreita colaboração entre as empresas, o problema não poderia ser solucionado. Assim, nasceu o FRAC (“Fungicide Resistance Action Committee”), filiado à GIFAP (Federação Internacional das Associações Nacionais de Fabricantes de Produtos Agroquímicos, hoje denominado Federação Global de Proteção de Plantas, GCPF). No Brasil, em uma iniciativa conjunta da indústria de fungicidas e da pesquisa oficial, foi criado o FRAC-Brasil com os mesmos propósitos.

A presente publicação tem como objetivo conceituar a resistência de fungos a fungicidas, descrever como ocorre o seu desenvolvimento e indicar as estratégias para minimizar as suas conseqüências.

## Criação do FRAC-Brasil

O FRAC-Brasil (Comitê de Ação a Resistência a Fungicidas) foi criado em uma reunião realizada em Jaguariúna, SP, em 25 de junho de 1999, contando com representantes de diversas empresas de fungicidas do país. Atualmente, é composto pelas empresas: Aventis CropScience Brasil Ltda., Basf S.A., Bayer S.A., Cyanamid Química do Brasil Ltda., Dow AgroSciences Industrial Ltda., DuPont do Brasil S.A., FMC do Brasil Ind. e Com. S.A., Hokko do Brasil S.A., Iharabras S.A. Indústrias Químicas, Milenia Agrociências S.A., Novartis Biociências S.A., Rohm and Haas Química Ltda. e Zeneca Brasil Ltda. Trata-se de uma associação dedicada ao fomento à pesquisa e ao desenvolvimento de trabalhos com produtos fitossanitários na área de resistência. O FRAC-Brasil é um sub-grupo do FRAC-Central, originário do Comitê de Agricultura e Meio Ambiente (AGRECO) e da Federação Global de Proteção de Plantas (GCPF). O FRAC-Central é reconhecido como organismo consultor pela Organização de Agricultura e Alimentação (FAO) e pela Organização Mundial de Saúde (WHO) das Nações Unidas. Além de representantes da indústria, pesquisadores de instituições públicas participam como consultores do FRAC-Brasil. Os objetivos são: promover pesquisas e desenvolvimento de trabalhos com produtos fitossanitários visando ao aumento da vida útil e efetividade dos fungicidas por meio da minimização dos problemas de resistência; oferecer informações e ser um órgão consultivo para os problemas técnico-científicos relacionados à resistência a fungicidas no Brasil; estabelecer e promover relacionamento com pesquisadores da indústria, no campo da resistência a fungicidas, por meio de seminários, conferências e projetos de pesquisa, entre outros, de forma conjunta; coordenar e fazer mais efetivos os esforços da indústria para prolongar a vida dos fungicidas face à resistência, por meio das definições e recomendações de estratégias técnicas apropriadas.



## HISTÓRICO

O início da aplicação de fungicidas em larga escala para o controle de doenças de plantas está vinculado à descoberta da calda bordalesa por Millardet em 1882, em Bordeaux, França. Tal mistura, composta por sulfato de cobre e cal hidratada, constituiu o principal fungicida utilizado por mais de 50 anos. Poucos problemas com resistência a este fungicida, em condições de campo, foram relatados (Dekker & Georgopoulos, 1982). De modo geral, o mesmo ocorreu com os organo-mercuriais, introduzidos por volta de 1914, os ditiocarbamatos, introduzidos na década de 1930, e vários outros fungicidas denominados protetores, desenvolvidos posteriormente. Todos esses compostos têm em comum a característica de somente fornecer proteção à superfície da planta. Assim, devem ser aplicados preventivamente. Esses fungicidas são inibidores de numerosos processos metabólicos vitais, compartilhados por todos os seres vivos, portanto apresentam amplo espectro de ação. Dessa forma, devem ser insolúveis, não podendo penetrar, nem translocar nos tecidos da planta, pois seriam altamente fitotóxicos.

Após a Segunda Grande Guerra, iniciou-se o desenvolvimento de fungicidas que penetrassem na planta, erradicando o patógeno após a

infecção ou protegendo partes que não entram em contato direto com o fungicida. A partir do final da década de 1960, com a ampla aceitação de benomyl e carboxin e, a seguir, de outros fungicidas sistêmicos, o controle químico de doenças de plantas assistiu grandes mudanças. Segundo Kirby (1972), os fungicidas sistêmicos, em uso na época, caracterizam-se por apresentar fungitoxicidade direta; muito baixa a baixa solubilidade; penetração nos tecidos aéreos e raízes, passando para o xilema; movimento ascendente pela corrente transpiratória, acumulando-se nas margens das folhas; incapacidade de chegar a órgãos que não transpiram e de reexportação para regiões de novos crescimentos; ausente ou reduzida translocação descendente, via floema; e amplo ou estreito espectro de ação.

Analisando as perspectivas dos fungicidas sistêmicos após dez anos de uso, Edgington et al. (1980) afirmaram que o número desses produtos aumentou de forma significativa durante esse período, compreendendo aproximadamente um terço do total de fungicidas utilizados. Essa escalada se deve ao fato dos produtos sistêmicos compartilharem características de maior especificidade e fungitoxidez inerente, bem como de penetração e translocação dentro da planta, tornando-os muito mais vantajosos do que os convencionais; maior efeito erradicante, protetor, curativo e imunizante; menores dosagens e número de pulverizações; menores problemas de fitotoxidez, de contaminação ambiental e de desequilíbrio biológico e maior adequação para o uso em programas de manejo integrado.

Entretanto, Georgopoulos (1969) alertou que problemas com resistência de fungos a fungicidas deveriam ser mais freqüentes e mais sérios com a utilização dos novos produtos seletivos do que com os convencionais. Tal fato se concretizou com os numerosos relatos de resistência a fungicidas ocorridos desde então.

A seletividade, que permite um fungicida atuar sistemicamente, aumentando tanto a sua eficiência, é, ao mesmo tempo, causa de sua vulnerabilidade (Kimati, 1987). Dekker (1977) explica que mudanças genéticas que resultam na resistência de um patógeno a fungicidas ocorrem

com maior facilidade com compostos que atuam primariamente em um ou poucos passos do metabolismo da célula do fungo do que com fungicidas que interferem em muitos passos do processo metabólico. Assim sendo, até 1970, devido à predominância de fungicidas convencionais ou inespecíficos, os casos de resistência relatados no campo limitavam-se a menos de 10 gêneros de fungos; em contraposição, em 1988, com o intensivo e extensivo uso de fungicidas sistêmicos, esse número era de, aproximadamente, 60 gêneros, o que corresponde a um significativo número de importantes espécies de fungos fitopatogênicos (Delp, 1988).

No Brasil, poucos trabalhos foram desenvolvidos quanto à resistência de fungos a fungicidas (Quadro 1). A maior parte dos trabalhos está restrita a relatos de ocorrências de resistência. Poucos estudos contínuos e detalhados foram realizados.

## Resistência de Fungos a Fungicidas

Quadro 1. Relatos de ocorrência de resistência de fungos a fungicidas no Brasil.

Patógeno	Hospedeiro	Fungicida	Referência
<i>Alternaria dauci</i>	cenoura	iprodione	Fancelli & Kimati (1988)
<i>Botrytis cinerea</i>	morango	benomyl	Cabrini & Kimati (1986)
	eucalipto	benomyl	Ghini & Krüger (1987)
	rosa	benomyl	Mosca et al. (1989)
	berinjela	benomyl	Ghini (1990)
	crisântemo, batata, ciclame, violeta, begônia, pimentão	benomyl	Ghini (1996)
	maçã, uva	benomyl	Valdebenito-Sanhueza (comunicação pessoal)
<i>Botrytis squamosa</i>	cebola	benomyl	Ghini & Kimati (1989, 1990)
<i>Cercosporidium personatum</i>	amendoim	benomyl	Mariotto (1985)
<i>Colletotrichum fragariae</i>	morango	benomyl	Tanaka et al. (1997)
<i>Cylindrocladium scoparium</i>	eucalipto	benomyl	Alfenas et al. (1988)
<i>Drechslera teres</i>	cevada	triadimenol	Reis et al. (1997)
<i>Fusarium subglutinans f.sp. ananas</i>	abacaxi	benomyl	Santos et al. (1999)
<i>Guinardia citricarpa</i>	citros	benomyl	Martins et al. (1998)
<i>Glomerella cingulata</i>	maçã	benomyl	Fortes (1985)
<i>Monilinia fructicola</i>	pêssego	benomyl	Fortes & Ferreira (1985)
<i>Mycosphaerella fragariae</i>	morango	benomyl tiofanato	Remiro & Kimati (1974)
<i>Penicillium sp.</i>	maçã	benomyl	Fortes (1985)
<i>Phytophthora infestans</i>	batata	metalaxyl	Dados não publicados
<i>Plasmopara viticola</i>	uva	metalaxyl	Nogueira et al. (1988)
<i>Venturia inaequalis</i>	maçã	benomyl dodine*, IBE*	Valdebenito-Sanhueza (comunicação pessoal) Valdebenito-Sanhueza (comunicação pessoal)

\*Redução de sensibilidade sem perda de controle no campo.

## Casos de resistência em campo

Os fungicidas do grupo dos benzimidazóis foram introduzidos no mercado para o controle de doenças de plantas entre as décadas de 1960/70, como tratamento foliar, em pós-colheita e sementes. Nessa época, suas características apresentavam grandes vantagens em relação aos demais produtos em uso, isto é, os protetores como os ditiocarbamatos e cúpricos, que dominavam o controle químico. Seu modo de ação específico permitia uma seletividade diferencial entre o patógeno e a planta hospedeira, garantindo o efeito sistêmico do produto, sem a ocorrência de fitotoxicidade. Tal efeito sistêmico permitia uma ação pós-infecção, o que não ocorria com os demais produtos. Mesmo em baixas dosagens apresentavam-se eficientes no controle de uma ampla gama de patógenos. Com essas vantagens, os benzimidazóis tornaram-se muito populares entre os agricultores, que freqüentemente os usavam como único método de controle (Delp, 1988). Porém, após alguns poucos anos de uso intensivo, diversos casos de resistência em campo foram relatados. O primeiro relato foi com oídio em pepino cultivado em estufa, após um ano de aplicação, nos Estados Unidos (Schroeder & Provvidenti, 1969). A resistência de *Botrytis cinerea* em ciclame foi observada em estufas na Holanda, após dois anos de uso (Bollen & Scholten, 1971). A seguir, numerosos relatos foram feitos em diversas culturas, marcando o início dos graves problemas com o surgimento de resistência na história dos fungicidas.

História semelhante ocorreu com os fenilamidas. O primeiro caso de resistência a metalaxyl foi relatado em 1980, dois anos após seu lançamento no mercado, para o controle de *Pseudoperonospora cubensis* em pepinos cultivados em estufa em Israel (Delp, 1988). A resistência causou uma perda completa do controle da doença e graves prejuízos. Em meados de 1980, uma severa epidemia causada por linhagens de *Phytophthora infestans* causou grandes perdas em culturas de batata na Holanda e na Irlanda. As principais causas da resistência envolviam o uso exclusivo do fungicida para o controle da doença, as condições extremamente favoráveis para a ocorrência de epidemias e a utilização do produto como curativo. O metalaxyl foi então retirado do mercado pela empresa fabricante, nos dois países. Após algum tempo, o produto foi relançado em mistura com um protetor, sendo iniciada uma estratégia anti-resistência. Outros casos também foram relatados com outros patógenos, como *Peronospora*, *Bremia* e *Pythium*.

Os triazóis foram introduzidos no mercado na década de 1970, quando estavam ocorrendo problemas com outros sistêmicos devido à resistência. Testes de avaliação de risco em laboratório demonstraram uma menor probabilidade de falha no controle, do que os demais produtos. Porém, o otimismo inicial foi reduzido devido a uma série de relatos de resistência para importantes doenças (Hollomon, 1993). O primeiro caso foi com *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei* em cevada, dois anos após a introdução de triadimefon na Inglaterra, em 1978. Também com pepinos cultivados em estufas houve um rápido desenvolvimento de resistência (Schepers, 1985). Porém, os problemas de falha no controle não foram tão evidentes quanto os casos anteriores.





## CONCEITOS E DEFINIÇÕES

O termo **fungicida** está sendo usado em seu sentido amplo, incluindo todos os agentes de controle de doenças de plantas causadas por fungos. Atualmente, nesse grupo estão também compostos que interferem em processos específicos de infecção ou ativam mecanismos de defesa das plantas, ao invés de atuar diretamente sobre o patógeno.

A **resistência** a fungicidas é definida como uma alteração herdável e estável em um fungo em resposta à aplicação de um fungicida, resultando numa redução da sensibilidade ao produto (European, 1988). O termo é usado para linhagens de fungos anteriormente sensíveis, que por meio de mecanismos de variabilidade, como a mutação, reduziram significativamente a sensibilidade ao fungicida.

A resistência de um fungo a um fungicida com modo de ação específico pode ser facilmente obtida em meio de cultura agarizado, contendo uma concentração do produto letal ao tipo selvagem do fungo. Mas, o aparecimento da chamada **resistência de laboratório** não implica, necessariamente, que problemas de resistência irão aparecer em condições de campo. O termo **resistência de campo** indica a presença de linhagens

resistentes na população do patógeno no campo. A **resistência prática** implica na falha no controle da doença, em condições de campo (Brent, 1995).

A falha no controle não pode ser atribuída à resistência sem a realização de testes apropriados que comprovem a presença de linhagens resistentes (Dekker, 1995). Vários fatores podem ocasionar fracassos das aplicações de fungicidas, além da resistência, como por exemplo, erros de dosagem devido à calibragem de equipamentos de pulverização, condições climáticas desfavoráveis, erros no diagnóstico da doença, época de aplicação incorreta, formulação inadequada, problemas no armazenamento do produto, desequilíbrios devido à eliminação de organismos benéficos, entre outros.

O desenvolvimento da resistência depende da **freqüência** e do **grau da resistência**. A **freqüência** diz respeito à proporção da população que é composta por linhagens resistentes. O **grau de resistência** é a magnitude da diferença de sensibilidade das linhagens sensíveis e resistentes, sendo que ele pode ser expresso pelo **Fator de Resistência** (FR):

$$FR = \frac{DL_{50} \text{ da linhagem resistente}}{DL_{50} \text{ da linhagem sensível}} \quad \text{ou} \quad \frac{MCI \text{ da linhagem resistente}}{MCI \text{ da linhagem sensível}}$$

onde  $DL_{50}$  é a dose letal que causa mortalidade de 50 % da população e MCI é a mínima concentração inibitória.

Erroneamente, o termo **tolerância** tem sido usado como sinônimo de resistência. Como tolerância tem um significado ambíguo, nem sempre envolvendo alterações genéticas, esse termo não deve ser usado para o caso de resistência a fungicidas (European, 1988).

Sendo **sensibilidade** o oposto de resistência, todas as linhagens resistentes apresentam, por definição, uma redução na sensibilidade. Porém, o termo **insensibilidade** não deve ser usado como sinônimo de resistência. Isto porque o termo sugere a completa falta de sensibilidade, e assim na

prática raramente poderia ser utilizado. Pode-se usar insensibilidade para descrever fungos para os quais o fungicida nunca teve nenhum efeito, isto é, aqueles cujo produto não é recomendado para o controle. Por exemplo, *Alternaria* spp. são originariamente insensíveis a benomyl.

A **adaptabilidade** de uma linhagem é a habilidade do fungo de se desenvolver, reproduzir e sobreviver, comparada a outras linhagens nas mesmas condições. Portanto, é um conceito comparativo. A avaliação da adaptabilidade de uma linhagem resistente, por exemplo, pode ser obtida comparando-a com a linhagem selvagem quanto à capacidade de infectar a planta, colonizar os tecidos do hospedeiro e esporular. Testes de competição entre as linhagens sensíveis e resistentes também fornecem informações sobre a adaptabilidade.

A **resistência cruzada**, ou **resistência cruzada positivamente correlacionada**, refere-se à resistência a dois ou mais fungicidas, conferida pelo mesmo fator genético. Quando o fator genético estabelece resistência a um fungicida e, ao mesmo tempo, aumenta a sensibilidade a um segundo fungicida, usa-se o termo **resistência cruzada negativamente correlacionada**. A resistência cruzada geralmente é estabelecida com base na freqüente associação da reação a dois ou mais fungicidas, quando ambos possuem estruturas químicas relacionadas ou mesmo modo de ação. Por exemplo, os fungicidas do grupo dos benzimidazóis, como benomyl, carbendazim e tiofanato metílico, possuem resistência cruzada por apresentarem o mesmo modo de ação. Entretanto, estudos genéticos são sempre necessários para uma afirmação conclusiva. Na ausência, o termo deve ser usado com cautela.

A resistência cruzada não deve ser confundida com **resistência múltipla**, na qual a resistência a dois ou mais fungicidas é governada por diferentes fatores genéticos. Tal fato freqüentemente implica que os fungicidas possuem diferentes modos de ação. Também nesse caso, estudos genéticos são necessários para uma afirmação conclusiva.



# 4

## GRUPOS DE FUNGICIDAS

A experiência prática com resistência a fungicidas, que se estende pelas últimas três décadas, indica claramente que o risco de resistência depende, entre outros fatores, do grupo químico ao qual pertence o fungicida. Dessa forma, o conhecimento dos grupos de fungicidas é muito importante para o estabelecimento de uma estratégia anti-resistência, já que cada grupo químico se caracteriza por um modelo típico de desenvolvimento de resistência.

Informações sobre os grupos conhecidos de fungicidas e uma estimativa da possibilidade de seleção de populações resistentes de determinados patógenos estão apresentadas no Quadro 2. Os inibidores de múltiplos sítios do metabolismo do patógeno raramente tiveram problemas práticos de resistência, mesmo após muitos anos de uso. Em contraste, outros, como os benzimidazóis, fenilamidas e dicarboximidas, encontraram sérios problemas de resistência em muitos dos patógenos alvo, após 2 a 10 anos de sua introdução no mercado. Outros grupos, como os triazóis, desenvolveram gradualmente a resistência, e somente para alguns patógenos.

As informações sobre a possibilidade de desenvolvimento de resistência são baseadas no desempenho dos produtos e resultados de anos de monitoramento durante o uso comercial. Para alguns grupos novos, como fenilpirróis, anilinopirimidinas e estrobilurinas, são previsões baseadas em testes, devido ao curto período de uso comercial dos produtos.

Segundo Brent & Hollomon (1998), é discutível as morfolinas serem incluídas entre as categorias de baixo ou médio risco de resistência. Por muitos anos, seu desempenho permaneceu muito bom, mas algumas alterações na sensibilidade foram detectadas e, ocasionalmente, alguma perda no controle de doenças tem sido verificada.

Apesar do estreito elo entre resistência e grupo químico de fungicidas, diferenças estruturais que ocorrem dentro de uma classe química podem influenciar o risco de resistência. Os triazóis, por exemplo, diferem consideravelmente quanto à ocorrência de resistência para um determinado patógeno. Conseqüentemente, para a avaliação do risco de resistência de um novo fungicida que pertence a uma classe química conhecida, testes de resistência cruzada são necessários para compará-lo com os outros membros do mesmo grupo.

Há casos onde fungicidas compartilham riscos de resistência, por meio da resistência cruzada, com produtos pertencentes a classes químicas aparentemente diferentes. Ghini & Kimati (1989) observaram que linhagens de *Botrytis squamosa* resistentes a iprodione e procymidone (dicarboximidas) apresentam resistência cruzada com dichloran (hidrocarboneto aromático). Vários exemplos da literatura demonstram o mesmo para *B. cinerea* (Dekker & Georgopoulos, 1982). Possivelmente, há alguma similaridade, ainda não esclarecida, no modo de ação dos dois grupos.

Quadro 2. Grupos de fungicidas e risco de resistência.

GRUPO QUÍMICO	NOME QUÍMICO	NOME COMUM	COMENTÁRIOS SOBRE RESISTÊNCIA
Benzimidazóis  (metil benzimidazol, carbamato mbc, bmc)	Benzimidazóis	benomyl carbendazim fuberidazole thiabendazole thiophanate thiophanate-methyl	Alto risco de resistência.* Resistência frequentemente surge em muitas espécies de fungos. Há resistência cruzada entre os fungicidas do grupo.
Dicarboximidas	Dicarboximidas	iprodione procymidone vinclozolin	Alto risco de resistência.* Resistência frequente para <i>Botrytis cinerea</i> e encontrada em algumas outras espécies de fungos. Há resistência cruzada entre os fungicidas do grupo.
DMI (Inibidores da metilação)	Imidazóis	imazalil perfuazate prochloraz triflumizole	Moderado risco de resistência.* Há diferenças no espectro de atividade dos diferentes DMI.
	Piperazinas	triforine	Resistência é conhecida em várias espécies de fungos.
	Piridinas	pyrifeno	Geralmente, considera-se que há resistência cruzada entre os fungicidas que atuam sobre o mesmo fungo.
	Pirimidinas	fenarimol nuarimol	
	Triazóis (incluindo conazóis)	bitertanol bromconazole cyproconazole diclobutrazole difenoconazole diniconazole epoxiconazole fenbuconazole fluquinconazole flusilazole flutriafol hexaconazole metconazole myclobutanil paclobutrazol penconazole propiconazole tebuconazole tetraconazole triadimefon triadimenol triticonazole	

Continua

## Resistência de Fungos a Fungicidas

GRUPO QUÍMICO	NOME QUÍMICO	NOME COMUM	COMENTÁRIOS SOBRE RESISTÊNCIA
Fenilamidas	Acilalaninas	benalaxyl furalaxyl metalaxyl metalaxyl-m	Alto risco de resistência.* Resistência e resistência cruzada é muito conhecida para vários oomicetos.
	Oxazolidinonas	oxadixyl	
	Butirolactonas	ofurace	
Morfolinas	Morfolinas	aldimorph fenpropimorph tridemorph	Moderado ou baixo risco de resistência.* Reduzida sensibilidade presente em oídios.
	Piperidinas	fenpropidin	
	Spirocetalaminas	spiroxamine	
Tiofosforados	Organofosforado	edifenphos iprobefos isoprothiolane pyrazophos	Moderado risco de resistência.* Alguns casos de resistência relatados para fungos específicos. Sem resistência cruzada entre os membros do grupo.
Oxatin	Anilidas	benodanil carboxin flutolanil mepromil oxycarboxin	Alguns casos de resistência relatados para fungos específicos.
Hidroxipirimidinas	Pirimidinois	bupirimate diethirimol ethirimol	Resistência e resistência cruzada relatada para oídios.
Anilopirimidinas	Anilopirimidinas	cyprodinil mepanypyrim pyrimethanil	Moderado risco de resistência.*
N-Fenil carbamatos	Dietofencarb	diethofencarb	Resistência conhecida, manejo necessário.

Continua

<b>GRUPO QUÍMICO</b>	<b>NOME QUÍMICO</b>	<b>NOME COMUM</b>	<b>COMENTÁRIOS SOBRE RESISTÊNCIA</b>
<b>QoI</b> ("Quinol out inhibitors")	Estrobilurinas : Metoxiacrilato Oximinoacetato	azoxystrobin kresoxim-methyl trifloxystrobin	Moderado risco de resistência.* Resistência cruzada observada para metoxiacrilatos, oximinoacetatos e oxazolidinediona. Manejo da resistência necessário.
	----- Não-estrobilurinas : Oxazolidinediona	famoxadone	
<b>Fenilpirróis</b>	Fenilpirrol	fenpiclonil fludioxonil	Moderado risco de resistência.* Manejo da resistência necessário.
<b>Quinolinas</b>	Quinolina	quinoxifen	Manejo da resistência necessário.
<b>Hidrocarbonetos aromáticos</b>	Clorofenil	dicloran chloroneb quintozene tolclofos-methyl tecnazene	Moderado risco de resistência.* Resistência conhecida para alguns fungos.
		----- biphenyl etridazole	
<b>Ácidos Cinâmicos</b>	Ácido cinâmico	dimethomorph	Moderado risco de resistência.* Manejo da resistência necessário.
<b>Inibidores da Biossíntese da Melanina (MBI)</b>	Inibidores da redutase	fthalide pyroquilon tricyclazole carpropamid	Sem relato de resistência.
	----- Inibidores da desidrase		

Continua

## Resistência de Fungos a Fungicidas

GRUPO QUÍMICO	NOME QUÍMICO	NOME COMUM	COMENTÁRIOS SOBRE RESISTÊNCIA
Hidroxi-anilida	Hidroxi-anilida	fenhexamid	Manejo da resistência necessário.
Antibióticos		blasticidina kasugamicina streptomycina validamicina	
Polioxinas		polyoxin	Resistência conhecida, manejo da resistência necessário.
Fenilurea		penicuron	Sem relato de resistência.
Indutores de resistência em plantas	Benzotiadiazol BTH	acibenzolar-S-methyl	Sem relato de resistência.
Miscelânea	Ciano-acetamida oxima	cymoxanil	Alguns casos de resistência relatados para alguns fungicidas do grupo e fungos, por exemplo, <i>Cercospora beta</i> e tri-phenyl estanho.
	Carbamato	iodocarb propamocarb	
	Organo-estânico	tri-phenyl estanho	
		dinocap fenfuram	

Continua

GRUPO QUÍMICO	NOME QUÍMICO	NOME COMUM	COMENTÁRIOS SOBRE RESISTÊNCIA
Atividade em Múltiplos sítios	Fosfonato	fosetyl-Al ácido fosforoso	Geralmente considerados grupo de baixo risco, sem problemas de desenvolvimento de resistência. Resistência cruzada pouco relevante.
	Inorgânicos	arsenatos cobre (e sais) enxofre	
	Ditiocarbamatos e relacionados	ferbam mancozeb maneb metiram propineb thiram zineb ziram	
	Ftalimidas	captan captafol folpet	
	Cloronitrilo	chlorothalonil	
	Sulfamidas	dichlofluanid tolyfluanid	
	Guanidinas	dodine guazatine iminocadine	
	Anilazina	anilazine	
	Quinona	dithianon	
	Fenil-piridinaminas	fluazinam	

\* Segundo Brent & Hollomon (1998).

Disponível: site FRAC [www.gcpf.org/frac/chemical%20group.html](http://www.gcpf.org/frac/chemical%20group.html) - Consultado em 5 dez. 2001.





## MECANISMOS DE AÇÃO DOS FUNGICIDAS

Fungicidas protetores, também denominados convencionais ou não sistêmicos, desenvolvidos após a descoberta da calda bordalesa, são inibidores inespecíficos de reações bioquímicas, afetando um grande número de processos vitais, compartilhados por todos organismos vivos; assim, não podem penetrar e atuar sistemicamente dentro das plantas, pois seriam fitotóxicos. Sua seletividade aos fungos, não afetando hospedeiros vegetais, se deve a sua insolubilidade e incapacidade de penetrar através da cutícula cerosa e lipídica, que recobre a parte aérea das plantas. Sua seletividade a espécies fúngicas pode ser atribuída a processos de permeabilidade e de detoxificação, que resultam em maior ou menor acúmulo do produto na célula.

Para fungicidas metálicos, há evidências de que acúmulo inicial e muitas reações subsequentes ocorrem sobre ou fora da membrana celular. Substâncias, como as **guanidinas (dodyne, guazatine e iminoctadine)**, com alta atividade superficial, podem reagir, preferencialmente, com grupos iônicos (sulfidrílicos, carboxílicos, imidazólicos etc.), situados na superfície

celular, interferindo irreversivelmente na permeabilidade da membrana e provocando extravasamento dos constituintes celulares.

Intracelularmente, cada uma das centenas de enzimas pode ser alvo de inibição pelos fungicidas protetores. Testes de **ditiocarbamatos**, **fenois** e vários sais metálicos, sobre enzimas que dependem de grupos sulfidrílicos, cobre e ferro, mostram notável inibição da atividade em mais da metade das possíveis combinações enzima-fungicida, comprovando a capacidade dos fungicidas reagirem indiscriminadamente com os grupos prostéticos comuns nas enzimas. A extensão dessas reações *in vivo* depende da quantidade de fungicida não decomposto que se acumula no local de atuação, na célula. **Captan**, **dichlone** e **chlorothalonil** podem inibir simultaneamente muitas enzimas e coenzimas, particularmente as que contêm grupos sulfidrílicos, afetando inespecificamente um grande número de processos metabólicos. Fungicidas metálicos, como os cúpricos, também envolvem reações com grupos sulfidrílicos, mas simultaneamente inibem sacarase, catalase, arginase, beta-glicosidase, etc. O **enxofre** age como competidor de receptores de hidrogênio, rompendo as reações normais de hidrogenação e desidrogenação. Os **bisditiocarbamatos**, através do íon isotiocianato, derivado de sua decomposição, reagem inespecificamente com enzimas sulfidrílicas. Os **dimetilditiocarbamatos** formam quelatos tóxicos, atuando diretamente sobre locais de ligação de metais essenciais ou sobre grupos sulfidrílicos vitais; em concentrações elevadas, competem com enzimas sulfidrílicas, sendo particularmente ativos sobre a desidrogenase de triose fostado. **Fluazinam** atua como potente desacoplador da fosforilação oxidativa. Suspeitava-se da inibição da síntese de quitina como alvo específico da ação de **pencycuron**, fungicida altamente seletivo a *Rhizoctonia solani* e *Pellicularia* spp.; sabe-se, porém, não se tratar de alvo primário.

Fungicidas sistêmicos, ao contrário dos protetores, agem de maneira específica, inibindo preferencialmente um ou poucos processos metabólicos vitais. Em função dessa especificidade, suficiente para não causar fitotoxicidade, são absorvidos pelas plantas, dentro das quais se translocam localmente (somente no órgão tratado), pelo xilema (a maioria dos sistêmicos em uso) e pelo floema (alguns dos sistêmicos em uso).

Também, em decorrência da maior especificidade de ação, fungicidas sistêmicos são mais seletivos a número limitado de grupos taxonômicos, podendo a sensibilidade se restringir a uma espécie ou um gênero e, mais comumente, a uma classe ou ordem de fungos. Assim, por exemplo, a maioria dos fungos sensíveis a **oxatinas** são classificados em *Basidiomycotina*; **benzimidazóis** são mais tóxicos a *Ascomycotina*, *Deuteromycotina* e alguns *Basidiomycotina*; **inibidores da biossíntese de esteróis**, a *Ascomycotina*, *Basidiomycotina* e *Deuteromycotina*; **fenilamidas** e **cymoxanil**, a *Peronosporales*; **hymexazol**, a *Pythium* spp. e alguns outros fungos, porém não a *Phytophthora* spp.; etc. Essa seletividade reflete a similaridade dos alvos visados compartilhados pelas espécies pertencentes aos mesmos grupos. Os alvos visados, entretanto, podem ser compartilhados independentemente dos grupamentos taxonômicos, como no caso de **dicarboximidas**, que abrangem em seu espectro de ação fungos produtores de escleródios (*Sclerotiniaceae*, *Sclerotium* spp., *Rhizoctonia solani*) ou não (*Alternaria solani*, *Phoma* spp.).

Já se conhece razoavelmente bem o modo de ação de alguns fungicidas sistêmicos, como **benzimidazóis**, **oxatinas**, **inibidores da biossíntese de ergosterol** e **fenilamidas**; entretanto, o exato mecanismo de ação de muitos outros não foi, ainda, esclarecido (Lyr, 1995; Lyr et al., 1996 e 1999).

**Carbendazim**, o princípio fungitóxico dos benzimidazóis, e **thiabendazole** se ligam ao mesmo sítio de ligação da molécula protéica tubulina, dos fungos sensíveis, não permitindo a polimerização dos microtúbulos que formam o fuso mitótico; em consequência, ocorrem suspensão da metáfase e interferência na mitose, não obstante os centrosomas continuem a se duplicar normalmente.

Supõe-se que o modo de ação das **dicarboximidas** (**iprodone**, **vinclozolin** e **procymidone**), dos aromáticos (**bifenil**, **dichloran**, **BHC**, **ortofenilfenol**, **quintozene** e **tecnazene**), **chloroneb** e **tolclofos-methyl** seja semelhante, por apresentarem, geralmente, espectro antifúngico semelhante e resistência cruzada. Suspeita-se que a ação primária desses

fungicidas seja no núcleo, o que explicaria os efeitos genéticos de instabilidade mitótica e segregação somática.

**Oxatinas** inibem especificamente a oxidação de succinato, nas mitocôndrias, ligando-se ao complexo II intacto (desidrogenase de succinato mais dois peptídios de baixo peso molecular) dos fungos sensíveis; em consequência o fluxo de elétrons é interrompido, interferindo na produção de energia e de precursores biossintéticos a partir do ciclo de Krebs.

Os organofosforados **edifenfos** e **iprobenfos** agem na inibição da enzima que converte fosfatidiletanolamina a fosfatidilcolina, importante componente funcional e estrutural das membranas celulares; e, adicionalmente, inibem a sintetase de quitina, interferindo na produção da parede celular. A ação de outro organofosforado, o **pyrazophos**, seletivo para oídios, é atribuída à sua conversão, dentro do micélio, no princípio fungitóxico **PP** que, instantaneamente, afeta vários processos metabólicos e o crescimento do fungo.

O sítio primário de atuação da maioria dos fungicidas **inibidores da biossíntese de ergosterol (EBI)**, importante componente da membrana celular dos fungos sensíveis, é a demetilação do C-14, razão porque são classificados como fungicidas **DMI**. Entretanto, adicionalmente, outros sítios da mesma via metabólica podem ser afetados. As **morfolinás** não interferem na biossíntese de ergosterol pela demetilação do C-14, mas sim pela inibição da redutase de  $\Delta^{14}$  ou da isomerização de fecosterol-ergostadienol a episterol.

As **fenilamidas** interferem na síntese do RNA ribossômico de fungos oomicetos; não se conhece, no entanto, o mecanismo exato dessa interferência, que priva a célula de seus ribossomas e diminui a síntese proteica. Os mecanismos de ação de outros fungicidas sistêmicos seletivos para oomicetos, como **cymoxanil**, **propamocarb** e **dimethomorph** são, ainda, pouco conhecidos. Suspeita-se que o alvo primário do **propamocarb** seja a membrana celular e o do **dimethomorph** a biogênese da parede celular. Sabe-se que o **fosetyl-Al** não apresenta fungitoxicidade direta *in*

*vitro* e que se converte em ácido fosforoso fungitóxico dentro da planta; mesmo assim, supõe-se que, adicionalmente, plantas tratadas com o produto aumentem a resposta do seu sistema de resistência; suspeita-se que o alvo bioquímico primário do ácido fosforoso seja o metabolismo de aminoácidos.

O alvo principal da ação fungitóxica das **hidroxipirimidinas** (**bupirimate**, **diethirimol** e **ethirimol**) se presume ser a deaminase de adenosina de oídios, cuja inibição resulta na paralização da formação de inosina, nucleotídeos de adenosina e ácido nucléico.

O modo de ação presumido das **anilopirimidinas** (**mepanypyrin**, **pyrimethanil** e **cyprodinil**) é a inibição da secreção de proteínas extracelulares, tais como cutinase, pectinase e celulase, que se acumulam intracelularmente nos fungos sensíveis (*Botrytis cinerea*, *Venturia inaequalis* e *Alternaria alternata*), resultando na paralização do processo de infecção.

O **diethofencarb**, fungicida relacionado aos benzimidazóis, inibe a formação do fuso mitótico, ligando-se especificamente à tubulina alterada das linhagens de fungos que se tornaram altamente resistentes a **carbendazim**.

**Estrobilurinas** interferem na respiração mitocondrial, bloqueando a transferência de elétrons pelo complexo citocrômico bc<sub>1</sub>, através da inibição do óxido-redutase de ubihidroquinona-citocromo c.

O modo de ação dos **fenilpirrois**, **fenpiclonil** e **fludioxonil**, derivados do composto antifúngico pirrolnitrina, produzido por *Pseudomonas pyrocinia*, não está esclarecido. Sabe-se, entretanto, que o **fenpiclonil** inibe acúmulo e incorporação de glucose e manose nas glucanas da parede hifálica e que seu sítio de ação parece ser a fosforilação da glucose associada ao transporte através da membrana celular.

Os fungicidas **ftalide**, **pyroquilon**, **tricyclazole** e **carpopramid** são inibidores da biossíntese de melanina, substância essencial para o funcionamento normal do apressório dos fungos sensíveis, no processo de penetração e infecção.

Os mecanismos presumidos de ação dos antibióticos antifúngicos, usados na agricultura, são: inibição da síntese proteica, nos ribossomas (**estreptomicina**, **blastidina** e **kasugamicina**), interferência na formação e funcionamento dos microtúbulos (**griseofulvina**), inibição da biossíntese do inositol (**validamicina**) ou da quitina (**polioxina**).

O benzotiazol **acybenzolar-S-methyl** não tem ação antifúngica direta, sendo considerado um ativador químico da resistência de plantas a doenças; supõe-se que desempenhe um papel semelhante ao do ácido salicílico na via de transdução do sinal que leva à resistência sistêmica adquirida.

### Mecanismos de ação de agentes de controle biológico dificultam o surgimento de resistência

Os mecanismos de ação dos agentes de controle biológico de doenças de plantas podem ser divididos em: antibiose, competição, parasitismo, hipovirulência, predação e indução de defesa de plantas. Na **antibiose**, a produção de metabólitos pelo microrganismo antagonico tem efeito danoso sobre o patógeno. A **competição** refere-se à interação entre dois ou mais organismos empenhados na mesma ação ou substrato. No **parasitismo**, o antagonista vive sobre e alimenta-se do patógeno. A **hipovirulência** refere-se à introdução de uma linhagem do patógeno menos agressiva ou não patogênica que pode transmitir esta característica para as linhagens patogênicas. Na predação, os predadores obtêm o alimento a partir dos patógenos e outras fontes. A **indução de defesas do hospedeiro** por agentes de controle biológico tem ação direcionada à planta e não ao patógeno, por meio da alteração de seus mecanismos bioquímicos que resulta na resistência da planta ao patógeno. Os mecanismos citados resultam de processos evolutivos das espécies, adquiridos durante centenas ou milhares de anos. Assim sendo, dificilmente os patógenos conseguem desenvolver resistência aos agentes de controle biológico. Alguns antagonistas agem por mais de um mecanismo, o que dificulta ainda mais o desenvolvimento de resistência, tornando quase impossível a sua ocorrência. Como conseqüência, não há relatos na literatura quanto à resistência de fungos a agentes de controle biológico, em condições de campo. No caso de hipovirulência, por exemplo, mudas de citros premunizadas com estipes fracas do vírus da tristeza vêm sendo distribuídas desde 1971, para o controle da doença. Atualmente, a citricultura paulista possui mais de 100 milhões de plantas de citros premunizadas, sendo que não houve quebra da proteção após sucessivas gerações clonais. Vários outros casos de aplicação em larga escala de controle biológico têm tido sucesso, sem a ocorrência de resistência (Bettiol, 1996).



## RESISTÊNCIA CRUZADA

De modo geral, fungicidas pertencentes ao mesmo grupo químico apresentam resistência cruzada. Isto significa que linhagens resistentes a um fungicida também são resistentes aos demais produtos que possuem o mesmo modo de ação. Por esse motivo, o estudo da resistência cruzada é fundamental em todas as fases de desenvolvimento, lançamento no mercado e elaboração de estratégias anti-resistência de um novo fungicida. Durante o desenvolvimento, para a avaliação de risco, é importante saber se a molécula selecionada controla linhagens de um determinado patógeno resistentes a outros fungicidas. Assim, uma etapa de rotina é a realização de bioensaios que avaliam a eficiência do novo produto no controle de uma coleção de linhagens que apresentam resistência a fungicidas de diferentes grupos que não pertencem à mesma classe química ou têm modo de ação similar. Se tais linhagens não forem controladas, significa que já ocorre resistência ao novo produto na população do patógeno. Nesses casos, a continuidade do desenvolvimento do produto vai depender de quão severo e disseminado é o problema da resistência e como são as estratégias anti-resistência adotadas. Por outro lado, se as linhagens forem controladas, nesses testes assim como em ensaios de campo, significa que as populações resistentes a outros

fungicidas não causarão problemas ao novo produto. Se a resistência surgir no futuro, será resultado da seleção de mutantes resistentes que ocorrem em baixa frequência nas populações.

Se o produto lançado no mercado apresentar estrutura química ou modo de ação semelhante a outro fungicida já em uso que teve problemas de resistência, certamente ocorrerá resistência cruzada. Tal fato motivou a união entre as diferentes empresas fabricantes de fungicidas no combate à resistência, visto que toda uma estratégia anti-resistência pode ser posta em risco se uma empresa que comercializa outro fungicida pertencente ao mesmo grupo não adotar as medidas necessárias simultaneamente. O Quadro 2 apresenta comentários sobre a resistência cruzada dentro dos grupos de fungicidas.

Em alguns casos, a resistência cruzada é parcial, isto é, não implica em falha no controle do patógeno, mas somente numa redução de sensibilidade. Vários exemplos podem ser observados com os DMI. Em um trabalho realizado para verificar a distribuição da sensibilidade a fungicidas do grupo dos DMI em populações de *Uncinula necator*, causador de oídio em videiras, Erickson & Wilcox (1997) observaram que dos 76 isolados classificados como resistentes a triadimenol, 64 % apresentavam resistência cruzada com myclobutanil, 18 % apresentavam resistência cruzada com fenarimol e 17 % eram resistentes aos três fungicidas; 25 % dos isolados classificados como resistentes a myclobutanil também foram classificados como resistentes a fenarimol. Os dados mostram que a resistência cruzada é parcial entre os fungicidas, para esse patógeno, especialmente entre fenarimol e os demais. Isto é, a resistência a um deles não implica na falha de controle por outro produto. Porém, para outros patógenos, maiores níveis de resistência cruzada foram observados para os DMI.

A resistência cruzada pode apresentar correlação negativa, isto é, uma linhagem resistente a um fungicida tem aumentada a sensibilidade a outro produto. Um exemplo clássico é o caso dos benzimidazóis e fenilcarbamatos, onde o mecanismo bioquímico é conhecido. As linhagens

selvagens são sensíveis ao benzimidazol, isto é, a  $\beta$ -tubulina (proteína do fuso mitótico) se liga ao fungicida e a divisão celular não ocorre. Essa mesma  $\beta$ -tubulina não se liga aos fenilcarbamatos, conferindo insensibilidade à linhagem selvagem. Porém, na linhagem resistente, o sítio de ligação da  $\beta$ -tubulina modificado para não ligar ao carbendazim (forma atuante dos benzimidazóis) permite a ligação com o diethofencarb (fenilcarbamato), tornando a linhagem sensível ao produto. O mecanismo molecular envolve mudança em um único aminoácido da  $\beta$ -tubulina do fungo (Kendall et al., 1994; Wheeler et al., 1995). Aproveitando esse mecanismo como estratégia de controle de *Botrytis cinerea*, foi lançado no mercado uma mistura de carbendazim e diethofencarb. Resultados promissores foram obtidos nos primeiros anos, pois as linhagens de *Botrytis cinerea* resistentes aos benzimidazóis eram sensíveis aos fenilcarbamatos. Porém, populações apresentando dupla-resistência surgiram, especialmente em estufas, e tornaram necessárias outras medidas de controle da doença (Elad et al., 1992).





## MECANISMOS DE RESISTÊNCIA

Como outros organismos vivos, os fungos podem desenvolver resistência aos produtos tóxicos visando à sobrevivência da espécie. A grande diversidade das populações de fungos e sua intensa capacidade de multiplicação fornecem uma ampla oportunidade para a seleção de linhagens resistentes surgidas espontaneamente na população. Assim, numa população de fitopatógenos, sensível a um determinado fungicida, células com menor sensibilidade ao produto surgem, devido à mutação ou outro mecanismo de variabilidade dos seres vivos. A aplicação do fungicida seleciona as células resistentes, eliminando as sensíveis. O fungicida age favorecendo as linhagens resistentes em sua competição com as sensíveis e não como agente mutagênico, já que se o produto for comprovadamente mutagênico não poderá ser utilizado na agricultura (Figura 2).

Os mecanismos de resistência a fungicidas frequentemente estão relacionados com os mecanismos de ação dos produtos. Por esse motivo, poucos casos de resistência ocorreram com os fungicidas protetores, que inibem diversos sítios do metabolismo dos patógenos. O problema surgiu

com a descoberta e utilização de fungicidas com modo de ação específico. Tornou-se mais fácil o desenvolvimento de linhagens resistentes, visto que com alterações em poucos genes, tais linhagens poderiam sobreviver mesmo com a aplicação do produto. Para fungicidas inibidores de múltiplos sítios, um número muito maior de alterações é necessário, dificultando o desenvolvimento da resistência. O conhecimento detalhado do mecanismo de resistência e da ação do fungicida fornece as bases para a recomendação de medidas práticas numa estratégia anti-resistência, já que tais mecanismos determinam a adaptabilidade da linhagem resistente. Esse conhecimento também pode fornecer subsídios para o início de um programa de pesquisa visando ao descobrimento de novos fungicidas.

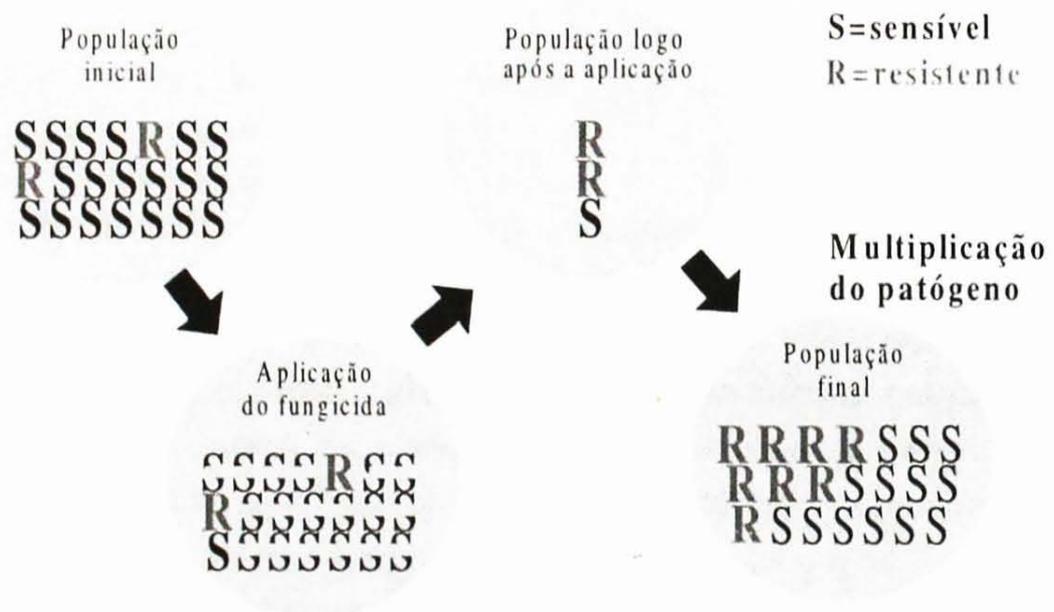


Figura 2. Esquema de seleção de linhagens de fungos resistentes (R) e sensíveis (S) a um determinado fungicida após intensiva aplicação para o controle de uma doença de planta.

A resistência a fungicidas pode ser atribuída a um ou mais dos seguintes mecanismos: 1) redução de afinidade no sítio de ação do fungicida; 2) redução da absorção ou aumento do efluxo do fungicida; 3) detoxificação; 4) não conversão para o composto ativo; 5) compensação, como por exemplo,

aumento da produção da enzima inibida; 6) desvio do sítio bloqueado por uma operação alternativa (Delp, 1988).

Um dos mais conhecidos exemplos de alteração no sítio de ação é o caso dos benzimidazóis. O carbendazim, que é o princípio ativo dos benzimidazóis, se liga à tubulina, que é a proteína que compõe os microtúbulos do fuso mitótico das células. Assim, os microtúbulos não se unem e a mitose e outros processos celulares, nos quais os microtúbulos estão envolvidos, são inibidos. A resistência ao carbendazim é causada pela mutação em um único gene, resultando em ligeiras alterações na tubulina que reduzem a afinidade com o carbendazim (Davidse & Flach, 1977).

O antibiótico kasugamicina, usado para o controle da brusone do arroz, inibe a síntese de proteínas em algumas bactérias e fungos quando se liga a uma das subunidades dos ribossomos. Após muitos anos de uso no Japão, ocorreu falha no controle da doença devido à resistência. Isso foi devido a uma única mutação que confere uma alteração no ribossomo, resultando em uma menor afinidade ao antibiótico.

Vários estudos demonstraram que metalaxyl inibe a síntese de RNA por interferência específica na polimerase do RNA ribossômico. Também nesse caso a resistência ocorre por uma redução de afinidade no sítio de ação do fungicida (Delp, 1988).

Mudanças na cadeia respiratória podem ser responsáveis pela resistência a fungicidas que agem especificamente em certos passos dessa cadeia. Carboxin é um exemplo de fungicida que inibe a respiração de fungos por se ligar especificamente ao complexo succinato-redutase ubiquinona (complexo II), bloqueando o fluxo de elétrons. Em experimentos de laboratório, mutantes de *Ustilago* spp. resistentes a carboxin surgiram rapidamente devido a alterações no complexo II, resultando em uma menor afinidade a carboxin (Dekker & Georgopoulos, 1982).

Além da alteração no sítio de ação, a redução da absorção é outro mecanismo freqüente na resistência a fungicidas (Dekker, 1995). Neste

caso, a célula fúngica pode se tornar menos sensível ao fungicida por alterações que impedem o fungicida de alcançar o sítio de ação em quantidades suficientes para atuar. Essas alterações podem impedir a entrada do fungicida pela membrana ou podem aumentar o efluxo imediatamente após a entrada, prevenindo seu acúmulo.

Também podem ocorrer alterações que aumentam a capacidade da célula de detoxificar o fungicida. Isso se dá pela conversão do fungicida em um composto não fungitóxico ou por ligação a outros constituintes da célula antes que o sítio de ação seja atingido.

Algumas vezes, vários mecanismos de resistência podem estar envolvidos, como ocorre com os imidazóis e triazóis (Green et al., 1990). Uma análise molecular da resistência a esses grupos, realizada por Joseph-Horne & Hollomon (1997), corroborou com os resultados bioquímicos e fisiológicos e confirmou que diversos mecanismos estão associados à resistência. Alteração na biossíntese do ergosterol constitui um dos mecanismos de resistência citados na literatura. Outros mecanismos incluem alterações na concentração intercelular dos DMI, como resultado de uma redução na penetração do produto pela membrana ou devido a um ativo sistema de efluxo. Foi observado que quando um único evento molecular está envolvido, são obtidos baixos níveis de resistência. Porém, uma acumulação gradual de mecanismos resulta num declínio de sensibilidade, o qual ocorre com as populações de patógenos tratadas com esses fungicidas e pode resultar em problemas no controle.



## GENÉTICA DA RESISTÊNCIA

Como as demais características dos seres vivos, a resistência a fungicidas é controlada geneticamente. O seu surgimento pode ser encarado como parte de um processo evolutivo, o qual permite a sobrevivência das espécies de fungos fitopatogênicos. A aplicação de fungicidas é uma condição adversa, que pode ser superada pelas linhagens resistentes, garantindo a sobrevivência da espécie.

A resistência pode ser uma característica qualitativa ou quantitativa. A resistência qualitativa é controlada por poucos genes de efeito acentuado. Por outro lado, a resistência quantitativa é causada por muitos genes, sendo cada um responsável por um pequeno efeito (Georgopoulos, 1995). Assim, a resistência qualitativa muitas vezes é denominada oligogênica e a quantitativa, poligênica.

Para muitos fungicidas, uma mutação num único gene é suficiente para que um alto grau de resistência seja adquirido, independentemente do fungo em questão. Nesses casos de resistência qualitativa, se houver um

cruzamento entre a linhagem resistente e a sensível, a progênie apresenta a distribuição mendeliana para essa característica. A população no campo apresenta uma distribuição descontínua quanto à sensibilidade, sendo constituída por duas sub-populações distintas, a sensível e a resistente. Frequentemente, a dose do fungicida que elimina todos os indivíduos sensíveis, não tem efeito sobre os resistentes. Por exemplo, as linhagens de *Botrytis squamosa* sensíveis a benomyl são inibidas por  $1 \mu\text{g mL}^{-1}$  do fungicida, ao passo que as resistentes crescem em meio de cultura contendo  $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$  (Ghini & Kimati, 1989). Por esse motivo, quando ocorre resistência qualitativa, cada linhagem obtida é facilmente classificada como sensível ou resistente.

No caso de herança poligênica, para ocorrer um alto grau de resistência, há a necessidade de mutações em muitos genes, sendo que cada um tem efeito aditivo. Como muitos genes estão envolvidos, com apenas algumas poucas aplicações do fungicida, podem ser obtidas linhagens carregando alguns genes para resistência. O efeito de cada um desses genes pode ser avaliado em laboratório, por meio do cruzamento de uma linhagem sensível com outra possuindo mutação em um desses genes para resistência. Para cada um dos genes, a segregação também é do tipo mendeliana. Porém, se uma linhagem altamente resistente for cruzada com uma altamente sensível, a progênie apresentará uma distribuição contínua, isto é, com diversos graus de resistência. Na prática, as várias combinações dos diversos genes resultam em populações compostas por inúmeras sub-populações, que apresentam pequenas variações quanto à sensibilidade. Assim, não é tão fácil classificar a linhagem como sensível ou resistente se não for identificado um padrão de sensibilidade antes do uso em larga escala do fungicida.

## O caso das estrobilurinas: genes mitocondriais envolvidos

Mutantes de diversos fungos resistentes a estrobilurinas obtidos em laboratório apresentaram mutações no gene do citocromo b. Em relação aos sensíveis, possuem um menor crescimento *in vitro*, devido às deficiências respiratórias. O gene do citocromo b é mitocondrial, sendo este o primeiro caso onde o sítio visado pelo fungicida é codificado por um gene extra nuclear. É provável que a resistência seja do tipo de múltiplos passos, através de um gradual aumento da proporção de mitocôndrias resistentes. Segundo Brent & Hollomon (1998), tal fato desperta grandes interesses científicos e comerciais, já que um dos maiores problemas com resistência a herbicidas (triazinas) é causado por uma mutação em um gene não nuclear, localizado no cloroplasto. Mas, também um gene nuclear, que aumenta a produção alternativa de oxidase com redução da sensibilidade a estrobilurinas, foi relatado por Ziogas et al. (1997).

O conhecimento do tipo de herança genética envolvida é fundamental para a análise de risco e a elaboração de estratégias de controle. Isto porque a herança genética determina o tipo de seleção que é causada pelo tratamento com fungicida. No caso de resistência oligogênica ou qualitativa, a seleção ocorre em “um passo”, isto é, de forma descontínua (Figura 3). O processo é repentino e quase sempre leva à completa perda do controle da doença.

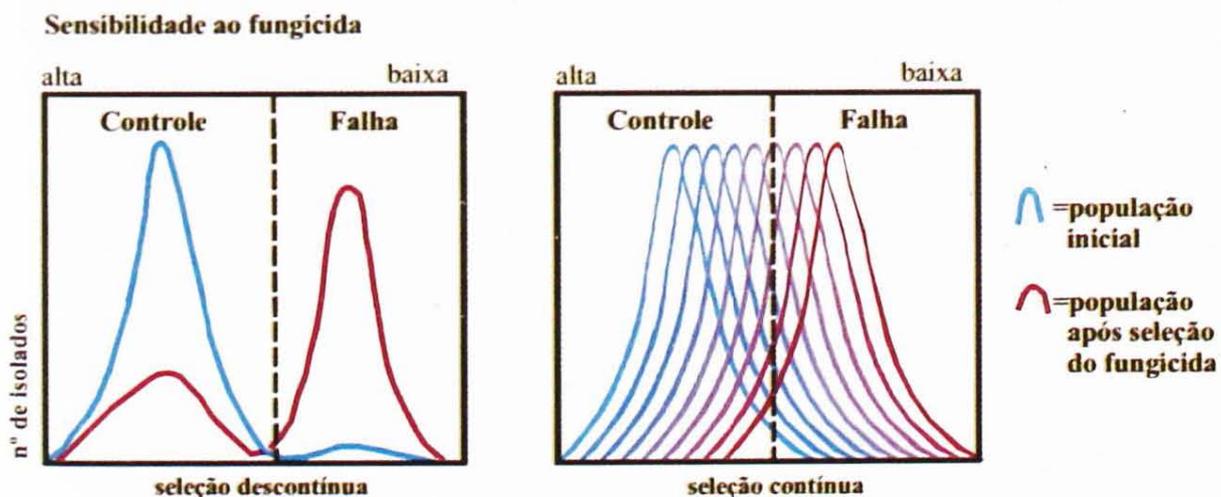


Figura 3. Tipos de seleção de linhagens de fungos resistentes a fungicidas.

Já o processo quantitativo, que é baseado num sistema poligênico, é mais lento e dificilmente chega à completa ineficiência do produto no campo. As aplicações do fungicida causam uma alteração gradual na população, reduzindo a sensibilidade (Figura 3). As indicações da redução da eficiência do fungicida podem ser obtidas a tempo de adotar estratégias anti-resistência. Porém, para tanto, são necessários o estabelecimento de padrões de sensibilidade e o monitoramento constante.

Os termos originais introduzidos para designar os dois tipos de resposta de populações à aplicação de fungicidas foram seleção disruptiva e direcional (Dekker & Georgopoulos, 1982). Mas, para evitar confusão com outros termos semelhantes referentes a outras respostas de populações fúngicas, passou-se a denominar de alterações qualitativas e quantitativas, respectivamente. Mais recentemente, outros termos que estão sendo empregados são: “um passo” *versus* “múltiplos passos”, *discreta versus* *contínua* e *descontínua versus* *progressiva*.

Outro aspecto importante do fator genético é que a adaptabilidade da linhagem resistente é uma consequência das alterações sofridas pelo genótipo do fungo para adquirir a resistência. Se os genes que sofreram mutação conferirem importantes características, a adaptabilidade da linhagem resistente será reduzida. Se pelo contrário, os genes que agora conferem resistência anteriormente eram responsáveis por características pouco importantes, a linhagem resistente apresentará alta adaptabilidade. Os fungicidas protetores, por exemplo, apesar do uso contínuo, não apresentaram problemas após muitas décadas. Isso ocorre devido ao grande número de mutações necessárias, o que pode não ser viável ou ter um efeito letal, dificultando a ocorrência de resistência.

## Genética da resistência aos benzimidazóis *versus* DMI

A genética da resistência aos benzimidazóis é uma das mais conhecidas. Poucos genes estão envolvidos, sendo que para muitos fungos já estão identificados. Tais genes, que são os responsáveis pela síntese da tubulina (proteína que compõe o fuso mitótico), impedem a sua ligação com o fungicida, conferindo resistência a altas concentrações do produto. Geralmente, a linhagem resistente é tão adaptada quanto a sensível, pois poucos genes foram alterados para conferir resistência. Por esse motivo, com a alta pressão de seleção causada pelo uso intensivo dos benzimidazóis, em pouco tempo ocorreram problemas de resistência de campo.

Em contrapartida, de modo geral, a resistência aos DMI é poligênica. Os monitoramentos realizados apresentam distribuições contínuas de sensibilidade. Diversos estudos genéticos realizados com *Aspergillus nidulans* identificaram genes com efeito aditivo, porém esse tipo de análise raramente foi realizada com os principais patógenos controlados pelos DMI devido à dificuldade ou à ausência de fase sexual (Hollomon, 1993). Certamente, o modelo de alteração da sensibilidade de populações de patógenos face à pressão de seleção causada pelo uso desses fungicidas indica que muitos genes devem estar envolvidos na resistência. A mudança é lenta e gradual, não tendo sido observada uma falha no controle, como ocorreu com os benzimidazóis. Kendall et al. (1993), por exemplo, testando 2000 isolados de *Rhynchosporium secalis* em cevada na Inglaterra, verificaram que a população passou por uma gradual redução de sensibilidade a propiconazole, durante os anos de 1987 a 1990. Por outro lado, ao mesmo tempo, houve uma alteração irregular de sensibilidade ao triadimenol, o que poderia ser interpretado como o efeito de uma mutação em um gene dominante, modificado por mutações poligênicas. Brent & Hollomon (1998) apresentam os dados da continuidade do monitoramento desse patógeno na Inglaterra, demonstrando que a mesma tendência prosseguiu, com mais de 3000 amostras coletadas (Figura 4).

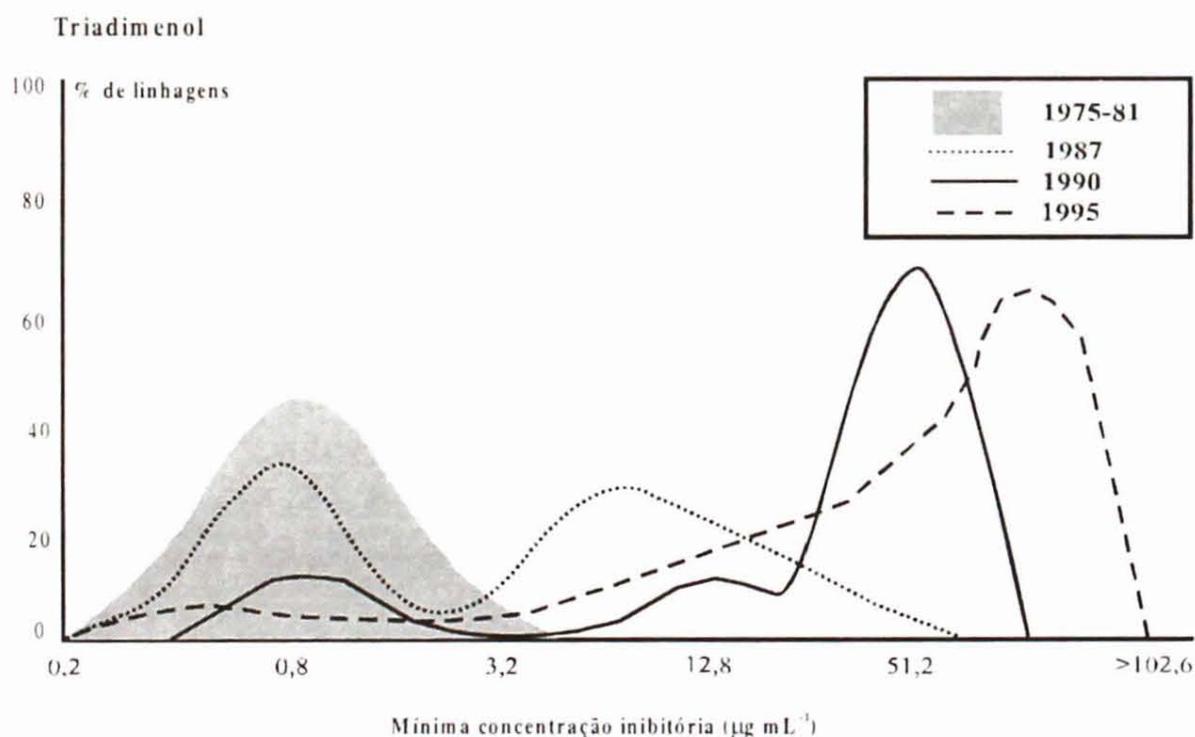
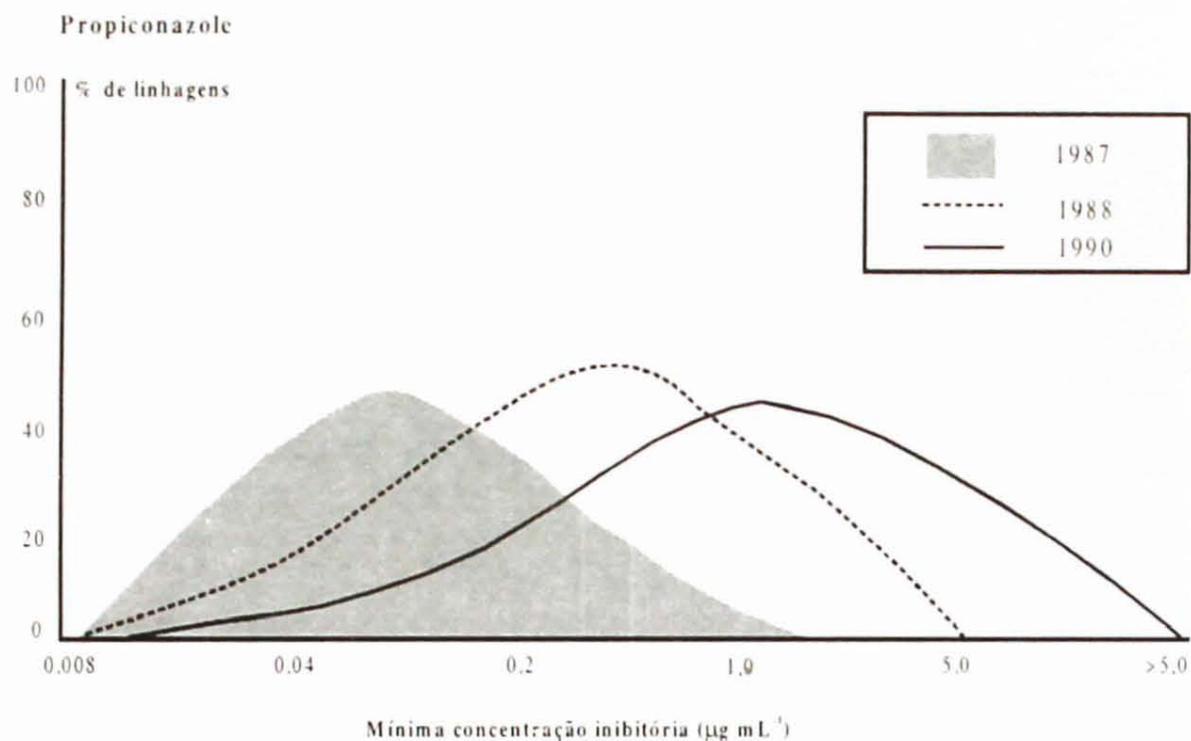


Figura 4. Desenvolvimento de resistência de *Rhynchosporium secalis* a triadimenol e propiconazole, em cevada, na Inglaterra, com avaliação mais de 3000 linhagens por ano (Brent & Hollomon, 1998; reproduzido com permissão).



## FATORES DE RISCO

O surgimento de linhagens resistentes em laboratório não implica necessariamente que ocorrerá falha no controle da doença no campo. A falha só ocorre quando uma considerável proporção da população do patógeno está resistente. Em alguns casos, isso ocorre logo após a introdução do fungicida, mas em outros leva muitos anos para ocorrer. Vários fatores influenciam a velocidade do desenvolvimento de resistência: a base genética da resistência, a adaptabilidade da linhagem resistente na presença ou ausência do fungicida, a natureza do patógeno e da doença, a pressão de seleção exercida pelo fungicida, além de outros fatores (Dekker, 1995).

### BASE GENÉTICA DA RESISTÊNCIA

Se a resistência for oligogênica, um alto grau de resistência pode ser obtido de uma só vez, isto é, em “um só passo”. A alta pressão de seleção causada pelo fungicida pode causar o rápido aumento da frequência

de células resistentes e o problema de falha no controle surge na prática após uma ou duas estações, como ocorreu com benomyl e metalaxyl.

Quando a resistência é poligênica, muitos genes mutantes contribuem para a resistência, sendo cada um deles responsável por efeito aditivo. Nesse caso, o desenvolvimento da resistência até um nível perigoso levará muito mais tempo para ocorrer, podendo demorar anos para ter-se o problema na prática. Um exemplo é o que ocorre, de modo geral, com a resistência aos inibidores da biossíntese do ergosterol. Embora esse grupo seja considerado de baixo risco, a resistência pode ocorrer após um período de intensa pressão de seleção do fungicida. Em alguns casos, porém, está provada a herança oligogênica da resistência aos inibidores da biossíntese do ergosterol (Hollomon, 1993).

### ADAPTABILIDADE DA LINHAGEM RESISTENTE

A adaptabilidade inclui um complexo de características que definem o sucesso da linhagem resistente. Entre elas estão: a capacidade de infecção, a velocidade de colonização dos tecidos do hospedeiro, a capacidade de esporulação e sobrevivência.

As alterações da célula que são responsáveis pela resistência podem ser desvantajosas na ausência do fungicida. Por esse motivo, há uma relação entre resistência e redução da adaptabilidade. Por exemplo, linhagens de fungos resistentes aos dicarboximidas apresentam, freqüentemente, reduzido crescimento em meio de cultura, esporulação e patogenicidade. Outro aspecto interessante é que linhagens de *Botrytis cinerea* resistentes a dicarboximidas apresentam alta sensibilidade à pressão osmótica, comprovada pelo menor crescimento em meio de cultura com NaCl, em relação à linhagem sensível (Beever & Brien, 1983). Esta característica pode contribuir para uma menor adaptabilidade, expressa por uma reduzida patogenicidade em frutos maduros, onde o acúmulo de açúcares solúveis resulta numa maior pressão osmótica. A Figura 5 mostra

diferenças na patogenicidade de dois isolados de *Botrytis squamosa* resistentes a benomyl em plântulas de cebola.



Figura 5. Patogenicidade de dois isolados de *Botrytis squamosa* resistentes a benomyl em plântulas de cebola.

Em outros casos, a resistência pode não estar ligada à redução de adaptabilidade, sendo que a linhagem resistente apresenta uma adaptabilidade que não difere significativamente da linhagem sensível. Os benzimidazóis e as acilalaninas são exemplos de grupos de fungicidas que, aparentemente, alterações no sítio de ação não resultam em características desvantajosas para as células.

A adaptabilidade está diretamente relacionada com os genes envolvidos e o mecanismo de resistência e estes, por sua vez, estão relacionados com o modo de ação do fungicida. Algumas alterações metabólicas que conferem resistência estão ligadas a uma menor

adaptabilidade na ausência do fungicida, outras não. Assim sendo, alguns fungicidas são mais vulneráveis à ocorrência de resistência do que outros. Porém, também há a possibilidade de que linhagens, cuja resistência estava associada a uma menor adaptabilidade na ausência do fungicida, tenham a adaptabilidade aumentada no decorrer do tempo, sob pressão de seleção do fungicida.

### NATUREZA DO PATÓGENO E DA DOENÇA

O ciclo de vida do patógeno é um dos mais importantes fatores epidemiológicos, pois quanto menor o tempo de cada geração, mais freqüente é a necessidade de exposição ao fungicida e, assim, maior o risco de resistência.

A resistência se desenvolve mais rapidamente em patógenos com maior esporulação, ou capacidade de multiplicação e disseminação. Quanto maior o número de esporos liberados na cultura, maiores serão as chances de mutação e seleção. Assim, o surgimento de resistência é mais rápido em patógenos com intensa esporulação em partes aéreas da planta do que em patógenos que esporulam pouco ou produzem esporos que não são facilmente transportados, como pode ser o caso de vários patógenos de raízes. Por exemplo, a resistência de *Phytophthora infestans* da batata a metalaxyl se desenvolveu muito mais rapidamente do que nas podridões radiculares causadas por *Phytophthora* spp. em outras culturas. Também a acessibilidade do patógeno tem um efeito marcante, pois fungos que vivem em partes das plantas que não são facilmente atingidas por fungicidas não sofrem pressão de seleção. Assim, há a sobrevivência de uma sub-população sensível, que pode competir com a resistente.

Como exemplo, *Botrytis cinerea* possui alto risco de resistência pois produz, geralmente, grandes quantidades de conídios, que são facilmente disseminados, e que apresentam grande variabilidade genética (Ghini, 1996). Da mesma forma, os oídios apresentam diversos casos de resistência devido

à intensa multiplicação e disseminação de seus propágulos.

Brent & Hollomon (1998) apresentaram um interessante diagrama que exemplifica as interações entre os riscos de resistência associados ao fungicida e à doença (Figura 6). Os valores são arbitrários, mas estimam, comparativamente, as chances de ocorrer resistência. Os riscos associados às doenças ou aos fungicidas podem ser classificados como: baixo (1), médio (2) e alto (3). O resultado final é proveniente da multiplicação dos riscos relativos ao fungicida e à doença. Dessa forma, o risco combinado pode ser baixo, se o resultado for igual a 1; médio, se for de 2 a 6; e alto, se o resultado for 9.

benzimidazóis dicarboximidas fenilamidas	Alto (3)	3	6	9
oxatinas DM Is fosforotiolates anilino pirimidinas fenilpirróises estrobilurinas	Médio (2)	2	4	6
cobre ditiocarbamatos inibidores de melanina ftalimidas enxofre indutores de resistência	Baixo (1)	1	2	3
		Baixo (1)	Médio (2)	Alto (3)
		- patógenos de sementes ( <i>Pyrenophora</i> ) - patógenos de solo ( <i>Phytophthora</i> ) - ferrugem de cereais - crestamento da bainhada arroz	- <i>Rhynchosporium</i> da cevada - <i>Septoria</i> do trigo	- sarna da macieira - oídio de cereais - requeima da batata - brusone de arroz

Risco combinado: 1=baixo, 2-6= médio, 9=alto

Figura 6. Diagrama sobre as interações entre os riscos de desenvolvimento de resistência associados ao fungicida e à doença (Brent & Hollomon, 1998; reproduzido com permissão).

## PRESSÃO DE SELEÇÃO EXERCIDA PELO FUNGICIDA

Este é um dos principais fatores, pois pode ser manipulado na estratégia anti-resistência (Figura 7). A pressão de seleção exercida pelo

fungicida é diretamente proporcional às doses aplicadas, à frequência de aplicação, ao grau de cobertura obtido e à persistência na cultura ou no solo. Também o método de aplicação é importante, como por exemplo, a aplicação via solo resulta numa pressão de seleção maior do que a foliar. Além disso, o tamanho da área tratada com um único fungicida também influencia o desenvolvimento da resistência.

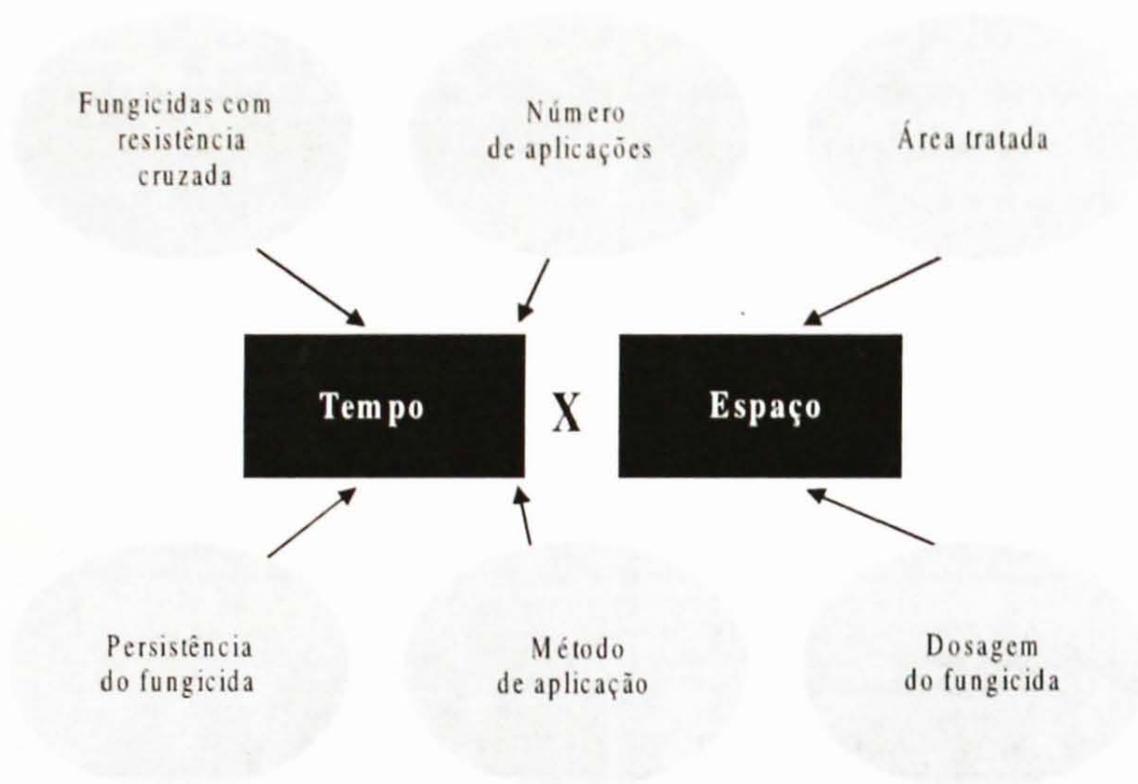


Figura 7. Fatores associados à redução da pressão de seleção do fungicida em estratégias anti-resistência.

A forma de utilização do produto também é importante, isto é, quando aplicado como curativo, as chances de desenvolvimento da resistência são maiores do que quando usado como protetor.

## OUTROS FATORES

Condições climáticas favoráveis à ocorrência de epidemias aceleram o desenvolvimento da resistência, pois permitem a intensa multiplicação do patógeno.

A aplicação de fungicidas em cultivos protegidos apresenta resultados diferentes da aplicação em campo, quanto à ocorrência de resistência. A barreira física das estufas dificulta a entrada de conídios. Assim, uma vez que a população resistente se desenvolveu, ela pode ser mais estável do que uma população similar em condições de campo, pois a competição entre as linhagens sensíveis e resistentes não é tão intensa quanto fora da estufa, onde há a livre movimentação de propágulos. Além disso, a sobrevivência e a disseminação da linhagem resistente apresentando menor adaptabilidade podem ser maiores no cultivo protegido do que no campo, devido às menores condições adversas.

A aplicação de fungicidas na estufa não está sujeita à ocorrência de deriva, nem outros fatores que degradam o produto na mesma velocidade que acontece no campo. Assim, a maior persistência do fungicida nas plantas em cultivo protegido também pode contribuir para aumentar a pressão de seleção de linhagens resistentes nessas condições. Por esses motivos, em muitos casos, a resistência se desenvolveu antes no cultivo protegido, sendo que no campo demorou um maior tempo para ocorrer.





## ESTRATÉGIAS ANTI-RESISTÊNCIA

A adoção de uma estratégia anti-resistência deve ser feita antes que ocorra o problema, pois uma vez que a população do patógeno se tornou resistente, a única possibilidade de controle reside na aplicação de um outro fungicida com diferente mecanismo de ação, ou um método não químico de controle. Por esse motivo, as empresas têm considerado o problema da resistência desde a seleção de novas moléculas, tendo como critério as informações sobre o risco do grupo a que pertence o produto (Dekker, 1995). A forma de lançamento no mercado, incluindo o registro e a recomendação de uso, e o acompanhamento do produto também são etapas fundamentais.

### MONITORAMENTO

A resistência a fungicidas pode ser detectada e avaliada de diversas formas, dependendo da combinação patógeno-hospedeiro-fungicida. Os princípios gerais, porém, são os mesmos para os diferentes organismos. O

reconhecimento de linhagens resistentes de fungos é feito por meio da comparação com os dados de linhagens sensíveis. Por esse motivo, está se tornando freqüente as companhias agroquímicas desenvolverem testes de sensibilidade de patógenos, antes da introdução de um novo fungicida no mercado. Tais estudos, denominados “base-line”, são realizados para obter dados da variabilidade inicial do patógeno quanto à sensibilidade ao novo fungicida nas principais áreas de plantio. Essas informações servem como referência para uma futura avaliação da ocorrência de resistência.

O “base-line” também visa desenvolver métodos eficientes, rápidos e acurados para determinar o grau de sensibilidade de um grande número de amostras de campo do fungo alvo. Assim, o método estará pronto para ser usado num programa de monitoramento. A importância do estabelecimento desse método decorre do fato da toxicidade variar conforme a concentração do fungicida, a quantidade de inóculo, a composição do meio de cultura, a temperatura, o pH e outros fatores. Dessa forma, uma linhagem supostamente resistente deve ser testada pelo método usado para estabelecer o “base-line” sem alterações. Além disso, esses estudos podem constatar a presença de isolados menos sensíveis que podem originar problemas futuros com resistência. Nesse caso, é interessante avaliar se a presença dessas linhagens em baixa freqüência está sendo detectada pelo método utilizado. Se constatadas, a caracterização da adaptabilidade dessas linhagens e sua alteração por meio de seleção são importantes para uma análise de risco de resistência.

De modo geral, segundo Brent & Hollomon (1998), mutantes cujo mecanismo genético de resistência é governado por poucos genes, com freqüência inferior a 1% da população em campo, dificilmente são detectados pelos métodos disponíveis. Com essa ocorrência, a perda de controle da doença pode ocorrer após uma ou duas aplicações do fungicida. Assim, uma previsão precoce do risco de resistência pode ser feita somente com o teste de um número muito grande de isolados, tornando-se impraticável. Estima-se que 300 amostras devem ser testadas para se obter 95% de chance de detectar a resistência na freqüência de 1%.

Mesmo assim, o monitoramento pode ser útil para a avaliação de risco em diversos casos onde a resistência é governada por poucos genes. Isso pode ocorrer em todas as situações nas quais o desenvolvimento da resistência foi retardado, como por exemplo, pelas características do próprio patógeno, apresentando poucos ciclos reprodutivos no ano, ou se apresenta baixa adaptabilidade. Por exemplo, a resistência de *Botrytis cinerea* a dicarboximidas foi detectada no monitoramento antes que o problema tomasse grandes proporções (Dekker & Georgopoulos, 1982). Nesse caso, as linhagens resistentes apresentavam menor sobrevivência na ausência do fungicida do que as linhagens selvagens. Também em áreas onde o fungicida foi introduzido posteriormente, ou onde seu uso foi menos intensivo, o monitoramento pode ajudar a avaliação do risco de resistência. Por exemplo, nos campos da Inglaterra, onde foi aplicada uma mistura de metalaxyl e mancozeb para o controle de *Phytophthora infestans* em batata, foi possível obter-se um alerta da possibilidade de ocorrência de resistência antes que o problema tomasse grandes proporções (Carter et al., 1982). Já na Holanda, onde o metalaxyl foi aplicado sozinho, o monitoramento só revelou a resistência após a ocorrência de sérios problemas de eficiência do produto em campo (Davidse et al., 1981).

Para resistência poligênica, trabalhos de “base-line” são fundamentais na indicação de risco. Tal resistência surge pela mudança gradual da sensibilidade, sendo que está envolvida uma série de mutações em diversos genes. Os estágios precoces desse processo podem ser detectados por testes de sensibilidade porque uma substancial proporção da população está envolvida e relativamente poucas amostras são necessárias.

Um interessante exemplo de estudo de “base-line” foi publicado por Olaya & Köller (1999), para o fungicida kresoxim-methyl, com populações de *Venturia inaequalis* em pomares comerciais de macieiras dos Estados Unidos. As populações, antes do lançamento do produto no mercado, apresentaram uniformidade quanto à sensibilidade a kresoxim-methyl. Não foram obtidos isolados resistentes a altas concentrações do fungicida, sendo

que  $4 \mu\text{g mL}^{-1}$  resultou num controle de 93 %, em testes *in vivo*. A  $DL_{50}$  média determinada para 25 populações do patógeno foi de  $0,35 \mu\text{g mL}^{-1}$ , sendo que os valores variaram no intervalo de 0,11 a  $0,75 \mu\text{g mL}^{-1}$ . Essas informações serão comparadas com os resultados de monitoramentos futuros. O método de monitoramento *in vivo* foi comparado com a germinação de conídios, porém, os resultados diferiram. Assim sendo, os testes *in vivo* são mais indicados para o monitoramento nesse caso, apesar de serem mais laboriosos, mais difíceis de serem padronizados e apresentarem maior variação de resultados.

Outro estudo de “base-line” foi publicado por Wong & Wilcox (2000) para o estabelecimento da sensibilidade a azoxystrobin de isolados de *Plasmopara viticola*, obtidos numa área de  $7000 \text{ km}^2$  de campos cultivados com videiras nunca pulverizadas com o fungicida, na região de Nova York, Estados Unidos. Além da sensibilidade inicial do patógeno, foi desenvolvido um método de monitoramento, sendo estudados os efeitos da idade da folha da videira, concentração do inóculo, acetona e Tween usados durante o teste e também a reproducibilidade do método.

Porém, mesmo para resistência poligênica, somente a constatação de uma população inicial altamente sensível não impede a ocorrência de resistência. Uma mudança gradual da sensibilidade pode ocorrer dependendo do uso do fungicida. Assim, o monitoramento deve ser realizado para verificar se as estratégias anti-resistência estão funcionando.

Ocorrendo falha no controle de uma doença, o monitoramento pode ser feito para comprovar se houve problema de resistência ou outro motivo. Nesse caso, informações de estudos de “base-line” são importantes para confrontar os resultados. A preservação das linhagens obtidas durante a realização dos testes de “base-line” é interessante para auxiliar tais comparações. Na ausência dessas, isolados podem ser obtidos em outras regiões sem problemas de resistência ou em coleções de microrganismos (Denholm et al., 1992). Os resultados devem ser sempre analisados com cautela, pois o isolamento de alguns fungos resistentes não implica em que o problema esteja ocorrendo na prática. É necessário que um número

significativo de testes seja realizado para provar que uma alta proporção da população está suficientemente resistente e patogênica para causar a doença e correlacionar essa incidência com a falha no controle.

Métodos de monitoramento encontram-se descritos em diversas publicações (Dekker & Georgopoulos, 1982; Ogawa et al., 1983). Com a intenção de padronizar os testes internacionalmente, a FAO (FAO, 1982) e o FRAC (FRAC, 1991; Gisi, 1992, Birchmore & Forster, 1996) apresentam detalhadamente os métodos recomendados para os principais grupos de fungicidas. Os métodos mais usados incluem o do fungicida incorporado ao meio de cultura (Figura 8), métodos que utilizam discos de folhas (Figura 9), folhas destacadas (Figura 10) e plantas (Figura 11).

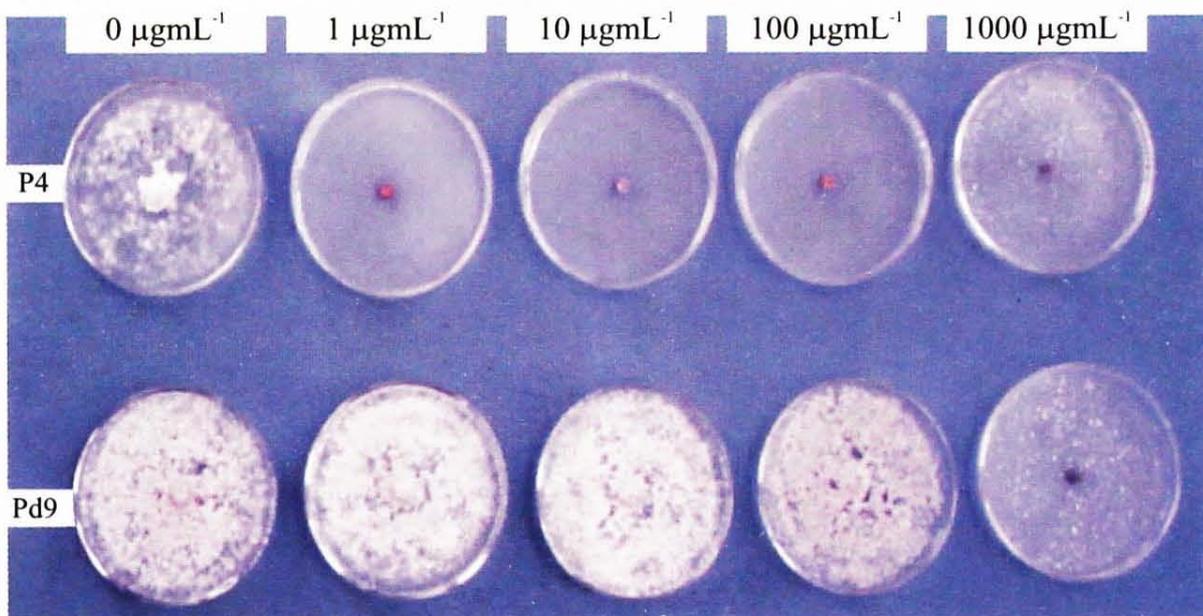


Figura 8. Método do fungicida incorporado ao meio de cultura para monitoramento de resistência de *Botrytis squamosa* a benomyl.



Figura 9. Método de disco de folha em suspensão do fungicida para monitoramento da resistência.



Figura 10. Método de folhas destacadac para monitoramento da resistência de *Plasmopara viticola* a fungicidas, em videiras.

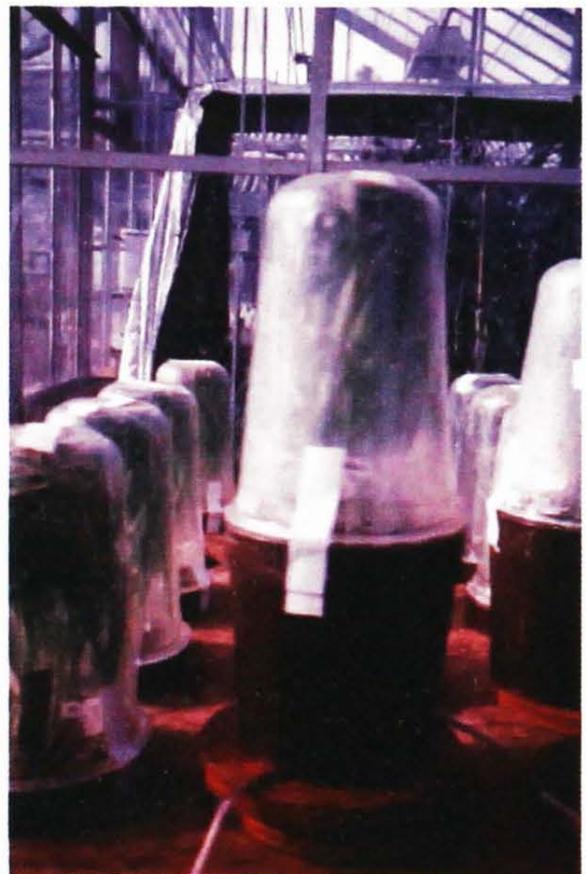


Figura 11. Método de multiplicação de linhagens de oídio em cereais para testes de monitoramento da resistência a fungicidas.

A escolha do método de monitoramento é extremamente importante, já que afeta diretamente o custo e a eficiência da avaliação. Em grandes áreas podem ser usadas armadilhas móveis de esporos, contendo plantas tratadas ou meio de cultura seletivo. Em alguns casos estão disponíveis métodos quantitativos automatizados, como por exemplo, para *Botrytis cinerea*. O monitoramento, descrito por Raposo et al. (1995), pode ser feito em placas para microtitulação, onde são colocados conídios do patógeno e meio de cultura com o fungicida. A leitura da absorbância é feita antes e após a incubação por 46 h, obtendo-se o resultado em pouco tempo e com significativa economia de material.

O desenvolvimento de técnicas moleculares trouxe uma importante ferramenta na detecção de linhagens resistentes de baixa frequência na população. O conhecimento da base molecular e as alterações no DNA que a acompanham permite a realização de testes sensíveis para a identificação de genes de resistência.

## REDUÇÃO DA PRESSÃO DE SELEÇÃO

### Dose e frequência de aplicação

A aplicação contínua, tanto no tempo como no espaço, de um determinado fungicida, ou de produtos que apresentam resistência cruzada, aumentará as chances de desenvolvimento de resistência. O número de aplicações do produto vulnerável deve ser limitado para cada ciclo da cultura, sendo usado somente nos períodos críticos. Desse modo, aplicações repetidas e desnecessárias devem ser evitadas, tanto como estratégia anti-resistência, como por razões econômicas e ambientais.

Extensas áreas tratadas com o mesmo ingrediente ativo, ou compostos relacionados, aumentam a pressão de seleção. A maior persistência de ação do produto também aumenta o risco, pois quanto maior o período de exposição do patógeno ao fungicida, maior será a pressão de

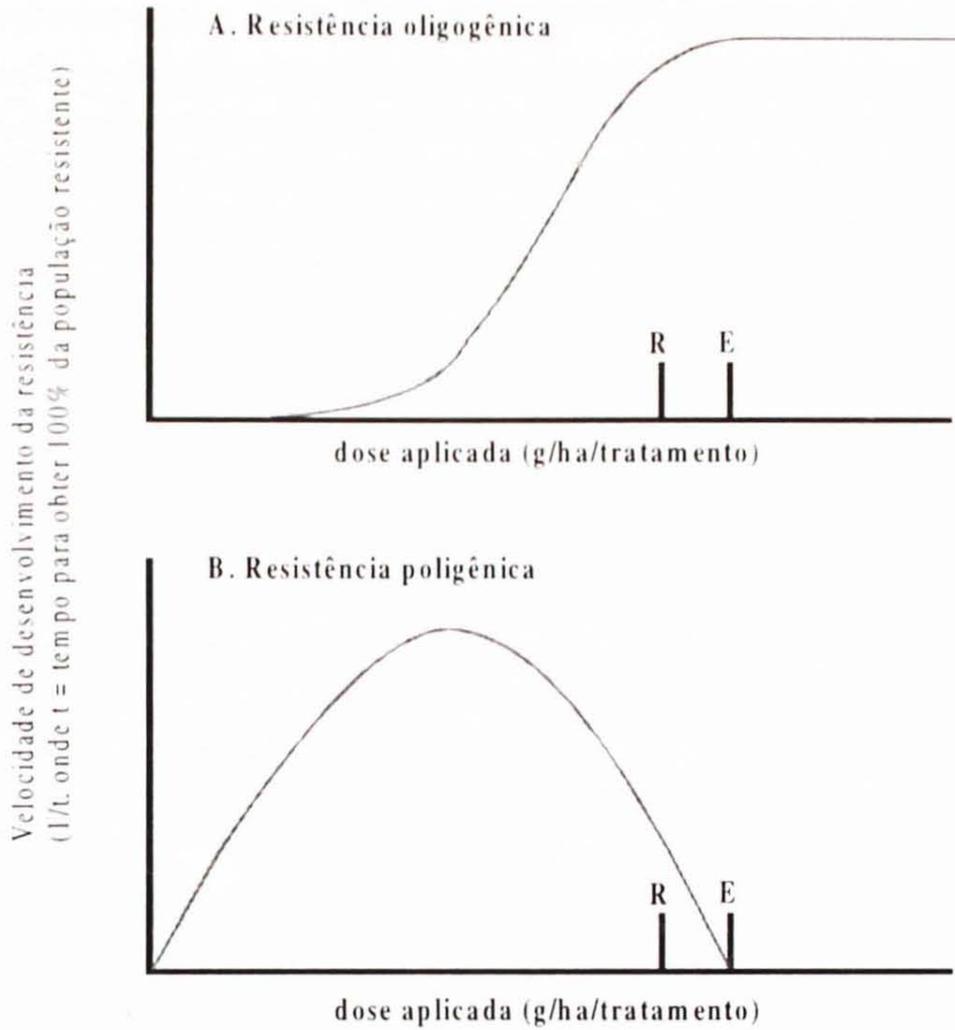
seleção. Assim, a escolha de métodos de aplicação, por exemplo, é importante na prevenção da resistência.

Algumas vezes, os agricultores reduzem a dose aplicada do fungicida, com o objetivo de economizar ou devido à adoção de outras medidas para o controle da doença, como o uso de variedades com certo grau de resistência. O efeito de sub-dosagens no desenvolvimento da resistência a fungicidas tem sido motivo de controvérsias durante anos, sendo poucos os dados a esse respeito, além de contraditórios. Segundo Brent & Hollomon (1998), há um consenso, baseado em modelos matemáticos, de que o risco de desenvolvimento da resistência governada por poucos genes aumenta com o aumento da dose, devido à maior pressão de seleção em favor de linhagens com alto grau de resistência (Figura 12). Essa conclusão foi obtida em diversos trabalhos de modelagem matemática (Ghini et al., 1994; Vendite & Ghini, 1999).

Da mesma forma, para a resistência poligênica, que é um processo que envolve vários passos, no início, o desenvolvimento é lento com baixas doses, porque há pouca pressão de seleção (Figura 12). Entretanto, essa velocidade atinge um máximo, em doses intermediárias, as quais selecionam linhagens com baixo grau de resistência, e declina com doses maiores, as quais eliminam tais linhagens. Porém, outros trabalhos de pesquisa com a verificação dos modelos são necessários para uma melhor análise dos efeitos das doses em análises de risco de resistência. Assim, em todos os casos, a dosagem recomendada no rótulo do produto é a que deve ser usada, por diversos motivos, inclusive o risco de resistência.

### **Misturar ou alternar fungicidas?**

Segundo Dekker (1995), de modo geral, não é possível afirmar qual é a melhor tática: misturar ou alternar fungicidas sistêmicos. A mistura pode ser mais efetiva em determinadas situações, enquanto que a alternância pode ser melhor em outras. Em muitos casos, seqüências mais complexas de aplicação podem ser as mais recomendadas, de forma a racionalizar o uso dos produtos e reduzir a pressão de seleção (Figura 13).



R = dose recomendada ( $DL_{50}$ )  
 E =  $DL_{100}$  da população original

Figura 12. Relação hipotética entre velocidade de desenvolvimento da resistência e dose aplicada do fungicida (Brent & Hollomon, 1998; reproduzido com permissão).

Programa	Tipo	Risco
A-A-A-A	repetição	alto
A-B-A-B	alternância	↓ baixo
(A+B)-(A+B)-(A+B)-(A+B)	mistura	
(A+B)-A-(A+B)-B	combinação	
B-B-(A+B)-B	combinação	

A=Fungicida com alto risco;  
 B=baixo risco.

Figura 13. Programas de aplicação de fungicidas e seus riscos de desenvolvimento de resistência.

O uso combinado de fungicidas implica na escolha de produtos que não apresentam resistência cruzada. Assim, produtos pertencentes a diferentes grupos químicos devem ser usados no programa de controle das doenças. Em misturas, desde que compatíveis e recomendadas, preferivelmente, deve ser escolhido um fungicida protetor ou outro com baixo risco de resistência, já que a combinação de dois produtos vulneráveis pode resultar em multipla-resistência.

### **Manejo integrado**

De modo geral, a recomendação básica é o manejo integrado das doenças, onde o fungicida vulnerável é aplicado quando for realmente necessária a sua utilização, com o aproveitamento de suas vantagens diferenciadas em relação aos demais produtos. O uso de métodos não químicos, como variedades resistentes, rotação de culturas, métodos culturais, físicos e biológicos, reduz o risco de resistência.

### **CONSCIENTIZAÇÃO DO PROBLEMA**

Os diversos segmentos envolvidos no controle químico de doenças de plantas devem estar conscientes do problema, suas causas e soluções. Somente a comunicação entre esses segmentos, com a transferência de informações e seu esforço conjunto, poderá evitar as sérias conseqüências advindas da resistência.

O treinamento por meio de cursos, palestras e publicações a respeito do assunto é fundamental, tanto para engenheiros agrônomos, vendedores ou profissionais ligados à assistência técnica, como para agricultores.

## Informações na Internet

A página do FRAC-Central na Internet (<http://www.gcpf.org/frac>) apresenta informações atualizadas referentes aos seis grupos de fungicidas: anilinopirimidinas, benzimidazóis, dicarboximidas, fenilamidas, inibidores da biossíntese do esterol e estrobilurinas (STAR, "Strobilurin type action and resistance"). Os membros das empresas agroquímicas participantes dos grupos de trabalho de cada grupo de fungicidas, assim como seus endereços, são informados. As mais recentes recomendações e estratégias de combate à resistência, para os principais patossistemas, estão disponíveis, sendo resultado de monitoramentos realizados em diversos países, especialmente da Europa, América do Norte e Central. Assim, essas recomendações são válidas somente para essas regiões. Como o Brasil apresenta condições diferentes, há a necessidade da realização de um trabalho semelhante de monitoramento para a elaboração de estratégias anti-resistência.

## MODELOS MATEMÁTICOS

A simulação, utilizando as ferramentas da informática, pode ser um importante instrumento no estudo da resistência a fungicidas. Numerosos modelos matemáticos foram propostos para prever o desenvolvimento da resistência, em diferentes situações (Delp, 1980; Kable & Jeffery, 1980; Skylakakis, 1981; Wolfe, 1982; Levy et al., 1983; Josepovits & Dobrovolszky, 1985; Levy & Levy, 1986; Chin, 1987; Milgroom & Fry, 1988; Shaw, 1989a; Milgroom, 1990; Vendite & Ghini, 1999). Esses modelos tratam da resistência do tipo oligogênica, assumindo a existência de duas sub-populações, que apresentam grande diferença quanto à sensibilidade ao fungicida. De modo geral, os modelos concluem que o rápido desenvolvimento da resistência está associado à maior multiplicação do patógeno, maior efetividade e persistência do fungicida, maior frequência inicial e adaptabilidade da linhagem resistente e o uso contínuo e exclusivo do fungicida vulnerável. Além disso, concluem que misturas ou alternância de fungicidas reduzem a velocidade de desenvolvimento da resistência, porém os resultados são contraditórios quanto às vantagens de uma em relação à outra, devido às premissas utilizadas para a construção dos modelos (Jeffery & Kable, 1982).

Modelos considerando a resistência do tipo poligênia foram propostos por Shaw (1989b), Josepovits (1989) e Birch & Shaw (1997). Os resultados obtidos foram semelhantes aos dos modelos anteriores.

Até o presente, os modelos disponíveis constituem interessantes instrumentos para estudos teóricos do assunto. Somente a verificação de tais modelos permitirá sua utilização prática, o que requer uma grande quantidade de dados, nem sempre disponíveis.

## LITERATURA CITADA

- ALFENAS, A. C.; DEMUNER, N. L.; SILVA, A. R. da. Benomyl resistant strain of *Cylindrocladium scoparium*, causal agent of cutting rot of *Eucalyptus grandis* in Brazil. **ISPP Chemical Control Newsletter**, n.10, p.23-25, 1988.
- BEEVER, R. E.; BRIEN, H. M. R. A survey of resistance to the dicarboximide fungicides in *Botrytis cinerea*. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, v.26, p.391-400, 1983.
- BETTIOL, W. Biological control of plant pathogens in Brazil: application and current research. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v.12, p.505-510, 1996.
- BIRCH, C. P. D.; SHAW, M. W. When can reduced doses and pesticide mixtures delay the build-up of pesticide resistance? A mathematical model. **Journal of Applied Ecology**, v.34, p.1032-1042, 1997.
- BIRCHMORE, R. J.; FORSTER, B. FRAC methods for monitoring the sensitivity of *Botrytis cinerea* to anilinopyrimidine fungicides. **Bulletin OEPP/EPPO Bulletin**, v.26, p.181-197, 1996.
- BOLLEN, G. J.; SCHOLTEN, G. Acquired resistance to benomyl and some other systemic fungicides in a strain of *Botrytis cinerea* in cyclamen. **Netherlands Journal of Plant Pathology**, v.77, p.83-90, 1971.

## **Resistência de Fungos a Fungicidas**

---

- BRENT, K. J.; HOLLOMON, D. W. **Fungicide resistance: the assessment of risk.** Brussels: GCPF, 1998. 48p. (FRAC Monograph, n.2).
- CABRINI, H.M.; KIMATI, H. Ocorrência de isolados de *Botrytis cinerea* Pers ex Fr. resistentes a benomyl em morangos (*Fragaria* spp.) no estado de São Paulo. **Summa Phytopathologica**, v.12, p.16, 1986.
- CARTER, G. A.; SMITH, R. M.; BRENT, K. J. Sensitivity to metalaxyl of *Phytophthora infestans* populations in potato crops in south-west England in 1980 and 1981. **Annals of Applied Biology**, v.100, p.433-441, 1982.
- CHIN, K. M. A simple model of selection for fungicide resistance in plant pathogen populations. **Phytopathology**, v.77, n.5, p.666-669, 1987.
- DAVIDSE, L. C.; FLACH, W. Differential binding of methyl benzimidazol-2-yl carbamate to fungal tubulin as a mechanism of resistance to this antimetabolic agent in mutant strains of *Aspergillus nidulans*. **The Journal of Cell Biology**, v.72, p.174-193, 1977.
- DAVIDSE, L. C.; LOOIJEN, D.; TURKENSTEEN, L. J.; VANDER WAL, D. Occurrence of metalaxyl-resistant strains of *Phytophthora infestans* in Dutch potato fields. **Netherlands Journal of Plant Pathology**, v.87, p.65-68, 1981.
- DEKKER, J. Resistance. In: MARSH, R.W. **Systemic fungicides**. 2. ed. London: Butler & Tanner, 1977. cap.9, p.176-197.
- DEKKER, J. Development of resistance to modern fungicides and strategies for its avoidance. In: LYR, H. (Ed.). **Modern selective fungicides: properties, applications, mechanisms of action**. 2. ed. New York: Gustav Fisher, 1995. p.23-38.
- DEKKER, J.; GEORGOPOULOS, S.G. **Fungicide resistance in crop protection**. Wageningen: Centre for Agricultural Publishing and Documentation, 1982. 265p.
- DELP, C.J. Coping with resistance to plant disease control agents. **Plant Disease**, v.64, p.652-658, 1980.
- DELP, C. J. **Fungicide resistance in North America**. St. Paul: APS Press, 1988. 133p.
- DENHOLM, I.; DEVONSHIRE, A. L.; HOLLOMON, D. W. **Resistance'91: achievements and developments in combating pesticide resistance**. London: Elsevier Applied Science, 1992. 367p.
- EDGINGTON, L.V.; MARTIN, R.A.; BRUIN, G.C.; PARSONS, I.M. Systemic fungicides: a perspective after 10 years. **Plant Disease**, v.64, n.1, p.19-23, 1980.
- ELAD, Y.; YUNIS, H.; KATAN, T. Multiple fungicide resistance to benzimidazoles, dicarboximides and diethofencarb in field isolates of *Botrytis cinerea* in Israel. **Plant Pathology**, v.41, p.41-46, 1992.

- ERICKSON, E. O.; WILCOX, W. F. Distributions of sensitivities to three sterol demethylation inhibitor fungicides among populations of *Uncinula necator* sensitive and resistant to triadimefon. **Phytopathology**, v.87, p.784-791, 1997.
- EUROPEAN AND MEDITERRANEAN PLANT PROTECTION ORGANIZATION. Fungicide resistance: definitions and use of terms. **Bulletin OEPP/EPPO Bulletin**, v.18, n.4, p.569-571, 1988.
- FANCELLI, M. I.; KIMATI, H. Ocorrência de linhagens de *Alternaria dauci* resistentes ao fungicida iprodione no estado de São Paulo. **Summa Phytopathologica**, v.14, n.1/2, p.51, 1988.
- FAO. Recommended methods for the detection and measurement of resistance of agricultural pests to pesticides. **FAO Plant Protection Bulletin**, v.30, p.36-71, 1982.
- FORTES, J. F. *Glomerella cingulata* e *Penicillium* sp.: surgimento de cepas resistentes ao benomil. **Fitopatologia Brasileira**, v.10, n.2, p.280, 1985.
- FORTES, J. F.; FERREIRA, E. Resistência de *Monilinia fructicola* (Wint.) ao benomil. **Fitopatologia Brasileira**, v.10, n.2, p.282, 1985.
- FRAC. FRAC methods for monitoring fungicide resistance. **Bulletin OEPP/EPPO Bulletin**, v.21, p.291-354, 1991.
- GEORGOPOLUS, S.G. The problem of fungicide resistance. **Bioscience**, v.19, n.11, p.971-973, nov. 1969.
- GEORGOPOLUS, S.G. The genetics of fungicide resistance. In: LYR, H. (Ed.). **Modern selective fungicides: properties, applications, mechanisms of action**. 2. ed. New York: Gustav Fisher, 1995. p.39-52.
- GHINI, R. Ocorrência e sensibilidade colateral de linhagens de *Botrytis cinerea* resistentes a benzimidazóis em berinjela, em Registro, SP. **Summa Phytopathologica**, v.16, n.1, p.36, 1990.
- GHINI, R. Ocorrência de resistência em linhagens de *Botrytis cinerea*, no estado de São Paulo. **Fitopatologia Brasileira**, v.21, n.2, p.285-288, 1996.
- GHINI, R.; KIMATI, H. Ocorrência de linhagens de *Botrytis squamosa* resistentes a fungicidas do grupo dos benzimidazóis e dicarboximidas. **Summa Phytopathologica**, v.15, p.246-256, 1989.
- GHINI, R.; KIMATI, H. Adaptabilidade de linhagens de *Botrytis squamosa* resistentes a fungicidas do grupo dos benzimidazóis e dicarboximidas. **Summa Phytopathologica**, v.16, p.253-262, 1990.
- GHINI, R.; KRUGNER, T. L. Ocorrência de *Botrytis cinerea* resistente a benomyl em viveiro de *Eucalyptus viminalis*, em Três Barras, SC. **Summa Phytopathologica**, v.13, n.1, p.36, 1987.

- GHINI, R.; VENDITE, L.L.; PETRUCCI, A.A. Dosagens de fungicidas: avaliação de seus efeitos na resistência de fungos através de um modelo matemático. **Fitopatologia Brasileira**, v. 19, n.4, p.514-519, 1994.
- GISI, U. FRAC methods for monitoring the sensitivity of fungal pathogens to phenylamide fungicides. **Bulletin OEPP/EPPO Bulletin**, v.22, n.2, p.298-322, 1992.
- GREEN, M. B.; LeBARON, H. M.; MOBERG, W. K. **Managing resistance to agrochemicals: from fundamental research to practical strategies**. Washington: American Chemical Society, 1990. 496p. (ACS Symposium Series, 421).
- HITCHCOCK, C. A. Resistance of *Candida albicans* to azole antifungal agents. **Biochemical Society Transactions**, v.21, p.1039-1047, 1993.
- HOLLOMON, D. W. Resistance to azole fungicides in the field. **Biochemical Society Transactions**, v.21, p.1047-1051, 1993.
- JEFFERY, H.; KABLE, P. F. Effects of alternating and mixing pesticides on fungal resistance buildup – a reply. **Phytopathology**, v.72, n.3, p.274, 1982.
- JOSEPH-HORNE, T.; HOLLOMON, D. W. Molecular mechanisms of azole resistance in fungi. **FEMS Microbiology Letters**, v.149, n.2, p.141-149, 1997.
- JOSEPOVITS, G. A model for evaluating factors affecting the development of insensitivity to fungicides. **Crop Protection**, v.8, p.106-113, 1989.
- JOSEPOVITS, G.; DOBROVOLSZKY, A. A novel mathematical approach to the prevention of fungicide resistance. **Pesticide Science**, v.16, p.17-22, 1985.
- KABLE, P. F.; JEFFERY, H. Selection for tolerance in organisms exposed to sprays of biocide mixtures: a theoretical model. **Phytopathology**, v.70, n.1, p.8-12, 1980.
- KENDALL, S. J.; HOLLOMON, D. W.; COOKE, L. R.; JONES, D. R. Changes in sensitivity to DMI fungicides in *Rhynchosporium secalis*. **Crop Protection**, v.12, n.5, p.357-362, 1993.
- KENDALL, S. J.; HOLLOMON, D. W.; ISHII, H; HEANEY, S. P. Characterisation of benzimidazole-resistant strains of *Rhynchosporium secalis*. **Pesticide Science**, v.40, p.175-181, 1994.
- KIMATI, H. Resistência de fitopatógenos a substâncias químicas usadas no controle de doenças de plantas. In: CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, 10., 1987, Piracicaba, SP. **Summa Phytopathologica**, v.13, n.1/2, p.72-74, 1987.
- KIRBY, A.H.M. Progress towards systemic fungicides. **PANS**, v. 18, n. 1, p. 1-33, 1972.

- LEVY, Y.; LEVY, R. S. Control strategies using systemic fungicides for limiting disease development and resistance buildup: practical implications of a simulation model. **Phytoparasitica**, v.14, n.4, p.303-312, 1986.
- 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**, v.73, n.11, p.1475-1480, 1983.
- LYR, H. **Modern selective fungicides: properties, applications, mechanisms of action**. 2. ed. New York: Gustav Fisher, 1995. 595p.
- LYR, H.; RUSSELL, P.E.; DEHNE, H.-W.; SISLER, H.D. **Modern fungicides and antigungal compounds**. Andover: Intercept, 1996. 578p.
- LYR, H.; RUSSELL, P.E.; DEHNE, H.-W.; SISLER, H.D. **Modern fungicides and antigungal compounds II**. Andover: Intercept, 1999. 505p.
- MARIOTTO, P. R. Ocorrência de resistência a benomil em *Cescosporidium personatum* (Berk. & Curt.) Deighton, no estado de São Paulo. **O Biológico**, v.51, n.12, p.315-317, 1985.
- MARTINS, F.T.; OLIVEIRA, A.M.R.; DUARTE, V. Resistência de *Guinardia citricarpa* ao fungicida benomyl. **Fitopatologia Brasileira**, v.23 (supl.), p.256, 1998.
- MILGROOM, M. G. A stochastic model for the initial occurrence and development of fungicide resistance in plant pathology populations. **Phytopathology**, v.80, n.4, p.410-416, 1990.
- MILGROOM, M. G.; FRY, W. E. A simulation analysis of the epidemiological principles for fungicide resistance management in pathogen populations. **Phytopathology**, v.78, n.5, p.565-570, 1988.
- MOSCA, J.L.; GHINI, R.; ROBBS, C.F. Ocorrência e sensibilidade colateral de linhagens de *Botrytis cinerea* resistentes a benzimidazóis em roseiras em estufas, no estado de São Paulo. **Fitopatologia Brasileira**, v.14, n.2, p.148, 1989.
- NOGUEIRA, E. M. C.; TOLEDO, A. C. D.; SORDI, I. M. P. *Plasmopara viticola* resistente ao metalaxyl no estado de São Paulo. **Fitopatologia Brasileira**, v.13, n.2, p.103, 1988.
- OGAWA, J. M.; MANJI, B. T.; HEATON, C. R.; PETRIE, J.; SONODA, R. M. Methods for detecting and monitoring the resistance of plant pathogens to chemicals. In: GEORGHIOU, G. P.; SAITO, T. (Eds.). **Pest resistance to pesticides**. New York: Plenum Press, 1983. p.117-162.
- OLAYA, G.; KÖLLER, W. Baseline sensitivities of *Venturia inaequalis* populations to strobilurin fungicide kresoxim-methyl. **Plant Disease**, v.83, n.3, p.274-278, 1999.

- RAPOSO, R.; COLGAN, R.; DELCAN, J.; MELGAREJO, P. Application of an automated quantitative method to determine fungicide resistance in *Botrytis cinerea*. **Plant Disease**, v.79, n.3, p.294-296, 1995.
- REIS, E. M.; CASA, R. T.; BLUM, M. M. C.; CARMONA, M.; BARRETO, D. Sensibilidade de *Drechslera teres* ao fungicida triadimenol usado em tratamento de sementes de cevada. **Fitopatologia Brasileira**, v.22, n.4, p.539-542, 1997.
- REMIRO, D.; KIMATI, H. Resistência a benomil e tiofanato em *Mycosphaerella fragariae* (Tul.) Lind. **O Biológico**, v.40, p.22-24, 1974.
- SANTOS, B. A.; ZAMBOLIM, L.; VENTURA, J. A.; VALE, F. X. R. Resistência de *Fusarium subglutinans* f. sp. *ananas* ao benomyl. **Fitopatologia Brasileira**, v.24, n.3, p.436-439, 1999.
- SCHEPERS, H. T. A. M. Changes during a three-year period in the sensitivity to ergosterol biosynthesis inhibitors of *Sphaerotheca fuliginea* in the Netherlands. **Netherlands Journal of Plant Pathology**, v.91, p.105-118, 1985.
- SCHROEDER, W. T.; PROVVIDENTI, R. Resistance to benomyl in powdery mildew of cucurbits. **Plant Disease Reporter**, v.53, p.271-275, 1969.
- SHAW, M. W. Independent action of fungicides and its consequences for strategies to retard the evolution of fungicide resistance. **Crop Protection**, v.8, p.405-411, 1989a.
- SHAW, M. W. A model of the evolution of polygenically controlled fungicide resistance. **Plant Pathology**, v.38, p.44-55, 1989b.
- SKYLAKAKIS, G. Effects of alternating and mixing pesticides on the buildup of fungal resistance. **Phytopathology**, v.71, n.11, p.1119-1121, 1981.
- TANAKA, M.A.S.; PASSOS, F.A.; BETTI, J.A. Resistência de *Colletotrichum fragariae* e *C. acutatum* ao benomyl na cultura do morango no estado de São Paulo. **Scientia Agricola**, v.54, n.3, p.139-146, 1997.
- URECH, P. A.; EGLI, T. A. FRAC – grupo de ação de resistência a fungicidas: reflexão dez anos após sua criação. **Summa Phytopathologica**, v.17, n.2, p. 85-89, 1991.
- VENDITE, L. L.; GHINI, R. A mathematical model for fungal population growth and the fungicide resistance problem. **Journal of Biological Systems**, v.7, n.2, p.239-349, 1999.
- WHEELER, I. E.; KENDALL, S. J.; BUTTERS, J.; HOLLOMON, D. W. Using allele-specific oligonucleotide probes to characterize benzimidazole resistance in *Rhynchosporium secalis*. **Pesticide Science**, v.43, p.201-209, 1995.
- WOLFE, M. S. Dynamics of the pathogen population in relation to fungicide resistance. In: DEKKER, J.; GEORGOPOULOS, S.G. **Fungicide resistance in**

**crop protection.** Wageningen: Centre for Agricultural Publishing and Documentation, 1982. p.139-148.

WONG, F. P.; WILCOX, W. F. Distribution of baseline sensitivities to azoxystrobin among isolates of *Plasmopara viticola*. **Plant Disease**, v.84, n.3, p.275-281, 2000.

ZIOGAS, B. N.; BALDWIN, B. C.; YOUNG, J. E. Alternative respiration: a biochemical mechanism of resistance to azoxystrobin (ICIA5504) in *Septoria tritici*. **Pesticide Science**, v.50, p.28-34, 1997.



**O uso contínuo de fungicidas na agricultura pode resultar na seleção de fungos fitopatogênicos resistentes, que não são controlados pelo produto. Tal problema pode gerar graves conseqüências, como aumento de custos, resíduos em alimentos e contaminações ambientais. Os diversos segmentos da sociedade envolvidos no controle químico de doenças de plantas devem estar conscientes do problema da resistência, suas causas e soluções.**

**Este livro aborda temas básicos como os conceitos envolvidos, os grupos de fungicidas e seus mecanismos de ação, os mecanismos e a genética da resistência, além de fatores de risco e estratégias anti-resistência.**

**A obra foi elaborada de forma a ser utilizada por profissionais envolvidos no controle químico de doenças de plantas, como engenheiros agrônomos, técnicos, agricultores, e também por estudantes e leigos interessados no assunto.**

ISBN 85-85771-10-0



9 788585 771102

**Embrapa**  
**Meio Ambiente**



**GOVERNO FEDERAL**  
Trabalhando em todo o Brasil