

Resistência de Fungos a Fungicidas Inibidores de Quinona

Douglas Ferreira Parreira¹, Wânia dos Santos Neves², Laércio Zambolim¹

Resumo – Um grande problema no controle de doenças na agricultura é a ocorrência de populações resistentes aos produtos utilizados. Nos últimos anos, uma classe de fungicidas que vem ganhando destaque são os QoI's, que atuam na respiração mitocondrial se ligando ao sítio Qo do citocromo bc1. Devido ao uso excessivo desses produtos, vários casos de resistência já foram relatados em condições de campo. Estudos moleculares identificaram algumas mutações no sítio alvo, sendo a mais comum a troca de glicina por alanina na posição 143 (G143A). Outros mecanismos de resistência também foram identificados, como a ocorrência de respiração alternativa e o bombeamento do produto para fora da célula fúngica por um processo de xenobiose. A compreensão sobre os mecanismos de resistência auxilia na elaboração de estratégias anti- resistência para serem empregadas nos programas de manejo das culturas.

Palavras-chave: Populações resistentes, mecanismos de resistência, controle químico

Resistance of Fungi to Fungicides Quinone Inhibitors

Abstract – A major problem on the control of diseases in agriculture is the occurrence of resistant populations of plant pathogenic fungi to the specific systemic fungicides. In recent years a new class of fungicides that is becoming important is the QoI's. The QoI's fungicides block the mitochondrial respiration to the Qo site of cytochrome BC1. Due to excessive use of the specific systemic fungicides to control plant diseases, there have been many reports on the resistance of plant pathogenic fungi in the field. Molecular studies identified several mutations in the target site. The most common is the exchange of glycine by alanine at position 143 (G143A). Other mechanisms of resistance were also identified as the occurrence of alternative respiration and pumping the product out of the fungal cell by a process of xenobiose. The understanding of the mechanisms of resistance helps in the development of anti-resistance strategies to be applied in crop management systems.

Keywords: Resistant populations, mechanisms of resistance, chemical control

INTRODUÇÃO

Com o aumento da população mundial, torna-se necessário a busca de tecnologias para o aumento da produção de alimentos. Tais tecnologias visam combater alguns fatores que são limitantes à produção agrícola, como é o caso de doenças, pragas e plantas daninhas. Para o combate a doenças, o uso de produtos químicos é a tecnologia mais usada até o momento. Um dos sérios problemas que o controle de doenças pelo emprego de fungicidas enfrenta é o surgimento de estirpes de fungos fitopatogênicos resistentes na população (Ghini & Kimati, 2000). Assim como outros organismos vivos, quando ameaçados, os fungos podem desenvolver mecanismos que lhe confirmam resistência a produtos tóxicos, para que se perpetue a sobrevivência da espécie. A grande capacidade de multiplicação e a diversidade dos fungos fornecem oportunidade para a seleção de linhagens resistentes surgidas espontaneamente. Assim, numa população de fungos fitopatogênicos 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 sistêmico com modo de ação específico seleciona as células resistentes, eliminando as sensíveis. Ao longo dos anos, com o uso intensivo desses fungicidas, os fungos adquirem resistência aos produtos.

Fungicidas como ditiocarbamatos, dinitrofenólicos e clorofenólicos têm sido utilizados frequentemente há anos, sem que resistência tenha surgido na população dos fungos sensíveis a esses produtos (Brent, 1995). A partir de 1960, outros fungicidas foram introduzidos no mercado, com um potencial maior que os citados anteriormente. Na década de 1980, as introduções de fungicidas no mercado nacional foram basicamente de produtos similares aos fungicidas existentes. No final do século XX, vários compostos com ação fungicida foram lançados comercialmente, destacando-se os fenilpirrólicos, anilino pirimidinas, e análogos da estrobilurina (Brent, 1995; Brent

Recebido e aceito

¹ Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Fitopatologia. CEP 36570-000, Viçosa-MG. E-mail: douglas2002ufv@yahoo.com.br

² Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais, Unidade Regional EPAMIG Norte de Minas. E-mail: wanianeves@epamig.br

& Hollomon, 1998).

As estrobilurinas, grupos de compostos químicos extraídos do fungo *Strobilurus tenacellus*, são usados na agricultura como fungicidas (Figura 1). Estes compostos fazem parte do grupo dos inibidores de quinona oxidase (QoI), cuja toxicidade advém da inibição da cadeia respiratória ao nível do Complexo III, impedindo a cadeia bioquímica de transferência de elétrons no sítio da mitocôndria, interferindo na respiração do patógeno (Ghini & Kimati, 2000). São tipicamente absorvidas pela cutícula do fungo, agindo como fungicidas protetores (Vincelli, 2002). As estrobilurinas são conhecidas como fungicidas inibidores de quinona, por terem como único modo bioquímico de ação a inibição da respiração mitocondrial atuando no sítio Qo (quinona oxidase) (Figura 2). Algumas das estrobilurinas mais comuns são a azoxistrobina, metil-cresoxima, picoxistrobina, fluoxastrobina, orizastrobina, dimoxiystrobina, piraclostrobinina e trifloxistrobina. A descoberta do poder fungicida das estrobilurinas representou um significativo desenvolvimento na produção de fungicidas baseados em compostos derivados de fungos.



Figura 1. *Strobilurus tenacellus*.

Fonte: Zeneca Agrícola. Perfil Técnico – Amistar, 1998.

Uma resposta das plantas que despertou o interesse agrônomo sobre o grupo dos QoI's foi o efeito fisiológico. A aplicação de estrobilurinas resultou no aumento de produtividade para algumas culturas como o milho e a soja (Dourado Neto, 2005; Fagan, 2007). As estrobilurinas quando aplicadas sobre as plantas atuam na ativação da enzima NADH-nitrato redutase, aumentando a assimilação de nitrato e sua posterior incorporação nas moléculas vitais da planta, como a clorofila. Além disso, ocorre o aumento na eficiência na assimilação de CO₂, a elevação da taxa fotossintética e a redução da taxa respiratória. Outro efeito promissor é a redução na produção de etileno, que retarda a senescência das folhas, aumentando o período que a planta permanece com a fotossíntese ativa (Venâncio et al., 2003; Oliveira, 2005; Fagan, 2007). A redução na produção de etileno pela planta e o retardamento da senescência das folhas foram comprovados nas culturas da soja (Dourado Neto et al., 2005; Fagan, 2007) e do milho (Dourado Neto et al., 2005).

Alguns fungicidas atuam controlando ampla gama de doenças fúngicas e são denominados de fungicidas com modo de ação não específico. Por outro lado, outros produtos apresentam espectro limitado de atividade contra um ou dois grupos específicos de fitopatógenos e são conhecidos como fungicidas com modo de ação específico. A especificidade dos fungicidas, principalmente dos sistêmicos, faz com que haja alto risco de resistência adquirida pelo patógeno (Rodrigues et al., 2007; Zambolim et al., 2007). Portanto, a alta pressão de seleção causada pelo uso intensivo de fungicidas, como os benzimidazóis, pode resultar na seleção de isolados de fungos resistentes em um curto período de tempo. Com o aparecimento da resistência, o controle de algumas doenças, como o mofo cinzento em videiras (*Botrytis cinerea*) ou a sigatoka negra em banana (*Mycosphaerella fijiensis*), depende muito mais da ação de apenas um ou dois tipos de fungicidas (Brent, 1995). Os fungicidas mesostêmicos de ação translaminar (Figura 3), como as estrobilurinas, também possuem ação específica sobre o patógeno. Por ter um único local de ação nas células

fúngicas, o emprego contínuo das estrobilurinas pode representar alto risco de aquisição de resistência para populações fúngicas (Vincelli, 2002; Rodrigues et al., 2007).

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho é discutir e elucidar alguns aspectos sobre a resistência de fungos a fungicidas inibidores de quinona (QoI).

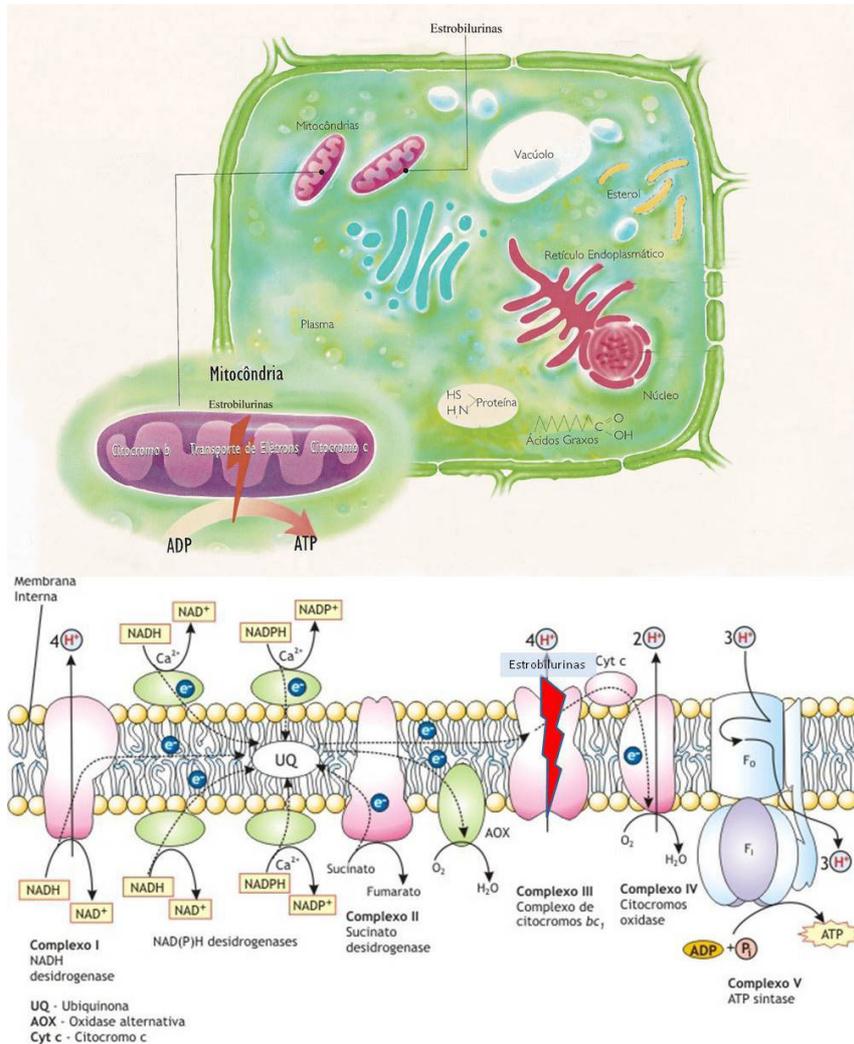


Figura 2. Célula fúngica, com detalhe do local de atuação (seta vermelha) das estrobilurinas no complexo III da cadeia de transporte de elétrons, situada nas cristas mitocondriais.

Fonte: Zeneca Agrícola. Perfil Técnico – Amistar., 1998; Zambolim et al., 2007.

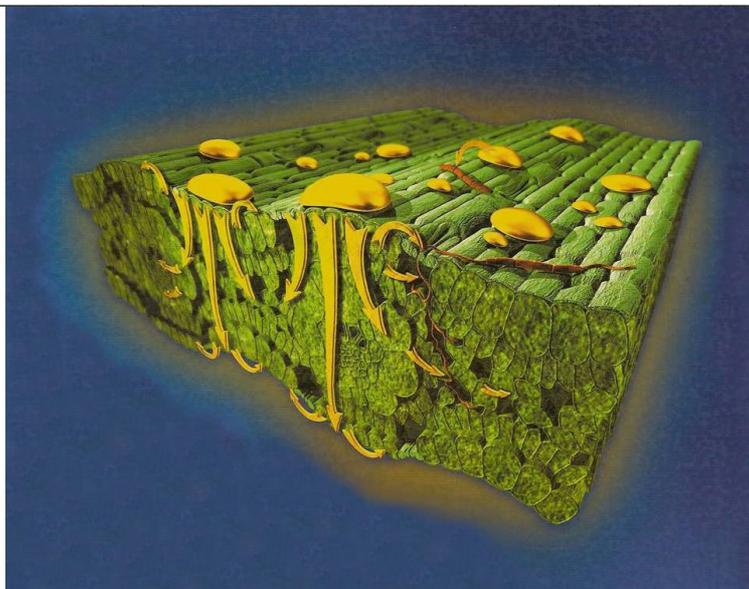


Figura 3. As gotas representam a cobertura do fungicida durante a aplicação e as setas representam o seu movimento mesostêmico e translaminar.

Fonte: BASF - Manual Técnico COMET – Citros, 2004.

REVISÃO DE LITERATURA

Mecanismos de Resistência de Fungos a Fungicidas Inibidores de Quinona

Vários fatores influenciam a velocidade do desenvolvimento de resistência, tais como: a base genética da resistência, as características da linhagem resistente, a natureza do patógeno e da doença e a pressão de seleção exercida pelo uso do fungicida com modo de ação específico. A resistência adquirida pela população do patógeno ao produto é diretamente proporcional às doses aplicadas, à frequência de aplicação, ao grau de cobertura obtido, à persistência na cultura ou no solo e ao tamanho da área tratada. Dessa forma, a tomada de decisão de como vai ser feito o controle químico é um dos pontos fundamentais para evitar o surgimento da resistência (Ghini & Kimati, 2000).

A natureza exata das alterações dos aminoácidos nas proteínas alvo que causam resistência somente é conhecida no caso dos fungicidas benzimidazóis, inibidores da demetilação (DMI) e estrobilurinas (Davidse & Ishii, 1995; Delye et al., 1998; Gisi et al., 2000). Segundo Davidse & Ishii (1995), foram relatados altos níveis de resistência às estrobilurinas e fungicidas similares em diversos fungos. Ghini & Kimati (2000) relatam que as estrobilurinas interferem na respiração mitocondrial, ao bloquear a transferência de elétrons pelo complexo citocromo bc1 e que, de modo geral, fungicidas pertencentes a um mesmo grupo químico apresentam resistência cruzada. Entre os benzimidazóis, o carbendazim e o tiofanato metílico são os produtos utilizados para citros e passíveis de resistência cruzada. Para as estrobilurinas, a resistência cruzada pode ocorrer para a azoxistrobina, trifloxistrobina e piraclastrobina. Essa informação é importante na adoção de estratégias anti-resistência (Rodrigues et al 2007).

Logo após a introdução comercial dos QoI em 1996 foram detectados isolados resistentes de *Podospora fusca*, agente causal do míldio pulverulento das cucurbitáceas, em muitas partes do mundo (Fernández-Ortuño et al., 2006). Na maioria dos casos de resistência descritos ocorreu uma mudança pontual no citocromo b, trocando o aminoácido guanina na posição 143 por alanina. Em *P. fusca* foram encontrados dois isolados resistentes com o mesmo tipo de mutação. Em regiões com alta incidência de populações resistentes, o uso de QoI tem que ser reavaliado, sendo necessário a implantação de um programa de manejo de resistência aos QoI em cucurbitáceas. Isso leva a uma reconsideração quanto ao uso de QoI isoladamente no controle de míldios pulverulentos. (Fernández-Ortuño et al., 2006).

Mutantes de *Botrytis cinerea* com moderada a alta resistência a piraclostrobina (QoI), um inibidor do complexo mitocondrial transportador de elétrons do citocromo bc1, foram isolados após a mutagênese química e seleção em meio contendo piraclostrobina (Markoglou *et al.*, 2006). Os autores realizaram estudos moleculares e observaram que os mutantes de *B. cinera* comparados com o isolado parental selvagem apresentaram duas mudanças pontuais, uma troca de glicina (GGT) por serina (AGT) na posição 143 (G143S), encontrada no isolado com alta resistência fenotípica, e a troca do aminoácido fenilalanina (TTC) por leucina na posição 129 (F129L). Em estudos bioquímicos de isolados resistentes a estrobilurinas foi observado um mecanismo de respiração alternativo, sendo esse então considerado um mecanismo bioquímico de resistência. Esse é o primeiro relato indicando a existência do potencial genético e bioquímico para o desenvolvimento de resistência no campo de *B. cinera* a fungicidas inibidores de quinona (Markoglou *et al.*, 2006).

Segundo Malandrakis *et al.* (2006), o surgimento de espécies fúngicas resistentes a moléculas dos grupos dos benzimidazóis, triazóis e ditiocarbamatos, aumenta a necessidade por estratégias anti-resistência e por novas moléculas com mecanismo de ação sítio-específico. Durante a última década, a pesquisa produziu uma gama diversa de agentes fungicidas com diversos modos de ação. Os QoIs, por exemplo, apresentam espectro de atividade amplo, abrangendo espécies das quatro maiores classes dentro dos fungos: Ascomycetes, Basidiomycetes, Deuteromycetes e Oomycetes (Ammermann *et al.*, 2000). Malandrakis *et al.* (2006) realizaram estudos para investigar a resistência de *Cercospora beticola* a estrobilurinas e sua base molecular em mutantes obtidos em laboratório. Por meio da exposição à luz ultravioleta foi possível obter mutantes de *C. beticola* com alta, média e baixa resistência ao fungicida piraclostrobina. Os resultados obtidos pelos autores indicam que mecanismos bioquímicos alternativos não são responsáveis pela redução de sensibilidade a piraclostrobina. No estudo de parâmetros fisiológicos, os autores mostraram que a maioria dos mutantes teve redução significativa na esporulação e na patogenicidade quando comparados com o isolado parental selvagem. A análise molecular dos mutantes comprovou a ocorrência de duas mutações pontuais, com resultados semelhantes aos obtidos por Markoglou *et al.* (2006). Nesse caso, houve uma troca de glicina (GGT) por serina (AGT) na posição 143 (G143S), essa encontrada no isolado com alta resistência fenotípica, o segundo aminoácido trocado foi uma fenilalanina (TTC) por valina (GTC) na posição 129 (F129V), encontrada nos mutantes com resistência moderada (Malandrakis *et al.*, 2006).

Mutantes de *Magnaporthe grisea* resistentes a azoxystrobina foram gerados e caracterizados em um estudo realizado por Avila-Adame & Köller (2003). Dois tipos de mutantes foram caracterizados com mutações no sítio de ação 143, sendo G143A ou G143S. A mutação foi estável mesmo com o cultivo do patógeno em vários ciclos na ausência de azoxystrobina. Os autores observaram que o crescimento residual do micélio de *M. grisea* é facilitado pela respiração alternativa e contribui para a geração de mutantes espontâneos e estáveis no citocromo-b, podendo resistir a elevadas doses de azoxystrobina. Porém, apesar da alteração no mecanismo de respiração ser um mecanismo de resistência do fungo, Avila-Adame & Köller (2003) observaram que, na prática, tais mecanismos de respiração alternativa estão longe de serem relacionados com a resistência de *M. grisea* ao fungicida.

Três substituições de aminoácidos foram detectadas nos genes do citocromo-b em patógenos de plantas, governando a resistência aos fungicidas inibidores de quinona (Sierotzki *et al.*, 2000a; 2002b; Gisi *et al.*, 2002; Avila-Adame & Köller, 2003; Malandrakis *et al.*, 2006; Markoglou *et al.*, 2006; Sierotzki *et al.*, 2007):

- Mudança de glicina por alanina na posição 143: G143A
- Mudança de fenilalanina por leucina na posição 129: F129L
- Mudança de glicina por arginina na posição 137: G137R

De acordo com alguns autores (Sierotzki *et al.*, 2000a, 2000b; Gisi *et al.*, 2000) todas as mutações G143A, G137R e F129L são baseadas no polimorfismo de um único nucleotídeo no gene do citocromo-b e o processo de seleção qualitativo ocorre em um único passo. Baseado no conhecimento de que os fatores de resistência (RF) são medidos por meio da dose efetiva (DE₅₀) da

população resistente dividida pela dose efetiva (DE₅₀) da população selvagem, a associação com G143A, G137R e F129L gera diferentes fatores de resistência, na maioria dos casos entre 5-15% e em poucos casos acima de 50%. Fatores de resistência relacionados com G143A, na maioria dos casos, atingem valores maiores que 100, significando que esses isolados expressam resistência alta, ou seja, completa. Isolados com mutações G137R e F129L expressam resistência moderada (parcial), sendo ainda controlados pelo uso de fungicidas inibidores de quinona. Nas populações resistentes, as mutações seguem a distribuição: G143A 56%, G143A+F129L 24% e F129L 24%. A mutação G137R foi encontrada somente em *Pyrenophora tritici-repentis*, em uma frequência muito baixa (Sierotzki et al., 2007).

No trabalho de Fernández-Ortuño e colaboradores (2008), além das mutações G143A, F129L e G137R, outros mecanismos de resistência foram abordados. A ocorrência de respiração alternativa ‘*in vitro*’ forneceu suporte energético à célula fúngica, mas em condições de campo isso foi limitado devido ao baixo rendimento do processo (eficiência de 40%). Nos processos de germinação do esporo e da penetração do tecido do hospedeiro, grande quantidade de energia é demandada, sendo a respiração alternativa insuficiente para a célula fúngica. Outro problema encontrado são os antioxidantes produzidos pela planta no processo de infecção. Tais compostos antioxidantes, como as flavonas, reagem com as formas reativas de oxigênio da célula fúngica necessárias para a indução da respiração alternativa. Proteínas de efluxo situadas na membrana bombeiam para fora da célula fúngica compostos tóxicos. Tal fenômeno foi primeiramente encontrado em *Aspergillus nidulans*, protegendo-o contra ampla gama de fungicidas, dentre eles, as estrobilurinas. Esse mecanismo também foi relatado em isolados resistentes de *Mycosphaerella graminicola*, mas que possuíam a mutação G143A, sugerindo que nesse caso o efluxo tem pouca importância no tocante à resistência.

Nos basidiomicetos, especialmente em espécies de *Puccinia*, a resistência aos QoIs surpreendentemente não foi encontrada até agora, mesmo com o uso constante de estrobilurinas. Com o estudo do material genético do citocromo-b, constatou-se a presença de um íntron (região do RNA que não é codificada, sendo retirada para preservar os éxons) logo após o códon de glicina na posição 143, a substituição desse nucleotídeo impede o ‘splicing’ (retirada dos íntrons e união das regiões codificadoras-éxons), o que resulta em uma deficiência no citocromo-b, presumidamente uma mutação letal (Grasso et al., 2006). Contudo, foi relatado um isolado de *Puccinia horiana*, agente causal da ferrugem branca do crisântemo que apresentou tolerância a estrobilurina, mas os mecanismos responsáveis por tal evento ainda não foram elucidados (Cook, 2001).

Fungos Resistentes a Fungicidas Inibidores de Quinona

Na Tabela 1 estão listados alguns fungos com resistência em nível de campo a fungicidas inibidores de quinona, destacando ainda seus hospedeiros, tipo de resistência e sua distribuição geográfica.

Tabela 1. Lista de Patógenos Resistentes em Nível de Campo a Fungicidas Inibidores de Quinona (QoI)

Patógeno	Hospedeiro	Distribuição Geográfica	Tipo de Resistência	Referência
<i>Alternaria alternata</i> <i>A. tenussima</i> <i>A. arborescens</i>	Pistache	EUA	G143A	Ma et al. (2003) & Michailides (2004)
<i>Alternaria alternata</i>	Batata e Tomate	Europa	G143A	FRAC
<i>Alternaria mali</i>	Maçã	EUA	G143A	Lu et al. (2003)
<i>Alternaria solani</i>	Batata	EUA	F129L	Pasche et al. (2002)
<i>Blumeria graminis</i> f. sp. <i>tritici</i> e <i>hordei</i>	Trigo	Europa	G143A	Sierotzki et al. (2000a)
<i>Botrytis cinérea</i>	Morango	Europa	G143A	FRAC
<i>Colletotrichum graminicola</i>	Gramados	EUA	G143A e F129L	Avila-Adame et al. (2003)
<i>Corynespora cassiicola</i>	Melão	Japão	G143A	Ishii (2004)
<i>Didymella bryoniae</i>	Abóbora	EUA	G143A	Langston (2002)
<i>Erysiphe necator</i>	Uvas	EUA, Europa	G143A	FRAC
<i>Glomerella cingulata</i> (<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>)	Morango	Japão	G143A	Ishii (2004)
<i>Microdochium nivale</i> , <i>M. majus</i>	Trigo	Europa	G143A	FRAC
<i>Mycosphaerella fijiensis</i>	Banana	América do Sul e Central	G143A	Sierotzki et al. (2000a)
<i>Mycosphaerella graminicola</i>	Trigo	Europa	G143A	Sierotzki et al. (2005)
<i>Mycosphaerella musicola</i>	Banana	América do Sul	G143A	FRAC
<i>Mycovellosiella natrassii</i>	Berinjela	Japão	G143A	Ishii (2004)
<i>Plasmopara viticola</i>	Uva	Europa	G143A e F129L	Heaney et al. (2000)
<i>Pseudoperonospora cubensis</i>	Abóbora	Europa e Ásia	G143A	Heaney et al. (2000)
<i>Pyrenophora teres</i>	Cevada	Europa	F129L	Ishii et al. (2001) Semar et al. (2007)
<i>Pyrenophora tritici-repentis</i>	Trigo	Europa	G143A, F129L e G137R	Sierotzki et al. (2006) Stammler et al. (2006)

Continua...

Continuação. Tabela 1. Lista de Patógenos Resistentes em Nível de Campo a Fungicidas Inibidores de Quinona (QoI)

Patógeno	Hospedeiro	Distribuição Geográfica	Tipo de Resistência	Referência
<i>Pyricularia grisea</i>	Gramados	EUA	G143A e F129L	Vincelli & Dixon (2002); Kim et al, (2003)
<i>Pythium aphanidermatum</i>	Gramados	EUA	F129L	Gisi et al, (2002)
<i>Ramularia aréola</i>	Algodão	Brasil	?	FRAC
<i>Ramularia collo-cygni</i>	Cevada	Europa	G143A	FRAC
<i>Rhynchosporium secalis</i>	Cevada	Europa	G143A	FRAC
<i>Sphaerotheca fuliginea</i>	Curcubitáceas	Europa e Ásia	G143A	Heaney et al, (2000) Ishii et al, (2001)
<i>Stemphylium vesicarium</i>	Aspargo e Pêra	Europa	G143A	FRAC
<i>Venturia inaequalis</i>	Maçã	Europa	G143A	Steinfeld et al, (2002)
<i>Venturia prima</i>	Pêra	EUA	G143A	FRAC

Fonte: Adaptado de FRAC (2009).

CONCLUSÕES

A longevidade dos fungicidas QoIs tem sido alterada pela seleção de populações resistentes a altas doses. Estudos realizados nos permitem concluir que existem mecanismos bioquímicos e genéticos envolvidos na resistência de fungos a fungicidas inibidores de quinona. Em alguns casos ocorrem alterações nos mecanismos de respiração dos fungos que adquirem resistência aos fungicidas inibidores de quinona. Tais alterações podem ser um dos mecanismos envolvidos na resistência que o fungo adquire. Por meio de estudos moleculares, é possível observar a troca de aminoácidos, sendo a mutação no sítio G143A do citocromo-b a mais comum causa de resistência.

Para evitar resistência de fungos aos fungicidas de um modo geral, devem-se adotar estratégias de manejo de doenças, tais como: usar sempre a dose do produto recomendada pelo fabricante; aplicar o produto em mistura com um ou mais fungicidas de modo de ação diferente; restringir o número de tratamentos aplicados por safra e aplicar apenas quando for estritamente necessário; aplicar somente produtos com diversidade química, ou seja, uso de diferentes tipos de fungicidas com modo de ação diferente para controle de doenças e adotar o uso de técnicas integradas de manejo de doenças. A estratégia do manejo integrado de doenças é a mais recomendada como estratégia anti-resistência de fungos a fungicidas. Além disso, o manejo integrado de doenças constitui um dos pilares de sustentação da certificação dos produtos de origem vegetal (produção integrada), uma realidade nos dias atuais.

REFERÊNCIAS

AMMERMANN, E.; LORENZ, G.; SCHELBERGER, K.; MUELLER, B.; KIRSTGEN, R.; SAUTER, H. BAS 500 F – the new broad-spectrum strobilurin fungicide. In: BRIGHTON CROP PROTECTION CONFERENCE, PESTS AND DISEASES, 2, 2000, Brighton. **Proceedings**, Brighton-UK: BCPC, 2000, p.541– 548.

AVILA-ADAME, C.; OLAYA, G.; KÖLLER, W. Characterization of *Colletotrichum graminicola* isolates resistant to strobilurin-related QoI fungicides. **Plant Disease**, v.87, n.12, p.1426-1432, 2003.

AVILA-ADAME, C.; KÖLLER, W. Characterization of spontaneous mutants of *Magnaporthe grisea* expressing stable resistance to the Qo-inhibiting fungicide azoxystrobin. **Current Genetics**,

v.42, n.6, p.332–338, 2003.

BASF. **Manual Técnico: COMET – Citros**, 2004.

BRENT, K.J. **Resistência a fungicidas em patógenos de plantas cultivadas: como manejá-la?** Brussels-Belgium: GPCF (FRAC Monograph N^o.1), 1995, 51p.

BRENT, K.J.; HOLLomon, D.W. **Fungicide resistance: the assessment of risk.** Brussels-Belgium: GPCF (FRAC Monograph N^o.21), 1998, 48p.

COOK, R.T.A. First report in England of changes in the susceptibility of *Puccinia horiana*, the cause of chrysanthemum white rust, to triazole and strobilurim fungicides. **Plant Pathology**, v.50, n.6, p.792, 2001.

DAVIDSE, L.C.; ISHII, H. Biochemical and molecular aspects of the mechanisms of action of benzimidazoles, N-phenylcarbamates and N-phenylformamidoximes and the mechanisms of resistance to these compounds in fungi. In: LYR, H. (Ed). **Modern Selective Fungicides**. 2nd edition. Verlag: Berlin, 1995, p.305-322.

DELYE, C.; LAIGRET, F.; CORIO-COSTET, M.F. PCR cloning and detection of point mutations in the eburicol 14alpha-demethylase (CYP51) gene from *Erysiphe graminis* f.sp. *hordei*, a "recalcitrant" fungus. **Current Genetics**, v.34, n.5, p.399-403, 1998.

DOURADO NETO, D.; OLIVEIRA, R.F.; BEGLIOMINI, E.; RODRIGUES, M.A.T. F500 em soja e milho - Efeitos fisiológicos comprovados. **Atualidades Agrícolas BASF S.A.**, p.12-16, 2005.

FAGAN, E.B. **A cultura da soja: modelo de crescimento e aplicação da estrobilurina Piraclostrobina**. 2007. 84p. Tese (Doutorado) – ESALQ, Piracicaba.

FERNÁNDEZ-ORTUÑO, D.; PÉREZ-GARCÍA, A.; LÓPEZ-RUIZ, F.; ROMERO, D.; VICENTE, A.; TORÉS, J.A. Occurrence and distribution of resistance to QoI fungicides in populations of *Podosphaera fusca* in south central Spain. **European Journal of Plant Pathology**, v.115, p.215–222, 2006.

FERNÁNDEZ-ORTUÑO, D.; TORÉS, J.A.; VICENTE, A.; PÉREZ-GARCÍA, A. Mechanisms of resistance to QoI fungicides in phytopathogenic fungi. **International Microbiology**, v.11, n.1, p.1-10, 2008.

FRAC – **Fungicide Resistance Action Committee**. Disponível em: <http://www.frac.info> Acesso em: 05 de Março de 2009.

GHINI, R.; KIMATI, H. **Resistência de fungos a fungicidas**. 1^a edição. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. 78p.

GISI, U.; CHIN, K.M.; KNAPORA, G.; FÄRBER, R.K.; MOHR, U.; PARISI, S.; SIEROTSKI, H.; STEINFELD, B. Recent developments in elucidating modes of resistance to phenylamide, DMI and strobilurin fungicides. **Crop Protection**, v.19, p.863-872, 2000.

GISI, U.; SIEROTZKI, H.; COOK, A.; MCCAFFERY, A. Mechanisms influencing the evolution of resistance to QoI inhibitor fungicides. **Pest Management Science**, v.58, n.9, p. 859-867, 2002.

GRASSO, V.; SIEROTZKY, H.; GARIBALDI, A.; GISI, U. Characterization of the cytochrome b gene fragment of *Puccinia* species responsible for the binding site of QoI fungicides. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.84, n.2, p.72-82, 2006.

HEANEY, S.P.; HALL, A.A.; DAVIS, S.A.; OLAYA, G. Resistance to fungicides in the QoI-STAR cross resistance group: current perspectives. In: BRIGHTON CROP PROTECTION CONFERENCE, PESTS AND DISEASES, 2, 2000, Brighton. **Proceedings**, Brighton-UK: BCPC, 2000, p.755-762.

ISHII, H. Fungicide resistance: a factor limiting integrated disease control. In: INTERNATIONAL PLANT PROTECTION CONGRESS, 15, 2004, Beijing. **Proceedings**, p. 216.

- ISHII, H.; FRAAIJE, B.A.; SUGIYAMA, T.; NOGUCHI, K.; NISHIMURA, K.; TAKEDA, T.; AMANO, T.; HOLLOMON, D.W. Occurrence and molecular characterization of strobilurin resistance in cucumber powdery mildew and downy mildew. **Phytopathology**, v.91, p.1166-1171, 2001.
- KIM, Y.S.; DIXON, P.; VINCELLI, P.; FARMAN, M.L. Field resistance to strobilurin (QoI) fungicides in *Pyricularia grisea* caused by mutations in the mitochondrial cytochrome b gene. **Phytopathology**, v.93, p.891-900, 2003.
- LANGSTON, D. Quadris Resistance in Gummy Stem Blight Confirmed. **Georgia Extension Vegetable News**, v.2, n.1, p.1-2, 2002.
- LU, Y.L.; SUTTON, T.B.; YPEMA, H. Sensitivity of *Alternaria mali* from North Carolina apple orchards to pyraclostrobin and boscalid. **Phytopathology**, v.93, p.54 (Abstract), 2003.
- MA, Z.; MICHAILIDES, T.J. An allele-specific PCR assay for detecting azoxystrobin-resistant *Alternaria* isolates from pistachio in California. **Journal of Phytopathology**, v.152, p.118-121, 2004.
- MA, Z.; FELTS, D.; MICHAILIDES, T.J. Resistance to azoxystrobin in *Alternaria* isolates from pistachio in California. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.77, p.66-74, 2003.
- MALANDRAKIS, A.A.; MARKOGLU, A.N.; NIKOU, D.C.; VONTAS, J.G.; ZIOGAS, B.N. Biological and molecular characterization of laboratory mutants of *Cercospora beticola* resistant to QoI inhibitors. **European Journal of Plant Pathology**, v.116, p.155-166, 2006.
- MARKOGLU, A.N.; MALANDRAKIS, A.A.; VITORATOS, A.G.; ZIOGAS, B.N. Characterization of laboratory mutants of *Botrytis cinerea* resistant to QoI Fungicides. **European Journal of Plant Pathology**, v.115, p.149-162, 2006.
- MEDEIROS, C.A. Efeitos fisiológicos de F500 em diversas culturas. **Atualidades Agrícolas BASF S.A.**, p.18-20. 2005.
- OLIVEIRA, R.F. Efeito fisiológico do F500 na planta. **Atualidades Agrícolas BASF S.A.**, p.9-11. 2005.
- PASCHE, J.S.; WHARAM, C.M.; GUDMESTAD, N.C. Shift in sensitivity of *Alternaria solani* (potato early blight) to strobilurin fungicides. In: BRIGHTON CROP PROTECTION CONFERENCE, PESTS AND DISEASES, 2, 2000, Brighton. **Proceedings**, Brighton-UK: BCPC, 2000, p.841-846.
- RODRIGUES, M.B.C.; ANDREOTE, F.D.; SPÓSITO, M.B.; AGUILLAR-VILDOSO, C.I.; ARAÚJO, W.L.; PIZZIRANI-KLEINER, A.A. Resistência a benzimidazóis por *Guignardia citricarpa*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, n.3, p.323-327, 2007.
- SEMAR, M.; STROBEL, D.; KOCH, A.; KLAPPACH, K.; STAMMLER, G. Field efficacy of pyraclostrobin against populations of *Pyrenophora teres* containing the F129L mutation in the cytochrome b gene. **Journal of Plant Diseases and Protection**, v.114, p.117-119, 2007.
- SIEROTZKI, H.; FREY, R.; WULLSCHLEGER, J.; PALERMO, S.; KARLI, S.; GODWIN, J.; GISI, U. Cytochrome b gene sequence and structure of *Pyrenophora teres* and *P. tritici-repentis* and implications for QoI resistance. **Pest Management Science**, v.63, n.3, p.225-233, 2007.
- SIEROTZKI, H.; PARISI, S.; STEINFELD, U.; TENZER, I.; POIREY, S.; AND GISI, U. Mode of resistance to respiration inhibitors at the cytochrome bc1 complex of *Mycosphaerella fijiensis*. **Pest Management Science**, v.56, p.833-841, 2000a.
- SIEROTZKI, H.; WULLSCHLEGER, J.; GISI, U. Point-mutation in cytochrome b gene conferring resistance to strobilurin fungicides in *Erysiphe graminis* f. sp. *tritici* field isolates. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.68, p.107-112, 2000b.

SIEROTZKI, H.; PAVIC, L.; HUGELSHOFER, U.; STANGER, C.; CLEERE, S.; WINDASS, J.; GISI, U. Population dynamics of *Mycosphaerella graminicola* in response to selection by different fungicides. In: INTERNATIONAL REINHARDSBRUNN SYMPOSIUM, AGROCONCEPT, 14, 2005, Bonn. **Proceedings**, Bonn: Verlag, 2005.

STAMMLER, G.; STROBEL, D.; SEMAR M.; KLAPPACH, K. Diagnostics of fungicide resistance and relevance of laboratory data for the field. **Aspects of Applied Biology**, v.78, p.29-36, 2006.

STEINFELD, U.; SIEROTZKI, H.; PARISI, S.; GISI, U. Comparison of resistance mechanisms to strobilurin fungicides in *Venturia inaequalis*. In: INTERNATIONAL REINHARDSBRUNN SYMPOSIUM, AGROCONCEPT, 13, 2002, Bonn. **Proceedings**, Bonn: Verlag, 2002, p.167-176.

VENANCIO, W.S.; RODRIGUES, M.A.T.; BEGLIOMINI, E; SOUZA, N.L. Physiological effects of strobilurin fungicides on plants. Publicatio UEPG – Ciência Exatas e da Terra, Ciências Agrárias e Engenharia, v.9, n.3, p.59-68, 2003.

VINCELLI, P. **QoI (Strobilurin) Fungicides: Benefits and Risks**. 2002. Disponível em: <http://www.apsnet.org/education/AdvancedPlantPath/Topics/Strobilurin/top.htm>. Acesso: 04 de março de 2009.

VINCELLI, P.; DIXON, E. Resistance to QoI (Strobilurin-like) fungicides in isolates of *Pyricularia grisea* from perennial ryegrass. **Plant Disease**, v. 86, p. 235-240, 2002.

ZAMBOLIM, L.; VENÂNCIO, S.V.; OLIVEIRA, S.H.F. **Manejo da Resistência de Fungos a Fungicidas**. Visconde do Rio Branco: Suprema Gráfica e Editora, 2007, 168p.

ZENECA AGRÍCOLA. **Perfil Técnico - Amistar fungicida**, 1998.