



## Estrategias de modelado para determinar la dosis efectiva de herbicidas\*

### Modeling strategies to determine the effective dose of herbicides

Alejandro Vargas Martínez<sup>1</sup>, Jorge Claudio Vargas-Rojas<sup>2</sup>, Eduardo Corrales Brenes<sup>3</sup>

\* Recepción: 30 de septiembre, 2024. Aceptación: 14 de enero, 2025. Los datos para este trabajo se derivaron de la tesis realizada por el Ing. Fernando Ramírez Muñoz en Tambor, Alajuela y financiado parte por el Instituto Regional de Estudios en Sustancias Tóxicas (IRET) y por el Ing. Fernando Ramírez Muñoz

<sup>1</sup> Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica. [alejandrovargasmartinez@una.ac.cr](mailto:alejandrovargasmartinez@una.ac.cr) (autor para correspondencia, <https://orcid.org/0000-0001-8039-8984>).

<sup>2</sup> Universidad de Costa Rica, Sede Regional de Guanacaste, Liberia, Costa Rica., [jorgeclaudio.vargas@ucr.ac.cr](mailto:jorgeclaudio.vargas@ucr.ac.cr) (<https://orcid.org/0000-0002-1139-2148>).

<sup>3</sup> Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), Turrialba, Costa Rica. [ecorrales@catie.ac.cr](mailto:ecorrales@catie.ac.cr) (<https://orcid.org/0000-0002-7862-7546>),

### Resumen

**Introducción.** Los ensayos de dosis-respuesta se utilizan con el objetivo de seleccionar la dosis eficiente de herbicidas en el manejo de arvenses. El análisis de datos en estos experimentos ha recibido críticas debido al uso de modelos estadísticos que no se ajustan a la distribución de la variable respuesta, la omisión de la estructura original del diseño experimental y la preferencia por modelos parciales en lugar de ajustar un modelo único. Los modelos no lineales mixtos se presentan como una alternativa más precisa para analizar estos experimentos. **Objetivo.** Determinar una dosis efectiva de un herbicida mediante tres estrategias de modelación en ensayos de dosis-respuesta. **Materiales y métodos.** Se realizaron dos experimentos independientes en invernaderos localizados en Tambor de Alajuela, Costa Rica durante el 2012, en los que se cuantificó el peso fresco (PF) en gramos (g) de un biotipo de *Paspalum paniculatum* L. en función de los gramos de equivalente ácido (GEA) de un herbicida, bajo un diseño en bloques completos al azar. Se utilizó como base un modelo de regresión logística de cuatro parámetros, y se ajustaron tres variantes del modelo. Mediante los criterios de información penalizada [criterio de información de Akaike (AIC) y criterio de información Bayesianó (BIC)], se seleccionó el modelo con mejor ajuste y menor incertidumbre. **Resultados.** La estrategia que consideró el experimento y el bloque dentro de cada experimento como efectos aleatorios resultó ser la más precisa. Este modelo estimó el intervalo de confianza (95 %) para la dosis efectiva media de GEA entre 335,12 y 384,32 g. **Conclusión.** Integrar la información de experimentos independientes como efectos aleatorios en un único modelo, generó estimaciones más precisas de la dosis efectiva de glifosato.

**Palabras clave:** regresión logística, herbicida, dosis-respuesta, análisis estadístico, dosis efectiva

### Abstract

**Introduction.** Dose-response trials are used with the objective of selecting the efficient herbicide dose for the management of weed species. Data analysis of these experiments has been criticized for the use of statistical models that do not fit the distribution of the response variable, failure to specify the original structure of the experimental



design, and the preference for partial models instead of fitting a unique model. Nonlinear mixed models are presented as a more accurate alternative for analyzing these experiments. **Objective.** Determine an effective dose of herbicide using three modeling strategies in dose response trials. **Materials and Methods.** Two independent experiments were conducted in greenhouses located in Tambor de Alajuela, Costa Rica during 2012 where the fresh weight (PF) in grams (g) of a biotype of *Paspalum paniculatum* L. was quantified as a function of grams of acid equivalent (GEA) of an applied herbicide, under a randomized complete block design. A four-parameter logistic regression model was used as a basis and three model variants were fitted. Using penalized information criteria [Akaike information criterion (AIC) and Bayesian information criterion (BIC)], the best fitting model was chosen. **Results.** The strategy that considered the experiment and the block within each experiment as random factors resulted the most precise. This model estimated the confidence interval (95 %) for the mean effective dose of GEA between 335,12 and 384,32 g. **Conclusion.** Integrating information from independent experiments as random effects within a unique model generated more accurate estimates of the glyphosate's effective dose.

**Keywords:** logistic regression, herbicide, dose-response, statistical analysis, effective dose.

## Introducción

En la agricultura, se evalúa la eficacia de los productos fitosanitarios que se aplican con el propósito de disminuir el efecto de plagas y enfermedades en los cultivos (Leguizamón et al., 2019) o de los productos que se utilizan para inducir cambios fisiológicos en las plantas (European and Mediterranean Plant Protection Organization [EPPO], 2017). La resistencia a los herbicidas es una de las principales preocupaciones en la agricultura moderna; para generar una estrategia de manejo adecuada, se deben conocer tanto la dosis recomendada como los mecanismos de resistencia. Una de las formas clásicas para determinar el nivel de resistencia es mediante la aplicación de herbicidas pre o post emergentes a plantas resistentes o susceptibles (Burgos et al., 2013).

Un método común para evaluar la eficacia de los productos es mediante experimentos de dosis-respuesta, cuyo objetivo es estimar la dosis efectiva (DE) más baja que reduzca un cierto porcentaje de crecimiento de las plantas. Las dosis más frecuentemente estimadas son la DE10, DE50 o DE90 (Leguizamón et al., 2019). Sin embargo, las estimaciones de la DE10 o DE90 son menos precisas en comparación con la DE50 (Seefeldt et al., 1995).

Los experimentos de dosis-respuesta estudian cómo las plantas reaccionan a la aplicación de dosis crecientes de moléculas y evalúan la sensibilidad de las plantas tras un tiempo establecido mediante la cuantificación de una o varias variables respuesta, como la altura o el crecimiento. Cada planta se considera una unidad experimental independiente, no obstante, debido al limitado número de repeticiones, estos experimentos generalmente se repiten y se considera cada uno como una repetición (Seefeldt et al., 1995; Ritz et al., 2015).

La relación entre la variable respuesta de la planta y la dosis del producto sigue un patrón sigmoideal característico (en forma de S), por lo que estos experimentos se analizan mediante modelos de regresión no lineal (Seefeldt et al., 1995). Entre los modelos no lineales utilizados se encuentran el de Brain Cousens, Logístico, Cedergreen-Ritz-Streibig Logístico Polinomial Fraccionado, Log Normal, Weibull, Gamma, Multietapa y NEC (Ritz et al., 2015). No obstante, el modelo logístico de cuatro parámetros es uno de los más utilizados para estudiar dicho comportamiento (Ritz et al., 2015; Seefeldt et al., 1995; Streibig, 1980).

El modelo logístico de cuatro parámetros (Ecuación 1), aunque estima un elevado número de parámetros con respecto al limitado número de observaciones, permite obtener interpretaciones biológicas en comparación con otros modelos (Gerhard & Ritz, 2017; Seefeldt et al., 1995). Estimar los valores iniciales de los parámetros de este modelo es un reto, si distan mucho de los óptimos pueden producir malos resultados o problemas de convergencia.

Este modelo se ajusta a los objetivos de los experimentos dosis-respuesta debido a que permite estimar la dosis efectiva media (DE50) para conseguir un efecto específico (Keshkar et al., 2021).

$$f(x, (b, c, d, e)) = c + \frac{d - c}{(1 + \exp(b + \log(x) - \log(e)))} \quad [1]$$

En la ecuación 1, el parámetro  $d$  corresponde a la respuesta media para la dosis 0 (dosis testigo). El parámetro  $c$  a la respuesta media a dosis alta del herbicida. El parámetro  $b$  es la pendiente de la curva, y finalmente el parámetro  $e$  es la dosis que causa una reducción del 50 % de la respuesta, también llamada dosis letal media (DL50) o dosis efectiva media (DE50) (Ritz et al., 2015; Seefeldt et al., 1995).

En la experimentación con plantas, la estimación del parámetro DE50 se utiliza para comparar dosis efectivas provenientes de formulaciones y/o experimentos independientes, diferentes especies de plantas, entre otras, mediante el cálculo de la potencia o eficacia relativa ( $R = DE50A/DE50B$ ), como un índice basado en una proporción que indica cuánto se puede reducir o aumentar la dosis del producto B para obtener el mismo efecto que el producto A (Ritz et al., 2019).

El análisis de múltiples experimentos de dosis-respuesta suele utilizar modelos no lineales de efectos fijos, en los cuales cada experimento se analiza de forma independiente. No obstante, esta aproximación es ineficiente, ya que no utiliza toda la información capturada en los experimentos. En este contexto, el objetivo principal de un experimento es inferir sobre la aplicación de las dosis de los productos. Utilizar la información de experimentos independientes, pero con la misma estructura aumentan el número de repeticiones y permiten obtener resultados más robustos. Se considera que el experimento puede tratarse como un efecto aleatorio, donde dicho efecto del experimento se refleja en el modelo como desviaciones que afectan sus parámetros. Este enfoque se desarrolla analizando los datos con modelos no lineales mixtos (Ryan, 2004).

Los modelos no lineales mixtos (MNLMM) permiten, mediante la inclusión de efectos aleatorios, modelar la falta de independencia espacial (por ejemplo, bloques) y/o la falta de independencia temporal, inducida por evaluaciones realizadas al mismo sujeto (Davidian & Giltinan, 2003; Pinheiro & Bates, 2000). Este enfoque permite incluir el efecto aleatorio del experimento (cuando exista más de uno) y ajustar un único modelo para todos los experimentos. La especificación del efecto aleatorio del experimento representa los cambios ambientales no observables debido a que los experimentos comparten un mismo ambiente. Además, permite modelar la heterogeneidad de las varianzas (varianza intraexperimento), lo que conlleva a una mayor precisión en el intervalo de confianza de los parámetros de interés (Nielsen et al., 2004).

El objetivo de este trabajo es determinar una dosis efectiva de un herbicida mediante tres estrategias de modelación en ensayos de dosis-respuesta.

## Materiales y métodos

### Generalidades

Los datos se obtuvieron de la tesis doctoral de Ramírez (2017), quien realizó dos experimentos de tipo dosis-respuesta en invernaderos localizados en Tambor de Alajuela, Costa Rica. En cada experimento, se cuantificó el peso fresco (PF) en gramos (g) de un biotipo de *Paspalum paniculatum* L. en función de los gramos de equivalente ácido (GEA) de glifosato aplicado. Se utilizaron nueve dosis para determinar la dosis que reduce el crecimiento del biotipo al 50 % (DE50). Ambos experimentos (Experimento 1 y Experimento 2) se diseñaron mediante un diseño de bloques completos al azar (DBCA) con cinco bloques, el factor de bloqueo correspondió a plantas de una misma altura a lo interno del bloque y de distinta altura entre bloques.

### **Estrategia clásica**

En cada experimento se ajustó el modelo de la Ecuación 1, sin incluir el efecto de bloque. La estructura real del diseño del experimental, lo que viola el supuesto de independencia. Esta estrategia produce una curva promedio para cada experimento.

### **Estrategia mediante modelos no lineales mixtos: un modelo por experimento**

La principal diferencia con la estrategia anterior consiste en declarar la estructura del diseño experimental (DBCA) en el análisis de cada experimento, y se trata el bloque como un efecto aleatorio. Primero, se evalúa qué parámetro(s) se ven afectados por el efecto aleatorio de bloque. En este modelo el efecto aleatorio puede estar en uno o más parámetros (b, c, d, e), lo que resulta en 15 modelos posibles. Tras ajustar todos los modelos, se selecciona el mejor utilizando los criterios de verosimilitud penalizada [(criterio de información de Akaike (AIC) y criterio de información Bayesiano (BIC)]. Posteriormente, se verifica el cumplimiento de los supuestos distribucionales mediante los gráficos de diagnóstico. Si es necesario, se ajustan diferentes estructuras de varianzas heterogéneas al mejor modelo, y se compara nuevamente los modelos. Finalmente, se obtiene un modelo promedio para cada experimento, con la diferencia que estos toman en cuenta las desviaciones aleatorias de los bloques.

### **Estrategia mediante modelos no lineales mixtos: un único modelo**

Esta estrategia utiliza el mismo algoritmo de estimación que la anterior (máxima verosimilitud), pero ajusta un único modelo para ambos experimentos. Aquí, el sujeto se define como la combinación del experimento y el bloque (10 sujetos en total). Luego se sigue la misma metodología de la estrategia anterior.

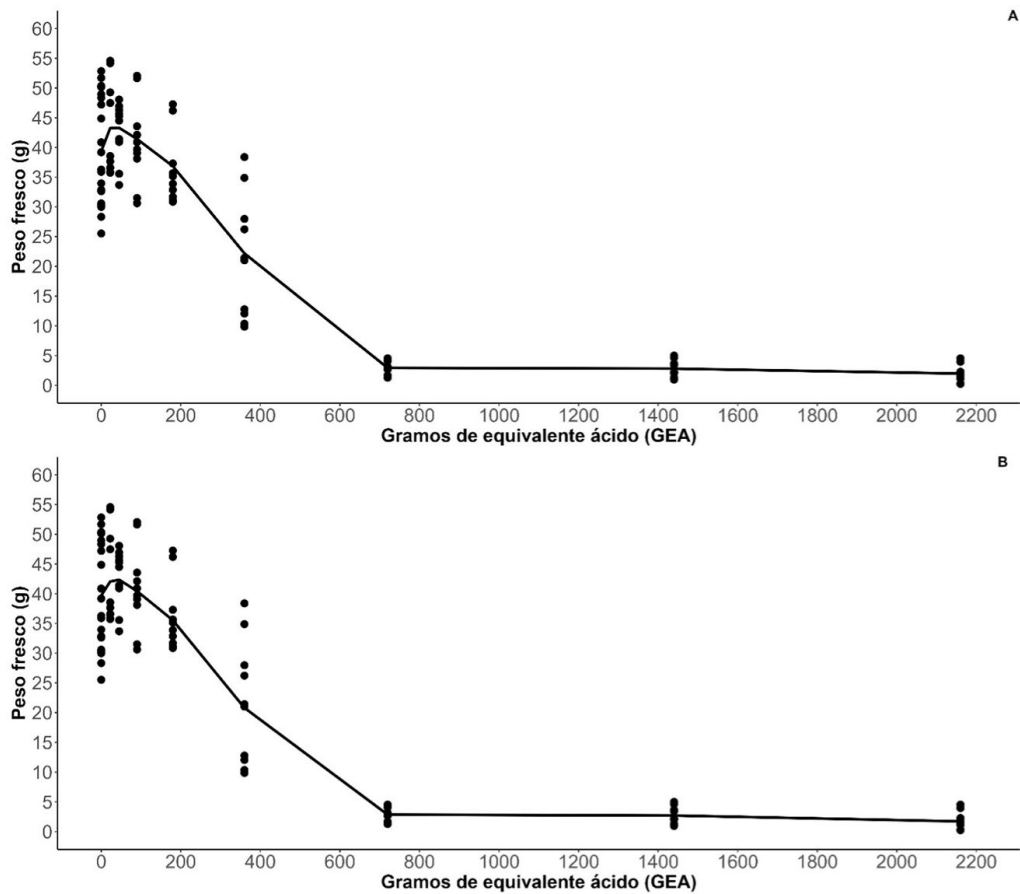
Todos los modelos se ajustaron utilizando el programa estadístico InfoStat versión 2020 (Di Rienzo et al., 2020). Se utilizaron los valores iniciales proporcionados por el software. Para la selección del mejor modelo se utilizó los criterios de información penalizada de AIC y CIS.

### **Comparación entre estrategias**

Para comparar los modelos, se aproximó el error estándar utilizando el método Delta con la función “deltaMethod” de la librería car versión 3.1-2 (Fox & Weisberg, 2019) del lenguaje R (R Core Team, 2024). Además, se determinó la precisión de la estimación de los parámetros a partir de la amplitud entre los límites del intervalo de confianza, y utilizando como medida la incertidumbre (%), definida como la diferencia entre el límite superior y la media estimada, dividida por la media estimada. Los gráficos se realizaron con la librería ggplot2 versión 3.4.0 (Wickham, 2016) en R (R Core Team, 2024).

## **Resultados**

La relación entre el peso fresco (g) y los gramos de equivalente ácido (GEA) en ambos experimentos mostró una forma sigmoide: en dosis bajas de GEA, el peso fresco alcanza los valores más altos. Sin embargo, conforme la dosis de GEA aumentaba, el peso fresco disminuyó rápidamente. Finalmente, esta disminución se ralentiza hasta alcanzar valores cercanos a 0 g con las dosis más altas (Figura 1 A y B). En cuanto a la variabilidad, se observó una mayor variabilidad en dosis bajas de GEA, la cual disminuyó conforme aumentaba la dosis (Figura 1 A y B).



**Figura 1.** Gráfico de dispersión y curva suavizada para la relación entre el peso fresco (g) y los gramos de equivalente activo (GEA). Panel A: experimento 1; panel B: experimento 2. Tambor, Alajuela, 2012.

**Figure 1.** Scatter plot and smoothed curve for the relationship between fresh weight (g) and grams of active equivalent (GEA). Panel A: experiment 1; Panel B: experiment 2. Tambor, Alajuela, 2012.

### Estrategia clásica

En cada experimento se encontró significancia en la estimación de todos los parámetros, excepto para el parámetro c. El experimento 1, la dosis letal al 50 % (parámetro e) fue de 360,03 g, mientras que en el experimento 2 la dosis efectiva fue de 347,14 g, es decir, aproximadamente 13 g menos (Cuadro 1).

Aunque el ajuste de este modelo fue plausible (Figura 2A y 2B), la validación de los supuestos sobre los errores mostró problemas de heteroscedasticidad (Figura 2C y 2D). El supuesto de la normalidad también tiene problemas. Los resultados anteriores (Cuadro 1) no son válidos, por lo tanto, las conclusiones no son correctas.

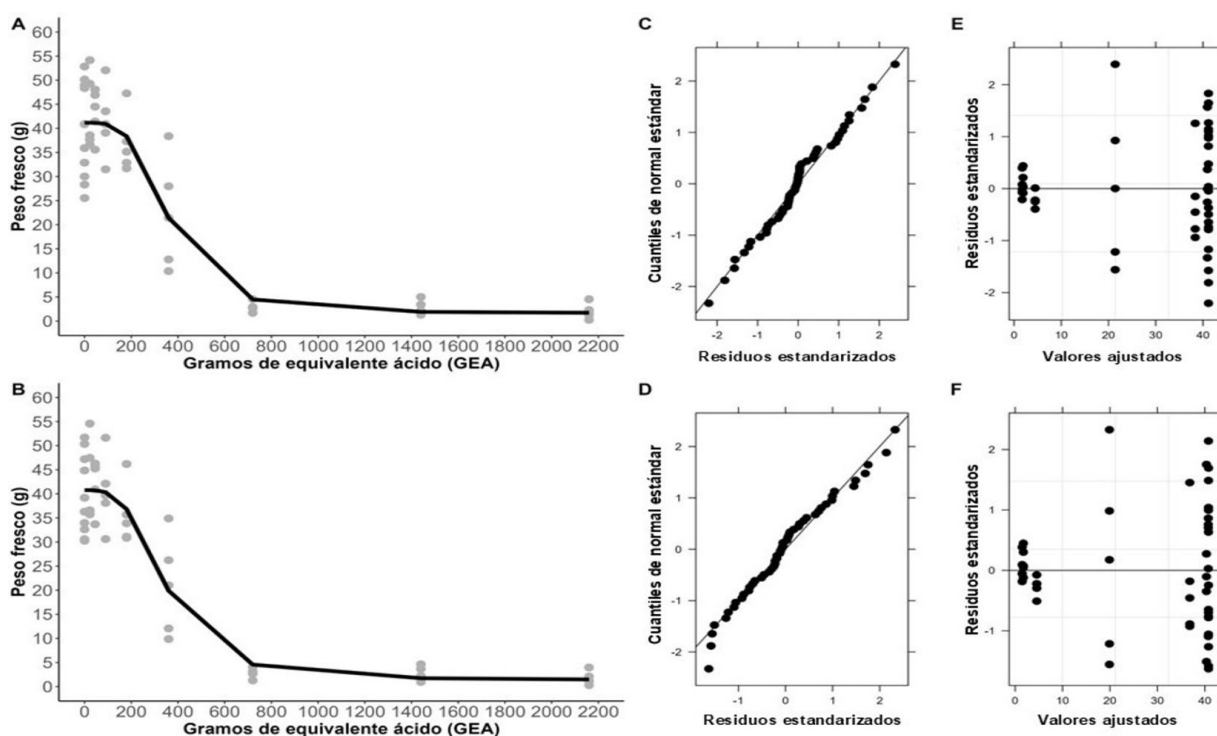
### Estrategia mediante modelos no lineales mixtos: un modelo para cada experimento

De los quince modelos propuestos, en el experimento 1 convergieron seis de ellos, mientras que en el experimento 2 convergieron siete. No todos los modelos fueron los mismos en ambos experimentos. El mejor

**Cuadro 1.** Estimación de los parámetros (b, c, d, e) del modelo logístico de cuatro parámetros para cada experimento de dosis-respuesta mediante la estrategia clásica. Tambor, Alajuela, 2012.

**Table 1.** Estimation of the parameters (b, c, d, e) of the four-parameter logistic model for each dose-response experiment using the classical strategy. Tambor, Alajuela, 2012.

Experimento	Parámetros	Estimación	EE	t	p-valor
1	c	1,67	2,27	0,74	0,4650
	d	41,16	1,43	28,86	<0,0001
	b	3,71	1,47	2,53	0,0150
	e	360,03	33,88	10,63	<0,0001
2	c	1,40	2,10	0,67	0,5083
	d	40,77	1,33	30,76	<0,0001
	b	3,34	1,07	3,12	0,0031
	e	347,14	32,69	10,62	<0,0001



**Figura 2.** Diagrama de dispersión con los valores predichos de la variable peso fresco en función de los GEA según el modelo logístico (A-Experimento 1 y B-Experimento 2), así como los Q-Q plot (C-Experimento 1 y D-Experimento 2) y gráfico de residuos condicionales estandarizados versus valores predichos (E-Experimento 1 y F-Experimento 2) para el modelo no lineal bajo la estrategia clásica. Tambor, Alajuela, 2012.

**Figure 2.** Scatter plot with the predicted values of the fresh weight variable as a function of GEA according to the logistic model (A-Experiment 1 and B-Experiment 2), as well as the Q-Q plot (C-Experiment 1 and D-Experiment 2) and graph of standardized conditional residuals versus predicted values (E-Experiment 1 and F-Experiment 2) for the non-linear model under the classical strategy. Tambor, Alajuela, 2012.

modelo consideró el efecto aleatorio del bloque sobre el parámetro  $d$  (peso fresco promedio cuando la dosis es 0), y es consistente en ambos experimentos (Cuadro 2).

**Cuadro 2.** Criterios de información penalizada (AIC y BIC) y logaritmo de la verosimilitud de los modelos convergentes evaluados según experimentos de dosis-respuesta. Tambor, Alajuela, 2012.

**Table 2.** Penalized information criteria (AIC and BIC) and logarithm likelihood of convergent models evaluated according to dose-response experiments. Tambor, Alajuela, 2012.

Experimento	Efecto aleatorio de bloque	AIC	BIC	loglik
1	Sin efecto aleatorio	343,58	353,14	-166,79
	c	328,92	339,89	-158,46
	d	323,44	334,41	-155,72
	b	328,92	339,89	-158,46
	cb	332,92	347,55	-158,46
	cbe	338,92	359,04	-158,46
	Sin efecto aleatorio	334,04	343,60	-162,02
2	d	309,51	320,48	-148,76
	b	320,45	331,42	-154,22
	e	320,45	331,42	-154,22
	c	320,45	331,42	-154,22
	be	324,45	339,08	-154,22
	ce	324,45	339,08	-154,22
	Sin efecto aleatorio	334,04	343,60	-162,02

Ninguno de los modelos seleccionados cumplió el supuesto de homoscedasticidad. Se ajustaron tres modelos adicionales en cada experimento, que consideraran funciones de varianzas heterogéneas (VarExp, VarPower, VarIdent (GEA)). Nuevamente, el mejor modelo en ambos experimentos fue aquel que incluía el efecto aleatorio del bloque sobre el parámetro  $d$  y una relación de la varianza residual con la media mediante la función VarPower (Cuadro 3).

Los gráficos de diagnóstico del mejor modelo no mostraron violaciones al supuesto de homoscedasticidad (Figura 3.C-D) ni al supuesto de normalidad (Figura 3E-F). Adicionalmente, en el gráfico de ajuste se observaron líneas grises que representaban las desviaciones aleatorias dadas por el bloque sobre el parámetro  $d$  (Figura 3.A y 3.B). La línea negra representa la curva promedio dada por todos los bloques.

Finalmente, a partir del mejor de los modelos se concluye que existe significancia ( $p \leq 0,05$ ) en cada uno de los estimadores de los parámetros del modelo para ambos experimentos. La estimación del parámetro  $e$  en el experimento 1 fue 8 g mayor que en el experimento 2 (Cuadro 4), esta diferencia es menor que la observada en la estrategia clásica.

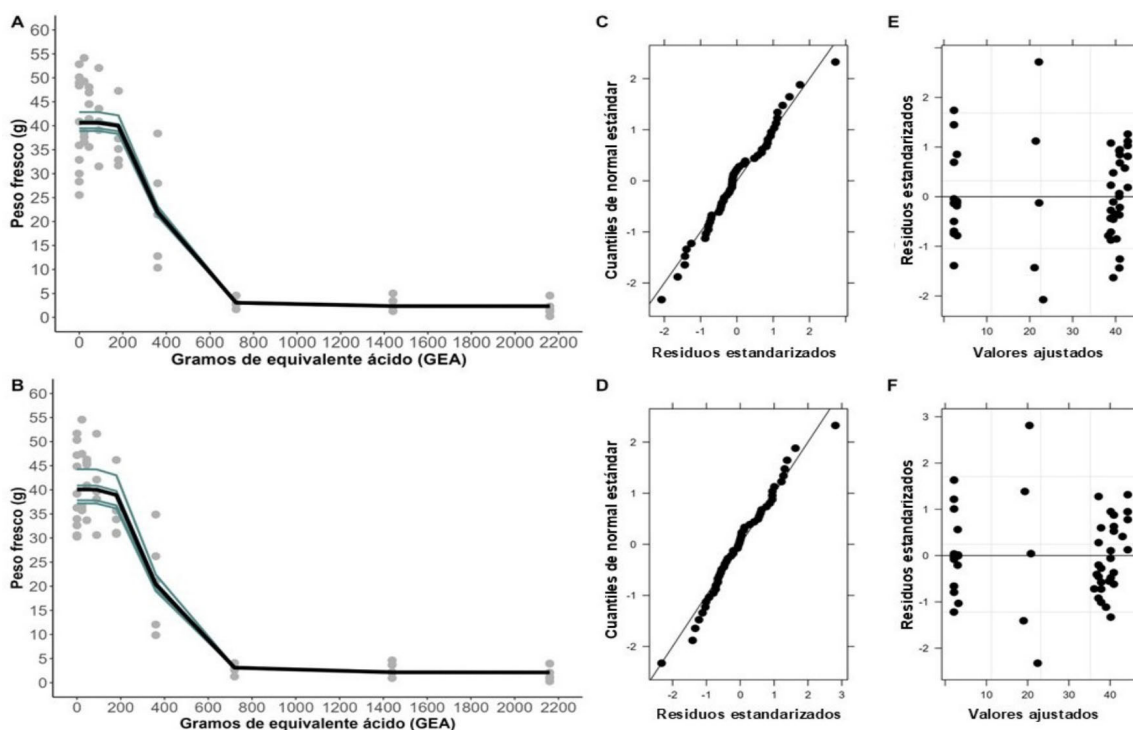
### Estrategia mediante modelos no lineales mixtos: un único modelo

En esta estrategia, se ajustó un único modelo para los datos de ambos experimentos. Además, se identificaron 10 sujetos (combinación entre experimento y bloque). En cuanto a la convergencia, esta se logró en ocho de los 15 modelos evaluados (Cuadro 5).

**Cuadro 3.** Criterios de información penalizada (AIC y BIC) y logaritmo de la verosimilitud de los modelos con efecto aleatorio en el parámetro D del modelo logístico de cuatro parámetros con diferentes estructuras de varianzas heterogéneas por experimento de dosis-respuesta. Tambor, Alajuela, 2012.

**Table 3.** Penalized information criteria (AIC and BIC) and logarithm likelihood of models with random effect on parameter D of the four-parameter logistic model with different heterogeneous variance structures per dose-response experiment. Tambor, Alajuela, 2012.

Experimento	Modelo	Función de varianza	df	AIC	BIC	LogLik
1	1	Sin función varianza	6	323,44	334,41	-155,72
	2	VarExp	7	314,09	326,89	-150,05
	3	VarPower	7	301,62	314,42	-143,81
2	1	Sin función varianza	6	309,51	320,48	-148,76
	2	VarIdent GEA	14	287,51	313,12	-129,76
	3	VarExp	7	306,02	318,82	-146,01
	4	VarPower	7	293,50	306,30	-139,75



**Figura 3.** Diagrama de dispersión con los valores predichos de la variable peso fresco para cada bloque (líneas grises) y la predicción promedio (color negro) en función de los GEA según el modelo logístico con efecto aleatorio de bloque sobre el parámetro que estima el promedio del Límite Superior (d) con función de varianza VarPower así como Q-Q plot y gráfico de residuos condicionales estandarizados versus valores predichos bajo la estrategia MNLM para el experimento 1 y 2 respectivamente (Panel A: Experimento 1, Panel B: Experimento 2). Tambor, Alajuela, 2012.

**Figure 3.** Scatter plot with the predicted values of the fresh weight variable for each block (gray lines) and the average prediction (black color) as a function of the GEA according to the logistic model with random block effect on the parameter estimating the average Upper Limit (d) with a Power function (over the constant) for variance as well as Q-Q plot and graph of standardized conditional residuals versus predicted values under the MNLM strategy for Experiment 1 and 2 respectively (Panel A: Experiment 1, Panel B: Experiment 2). Tambor, Alajuela, 2012.



**Cuadro 4.** Estimación de los parámetros (b, c, d, e) del modelo logístico de cuatro parámetros para cada experimento de dosis-respuesta mediante la estrategia basada en el uso de modelos no lineales mixtos. Tambor, Alajuela, 2012.

**Table 4.** Estimation of the parameters (b, c, d, e) of the four-parameter logistic model for each dose-response experiment using the strategy based on the use of nonlinear mixed models. Tambor, Alajuela, 2012.

Experimento	Parámetros	Valor	EE	t	p-valor
1	c	2,34	0,49	4,81	<0,0001
	d	40,60	1,94	20,89	<0,0001
	b	5,80	1,93	3,00	0,0046
	e	363,38	18,33	19,82	<0,0001
2	c	2,13	0,49	4,37	<0,0001
	d	40,07	2,07	19,35	<0,0001
	b	5,13	1,42	3,60	0,0008
	e	354,87	17,99	19,73	<0,0001

**Cuadro 5.** Criterios de información penalizada (AIC y BIC) y logaritmo de la verosimilitud para los modelos con efecto aleatorio en el parámetro d del modelo logístico de cuatro parámetros con diferentes estructuras de varianzas heterogéneas. Tambor, Alajuela, 2012.

**Table 5.** Penalized information criteria (AIC and BIC) and logarithm likelihood for models with random effect on parameter d of the four-parameter logistic model with different heterogeneous variance structures. Tambor, Alajuela, 2012.

Efecto aleatorio de sujeto	Modelo	Función de varianza	AIC	BIC	loglik
Sin efecto aleatorio	1	Errores homocedásticos	668,40	681,42	-329,20
D	2	Errores homocedásticos	641,80	657,19	-314,90
B	3	Errores homocedásticos	657,10	672,49	-322,55
E	4	Errores homocedásticos	657,10	672,49	-322,55
C	5	Errores homocedásticos	657,10	672,49	-322,55
BE	6	Errores homocedásticos	661,10	681,62	-322,55
CE	7	Errores homocedásticos	661,10	681,62	-322,55
BCE	8	Errores homocedásticos	667,10	695,31	-322,55
D	9	VarExp	624,02	641,97	-305,01
D	10	VarPower	598,22	616,17	-292,11

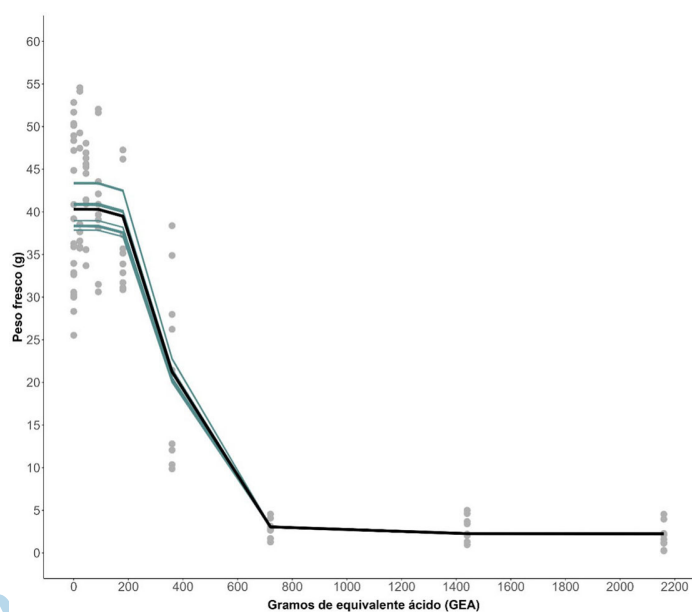
Primero, se seleccionó el mejor modelo según la estructura aleatoria, y resultó como mejor aquel en el que el efecto aleatorio del sujeto influye sobre el parámetro d. Posteriormente, debido a problemas con el cumplimiento de los supuestos, se ajustaron nuevos modelos con diferentes estructuras de varianza, por lo que se seleccionó el modelo con función de varianza Power sobre la constante (Cuadro 5, modelos 9 y 10). En el modelo final, se corroboró el cumplimiento de los supuestos distribucionales de los errores, y se concluyó que no se presentaron violaciones a estos.

Se observó significancia en cada uno de los parámetros estimados ( $p \leq 0,05$ ). En este caso, se obtuvo una única estimación del parámetro e, de 359 g de EA (Cuadro 6), con un error estándar reducido en un 62 % respecto a la estrategia clásica y en un 30 % en promedio respecto a la estrategia de un modelo no lineal mixto por experimento. La representación gráfica de esta estrategia se encuentra en la Figura 4.

**Cuadro 6.** Estimación de los parámetros (b, c, d, e) del modelo logístico de cuatro parámetros para los experimentos de dosis-respuesta mediante la estrategia basada en el uso de modelos no lineales mixtos mediante la estimación de un único modelo. Tambor, Alajuela, 2012.

**Table 6.** Estimation of parameters (b, c, d, e) of the four-parameter logistic model for dose-response experiments using the strategy based on the use of nonlinear mixed models by estimating a single model. Tambor, Alajuela, 2012.

Parámetros	Valor	EE	t	p-valor
c	2,25	0,33	6,88	<0,0001
d	40,31	1,39	29,01	<0,0001
b	5,52	1,16	4,77	<0,0001
e	359,72	12,55	28,66	<0,0001



**Figura 4.** Diagrama de dispersión con los valores predichos de la variable peso fresco para cada bloque (líneas grises) y la predicción promedio (color negro) en función de los GEA según el modelo logístico con efecto aleatorio de bloque dentro de Experimento sobre el parámetro D. Tambor, Alajuela, 2012.

**Figure 4.** Scatter plot with the predicted values of the fresh weight variable for each block (grey lines) and the average prediction (black color) as a function of the GEA according to the logistic model with random effect of block within experiment on parameter D. Tambor, Alajuela, 2012.

### Comparación de estrategias

Este estudio comparó los errores estándar de la estimación del parámetro e analizando la incertidumbre a través de intervalos de confianza (Cuadro 7). La estrategia clásica mostró una mayor incertidumbre en ambos experimentos, con una amplitud del intervalo de confianza cercana al 18 %. En cambio, las estrategias con modelos no lineales mixtos mostraron una disminución en la incertidumbre a menos del 10 %, y la menor incertidumbre se logró con la última estrategia (aprox. 6 %), en la cual se ajustó un único modelo. Esta estrategia se considera más eficiente desde el punto de vista de modelación, ya que emplea mayor cantidad de datos y, por otra parte,

**Cuadro 7.** Estimación de la dosis letal al 50 % (estimación puntual, intervalo de confianza, amplitud del intervalo e incertidumbre) según estrategia de análisis de los experimentos dosis – respuesta. Tambor, Alajuela, 2012.

**Table 7.** Estimation of the lethal dose at 50 % (point estimate, confidence interval, interval width and uncertainty) according to the analysis strategy of the dose-response experiments. Tambor, Alajuela, 2012.

Estrategia	Experimento	DE <sub>50</sub>	Intervalo de confianza (LI – LS)*	Amplitud del intervalo	Incertidumbre (%)
Clásica	1	360,03	293,62-426,45	132,83	18,45
	2	347,14	283,08-411,20	128,12	18,45
1	1	363,38	327,44-399,31	71,87	9,89
	2	354,87	319,61-390,12	70,51	9,93
2	Ambos	359,72	335,12-384,32	49,20	6,84

Nota. LI: límite inferior; LS: límite superior/ Note. LI = lower limit; LS = upper limit

proporciona una interpretación agronómica más clara y directa, al obtener una única estimación del parámetro de dosis letal al 50 %. Finalmente, se observó que el intervalo resultante con la estrategia de un único modelo presentó la menor amplitud y estuvo contenido dentro de los intervalos obtenidos con las demás estrategias.

## Discusión

Actualmente, a pesar de la importancia de la estimación de la dosis efectiva en los experimentos de dosis-respuesta, no existe consenso sobre qué metodología de análisis utilizar. En este sentido, una condición necesaria del enfoque de análisis es que el modelo ajustado represente la realidad del evento estudiado, por lo que se debe declarar la estructura del diseño experimental realizado para derivar el valor de la dosis media correspondiente (Ritz et al., 2019; Schabenberger et al., 1999). La relación entre los modelos estadísticos y la estructura del diseño experimental es fundamental para llevar a cabo una investigación válida, interpretable y fiable.

Las estrategias que ajustan un modelo para cada experimento subutilizan la información disponible en los datos, lo que resulta en la magnitud de los errores estándar (Szöcs & Schäfer, 2015). Aunque la estrategia que ajusta un modelo no lineal mixto para cada experimento también subutiliza la información, permite declarar la estructura experimental del diseño (bloques) y, bajo el principio de máxima verosimilitud, proporciona errores estándar estimados de menor magnitud, y, en consecuencia, intervalos de confianza más estrechos. Los experimentos de dosis-respuesta, al ser conducidos en diferentes tiempos o lugares, tienden a inducir varianzas heterogéneas, por lo que la flexibilidad de los modelos no lineales mixtos permite corregir la falta de homogeneidad mediante la modelación de la matriz de varianza-covarianza de los errores, para lograr así un modelo válido e interpretable (Ritz et al., 2019). Estos autores también señalan que cualquier factor que restrinja un diseño de muestreo aleatorio, como los bloques o experimentos independientes, debe incluirse en el modelo para tomar en cuenta la correlación entre las observaciones de una misma unidad experimental. Además, la inclusión de efectos aleatorios en estos modelos permite considerar la variación entre ensayos y la heterogeneidad de las varianzas (Nielsen et al., 2004).

Al comparar las estrategias basadas en modelos no lineales mixtos, se observa que los parámetros c, d, b y e varían en sus estimaciones, lo que concuerda con Nielsen et al. (2004), quienes indican que analizar experimentos de manera independiente conduce a intervalos de confianza más amplios, es decir, con mayor incertidumbre. En contraste, el uso de los datos agrupados (un único modelo) permitió obtener una única estimación de la dosis letal

media (DE<sub>50</sub>), lo que produce estimaciones con menor incertidumbre que la estrategia de ajustar un modelo no lineal mixto por experimento (Ritz et al., 2019).

En cuanto a la estimación de los parámetros, las tres estrategias produjeron estimaciones razonables de la dosis letal para el producto. Para estudios de dosis-respuesta se recomienda que todas las curvas de respuesta deben ajustarse simultáneamente para permitir una comparación adecuada de los parámetros, y que se informen los errores estándar o los intervalos de confianza de los parámetros (Keshtkar et al., 2021). Por lo tanto, las estrategias que ajustan un modelo por experimento pueden conducir a conclusiones inconsistentes, lo que podría provocar una subdosificación o sobredosificación y, en consecuencia, problemas de resistencia en plantas. Por otro lado, la correcta selección de estrategias de análisis en función de cómo se diseñó el experimento. La EPPO (2017) y la Organización de Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO], 2006) indicaron que una adecuada selección del análisis estadístico permite obtener valores aproximados de la variable en estudio con errores estándar pequeños (EPPO, 2012), lo que conlleva a recomendar la dosis óptima de un producto dentro de un rango de aplicación con la menor amplitud posible.

Finalmente, el análisis de la información individual de cada experimento no fue suficiente para brindar información de la DE<sub>50</sub> y su rango de eficacia si se pretende utilizar como producto de fitoprotección para el manejo del biotipo en cuestión. Este estudio demuestra que la estrategia de un único modelo construye el intervalo más preciso para la DE<sub>50</sub>, lo que permite recomendar el uso de una menor cantidad del insumo si se toma en cuenta el intervalo de confianza, lo cual destaca la importancia de la correcta selección de la metodología de análisis.

## Conclusiones

La estrategia de análisis que utiliza la información de los dos experimentos de dosis-respuesta de forma simultánea, y que a su vez toma en cuenta la estructura del diseño experimental, representa fielmente la realidad del ensayo y permitió corregir los problemas distribucionales de los errores mediante la modelación estadística. El uso de modelos no lineales mixtos que incorporan toda la información disponible y consideran el efecto aleatorio de la estructura de las unidades experimentales permitió generar estimaciones de parámetros con menor incertidumbre. La estrategia clásica y la estrategia de un modelo por experimento bajo modelo no lineales mixtos produjeron errores de estimación mayores lo que conlleva a dosis con mayor incertidumbre. El uso de un modelo único mejora la precisión del intervalo de la DE<sub>50</sub>, lo cual es crucial para recomendar dosis óptimas de productos de fitoprotección en el manejo de biotipos específicos, evitando dosis ineficaces o que vayan a generar resistencia a futuro.

## Conflicto de intereses

Los autores no tienen conflicto de intereses

## Referencias

- Burgos, N., Tranel, P., Streibig, J., Davis, V., Shaner, D., Norsworthy, J., & Ritz, C. (2013). Review: Confirmation of resistance to herbicides and evaluation of resistance levels. *Weed Science*, *61*(1), 4-20. <https://doi.org/10.1614/WS-D-12-00032.1>
- Davidian, M., & Giltinan, D. M. (2003). Nonlinear models for repeated measurements: an overview and update. *Agricultural Biological and Environmental Statistics*, *8*, Article 387. <https://doi.org/10.1198/1085711032697>

- Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., Gonzalez, L., Cuadro, M., & Robledo, C. W. (2020). *Infostat* (No. 2020) [Software]. Centro de transferencia InfoStat. <https://www.infostat.com.ar/index.php?mod=page&id=15>
- European and Mediterranean Plant Protection Organization. (2012). PP 1/152 (4) Design and analysis of efficacy evaluation trials. *EPPO Bulletin*, 42(3), 367–381. <https://doi.org/10.1111/epp.2610>
- European and Mediterranean Plant Protection Organization. (2017). PP 1/214 (4) Principles of acceptable efficacy. *EPPO Bulletin*, 47(3), 293–296. <https://doi.org/10.1111/EPP.12395>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2006). *Guidelines on efficacy data for the registration of pesticides for plant protection*. <https://openknowledge.fao.org/server/api/core/bitstreams/fa44518f-e597-4e96-9764-4d4f49229a36/content>
- Fox, J., & Weisberg, S. (2019). *An R companion to applied regression* (3<sup>rd</sup> ed.). Sage.
- Gerhard, D., & Ritz, C. (2017). *Marginalization in nonlinear mixed-effects models with an application to dose-response analysis*. [arXiv. https://doi.org/10.48550/arXiv.1707.02502](https://doi.org/10.48550/arXiv.1707.02502)
- Keshkar, E., Kudsk, P., & Mesgaran, M. B. (2021). Perspective: common errors in dose-response analysis and how to avoid them. *Pest Management Science*, 77(6), 2599–2608. <https://doi.org/10.1002/ps.6268>
- Leguizamón, E. S., Ferrari, G., Williams, M. M., Burgos, N. R., Travlos, I., & Korres, N. E. (2019). Response of annual weeds to glyphosate: Evaluation and optimization of application rate based on fecundity-avoidance biomass threshold criterion. *Agronomy*, 9(12), 851–865. <https://doi.org/10.3390/AGRONOMY9120851>
- Nielsen, O. K., Ritz, C., & Streibig, J. C. (2004). Nonlinear mixed-model regression to analyze herbicide dose–response relationships. *Weed Technology*, 18(1), 30–37. <https://doi.org/10.1614/WT-03-070R1>
- Pinheiro, J. C., & Bates, D. M. (2000) *Mixed-Effects models in S and S-PLUS*. Springer.
- Ramirez, F. (2017). *Mecanismo de resistencia de paspalum paniculatum l. (poaceae) al herbicida glifosato* [Tesis de doctorado, Instituto Tecnológico de Costa Rica]. Repositorio TEC. <https://repositoriotec.tec.ac.cr/handle/2238/10069>
- R Core Team. (2024). *R: A language and environment for statistical computing* (No. 2024) [Software]. R Foundation for Statistical Computing. <https://www.r-project.org/>
- Ritz, C., Baty, F., Streibig, J. C., & Gerhard, D. (2015). Dose-Response analysis using R. *PLOS ONE*, 10(12), Article e0146021. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0146021>
- Ritz, C., Jensen, S. M., Gerhard, D., & Streibig, J. C. (2019). *Dose-Response analysis using R* (1<sup>st</sup> ed.). Chapman and Hall/CRC.
- Ryan, T. P. (2004). Planning, construction, and statistical analysis of comparative experiments. *Journal of Quality Technology*, 36(4), 454–457. <https://doi.org/10.1080/00224065.2004.11980292>
- Schabenberger, O., Tharp, B., Kells, J., & Penner, D. (1999). Statistical tests for hormesis and effective dosages in herbicide dose response. *Agronomy Journal*, 91(4), 714–721. <https://doi.org/10.2134/agronj1999.914713x>
- Seefeldt, S., Erik Jensen, J., & Fuerst, P. (1995). Log-logistic analysis of herbicide dose-response relationships. *Weed Technology*, 9(2), 218–227. <http://www.jstor.org/stable/3987736>
- Streibig, J. (1980) Models for curve-fitting herbicide dose-response data. *Acta Agriculturae Scandinavica*, 30(1), 59–63. <https://doi.org/10.1080/00015128009435696>

Szöcs, E. & Schäfer, R. B. (2015). Ecotoxicology is not normal: A comparison of statistical approaches for analysis of count and proportion data in ecotoxicology. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 13990-13999. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4579-3>

Wickham, H. (2016). *ggplot2: Elegant graphics for data analysis* (2<sup>nd</sup> ed.). Springer International Publishing.

Manuscrito aceptado