

**UNIVERSIDAD NACIONAL**  
**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA TIERRA Y EL MAR**  
**ESCUELA DE CIENCIAS AGRARIAS**

Especies de *Colletotrichum* asociados a la producción de café (*Coffea arabica*  
L.) y su control in vitro con fungicidas

Trabajo Final de Graduación bajo la modalidad de Artículo Científico para optar por el grado de Licenciatura  
en Ingeniería en Agronomía con énfasis en Agricultura Alternativa

**Estudiante**

Bach. Verónica Segura Cubero

**Tutor**

M. Sc. José Alonso Calvo Araya

Campus Omar Dengo

Heredia, 2025

**Especies de *Colletotrichum* asociados a la producción de café (*Coffea arabica* L.) y su control *in vitro* con fungicidas**

Bach. Verónica Segura Cubero

**Trabajo final de graduación modalidad artículo científico sometido a consideración del tribunal examinador de la Escuela de Ciencias Agrarias para optar por el grado de Licenciatura en Ingeniería en Agronomía con énfasis en Agricultura Alternativa**

**Tribunal Examinador**

---

M. Sc. Andrés Alpízar Naranjo  
Decano Facultad de Ciencias de la Tierra y el Mar

---

M. Sc.  
Representante de la dirección de la Escuela de Ciencias Agrarias

---

M. Sc. José Alonso Calvo Araya  
Tutor de Tesis

---

Bach. Verónica Segura Cubero  
Sustentante

## **DEDICATORIA**

*A Dios quien ha sido mi refugio, mi fuerza y mi esperanza. Sin su guía nada de esto hubiera sido posible.*

*A mis padres William Segura y Rosa Cubero, por todo su apoyo, amor incondicional y sus oraciones. Gracias por impulsarme a ser mi mejor versión.*

## AGRADECIMIENTOS

*A Dios, por la fuerza, claridad y perseverancia para completar este proceso.*

*A mi familia, por su amor incondicional su apoyo constante y por creer en mi en los momentos más desafiantes.*

*A Silvia, Eddier, Fabricio, Mario, Nazareth y Sebastián por su valiosa colaboración y disposición durante el desarrollo de la investigación. Su apoyo fue fundamental para alcanzar el objetivo con éxito.*

*A Kimberly, Kenia, Ericka y María, por el acompañamiento cercano. Su generosidad y compromiso hicieron que el aprendizaje fuera más claro y enriquecedor.*

*Agradecimiento especial para el Laboratorio del Instituto Costarricense del Café por contribuir con el espacio y materiales para el desarrollo del ensayo.*

*A mi tutor M. Sc. Alonso Calvo por su apoyo durante mi proceso académico.*

## Tabla de Contenido

Especies de <i>Colletotrichum</i> asociados a la producción de café ( <i>Coffea arabica</i> L.) y su control <i>in vitro</i> con fungicidas.....	i
<b>Especies de <i>Colletotrichum</i> asociados a la producción de café (<i>Coffea arabica</i> L.) y su control <i>in vitro</i> con fungicidas .....</b>	<b>ii</b>
<b>DEDICATORIA .....</b>	<b>iv</b>
<b>AGRADECIMIENTOS .....</b>	<b>v</b>
<b>1. RESUMEN.....</b>	<b>1</b>
<b>2. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>2</b>
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>4</b>
<b>2.1. Localización del estudio.....</b>	<b>4</b>
<b>2.2. Establecimiento del ensayo <i>in vitro</i> .....</b>	<b>4</b>
<b>2.3. Pruebas de sensibilidad a fungicidas .....</b>	<b>6</b>
<b>2.4. Análisis de los datos.....</b>	<b>9</b>
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>11</b>
<b>5. DISCUSIÓN.....</b>	<b>21</b>
<b>6. CONCLUSIONES.....</b>	<b>24</b>
<b>7. CONFLICTO DE INTERESES.....</b>	<b>26</b>
<b>8. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>26</b>
<b>9. ANEXOS .....</b>	<b>29</b>

## **Especies de *Colletotrichum* asociados a la producción de café (*Coffea arabica* L.) y su control in vitro con fungicidas**

### **1. RESUMEN**

La antracnosis del café, causada por especies de *Colletotrichum*, constituye un problema fitosanitario de relevancia en Costa Rica debido a su impacto sobre el rendimiento y la calidad del grano. El objetivo de este estudio fue determinar la sensibilidad in vitro de aislamientos de *Colletotrichum* spp. procedentes de Coto Brus y la Zona de los Santos frente a cuatro fungicidas de uso común: piraclostrobina y azoxistrobina (QoI, FRAC 11), y epoxiconazol y ciproconazol (DMI, FRAC 3). Se evaluó el efecto de cinco concentraciones (0,08; 0,4; 2; 10 y 50 mg/L) sobre tres variables de respuesta: inhibición del crecimiento micelial (ICM), inhibición de la germinación de conidios (IGE) e inhibición de la longitud del tubo germinativo (ILT). Los datos se analizaron mediante ANOVA y prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ), y se estimaron valores de  $CI_{50}$  mediante regresión lineal en escala  $\log_{10}$ (dosis). Piraclostrobina y epoxiconazol mostraron la mayor eficacia global, con inhibiciones superiores al 80 % desde dosis intermedias. Piraclostrobina presentó la  $CI_{50}$  más baja para IGE, mientras que epoxiconazol destacó en ILT por su efecto sobre la elongación hifal. Azoxistrobina y ciproconazol requirieron dosis más altas para alcanzar niveles de inhibición similares. Los resultados evidencian diferencias marcadas en la eficacia según el modo de acción y la fase del ciclo del patógeno, y respaldan la priorización de piraclostrobina y epoxiconazol dentro de programas de manejo integrado de antracnosis en café, bajo esquemas de rotación de grupos FRAC para minimizar el riesgo de resistencia.

### **ABSTRACT**

Coffee anthracnose, caused by *Colletotrichum* spp., is a major disease affecting yield and bean quality in Costa Rica. The objective of this study was to assess the in vitro sensitivity of *Colletotrichum* spp. isolates from Coto Brus and Zona de los Santos to four widely used fungicides: pyraclostrobin and azoxystrobin (QoI, FRAC 11), and epoxiconazole and cyproconazole (DMI, FRAC 3). Five concentrations (0.08, 0.4, 2, 10 and 50 mg/L) were tested on three response variables: inhibition of mycelial growth (ICM), inhibition of conidial germination (IGE), and inhibition of germ tube length (ILT). Data were analyzed using ANOVA

and Tukey's test ( $p < 0.05$ ), and  $CI_{50}$  values were estimated through  $\log_{10}(\text{dose})$  linear regression. Pyraclostrobin and epoxiconazole exhibited the highest overall efficacy, achieving inhibition levels above 80% at intermediate doses. Pyraclostrobin showed the lowest  $CI_{50}$  for IGE, whereas epoxiconazole was the most effective at suppressing germ tube elongation (ILT). Azoxystrobin and cyproconazole required higher concentrations to reach comparable inhibition levels. These findings demonstrate phase-specific differences in fungicide performance and support the preferential use of pyraclostrobin and epoxiconazole within integrated management strategies for coffee anthracnose, emphasizing FRAC-based rotation to reduce the risk of resistance development.

## 2. INTRODUCCIÓN

El cultivo de café (*Coffea arabica* L.) es uno de los principales pilares agrícolas de Costa Rica, con 93 697 ha establecidas y un aporte estimado del 3,01 % al PIB agrícola nacional, además de constituir una fuente relevante de empleo para las familias productoras (ICAFE, 2020b; FAOSTAT, 2025). La sanidad del cultivo es un factor determinante para mantener su competitividad, y entre las enfermedades de mayor importancia se encuentra la antracnosis, causada por especies del género *Colletotrichum*.

A nivel mundial, se han reportado al menos dieciséis especies asociadas al café, incluyendo *C. gloeosporioides*, *C. kahawae*, *C. acutatum*, *C. coffeanum*, *C. fructicola*, *C. siamense* y *C. karstii*, entre otras, cuyos complejos presentan variabilidad morfológica, genética y patogénica (Armesto et al., 2016; Yaling et al., 2015; Guevara-Suárez et al., 2022). Estas especies se caracterizan por ser patógenos oportunistas capaces de infectar hojas, flores, frutos y tallos, generalmente a través de heridas provocadas por viento, insectos o condiciones de estrés, y pueden generar pérdidas de rendimiento entre el 10 % y el 50 % en fincas afectadas (Ogoshi et al., 2015; ICAFE, 2020a).

El manejo de la enfermedad combina prácticas culturales, control biológico y el uso de fungicidas, siendo este último uno de los métodos más empleados por su eficacia y rapidez de acción (Arcila-Moreno, 2020). Entre los compuestos utilizados destacan los triazoles —como

tebuconazol, propiconazol, difenoconazol, epoxiconazol y ciproconazol y las estrobilurinas como azoxistrobina, piraclostrobina y trifloxistrobina—, todos con efectividad documentada en el control de *Colletotrichum* spp. en diversos cultivos (Carreño et al., 2021; Rodríguez, 2024; Varveri & Tsitsigiannis, 2024; ICAFE, 2020a). No obstante, estudios recientes advierten sobre la aparición de resistencia en especies como *C. siamense* y otros complejos, incluyendo mutaciones asociadas a la pérdida de sensibilidad a QoI y benzimidazoles, así como riesgo potencial de resistencia cruzada con triazoles (Hu et al., 2023a; Hu et al., 2023b). Esta situación evidencia la necesidad de evaluar la sensibilidad local de los aislamientos presentes en cada región cafetalera.

En este contexto, resulta fundamental generar información cuantitativa sobre la eficacia comparativa de los fungicidas utilizados por los productores. Por ello, el objetivo de este estudio fue evaluar la sensibilidad in vitro de aislamientos de *Colletotrichum* spp. provenientes de Coto Brus y la Zona de los Santos ante cuatro fungicidas de uso frecuente, mediante la determinación de su efecto sobre el crecimiento micelial, la germinación de conidios y la elongación del tubo germinativo.

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. Localización del estudio**

El estudio se realizó en el Laboratorio de Fitoprotección del Centro de Investigaciones en Café (CICAFE) del Instituto del Café de Costa Rica (ICAFE), ubicado en Barva de Heredia. Las muestras vegetales se recolectaron en dos regiones cafetaleras del país: Coto Brus y la Zona de los Santos. En Coto Brus, la temperatura media anual oscila entre 18 °C y 29 °C, con una precipitación aproximada de 3050 mm y altitudes entre 780 y 1060 m s. n. m. (Solano & Villalobos, s.f.; CNE, 1994). La Zona de los Santos presenta temperaturas entre 16 °C y 25 °C, precipitación anual cercana a 2370 mm y altitudes entre 1440 y 2221 m s. n. m. (Madrigal-Mora, 2002).

#### **3.2. Establecimiento del ensayo in vitro**

##### **3.2.1. Toma de muestras**

Se recolectaron hojas del tercio medio de plantas con síntomas típicos de antracnosis. Para cada sitio se registró la fecha de muestreo, localidad, altitud, coordenadas geográficas, variedad, edad del cultivo y prácticas de manejo. Las muestras fueron trasladadas en condiciones de refrigeración al Laboratorio de Fitoprotección del ICAFE.

##### **3.2.2. Aislamiento de *Colletotrichum* spp**

Las hojas se lavaron con agua corriente y, en cámara de flujo laminar, se desinfectaron mediante inmersión en NaClO al 1 % por 60 s, seguida de etanol al 70 % por 30 s y tres enjuagues con agua destilada. Posteriormente, se colocaron fragmentos de tejido en placas con papa dextrosa agar (PDA) acidificado con ácido láctico al 0,1 %. Las placas se incubaron a 25–28 °C durante siete días o hasta observar el crecimiento del patógeno. Se transfirió micelio joven a nuevos medios para obtener cultivos puros (ICAFE, 2021).

##### **3.2.3. Establecimiento de cultivos monospóricos**

Se preparó una suspensión conidial a partir del cultivo puro mediante raspado del micelio y transferencia a tubos Eppendorf con 1,5 mL de agua destilada desionizada. La concentración se ajustó a 1000 esporas/mL utilizando la cámara de Neubauer (Wei et al., 2020; ICAFE, 2021). Se

sembraron 100  $\mu\text{L}$  de la suspensión en agar agua (AA) y se incubó 24 h a 25 °C con fotoperiodo de 12 h. Las conidias en germinación se transfirieron individualmente a placas con PDA acidificado, donde se incubaron bajo las mismas condiciones para obtener cultivos monospóricos (Hilje-Rodríguez & Molina-Bravo, 2020).

### **3.3. Identificación del agente causal**

#### **3.3.1. Identificación molecular de los aislamientos**

La identificación molecular de los aislamientos se realizó mediante la amplificación con dos marcadores validados para especies asociadas a la antracnosis del café: CALCt y M2, siguiendo el protocolo desarrollado por el ICAFE en el proyecto EF 605-07-22. El ADN genómico se extrajo a partir de micelio joven cultivado cinco días en PDA, utilizando el kit DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen®). La concentración del ADN se ajustó a 50 ng  $\mu\text{L}^{-1}$ .

El marcador CALCt se empleó para la detección específica de *Colletotrichum theobromicola*. Las reacciones se prepararon con 1 $\times$  Dream buffer, 2 mM  $\text{MgCl}_2$ , 0.025 mM dNTPs, 0.07  $\mu\text{M}$  de cada cebador (CALCtF y CALCtR), 4 % de DMSO, 0.025 U Taq polimerasa y 0.75  $\mu\text{L}$  de ADN. Las condiciones de termociclado fueron: 95 °C por 4 min; seguido de 35 ciclos de 95 °C por 30 s, 51 °C por 30 s y 72 °C por 45 s; más una extensión final de 72 °C por 7 min.

El marcador M2 se utilizó para discriminar *C. siamense*, *C. fructicola* y especies relacionadas mediante diferencias en el peso molecular del amplicón. Las reacciones incluyeron 1 $\times$  Dream buffer, 2 mM  $\text{MgCl}_2$ , 0.1 mM dNTPs, 0.1  $\mu\text{M}$  de cada cebador (M2F y M2R), 4 % de DMSO, 0.03 U Taq polimerasa y 0.75  $\mu\text{L}$  de ADN. El programa de amplificación consistió en 95 °C por 4 min; 35 ciclos de 95 °C por 30 s, 56 °C por 30 s y 72 °C por 45 s; y una extensión final de 72 °C por 5 min.

Los productos amplificados se separaron en gel de agarosa al 1.5 %, teñido con GelRed®. La interpretación de especies se basó en los patrones reportados en la validación ICAFE: CALCt positivo (~225 pb) indica *C. theobromicola*; M2 ~600 pb corresponde a *C. siamense* o especies afines; M2 ~1200 pb a *C. fructicola*; y ausencia de amplificación en ambos marcadores es característica de *C. karstii*, *C. cigarro* y *C. costarricense*.

### 3.3.2. Identificación morfológica del agente causal

La identificación morfológica de los aislamientos monospóricos de *Colletotrichum* spp. se realizó siguiendo criterios taxonómicos utilizados para la caracterización del complejo en frutales, similares a los descritos por Wang et al. (2024). Para ello, los cultivos monospóricos se sembraron en papa dextrosa agar (PDA) acidificado y se incubaron a 25 °C con un fotoperiodo de 12 h durante 7–10 días, con el fin de garantizar un desarrollo uniforme de las estructuras fúngicas.

### 3.4. Pruebas de sensibilidad a fungicidas

La sensibilidad de *Colletotrichum* spp. se evaluó frente a cuatro fungicidas mediante los ensayos de crecimiento micelial, germinación de conidios y elongación del tubo germinativo, siguiendo metodologías adaptadas del ICAFE (2021). Los fungicidas y formulaciones se detallan en la Tabla 1.

**Tabla.1.** Fungicidas evaluados en pruebas de sensibilidad *in vitro*.

Grupo FRAC	Grupo químico	Fungicida	Concentración (g/L)	Formulación
11	Estrobirulina	piraclostrobina	25	EC
11	Estrobirulina	azoxistrobina	50	WG
3	Triazol	epoxiconazol	12,5	SC
3	Triazol	ciproconazol	10	SL

Nota: EC: Emulsión concentrada. WG: Gránulos dispersables en agua. SC: Suspensión concentrada. SL: Solución Líquida.

#### 3.4.1. Inhibición de crecimiento de micelio (ICM)

##### 3.4.1.1. Preparación de medios de cultivo con las diferentes concentraciones de los fungicidas

El PDA esterilizado (45–50 °C) se suplementó con los fungicidas a concentraciones de 0,08; 0,4; 2; 10 y 50 mg/L. Se dispensaron 15 mL por placa y se almacenaron a 4 °C en oscuridad hasta su uso.

### **3.4.1.2. Inoculación**

En cada placa se colocó un disco de 7 mm de un cultivo monospórico. Cada tratamiento incluyó tres repeticiones. Las placas se incubaron a 28 °C durante seis días con fotoperiodo de 12 h.

### **3.4.1.3. Evaluación**

Se midió el diámetro de las colonias mediante dos lecturas perpendiculares. El porcentaje de inhibición se calculó mediante:

$$ICM(\%) = \left( \frac{Dc - Df}{Dc} \right) \times 100$$

donde  $Dc$  es el diámetro en el control y  $Df$  en el tratamiento con fungicida.

## **3.4.2. Inhibición de germinación de esporas**

### **3.4.2.1. Preparación de medios de cultivo**

Se utilizó Agar Agua (AA) esterilizado, a una temperatura entre los 45-50°C. En la cámara de flujo laminar se le agregaron las soluciones de los fungicidas con una concentración de 0, 0,08, 0,4, 2, 10 y 50 mg/L de cada ingrediente activo. Se vertió 15 mL de AA acidificado, junto con el fungicida, en placas de Petri, las cuales fueron almacenadas en condiciones de oscuridad a una temperatura de 4°C hasta el momento en el que se inocularon con las diferentes cepas.

### **3.4.2.2. Inoculación**

Se aplicó una alícuota de 10 µL de una suspensión de 100 000 conidios/mL en cada placa. Se incluyeron tres repeticiones por tratamiento y se incubó a 28 °C durante 21 h.

### **3.4.2.3. Evaluación de germinación de conidios *Colletotrichum* spp.**

Las muestras se fijaron con azul de lactofenol y se contabilizaron conidios germinados y no germinados. Se consideró conidio germinado aquel cuyo tubo germinativo duplicara la longitud del conidio. La inhibición se calculó mediante:

$$IGE(\%) = \left( \frac{If - Ic}{100 - Ic} \right) \times 100$$

Donde:

*Ic* es el germinado en el control

*If* en el tratamiento

### **3.4.3. Inhibición del crecimiento del tubo germinativo (ILT)**

#### **3.4.3.1. Preparación de medios de cultivo con las diferentes concentraciones de los fungicidas**

Se utilizó Agar Agua (AA) esterilizado, a una temperatura entre los 45-50°C. En la cámara de flujo laminar se le agregaron las soluciones de los fungicidas con una concentración de 0, 0,08, 0,4, 2, 10 y 50 mg/L de cada ingrediente activo. Añadió 15 mL de AA acidificado, junto con el fungicida, en placas de Petri, las cuales fueron almacenadas en condiciones de oscuridad a una temperatura de 4°C hasta el momento en el que se inocularon con las diferentes cepas.

#### **3.4.3.2. Inoculación de *Colletotrichum* spp in vitro para prueba de inhibición de crecimiento del tubo germinativo**

Se realizaron soluciones de esporas a partir de los cultivos monospóricos, a una concentración de 100,000 conidios/mL. Posteriormente, inocularon los platos petri con una alícuota de 10µL de la solución de conidias, se realizaron 3 repeticiones por tratamiento. Después, las placas se almacenaron a 28°C durante 21 horas aproximadamente y con fotoperiodo de doce horas.

#### **3.4.3.3. Evaluación del largo del tubo germinativo de conidios de *Colletotrichum* spp.**

Se aplicaron 10 µL de azul de lactofenol sobre cada muestra para fijar las esporas. Posteriormente, se seleccionó un campo óptico aleatoriamente y con ayuda de un microscopio a un aumento de 4X y se tomaron fotografías con una cámara. Seguidamente, se midió el largo del tubo germinativo de las conidios en la aplicación ImageJ.

El porcentaje de inhibición de crecimiento del tubo germinativo de las conidias se calculó con la siguiente fórmula:

$$\text{ILT (\%)} = (L_1 - L_2 / I_1) \times 100$$

Donde:

ILT: Índice de inhibición de tubo germinativo.

I<sub>1</sub>: longitud del tubo germinativo del tratamiento sin fungicida.

I<sub>2</sub>: longitud del tubo germinativo de los tratamientos con fungicida.

### **3.5. Análisis de los datos**

El análisis de los datos se realizó con el software R Studio (V: 2025.09.1-401). Se utilizaron datos individuales por repetición. La respuesta de inhibición se acotó al intervalo teórico de 0%-100%, fijando en 0 los valores negativos atribuibles a variación experimental no biológica.

Se compararon los fungicidas mediante análisis de varianza (ANOVA) de acuerdo a cada dosis, seguido de la prueba Tukey HSD con nivel de significancia de  $p < 0.05$ , con el fin de identificar diferencias significativas entre tratamientos dentro de cada una de las concentraciones.

Se ajustó un modelo de regresión lineal por agente y variable de respuesta (%ICM, %IGE, %ILT), utilizando la escala logarítmica base 10 de la dosis:

$$y = a + b \cdot \log_{10}(\text{dosis})$$

Donde:

*y*: Porcentaje de inhibición observado.

*a*: Intercepto del modelo.

*b*: Pendiente del modelo.

$\log_{10}(\text{dosis})$ : Transformación logarítmica de la concentración aplicada.

La Concentración Letal Media (CI50) se calculó:

$$CI_{50} = 10^{\frac{50-a}{b}}$$

El intervalo de confianza del 95% para la CI<sub>50</sub> se estimó mediante simulación paramétrica, incorporando la covarianza entre los coeficientes  $a$  y  $b$ . Cuando se detectó heterocedasticidad, se aplicaron errores estándar robustos tipo HC3.

## 4. RESULTADOS

### Identificación molecular

Los marcadores CALCt y M2 permitieron identificar con precisión las especies presentes en los aislamientos procedentes de las zonas Los Santos y Coto Brus. En la región de Los Santos, se detectaron tres especies: *C. siamense* (F1, F2), *C. theobromicola* (F3) y *C. karstii* (F4, F5, F6). La cepa F3 presentó amplificación positiva con CALCt (~225 pb), confirmando su identidad como *C. theobromicola*. Las cepas F4, F5 y F6 no mostraron amplificación con ninguno de los dos marcadores, patrón consistente con *C. karstii*.

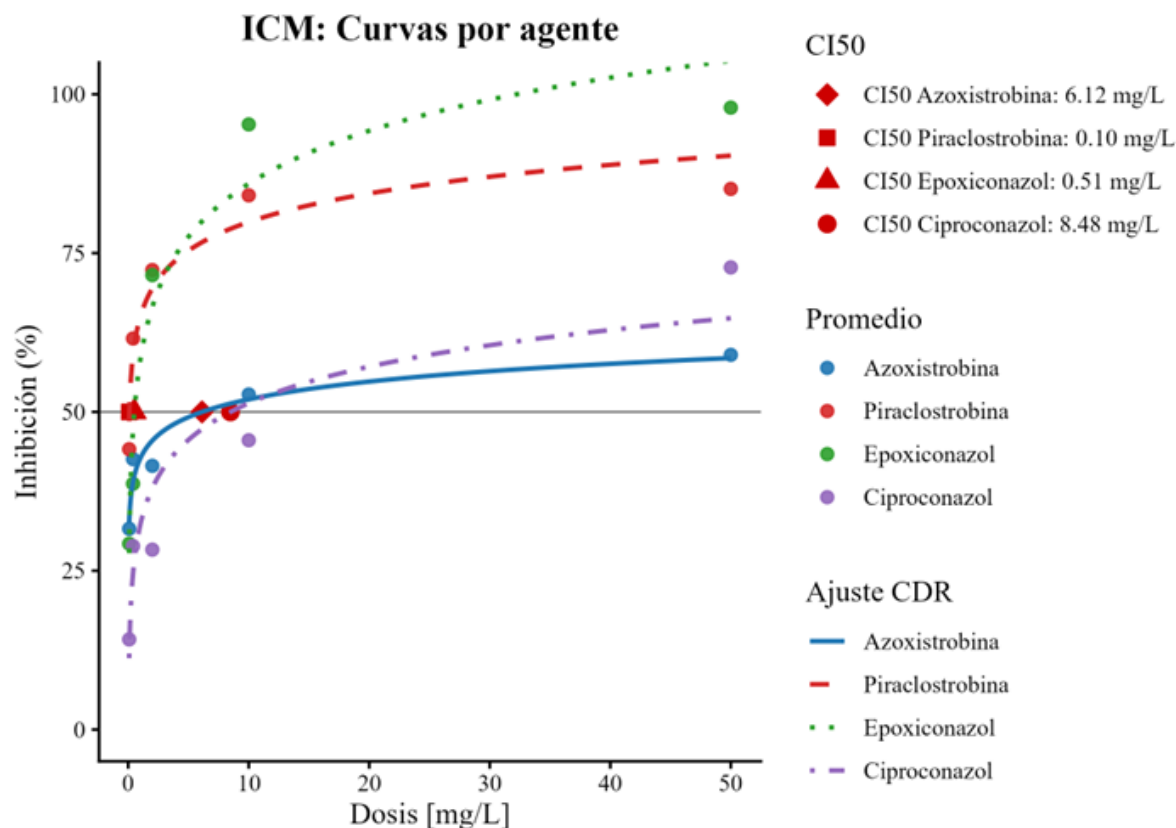
En Coto Brus, los aislamientos correspondieron a cuatro especies. Las cepas F7 amplificaron con M2 (~600 pb), clasificándose como *C. siamense*. Las cepas F8 y F10vic presentaron el amplicón de ~1200 pb característico de *C. fruticola*. Las cepas F12 y F13 no amplificaron con ninguno de los marcadores, coincidente con *C. cigarro*. Finalmente, F14 amplificó con CALCt, confirmándose como *C. theobromicola*.

La distribución molecular indicó mayor diversidad de especies en Coto Brus. En contraste, Los Santos presentó menor diversidad, pero incluyó especies relevantes epidemiológicamente, como *C. theobromicola*.

### Inhibición de crecimiento micelial

La evaluación del crecimiento micelial mostró respuestas diferenciadas entre los cuatro fungicidas a lo largo del gradiente de dosis. En términos generales, Epoxiconazol y Piraclostrobina presentaron las inhibiciones más altas y consistentes, especialmente a concentraciones intermedias y altas. Epoxiconazol alcanzó valores de 95–98 % en el rango de 10–50 mg/L, con desviaciones estándar reducidas (5–6 %), lo que evidencia alta estabilidad en la respuesta. Piraclostrobina superó el 84 % en estas mismas dosis, con variabilidad moderada.

Ciproconazol mostró un incremento progresivo en la inhibición, pasando de valores bajos en concentraciones iniciales hasta 72.7 % en 50 mg/L, donde su variabilidad también disminuyó. En contraste, Azoxistrobina presentó el desempeño más moderado, con medias entre 41–59 % y dispersiones relativamente amplias, patrón que anticipa una  $CI_{50}$  más elevada.



**Figura 1.** Ajuste de la curva dosis–respuesta (CDR) para el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial (ICM) de cuatro agentes. Se muestran, para cada agente, la línea de ajuste en escala log<sub>10</sub> de la dosis, los promedios observados por dosis y el marcador de la CI50 ubicado en el 50% de inhibición. La interpretación se basa en datos a nivel de repetición y la CI50 reporta la concentración a la que se alcanza la mitad del efecto máximo bajo las condiciones del ensayo.

Las cuatro curvas exhiben el patrón esperado, la inhibición aumenta con la dosis. Piraclastrobina y Epoxiconazol destacan por su alta efectividad; alcanzan niveles elevados de inhibición con dosis muy bajas y sus CI50 son pequeñas (piraclastrobina  $\approx$  0.10 mg/L; epoxiconazol  $\approx$  0.51 mg/L). La azoxistrobina y el ciproconazol requieren dosis mayores para lograr el mismo efecto, con CI50 más altas (azoxistrobina  $\approx$  6.12 mg/L; ciproconazol  $\approx$  8.48 mg/L). A 10 mg/L, epoxiconazol ya se aproxima al techo del 100% y piraclostrochina supera con holgura el 80%, mientras que azoxistrobina ronda la mitad del efecto y ciproconazol se mantiene por debajo de ese nivel. Las CI50 de los cuatro agentes se ubican dentro del rango ensayado, por lo que las comparaciones son confiables en el marco experimental. En términos prácticos, la jerarquía de

potencia es clara: menor CI50 implica mayor eficacia a bajas concentraciones y queda ordenada como Piraclostrobina > Epoxiconazol >> Azoxistrobina > Ciproconazol. Para decisiones operativas, los resultados sugieren que Piraclostrobina y Epoxiconazol logran control efectivo con menor cantidad de producto, mientras que Azoxiestrobina y Ciproconazol requieren concentraciones más altas y, aun así, muestran ganancias más moderadas al aumentar la dosis.

El patrón por dosis muestra diferencias consistentes entre agentes. A 0.08 mg/L, Piraclostrobina y Azoxistrobina integran el grupo con mayor inhibición (Tabla 2), Epoxiconazol queda intermedio y Ciproconazol inferior, lo que sugiere ventajas tempranas de Piraclostrobina y Azoxistrobina. A 0.40 mg/L se consolida el liderazgo de Piraclostrobina frente a los otros tres agentes (Tabla 3). En 2.00 mg/L, Epoxiconazol y Piraclostrobina conforman el grupo superior, superando a Azoxistrobina y Ciproconazol (Tabla 4). En 10.00 mg/L y 50.00 mg/L se observa una separación nítida, con Epoxiconazol en el tope, seguido por Piraclostrobina y, por debajo, Azoxistrobina y Ciproconazol (Tabla 5 y Tabla 6). La trayectoria por dosis es coherente con la jerarquía de potencia inferida por CI50: Epoxiconazol y Piraclostrobina alcanzan niveles altos de inhibición a concentraciones menores, mientras que Azoxistrobina y Ciproconazol requieren dosis superiores para efectos comparables.

**Tabla 2. ICM — Dosis 0.08 mg/L**

<b>Dosis (mg/L)</b>	<b>Agente</b>	<b>Media (%)</b>	<b>p</b>	<b>Grupo (Tukey)</b>
0.08	Azoxistrobina	31.6	< .001	a
0.08	Ciproconazol	14.2	< .001	b
0.08	Epoxiconazol	29.3	< .001	ab
0.08	Piraclostrobin	44.1	< .001	a

a

---

**Tabla 3. ICM — Dosis 0.40 mg/L**

---

<b>Dosis (mg/L)</b>	<b>Agente</b>	<b>Media (%)</b>	<b>p</b>	<b>Grupo (Tukey)</b>
0.4	Azoxistrobina	42.6	< .001	b
0.4	Ciproconazol	28.9	< .001	b
0.4	Epoxiconazol	38.7	< .001	b
0.4	Piraclostrobina	61.6	< .001	a

---

**Tabla 4. ICM — Dosis 2.00 mg/L**

---

<b>Dosis (mg/L)</b>	<b>Agente</b>	<b>Media (%)</b>	<b>p</b>	<b>Grupo (Tukey)</b>
2.0	Azoxistrobina	41.5	< .001	b
2.0	Ciproconazol	28.3	< .001	b
2.0	Epoxiconazol	71.5	< .001	a

2.0	Piraclostrobina	72.3	< .001	a
-----	-----------------	------	--------	---

---

**Tabla 5. ICM — Dosis 10.00 mg/L**

<b>Dosis (mg/L)</b>	<b>Agente</b>	<b>Media (%)</b>	<b>p</b>	<b>Grupo (Tukey)</b>
10.0	Azoxistrobina	52.7	< .001	b
10.0	Ciproconazol	45.5	< .001	b
10.0	Epoxiconazol	95.3	< .001	a
10.0	Piraclostrobina	84.1	< .001	a

---

**Tabla 6. ICM — Dosis 50.00 mg/L**

<b>Dosis (mg/L)</b>	<b>Agente</b>	<b>Media (%)</b>	<b>p</b>	<b>Grupo (Tukey)</b>
50.0	Azoxistrobina	59.0	< .001	d
50.0	Ciproconazol	72.7	< .001	c

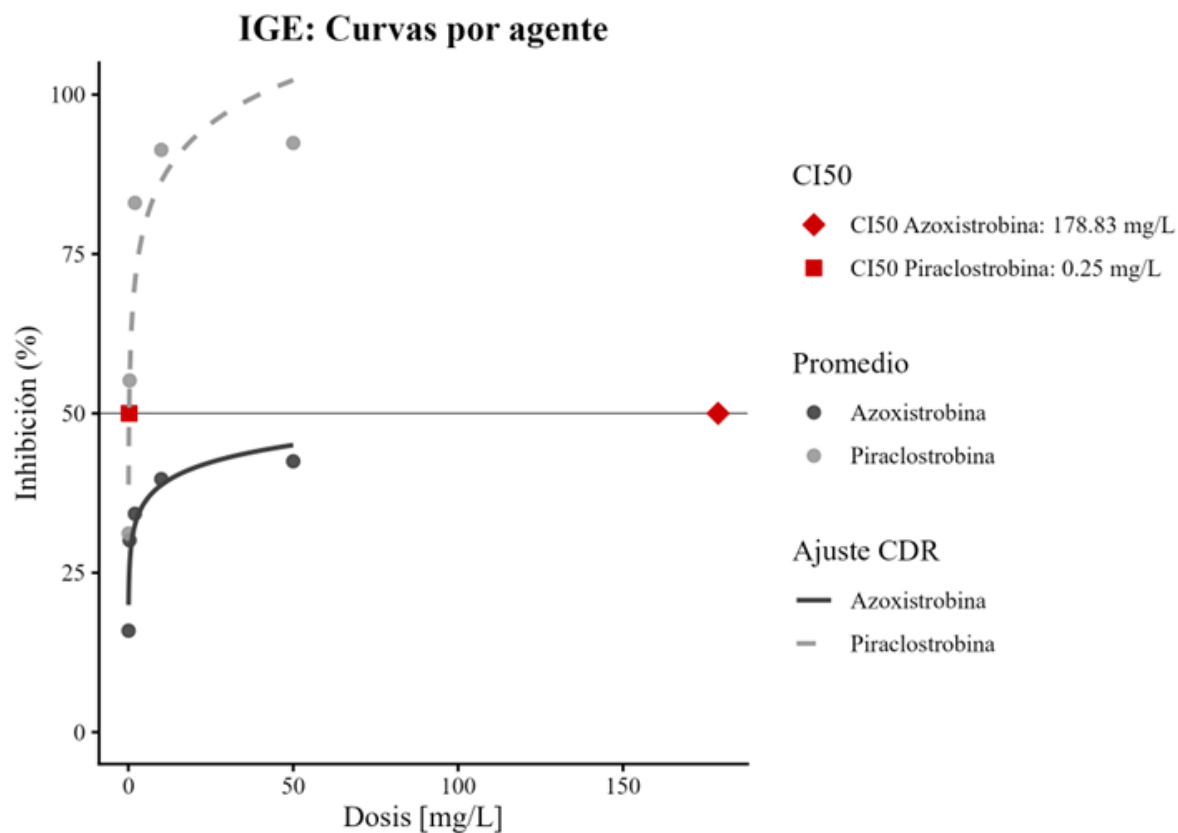
50.0	Epoxiconazol	97.9	< .001	a
50.0	Piraclostrobina	85.1	< .001	b

---

**Nota.** ANOVA de un factor por dosis; post hoc de Tukey con  $\alpha = 0.05$ . Media y DE en porcentaje. Medias con la misma letra no difieren entre sí.

### **Inhibición de germinación de esporas**

Piraclostrobina exhibe una CI50 muy baja (0.249 mg/L) con intervalo estrecho y dentro del rango de ensayo, lo que indica alta potencia y estimación precisa. En contraste, Azoxiestrobina requiere una concentración muy elevada para alcanzar 50% de inhibición (178.82 mg/L) y su CI50 queda fuera del rango observado. En términos prácticos, para inhibir la germinación de conidias, la piraclostrobina supera ampliamente a asoxyestrobina en eficacia a bajas dosis.



**Figura 2.** Ajuste de la curva dosis–respuesta para el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial, comparando los agentes Azoxistrobina y Piraclostrobina. Se muestran las líneas de ajuste en escala logarítmica de la dosis, los promedios observados por dosis y los marcadores de la CI50 ubicados en el 50% de inhibición.

**Tabla 7. ANOVA por dosis y Tukey entre fungicidas (IGE)**

Dosis (mg/L)	Agente	Media (%)	p	Grupo (Tukey)
0.08	Azoxistrobina	15.9	0.012	b
0.08	Piraclostrobina	31.2	0.012	a

0.4	Azoxistrobina	30.1	0.002	b
0.4	Piraclostrobina	55.2	0.002	a
2.0	Azoxistrobina	34.2	< .001	b
2.0	Piraclostrobina	83.0	< .001	a
10.0	Azoxistrobina	39.7	< .001	b
10.0	Piraclostrobina	91.3	< .001	a
50.0	Azoxistrobina	42.5	< .001	b
50.0	Piraclostrobina	92.4	< .001	a

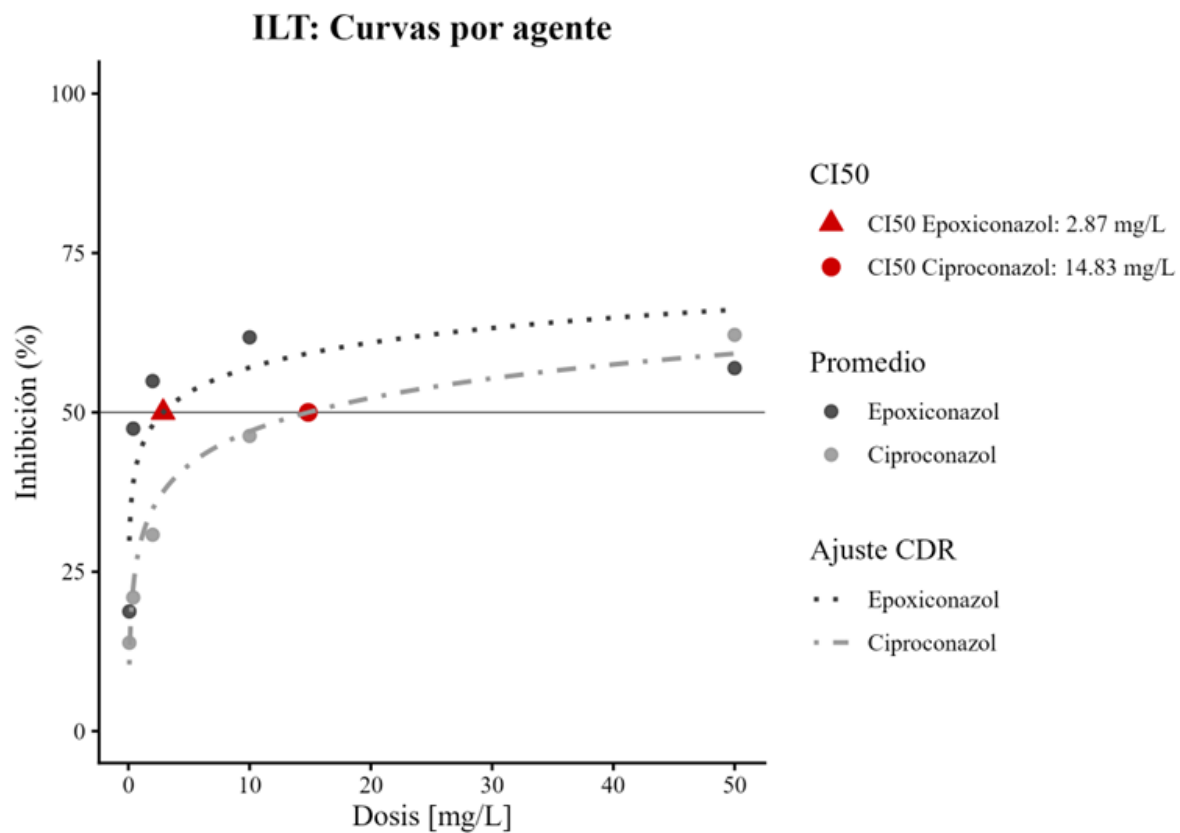
---

Nota. ANOVA de un factor por dosis; post hoc de Tukey con  $\alpha = 0.05$ . Media en porcentaje. Medias con la misma letra no difieren entre sí.

En todas las dosis evaluadas Piraclostrobina supera significativamente a Azoxistrobina, con distancias que aumentan al crecer la concentración (Tabla 7). A partir de 2.00 mg/L, Piraclostrobina alcanza inhibiciones cercanas al techo, mientras Azoxistrobina se mantiene en niveles intermedios con mayor dispersión relativa. El patrón dosis dependiente consolida la ventaja de Piraclostrobina para prevenir la germinación, comenzando desde dosis bajas y acentuándose en el tramo medio-alto del gradiente.

#### **Inhibición de longitud de tubo germinativo.**

El Epoxiconazol alcanza niveles relevantes de inhibición con concentraciones mucho menores que Ciproconazol. Su CI50 es alrededor de cinco veces más baja, lo que evidencia mayor potencia en términos de reducción de la longitud del tubo germinativo. A dosis bajas (2.867mg/L) la curva del Epoxiconazol se eleva con rapidez y supera pronto el umbral del 50%, mientras que el Ciproconazol necesita dosis bastante superiores (14.832 mg/L) para cruzar ese nivel y progresa de forma más lenta hacia la meseta. En el extremo más alto del rango ensayado ambas curvas tienden a estabilizarse, aunque el epoxiconazol conserva una ventaja en magnitud de respuesta. Como ambas CI50 se ubican dentro del rango de dosis observado, las estimaciones son consistentes con la evidencia experimental. En aplicaciones donde se busca una respuesta eficaz con menor cantidad de producto, los resultados favorecen al Epoxiconazol frente al Ciproconazol.



**Figura 3.** Ajuste de la curva dosis–respuesta para el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial, comparando los agentes Epoxiconazol y Ciproconazol. Cada curva corresponde al

modelo lineal en la escala log<sub>10</sub> de la dosis. Los puntos indican los promedios observados por dosis y el símbolo rojo marca la CI50 de cada agente, ubicada sobre la línea horizontal del 50%.

**Tabla 8. ANOVA por dosis y Tukey entre fungicidas (ILT)**

<b>Dosis (mg/L)</b>	<b>Agente</b>	<b>Media (%)</b>	<b>p</b>	<b>Grupo (Tukey)</b>
0.08	Ciproconazol	13.9	0.210	a
0.08	Epoiconazol	18.8	0.210	a
0.4	Ciproconazol	21.0	< .001	b
0.4	Epoiconazol	47.4	< .001	a
2.0	Ciproconazol	30.8	< .001	b
2.0	Epoiconazol	54.9	< .001	a
10.0	Ciproconazol	46.3	0.012	b
10.0	Epoiconazol	61.8	0.012	a
50.0	Ciproconazol	62.2	0.378	a
50.0	Epoiconazol	56.9	0.378	a

Nota. ANOVA de un factor por dosis; post hoc de Tukey con  $\alpha = 0.05$ . Media y DE en porcentaje. Medias con la misma letra no difieren entre sí.

En 0.08 mg/L no se observan diferencias entre Epoxiconazol y Ciproconazol (Tabla 8). Desde 0.40 mg/L hasta 10.00 mg/L, Epoxiconazol presenta medias de inhibición significativamente mayores, lo que indica un mejor control de la elongación del tubo germinativo en el rango operativo. En 50.00 mg/L las medias no difieren, probablemente por proximidad al techo de efecto y aumento de la variabilidad residual. En conjunto, el contraste por dosis confirma una ventaja consistente de Epoxiconazol en ILT en el tramo intermedio de concentraciones, con convergencia de respuestas en los extremos del gradiente.

## 5. DISCUSIÓN

La sensibilidad de *Colletotrichum* spp. a los fungicidas evaluados mostró un patrón consistentemente fase-específico, lo que confirma que las etapas del ciclo infectivo requieren aproximaciones diferenciadas para caracterizar la eficacia química. Los resultados obtenidos permiten interpretar de manera integrada el comportamiento de fungicidas FRAC 11 (QoI) y FRAC 3 (DMI) en tres niveles biológicos: germinación de conidios (IGE), elongación del tubo germinativo (ILT) y crecimiento micelial (ICM). Este enfoque es congruente con la literatura reciente que destaca la necesidad de caracterizar las respuestas por etapas debido al metabolismo diferencial de *Colletotrichum* durante la infección (Hu et al., 2023; Chen et al., 2021).

### 5.1. Inhibición del crecimiento micelial (ICM)

Los resultados en ICM evidenciaron la notable eficacia de Epoxiconazol, el cual alcanzó inhibiciones cercanas al 100 % en dosis intermedias y altas, mostrando consistencia en todas las repeticiones. Piraclostrobina también se comportó como un fungicida eficaz en esta fase, con inhibiciones superiores al 80 %. En contraste, Azoxistrobina y Ciproconazol mostraron incrementos más graduales, con inhibiciones moderadas incluso en las concentraciones más elevadas.

Este comportamiento ha sido reportado ampliamente en estudios recientes. Chen et al. (2021) demostraron que *Colletotrichum* spp. asociadas a antracnosis presentan una sensibilidad marcadamente superior a ciertos triazoles (incluidos Epoxiconazole y Difenconazole), lo cual se

relaciona con diferencias en la afinidad del compuesto por el sitio de acción Erg11. Complementariamente, investigaciones realizadas en *C. fructicola* y *C. siamense* asociadas a durazno han mostrado que la eficacia de DMI sobre el crecimiento micelial es elevada aun en presencia de variabilidad genética intraespecífica (Pang et al., 2022).

Los resultados de este estudio también reflejan tendencias documentadas en sistemas tropicales. Por ejemplo, Carvalho et al. (2021) reportaron sensibilidad reducida a Azoxistrobina en poblaciones de *C. gloeosporioides*, mientras que Piraclostrobina conservaba su eficacia. Esto coincide plenamente con el desempeño comparativo observado aquí entre ambas QoI. Asimismo, Poti et al. (2023) demostraron que *C. truncatum* puede mostrar multirresistencia, lo que subraya la importancia de interpretar variaciones como las detectadas en ICM como una manifestación de diversidad poblacional.

La principal implicación es que Epoxiconazol sobresale en la etapa de crecimiento micelial, posiblemente por su capacidad para interferir en procesos dependientes de la síntesis de ergosterol, crucial para la estabilidad de membranas durante el crecimiento hifal activo.

## **5.2. Inhibición de la germinación de conidios (IGE)**

La fase de germinación mostró que Piraclostrobina posee la CI50 más baja entre todos los fungicidas evaluados. Azoxistrobina, aunque pertenece al mismo grupo FRAC, presentó una eficacia inferior, requiriendo dosis considerablemente más altas para inhibir la germinación.

Este patrón está ampliamente documentado. Hu et al. (2023) demostraron que aislamientos de *C. asianum* resistentes a Azoxistrobina conservaban sensibilidad a Piraclostrobina, atribuido a diferencias específicas en la afinidad del compuesto por el complejo III mitocondrial. Asimismo, Pang et al. (2022) confirmaron que *C. siamense* puede perder sensibilidad a Azoxistrobina sin mostrar resistencia cruzada a otros QoI.

Otras investigaciones en pasifloras también reportan sensibilidad diferencial durante la germinación, etapa donde QoI altamente específicas presentan mayor eficacia que compuestos con menor afinidad respiratoria.

Por tanto, Piraclostrobina destaca como fungicida óptimo para interrumpir la germinación, lo que es clave epidemiológicamente para evitar la formación de apresorios y la penetración.

### 5.3. Inhibición de la elongación del tubo germinativo (ILT)

En ILT, Epoxiconazol mostró nuevamente una ventaja clara, con una  $CI_{50}$  notablemente baja y un efecto pronunciado desde dosis intermedias. El comportamiento de Ciproconazol fue significativamente inferior.

Este patrón coincide con estudios que demuestran que los DMI no solo afectan el crecimiento micelial, sino que son altamente eficaces para interrumpir procesos de elongación polarizada. Shi et al. (2022) demostraron que triazoles como Epoxiconazole y Difenconazole afectan directamente el crecimiento polarizado y la germinación, actuando antes de que el hongo inicie colonización significativa. Igualmente, Nguyen et al. (2022) reportaron que la sensibilidad de *C. gloeosporioides* a DMI es particularmente alta en etapas tempranas.

El estudio de de Morais et al. (2023) aporta información importante: aunque aislamientos de *C. musae* pueden presentar resistencia a QoI, los DMI conservan eficacia elevada y, además, los genotipos resistentes muestran costos de fitness que reducen su competitividad. Esto implica que Epoxiconazol puede no solo inhibir ILT, sino también desacelerar el establecimiento y propagación de biotipos menos sensibles.

### 5.4. Integración fase-específica de la sensibilidad

El patrón integrado de sensibilidad puede sintetizarse así:

- IGE (germinación): Piraclostrobina  $\gg$  Azoxistrobina
- ILT (tubo germinativo): Epoxiconazol  $\gg$  Ciproconazol
- ICM (crecimiento micelial): Epoxiconazol  $\geq$  Piraclostrobina  $\gg$  Azoxistrobina  $>$  Ciproconazol

Estas tendencias reflejan:

- La alta dependencia respiratoria del conidio durante la germinación por ende mayor sensibilidad a QoI (Hu et al., 2023).
- La intensa actividad biosintética durante la formación del tubo germinativo y por lo tanto mayor sensibilidad a DMI (Shi et al., 2022).

- La influencia de la variabilidad genética intraespecífica tuvo un desempeño diferenciado dentro del mismo FRAC (Poti et al., 2023; Carvalho et al., 2021).

Esta estructura fase dependiente también explica por qué algunos fungicidas, aunque menos eficaces en fases iniciales, presentan poder fungistático elevado en fases tardías.

El modelo  $\log_{10}(\text{dosis})$  empleado mostró ser adecuado para los datos generados, permitiendo identificar tendencias lineales claras. Este enfoque es respaldado por Ritz et al. (2015) y adoptado en estudios recientes de resistencia en *Colletotrichum* (Chen et al., 2021).

El uso de errores robustos (HC3) permitió corregir heterocedasticidad, habitual en bioensayos de fungicidas. La winsorización aseguró estabilidad en la estimación de  $CI_{50}$  y evitó que valores atípicos sesgaran la interpretación.

## 6. CONCLUSIONES

El estudio evidenció diferencias significativas en la sensibilidad de *Colletotrichum* spp. a los fungicidas evaluados, con respuestas dependientes de la fase del ciclo del patógeno. Piraclostrobina (FRAC 11) mostró la mayor eficacia en la inhibición de la germinación de conidios, alcanzando la  $CI_{50}$  más baja, lo cual coincide con reportes de alta sensibilidad de las etapas iniciales del patógeno a estrobilurinas de alto desempeño (Hu et al., 2023; Cañarte et al., 2022). En contraste, Azoxistrobina presentó menor actividad, coherente con estudios que documentan pérdida de sensibilidad en varias especies del género (Carvalho et al., 2021).

En la inhibición de la elongación del tubo germinativo y del crecimiento micelial, Epoxiconazol (FRAC 3) sobresalió como el fungicida más eficaz, con una  $CI_{50}$  considerablemente menor que Ciproconazol. Este comportamiento es congruente con investigaciones que destacan el impacto de los DMI en procesos dependientes de la síntesis de ergosterol y crecimiento hifal (Chen et al., 2021; da Aguiar Carraro et al., 2024).

La integración de los resultados permitió establecer un patrón claro de eficacia relativa: Piraclostrobina fue superior en germinación (IGE), mientras Epoxiconazol destacó en elongación hifal (ILT) y crecimiento micelial (ICM). Este comportamiento coincide con la literatura que re-

porta diferencias intra-grupo y casos de resistencia parcial en *Colletotrichum* spp. (Poti et al., 2023; de Moraes et al., 2023).

A nivel aplicado, los hallazgos respaldan la rotación estratégica entre FRAC 11 y FRAC 3, en concordancia con las guías internacionales de manejo antiresistencia, priorizando Piraclostrobina en etapas tempranas y Epoxiconazol en etapas de establecimiento del patógeno. Además, se resalta la necesidad de mantener programas de vigilancia de sensibilidad en poblaciones locales de *Colletotrichum*, dada la variabilidad reportada en otras regiones productoras.

## 7. CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no existe conflicto de interés.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

- Amaro, A. C. E., Baron, D., Ono, E. O., & Rodrigues, J. D. (2020). Physiological effects of strobilurin and carboxamides on plants: An overview. *Acta Physiologiae Plantarum*, 42(4), 4. <https://doi.org/10.1007/s11738-019-2991-x>
- Arcila-Moreno, A. (2020). *Efecto de los agroquímicos en el control natural*. En P. Benavides Machado & C. E. Góngora (Eds.), *Cenicafé* (pp. 158–185). [https://doi.org/10.38141/10791/0001\\_7](https://doi.org/10.38141/10791/0001_7)
- Armesto, C., Maia, F. G. M., Monteiro, F. P., & Abreu, M. S. de. (2016). *Colletotrichum on coffee trees in south of Minas Gerais-Brazil: physiological, molecular and pathogenic description*.
- Breusch, T. S., & Pagan, A. R. (1979). A simple test for heteroscedasticity and random coefficient variation. *Econometrica*, 47(5), 1287–1294.
- Carreño, J., Sánchez, L., Guzmán-Cedeño, Á., Suárez-Palacios, C., & Vélez-Zambrano, S. (2021). Efecto in vitro de fungicidas para el control de *Colletotrichum* spp. en frutales. *Revista Ciencia UNEMI*, 14(35), 37–42. <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/8375421.pdf>
- Carreño-Toala, J., Sánchez, L., Guzmán-Cedeño, Á., Suárez-Palacios, C., & Vélez-Zambrano, S. (2021). *Efecto in vitro de fungicidas para el control de Colletotrichum spp. en frutales, Manabí – Ecuador*. *Revista Ciencia UNEMI*, 14(35), 37–42. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=8375421>
- CNE. (1994). Comité Local de Emergencia Coto Brus: Plan local de emergencia.
- de Aguiar Carraro, T., dos Santos Faria Lichtemberg, P., Michailides, T. J., & May De Mio, L. (2024). Fungicide sensitivity of *Colletotrichum* isolates and efficacy in controlling persimmon anthracnose. *Tropical Plant Pathology*, 49(1), 104–119. <https://doi.org/10.1007/s40858-023-00594-5>

- FAOSTAT. (2025). *Coffea Arabica*. Base de Datos de La Producción Mundial de Café.  
<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>
- Forcelini, B. B., Seijo, T. E., Amiri, A., Peres, N. A., & Dewdney, M. M. (2016). Resistance in strawberry isolates of *Colletotrichum acutatum* to azoxystrobin and pyraclostrobin. *Plant Disease*, 100(11), 2231–2238
- FRAC. (2024). FRAC Code List 2024. *Fungicide Resistance Action Committee*.
- Guevara-Suarez, M., Cárdenas, M., Jiménez, P., Afanador-Kafuri, L., & Restrepo, S. (2022). *Colletotrichum species complexes associated with crops in northern South America: A review*. *Agronomy*, 12(3), 548. <https://doi.org/10.3390/agronomy12030548>
- Hilje-Rodríguez, I., & Molina-Bravo, R. (2020). Inoculation and co-inoculation of two monosporic fungi onto surface-sterile blackberry fruits for quantification experiments. *MethodsX*, 7, 101092. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.mex.2020.101092>
- Hu, S., Zhang, S., Xiao, W., Liu, Y., Yu, H., & Zhang, C. (2023a). Diversity and characterization of resistance to pyraclostrobin in *Colletotrichum* spp. from strawberry. *Agronomy*, 13(11), 2824. <https://doi.org/10.3390/agronomy13112824>
- Hu, S., Zhang, S., Xiao, W., Liu, Y., Yu, H., & Zhang, C. (2023b). Mutations associated with fungicide resistance in *Colletotrichum* spp. *Phytoparasitica*, 51(5), 789–802.  
<https://doi.org/10.1007/s12600-023-01063-0>
- ICAFFE. (2020a). *Guía técnica para el cultivo del café*.
- ICAFFE. (2020b). *Informe de actividad cafetalera de Costa Rica*.
- ICAFFE. (2021). Caracterización de la sensibilidad a fungicidas en aislamientos de *Colletotrichum* spp. Provenientes de seis regiones cafetaleras de Costa Rica. In *Informe anual de investigaciones* (pp. 124–138).
- Long, J. S., & Ervin, L. H. (2000). Using heteroscedasticity-consistent standard errors in the linear regression model. *The American Statistician*, 54(3), 217–224.

- Luo, Q., et al. (2021). Resistance to azoxystrobin and thiophanate-methyl is widespread in *Colletotrichum* spp. from strawberry. *Plant Disease*, 105(3), 725–732.
- Madrigal-Mora, J. (2002). *Diagnóstico de amenazas naturales, herramientas necesarias para los planes de ordenamiento territorial (POT) e implementación de medidas de prevención y mitigación para la protección del ambiente en la cuenca hidrográfica superior del Río Pirris (CHSRP)*. Universidad de Costa Rica.
- Ogoshi, C., Pinto, F. A. M. F., Neto, H. S., Da Silva, B. M., De Abreu, M. S., & De Resende, M. L. V. (2015). Viability and susceptibility of propagation material from coffee plants to *Colletotrichum* sp. *Semina: Ciências Agrarias*, 36(6), 3539–3552.  
<https://doi.org/10.5433/1679-0359.2015v36n6p3539>
- Ritz, C., Baty, F., Streibig, J. C., & Gerhard, D. (2015). Dose–response analysis using R. *PLOS ONE*, 10(12), e0146021.
- Rodríguez, M. (2024). Eficacia in vitro de triazoles y estrobilurinas sobre cinco aislamientos de *Colletotrichum* spp. provenientes de hojas de café [Tesis de licenciatura, Universidad de Costa Rica]. Repositorio SIBDI. <https://repositorio.sibdi.ucr.ac.cr/items/402e17bb-8f72-4193-82e7-266cf0b9fc4e>
- Shapiro, S. S., & Wilk, M. B. (1965). An analysis of variance test for normality. *Biometrika*, 52(3–4), 591–611.
- Solano, J., & Villalobos, R. (s.f.). *Regiones y subregiones climáticas de Costa Rica*.  
[www.imn.ac.cr](http://www.imn.ac.cr)
- Song, L., Wang, S., Zou, H., Yi, X., Jia, S., Li, R., & Song, J. (2025). Regulation of Ergosterol Biosynthesis in Pathogenic Fungi: Opportunities for Therapeutic Development. *Microorganisms*, 13(4), 862. <https://doi.org/10.3390/microorganisms13040862>
- Usman, H. M., et al. (2021). Sensitivity of *Colletotrichum fructicola* and related species to azoxystrobin and pyraclostrobin; lack of positive cross-resistance patterns. *Plant Disease*, 105(9), 2433–2442.

Varveri, M., & Tsitsigiannis, D. I. (2024). Chemical control of olive anthracnose and fungicide resistance profiles in *Colletotrichum acutatum* sensu stricto isolates from Greek olive groves. *Journal of Plant Diseases and Protection*. Advance online publication. <https://doi.org/10.1007/s42161-024-01814-w>

Yaling, L., Pongnak, W., & Kasem, S. (2015). *Effect of different factors on sporulation of Colletotrichum coffeanum*. *11*(4), 997–1012.

## 9. ANEXOS

**Anexo 1.** Comandos utilizados para determinar el C150 del ICM, IGE, ILT

```
pkgs <- c("tidyverse","readxl","janitor","here","scales")
for (p in pkgs) {
  if (!requireNamespace(p, quietly = TRUE)) {
    if (requireNamespace("renv", quietly = TRUE)) renv::install(p) else install.packages(p)
  }
}
lapply(pkgs, library, character.only = TRUE)
```

```
# scripts/01_import_clean.R
# Objetivo: importar los 3 Excel, estandarizar nombres de columnas,
# limpiar textos y números, y guardar versiones "procesadas".
```

```
library(tidyverse)
library(readxl)
library(janitor)
library(here)
library(scales)
```

```
# 1) Rutas y carpetas de salida
raw_dir <- here("dataraw")
```

```

proc_dir <- here("dataprocessed")
dir.create(proc_dir, showWarnings = FALSE, recursive = TRUE)

# 2) Utilidades de limpieza
# - Limpia espacios repetidos
# - Convierte "1,23" a "1.23" cuando corresponde
clean_text <- function(x) {
  if (!is.character(x)) return(x)
  x <- stringr::str_squish(x)
  x
}

char_to_num_if_possible <- function(x) {
  if (!is.character(x)) return(x)
  x2 <- gsub(",", ".", x) # cambia coma decimal por punto
  ok_numeric <- grepl("^[+-]?[0-9]*\\.?[0-9]+$", x2) | x2 == "" | is.na(x2)
  if (all(ok_numeric)) suppressWarnings(as.numeric(ifelse(x2 == "", NA, x2))) else x
}

# 3) Función genérica para leer-unificar-guardar
load_clean_save <- function(file_name, out_stub) {
  message("Leyendo: ", file_name)
  df <- readxl::read_excel(here::here(raw_dir, file_name), guess_max = 5000) |>
  janitor::clean_names() |>
  mutate(across(where(is.character), clean_text)) |>
  mutate(across(where(is.character), char_to_num_if_possible))

# Sugerencia de tipado mínimo:
# Si existen estas columnas, se tipan como factor para análisis posteriores
for (col in c("zona", "finca", "fungicida", "tratamiento")) {
  if (col %in% names(df)) df[[col]] <- factor(df[[col]])
}

```

```

}
# Dosis suele ser numérica
for (col in c("dosis","concentracion","conc","mg_l","dose")) {
  if (col %in% names(df)) {
    df[[col]] <- suppressWarnings(as.numeric(df[[col]]))
    names(df)[names(df) == col] <- "dosis"    # estandariza el nombre a "dosis"
    break
  }
}

# Reporte rápido a consola
message("Columnas: ", paste(names(df), collapse = ", "))
print(glimpse(df), width = 80)

# Guarda como RDS y CSV en dataprocessed
readr::write_rds(df, here::here(proc_dir, paste0(out_stub, ".rds")))
readr::write_csv(df, here::here(proc_dir, paste0(out_stub, ".csv")))
invisible(df)
}

# 4) Importación de cada archivo
cm <- load_clean_save("Crecimineto miceliar.xlsx", "crecimiento_miceliar")
gc <- load_clean_save("Germinación de conidias.xlsx","germinacion_conidias")
lt <- load_clean_save("Longitud conidias.xlsx", "longitud_conidias")

# 5) Nota útil:
# En pasos siguientes se generará una variable 'log10_dosis' cuando 'dosis' exista:
# df |> mutate(log10_dosis = log10(dosis)) ...

scripts/02b_8_3_curvas_y_CI50_APA.R
# Sección 8.3: Ajustes media ~ log10(dosis) y CI50 con IC95%, por agente.

```

# Salidas: Tablas 2–4 (CSV + DOCX simple) y Figuras 4–6 (PNG) en formato APA.

```
# ----- Paquetes -----
ensure_pkgs <- function(pkgs){
  for (p in pkgs){
    if (!requireNamespace(p, quietly = TRUE)) {
      if (requireNamespace("renv", quietly = TRUE)) renv::install(p) else
install.packages(p)
    }
    suppressPackageStartupMessages(library(p, character.only = TRUE))
  }
}
ensure_pkgs(c("tidyverse","here","readr","ggplot2","MASS","officer"))

# ----- Rutas -----
proc_dir <- here::here("dataprocessed")
fig_dir <- here::here("outputsfigures")
tab_dir <- here::here("outputstables")
dir.create(fig_dir, showWarnings = FALSE, recursive = TRUE)
dir.create(tab_dir, showWarnings = FALSE, recursive = TRUE)

# ----- Utilidades -----
pick_col <- function(df, candidates, label){
  hit <- intersect(candidates, names(df))
  if (length(hit) == 0) stop(sprintf("No se encontró columna para '%s'. Nombres: %s",
label, paste(names(df), collapse=" ")))
  hit[1]
}

find_response_col <- function(df, candidates){
  hit <- intersect(candidates, names(df)); if (length(hit) > 0) return(hit[1])
}
```

```

pat <- "(percent|porc|inhib|icm|ige|ilt)"
hit2 <- grep(pat, names(df), ignore.case = TRUE, value = TRUE)
hit2 <- setdiff(hit2, c("dosis", "dose", "conc", "concentracion", "mg_l"))
if (length(hit2) > 0) return(hit2[1])
num <- names(df)[sapply(df, is.numeric)]
num <- setdiff(num,
c("dosis", "dose", "conc", "concentracion", "mg_l", "rep", "repeticion"))
is_pct <- function(v){v <- suppressWarnings(as.numeric(v)); v <- v[is.finite(v)]; if
(length(v)<5) return(FALSE); rng <- range(v, na.rm=TRUE); rng[1]>=-1 &&
rng[2]<=101}
cand3 <- num[sapply(num, function(c) is_pct(df[[c]])]
if (length(cand3) > 0) return(cand3[1])
stop(sprintf("No se encontró columna de respuesta. Nombres: %s", paste(names(df),
collapse=" ")))
}

```

```

prep_df <- function(df, resp_candidates){
  agente_col <- pick_col(df, c("fungicida", "tratamiento"), "agente")
  dosis_col <- pick_col(df, c("dosis", "conc", "concentracion", "mg_l", "dose"), "dosis")
  resp_col <- find_response_col(df, resp_candidates)
  df |>
  rename(agente = !!sym(agente_col), dosis = !!sym(dosis_col), respuesta =
!!sym(resp_col)) |>
  mutate(
    agente = as.factor(agente),
    dosis = suppressWarnings(as.numeric(dosis)),
    resp_clip = pmin(pmax(as.numeric(respuesta), 0), 100)
  )
}

```

```
# Tema APA para ggplot
```

```

set_apapa_theme <- function(base_size = 12, base_family = "Times New Roman"){
  theme_set(theme_classic(base_size = base_size, base_family = base_family))
  theme_update(
    plot.title = element_text(hjust = 0.5),
    legend.position = "none",
    strip.background = element_rect(fill = "white"),
    strip.text = element_text(face = "bold")
  )
}

save_apapa <- function(p, file, w=6.5, h=4.5, dpi=300){
  ggsave(file, p, width=w, height=h, units="in", dpi=dpi); message("Guardado: ", file)
}

# Resumen medias por agente×dosis
resumir <- function(df){
  df |>
  group_by(agente, dosis) |>
  summarise(n = dplyr::n(),
            media = mean(resp_clip, na.rm = TRUE),
            sd = sd(resp_clip, na.rm = TRUE),
            se = sd/sqrt(n), .groups="drop")
}

# Ajuste lineal de media ~ log10(dosis) y CI50 con IC95%
ajusta_y_ci50 <- function(df_mean){
  df_mean <- df_mean |> dplyr::filter(is.finite(dosis), dosis > 0)
  if (nrow(df_mean) < 3) return(NULL)

  df_mean <- df_mean |> mutate(log10_dosis = log10(dosis))
  mdl <- lm(media ~ log10_dosis, data = df_mean)
  coefs <- coef(mdl)
}

```

```

a <- unname(coefs[1]); b <- unname(coefs[2])
r2 <- summary mdl)$r.squared

ci50_log <- (50 - a) / b
ci50 <- if (is.finite(ci50_log)) 10^ci50_log else NA_real_

V <- tryCatch(vcov mdl, error = function(e) NULL)
if (!is.null(V) && is.finite(ci50) && b != 0){
  Sims <- tryCatch(MASS::mvrnorm(n = 5000, mu = coefs, Sigma = V), error =
function(e) NA)
  if (is.matrix(Sims)){
    a_s <- Sims[,1]; b_s <- Sims[,2]
    ci50_s <- (50 - a_s) / b_s
    ci50_s <- 10^ci50_s
    ci50_s <- ci50_s[is.finite(ci50_s) & ci50_s > 0]
    if (length(ci50_s) >= 100){
      ci_lwr <- quantile(ci50_s, 0.025, na.rm = TRUE)
      ci_upr <- quantile(ci50_s, 0.975, na.rm = TRUE)
    } else { ci_lwr <- NA_real_; ci_upr <- NA_real_ }
    } else { ci_lwr <- NA_real_; ci_upr <- NA_real_ }
    } else { ci_lwr <- NA_real_; ci_upr <- NA_real_ }

min_d <- min(df_mean$dosis, na.rm = TRUE); max_d <- max(df_mean$dosis, na.rm =
TRUE)
in_range <- is.finite(ci50) && (ci50 >= min_d) && (ci50 <= max_d)

tibble(
  intercepto = a, pendiente = b, r2 = r2,
  ci50 = ci50, ci50_lwr = as.numeric(ci_lwr), ci50_upr = as.numeric(ci_upr),
  dosis_min = min_d, dosis_max = max_d, ci50_en_rango = in_range
)

```

```

}

# Figura de curvas ajustadas
figura_ajustada <- function(sum_mean, params_tbl, titulo_var, fig_name){
  grid <- sum_mean |>
  group_by(agente) |>
  summarise(dmin = min(dosis), dmax = max(dosis), .groups="drop") |>
  mutate(x = purrr::map2(dmin, dmax, ~ seq(.x, .y, length.out = 100))) |>
  tidyr::unnest(x) |>
  rename(dosis = x) |>
  left_join(params_tbl |> mutate(agente = as.factor(agente)), by = "agente") |>
  mutate(pred = ifelse(is.finite(pendiente),
                       intercepto + pendiente*log10(dosis),
                       NA_real_))

  p <- ggplot() +
    geom_line(data = grid, aes(dosis, pred), size = 0.7) +
    geom_point(data = sum_mean, aes(dosis, media), size = 2) +
    facet_wrap(~ agente, scales = "free_y") +
    labs(title = paste("Curvas ajustadas por agente -", titulo_var),
         x = "Dosis [mg/L]", y = "% inhibición (promedio)")
    save_apapa(p, file.path(fig_dir, fig_name))
}

# Detecta un estilo de tabla disponible en el DOCX
safe_table_style <- function(doc, preferred = c("Table Grid", "Light Grid", "Table Grid
Light", "Normal Table", "Plain Table 1")){
  info <- try(officer::styles_info(doc), silent = TRUE)
  if (inherits(info, "try-error")) return(NULL)
  cols <- names(info)

```

```

name_col <- if ("style_name" %in% cols) "style_name" else if ("name" %in% cols)
"name" else NULL
type_col <- if ("style_type" %in% cols) "style_type" else if ("type" %in% cols) "type"
else NULL
if (is.null(name_col) || is.null(type_col)) return(NULL)
tab <- info[ info[[type_col]] %in% c("table","Table"), , drop = FALSE ]
if (nrow(tab) == 0) return(NULL)
for (p in preferred){
  hit <- which(tolower(tab[[name_col]]) == tolower(p))
  if (length(hit) > 0) return(tab[[name_col]][hit[1]])
}
tab[[name_col]][1]
}

```

# DOCX de parámetros y CI50 (sin flextable), usando estilo disponible

```

export_params_docx <- function(df_params, tabla_num, titulo){
df_out <- df_params |>
  transmute(
    Agente = agente,
    Intercepto = round(intercepto, 3),
    Pendiente = round(pendiente, 3),
    `R²` = round(r2, 3),
    `CI50 (mg/L)` = ifelse(is.finite(ci50), round(ci50, 3), NA),
    `IC95% CI50 (mg/L)` = ifelse(is.finite(ci50_lwr) & is.finite(ci50_upr),
      paste0(round(ci50_lwr,3), "-", round(ci50_upr,3)), NA),
    `En rango` = ifelse(ci50_en_rango, "Sí", "No")
  )

doc <- read_docx()
style_name <- safe_table_style(doc)

```

```

doc <- body_add_fpar(doc, fpar(ftext(paste0("Tabla ", tabla_num), fp_text(bold =
TRUE))))
doc <- body_add_fpar(doc, fpar(ftext(titulo, fp_text(italic = TRUE))))
doc <- body_add_par(doc, "")

if (is.null(style_name)) {
  doc <- body_add_table(doc, value = df_out)
} else {
  doc <- body_add_table(doc, value = df_out, style = style_name)
}

outdoc <- file.path(tab_dir, paste0("Tabla_", tabla_num, "_", gsub("[.]", "_", titulo),
".docx"))
print(doc, target = outdoc)
message("Guardado: ", outdoc, " (estilo usado: ", ifelse(is.null(style_name),
"predeterminado", style_name), ")")
}

# ----- Cargar datos -----
cm <- readr::read_rds(file.path(proc_dir, "crecimiento_miceliar.rds"))
gc <- readr::read_rds(file.path(proc_dir, "germinacion_conidias.rds"))
lt <- readr::read_rds(file.path(proc_dir, "longitud_conidias.rds"))

resp_cm_candidates <-
c("percent_icm", "icm", "inhibicion_crecimiento_miceliar", "porcentaje_inhibicion", "inhibi
cion")
resp_gc_candidates <-
c("percent_ige", "ige", "indice_germinacion", "inhibicion_germinacion", "porcentaje_inhibi
cion", "inhibicion")
resp_lt_candidates <-
c("percent_ilt", "ilt", "inhibicion_longitud_tubo", "porcentaje_inhibicion", "inhibicion")

```

```

cm_p <- prep_df(cm, resp_cm_candidates)
gc_p <- prep_df(gc, resp_gc_candidates)
lt_p <- prep_df(lt, resp_lt_candidates)

# ----- Medias por agente×dosis -----
cm_m <- resumir(cm_p)
gc_m <- resumir(gc_p)
lt_m <- resumir(lt_p)

# ----- Ajustar y calcular CI50 -----
ajusta_por_agente <- function(df_m){
  df_m |>
  group_by(agente) |>
  group_modify(~ ajusta_y_ci50(.x)) |>
  ungroup()
}
cm_params <- ajusta_por_agente(cm_m)
gc_params <- ajusta_por_agente(gc_m)
lt_params <- ajusta_por_agente(lt_m)

# ----- Guardar tablas CSV -----
write_csv(cm_params |> mutate(agente = as.character(agente)),
          file.path(tab_dir, "Tabla_2_Param_y_CI50_ICM.csv"))
write_csv(gc_params |> mutate(agente = as.character(agente)),
          file.path(tab_dir, "Tabla_3_Param_y_CI50_IGE.csv"))
write_csv(lt_params |> mutate(agente = as.character(agente)),
          file.path(tab_dir, "Tabla_4_Param_y_CI50_ILT.csv"))

# ----- Exportar DOCX (APA) -----
export_params_docx(cm_params |> mutate(agente = as.character(agente)),

```

```

        tabla_num = 2,
        titulo = "Parámetros del modelo y CI50 por agente (ICM)")
export_params_docx(gc_params |> mutate(agente = as.character(agente)),
        tabla_num = 3,
        titulo = "Parámetros del modelo y CI50 por agente (IGE)")
export_params_docx(lt_params |> mutate(agente = as.character(agente)),
        tabla_num = 4,
        titulo = "Parámetros del modelo y CI50 por agente (ILT)")

# ----- Figuras 4–6 (APA) -----
set_apa_theme()
figura_ajustada(cm_m, cm_params |> mutate(agente = as.factor(agente)),
        "ICM", "Figura_4_ICM_Curvas_ajustadas_APA.png")
figura_ajustada(gc_m, gc_params |> mutate(agente = as.factor(agente)),
        "IGE", "Figura_5_IGE_Curvas_ajustadas_APA.png")
figura_ajustada(lt_m, lt_params |> mutate(agente = as.factor(agente)),
        "ILT", "Figura_6_ILT_Curvas_ajustadas_APA.png")

message("Listo: Tablas 2–4 y Figuras 4–6 generadas con formato APA.")

```

**Anexo 2.** Comandos utilizados para ANOVA y pruebas Tukey.

```

# scripts/02f_anova_tukey_por_dosis_APA.R
# ANOVA por dosis + Tukey entre agentes (ICM, IGE, ILT)
# Exporta CSV por variable + 1 CSV consolidado y, si hay officer/flextable, 3 DOCX en
formato APA.

```

```

# ----- paquetes -----
ensure_pkgs <- function(pkgs){
  for (p in pkgs){
    if (!requireNamespace(p, quietly = TRUE)){

```

```

    if (requireNamespace("renv", quietly = TRUE)) renv::install(p) else
install.packages(p, dependencies = TRUE)
  }
  suppressPackageStartupMessages(library(p, character.only = TRUE))
}
}
ensure_pkgs(c("tidyverse","here","readr","broom","multcompView"))

FT_OK <- FALSE
suppressWarnings({
  if (requireNamespace("officer", quietly = TRUE) && requireNamespace("flextable",
quietly = TRUE)){
    library(officer); library(flextable)
    FT_OK <- TRUE
  }
})

# ----- rutas -----
proc_dir <- here::here("dataprocessed")
tab_dir <- here::here("outputstables")
dir.create(tab_dir, showWarnings = FALSE, recursive = TRUE)

# ----- utilidades de columnas -----
pick_col <- function(df, candidates, label){
  hit <- intersect(candidates, names(df))
  if (length(hit) == 0){
    stop(sprintf("No se encontró columna para '%s'. Nombres: %s",
label, paste(names(df), collapse=", ")))
  }
  hit[1]
}

```

```

find_response_col <- function(df, candidates){
  hit <- intersect(candidates, names(df))
  if (length(hit) > 0) return(hit[1])
  pat <- "(percent|porc|inhib|icm|ige|ilt)"
  hit2 <- grep(pat, names(df), ignore.case = TRUE, value = TRUE)
  hit2 <- setdiff(hit2, c("dosis","dose","conc","concentracion","mg_l"))
  if (length(hit2) > 0) return(hit2[1])
  stop(sprintf("No se encontró columna de respuesta en: %s", paste(names(df),
collapse=", ")))
}

prep_df <- function(df, resp_candidates){
  agente_col <- pick_col(df, c("fungicida","tratamiento","agente"), "agente")
  dosis_col <- pick_col(df, c("dosis","conc","concentracion","mg_l","dose"), "dosis")
  resp_col <- find_response_col(df, resp_candidates)
  df %>%
  dplyr::rename(
    agente = !!rlang::sym(agente_col),
    dosis = !!rlang::sym(dosis_col),
    respuesta = !!rlang::sym(resp_col)
  ) %>%
  dplyr::mutate(
    agente = as.factor(agente),
    dosis = suppressWarnings(as.numeric(dosis)),
    resp_clip = pmin(pmax(as.numeric(respuesta), 0), 100)
  ) %>%
  dplyr::filter(is.finite(dosis), is.finite(resp_clip))
}

# ----- cargar datos -----

```

```

cm <- readr::read_rds(file.path(proc_dir, "crecimiento_miceliar.rds"))
gc <- readr::read_rds(file.path(proc_dir, "germinacion_conidias.rds"))
lt <- readr::read_rds(file.path(proc_dir, "longitud_conidias.rds"))

resp_cm_candidates <-
c("percent_icm","icm","inhibicion_crecimiento_miceliar","porcentaje_inhibicion","inhibi
cion")
resp_gc_candidates <-
c("percent_ige","ige","indice_germinacion","inhibicion_germinacion","porcentaje_inhibi
cion","inhibicion")
resp_lt_candidates <-
c("percent_ilt","ilt","inhibicion_longitud_tubo","porcentaje_inhibicion","inhibicion")

cm_p <- prep_df(cm, resp_cm_candidates)
gc_p <- prep_df(gc, resp_gc_candidates)
lt_p <- prep_df(lt, resp_lt_candidates)

# ----- letras de Tukey -----
get_tukey_letters <- function(fit){
  thsd <- TukeyHSD(fit, which = "agente", conf.level = 0.95)
  L <- multcompView::multcompLetters4(fit, thsd)
  obj <- L$agente
  if (is.list(obj) && !is.null(obj$Letters)) obj <- obj$Letters
  data.frame(
    agente = names(obj),
    grupo = gsub("\\s+", "", as.character(obj)),
    stringsAsFactors = FALSE
  )
}

# ----- ANOVA + Tukey por dosis -----

```

```

do_anova_tukey_por_dosis <- function(df, var_label){
  res <- list()
  for (d in sort(unique(df$dosis))){
    sub <- df %>% dplyr::filter(dosis == d)
    if (dplyr::n_distinct(sub$agente) < 2 || nrow(sub) < 3) next

    fit <- aov(resp_clip ~ agente, data = sub)
    a_tbl <- anova(fit)
    if (!("agente" %in% rownames(a_tbl))) next

    df1 <- as.numeric(a_tbl["agente", "Df"])
    df2 <- as.numeric(a_tbl["Residuals", "Df"])
    Fval <- suppressWarnings(as.numeric(a_tbl["agente", "F value"]))
    pval <- suppressWarnings(as.numeric(a_tbl["agente", "Pr(>F)"]))

    if (!is.finite(df2) || df2 <= 0) next

    letras <- tryCatch(get_tukey_letters(fit), error = function(e) NULL)

    sumario <- sub %>%
      dplyr::group_by(agente) %>%
      dplyr::summarise(
        n = dplyr::n(),
        media = mean(resp_clip, na.rm = TRUE),
        de = sd(resp_clip, na.rm = TRUE),
        .groups = "drop"
      )

    out <- sumario %>%
      dplyr::left_join(letras, by = "agente") %>%
      dplyr::mutate(

```

```

    variable = var_label,
    dosis = d,
    F = Fval, gl1 = df1, gl2 = df2, p = pval,
    grupo = ifelse(is.na(grupo), "", grupo)
  ) %>%
  dplyr::select(variable, dosis, agente, n, media, de, F, gl1, gl2, p, grupo)

  res[[as.character(d)]] <- out
}
dplyr::bind_rows(res)
}

tab_icm <- do_anova_tukey_por_dosis(cm_p, "ICM")
tab_ige <- do_anova_tukey_por_dosis(gc_p, "IGE")
tab_ilt <- do_anova_tukey_por_dosis(lt_p, "ILT")

# ----- exportar CSV -----
readr::write_csv(tab_icm, file.path(tab_dir, "ANOVA_Tukey_ICM_por_dosis.csv"))
readr::write_csv(tab_ige, file.path(tab_dir, "ANOVA_Tukey_IGE_por_dosis.csv"))
readr::write_csv(tab_ilt, file.path(tab_dir, "ANOVA_Tukey_ILT_por_dosis.csv"))

consolidado <- dplyr::bind_rows(tab_icm, tab_ige, tab_ilt) %>%
  dplyr::arrange(variable, dosis, agente)
readr::write_csv(consolidado, file.path(tab_dir,
"ANOVA_Tukey_consolidado_por_dosis.csv"))

message("CSV creados en 'outputstables/'.")

# ----- exportar DOCX (APA), uno por variable -----
if (FT_OK){
  make_docx_apa <- function(df_var, var_label, filename_docx){

```

```

if (nrow(df_var) == 0){
  message("Sin datos para DOCX de ", var_label)
  return(invisible(NULL))
}
df_fmt <- df_var %>%
  dplyr::mutate(
    `Dosis (mg/L)` = dosis,
    `Media (%)` = round(media, 1),
    `DE (%)` = round(de, 1),
    `F (g11, g12)` = sprintf("%.2f (%d, %d)", F, as.integer(g11), as.integer(g12)),
    `p` = ifelse(is.finite(p) & p < 0.001, "< 0.001",
                 ifelse(is.finite(p), sprintf("%.3f", p), "NA")),
    `Grupo (Tukey)` = grupo
  ) %>%
  dplyr::select(`Dosis (mg/L)`, Agente = agente, n, `Media (%)`, `DE (%)`, `F (g11,
g12)`, p, `Grupo (Tukey)`) %>%
  dplyr::arrange(`Dosis (mg/L)`, Agente)

ft <- flextable(df_fmt)
ft <- autofit(ft)
ft <- font(ft, fontname = "Times New Roman", part = "all")
ft <- fontsize(ft, size = 12, part = "all")
ft <- align(ft, align = "center", part = "all")
ft <- align(ft, j = "Agente", align = "left", part = "all")

b <- officer::fp_border(color = "black", width = 1)
ft <- border_remove(ft)
ft <- hline_top(ft, part = "header", border = b)
ft <- hline(ft, part = "header", border = b)
ft <- hline_bottom(ft, part = "body", border = b)

```

```

doc <- read_docx()
doc <- body_add_fpar(doc, fpar(ftext("Tabla — ANOVA por dosis con Tukey",
fp_text(bold = TRUE))))
subt <- sprintf("Comparación de medias entre fungicidas por dosis (%s).", var_label)
doc <- body_add_fpar(doc, fpar(ftext(subt, fp_text(italic = TRUE))))
doc <- body_add_par(doc, "")
doc <- body_add_flextable(doc, ft)

nota <- paste0(
  "Nota. ANOVA de un factor por dosis. Prueba post hoc de Tukey con  $\alpha = 0.05$ . ",
  "Columnas: Media  $\pm$  DE y n por agente; F (g11, g12) y p del efecto 'agente' en esa
dosis; ",
  "'Grupo (Tukey)' muestra las letras de agrupación (medias con la misma letra no
difieren).")
)
doc <- body_add_par(doc, "")
doc <- body_add_par(doc, nota, style = "Normal")

print(doc, target = filename_docx)
message("Guardado DOCX: ", filename_docx)
}

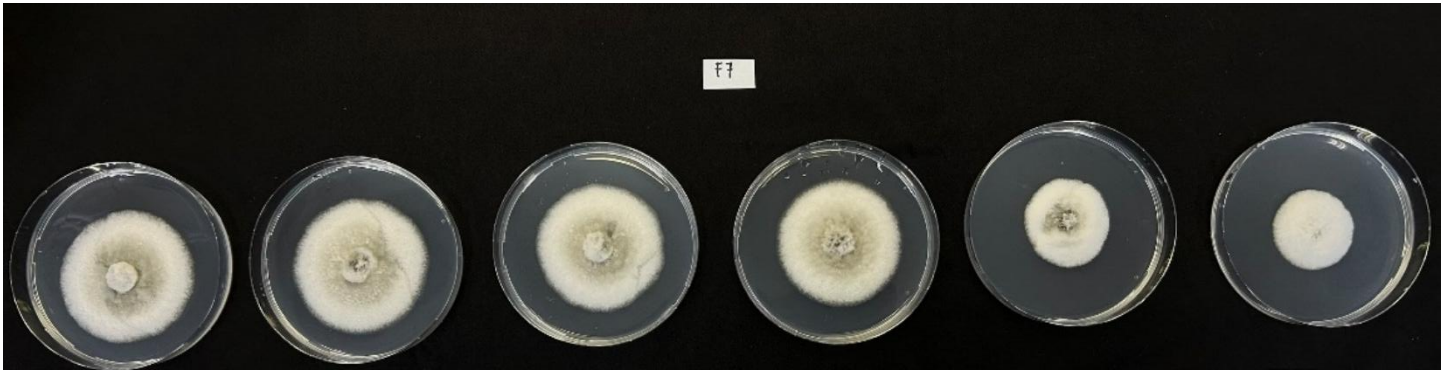
make_docx_apa(tab_icm, "ICM", file.path(tab_dir,
"Tabla_ANOVA_Tukey_por_dosis_ICM.docx"))
make_docx_apa(tab_ige, "IGE", file.path(tab_dir,
"Tabla_ANOVA_Tukey_por_dosis_IGE.docx"))
make_docx_apa(tab_ilt, "ILT", file.path(tab_dir,
"Tabla_ANOVA_Tukey_por_dosis_ILT.docx"))
} else {
  message("officer/flextable no disponibles: se omitió la exportación DOCX (se
generaron CSV).")
}

```

}

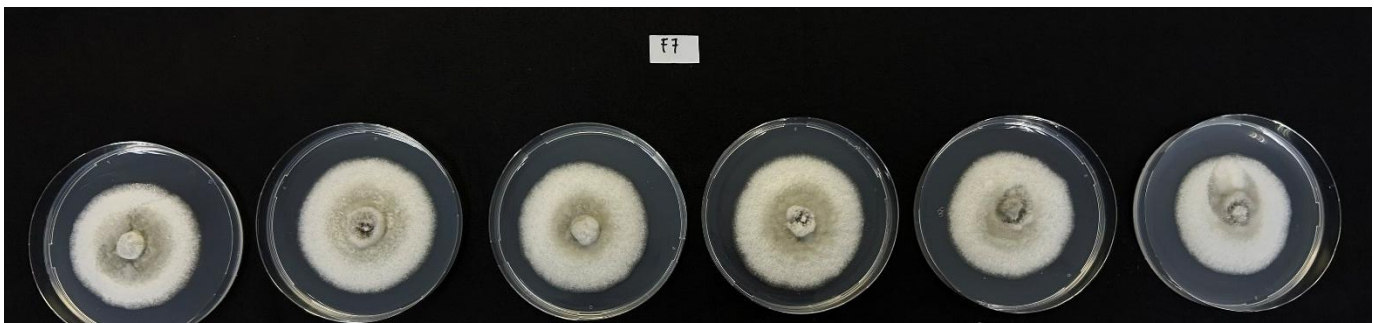
message("Listo.")

### Anexo 3. Índice de crecimiento micelial Piraclostrobina



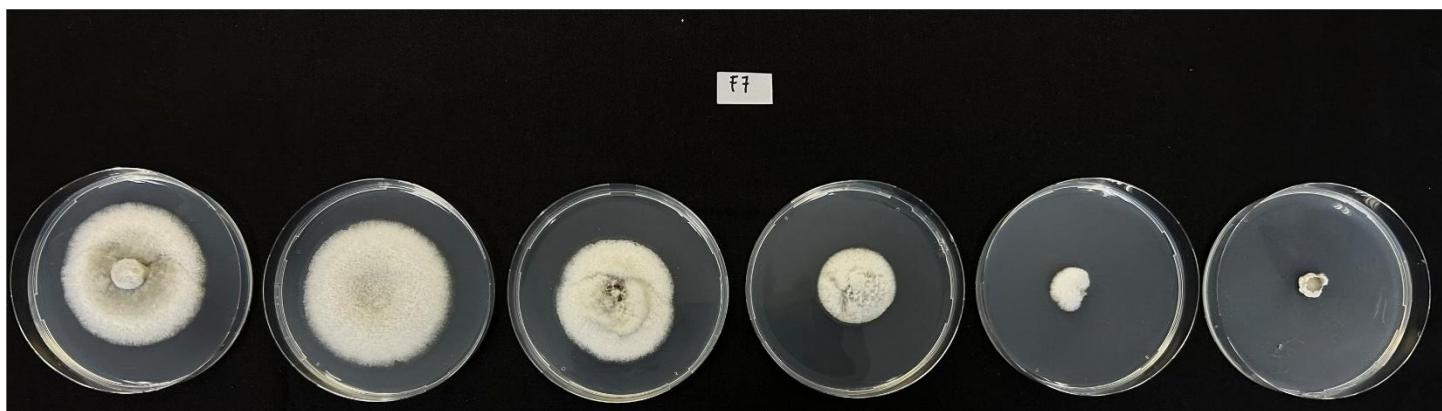
Nota: Cada plato cuenta con una dosificación específica. De izquierda a derecha: Testigo, 0.08ppm, 0.4ppm, 2ppm, 10ppm y 50ppm. Fuente: Propia

### Anexo 4. Índice de crecimiento micelial Asoxyestrobina



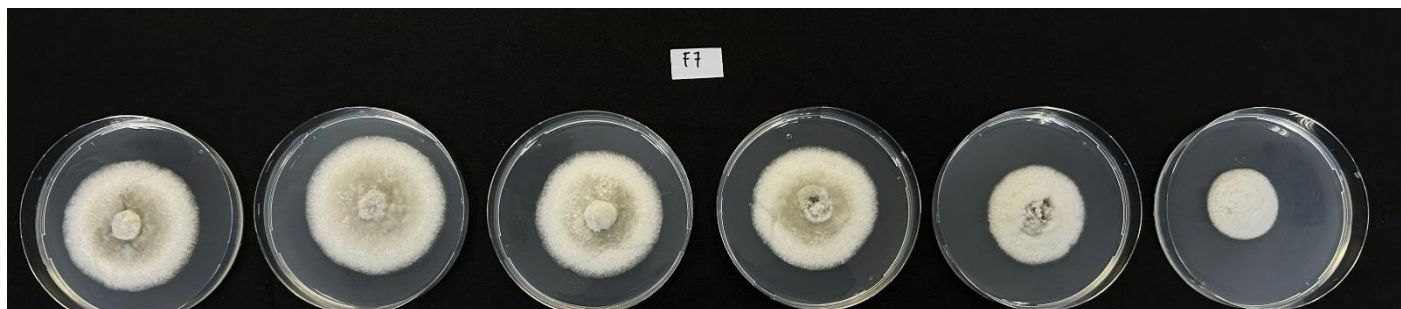
Nota: Cada plato cuenta con una dosificación específica. De izquierda a derecha: Testigo, 0.08ppm, 0.4ppm, 2ppm, 10ppm y 50ppm. Fuente: Propia

### Anexo 5. Índice de crecimiento micelial Epoxiconazol



Nota: Cada plato cuenta con una dosificación específica. De izquierda a derecha: Testigo, 0.08ppm, 0.4ppm, 2ppm, 10ppm y 50ppm. Fuente: Propia

### Anexo 6. Índice de crecimiento micelial Ciproconazol



Nota: Cada plato cuenta con una dosificación específica. De izquierda a derecha: Testigo, 0.08ppm, 0.4ppm, 2ppm, 10ppm y 50ppm. Fuente: Propia

Anexo 7. Lesiones utilizadas para aislamientos de *Colletotrichum*



Anexo 8. Colonias seleccionadas para toma de conidias para cultivos monospóricos (Punto 4).

