



Estrategias de modelado para determinar la dosis efectiva de herbicidas*

Modeling strategies to determine the effective dose of herbicides

Alejandro Vargas Martínez¹, Jorge Claudio Vargas-Rojas², Eduardo Corrales Brenes³

* 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 de Alajuela, Costa Rica, y financiada en parte por el Instituto Regional de Estudios en Sustancias Tóxicas (IRET) y por el propio Ing. Fernando Ramírez Muñoz.

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

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

³ Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). Turrialba, Costa Rica. 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 la dosis efectiva de un herbicida mediante tres estrategias de modelación en ensayos de dosis-respuesta. **Materiales y métodos.** Se efectuaron dos experimentos independientes en invernaderos localizados en Tambor de Alajuela, Costa Rica, durante el 2012, en los que se cuantificó el peso fresco 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 bayesiano [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. **Conclusiones.** 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, dosis-respuesta, análisis estadístico.

Abstract

Introduction. Dose-response trials are used with the objective of selecting the efficient herbicide dose in weed management. 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.** To determine the effective herbicide dose using three modeling strategies in dose-response trials. **Materials and methods.** Two independent experiments were conducted in greenhouses located in Tambor, Alajuela, Costa Rica, during 2012, where the fresh weight in grams (g) of a biotype of *Paspalum paniculatum* L. was quantified as a function of grams of acid equivalent (GAE) 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 effects proved to be the most accurate. This model estimated the confidence interval (95 %) for the mean effective dose of GAE between 335.12 and 384.32 g. **Conclusions.** Integrating information from independent experiments as random effects within a unique model generated more accurate estimates of glyphosate's effective dose.

Keywords: logistic regression, dose-response, statistical analysis.

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 (Leguizamon et al., 2019), así como la de los productos utilizados 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 preemergentes o posemrgentes a plantas resistentes o susceptibles (Burgos et al., 2013).

Un método común para evaluar la eficacia de los productos consiste en realizar experimentos de dosis-respuesta, cuyo objetivo es estimar la dosis efectiva (DE) más baja que reduzca cierto porcentaje de crecimiento de las plantas. Las dosis más frecuentemente estimadas son la DE10, DE50 y DE90 (Leguizamon et al., 2019). Sin embargo, las estimaciones DE10 y 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 (Ritz et al., 2015; Seefeldt et al., 1995).

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 por medio de 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). 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). La estimación de los valores iniciales de los parámetros de este modelo representa un desafío, ya que, si distan mucho de los óptimos, pueden producir resultados poco precisos

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 (Keshtkar 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 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 manera 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 aumenta el número de repeticiones y permite obtener resultados más robustos. Se considera que el experimento puede tratarse como un efecto aleatorio, reflejado 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 posibilita 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 la 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 Muñoz (2017), quien efectuó 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. 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 tratar el bloque como un efecto aleatorio. Inicialmente, se evalúa qué parámetro o parámetros 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 cual resulta en 15 modelos posibles. Tras ajustar todos los modelos, se selecciona el mejor con base en 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 por medio de los gráficos de diagnóstico. Si es necesario, se ajustan distintas estructuras de varianzas heterogéneas al mejor modelo, y se comparan de nuevo los modelos. Finalmente, se obtiene un modelo promedio para cada experimento, con la diferencia de 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. En este caso, 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 emplearon los valores iniciales proporcionados por el software. Para seleccionar el mejor modelo se usaron 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, empleando como medida la incertidumbre (%), definida como la diferencia entre el límite superior y la media estimada, dividida por esta última. Los gráficos se generaron 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 alcanzó los valores más altos. Sin embargo, a medida que la dosis de GEA aumentaba, el peso fresco disminuía de manera rápida. Finalmente, esta disminución se desaceleró hasta alcanzar valores cercanos a 0 g con las dosis más altas (Figura 1). En cuanto a la variabilidad, esta fue mayor en dosis bajas de GEA, y se redujo conforme incrementaba la dosis (Figura 1).

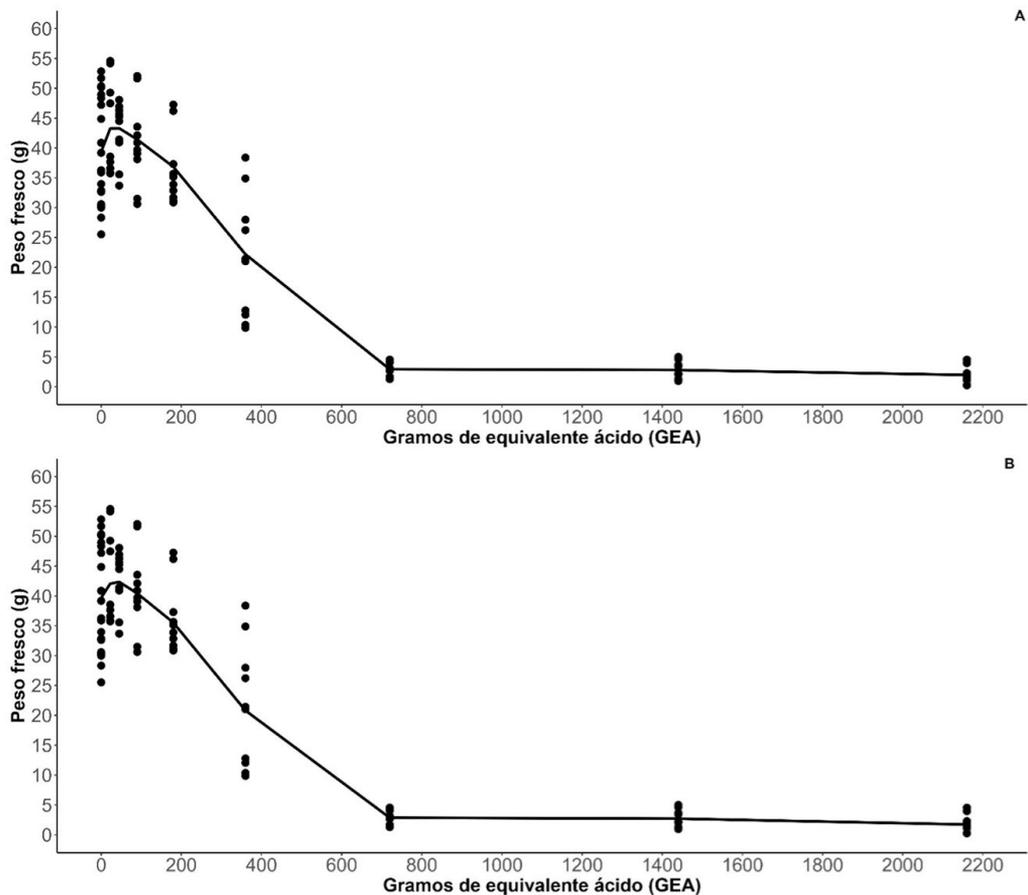


Figura 1. Gráfico de dispersión y curva suavizada para la relación entre el peso fresco (g) y los gramos de equivalente activo (GEA). Panel A: Experimento 1; Panel B: Experimento 2. Tambor, Alajuela, 2012.

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

Estrategia clásica

En cada experimento se encontró significancia ($p \leq 0,05$) en la estimación de todos los parámetros, excepto en el parámetro c . En 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-B), la validación de los supuestos sobre los errores mostró heterocedasticidad (Figura 2C-D). Además, el supuesto de la normalidad presentó inconvenientes. 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, mientras que en el experimento 2 convergieron siete. No todos los modelos fueron los mismos en ambos experimentos. El mejor modelo consideró

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 |

EE = Error estándar; t = Estadístico t de Student. / EE = Standard error; t = Student's t-statistic.

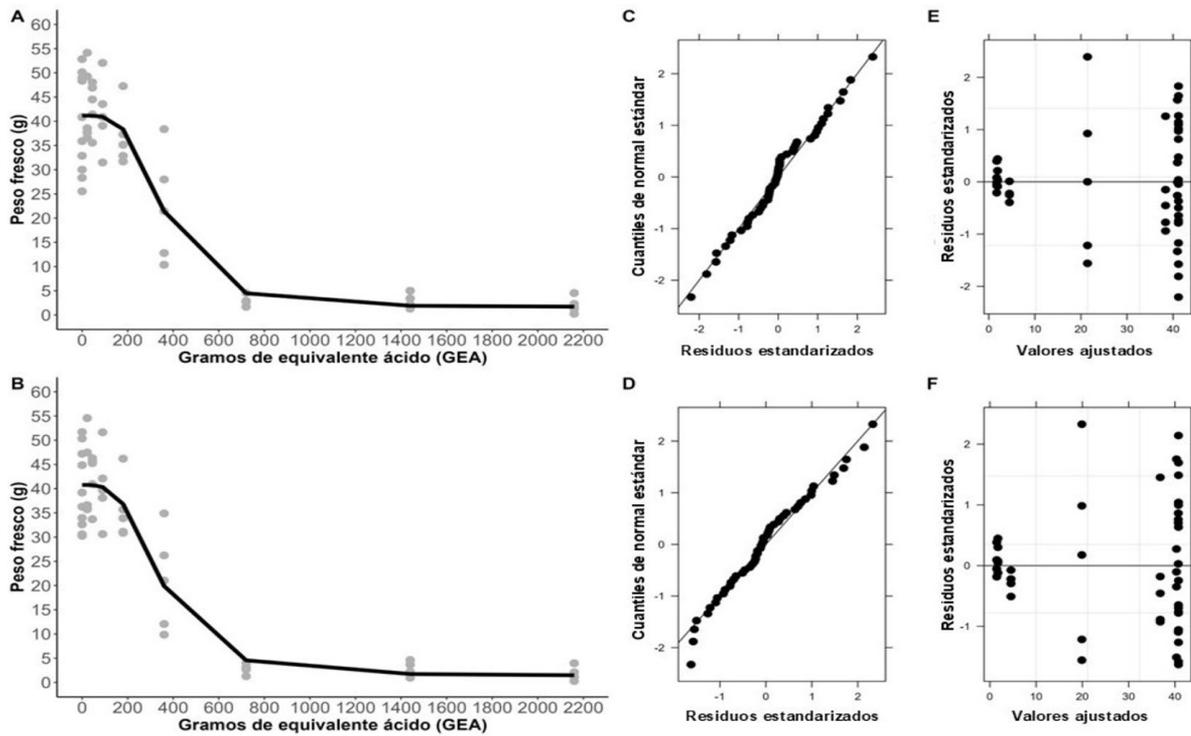


Figura 2. Diagrama de dispersión con los valores predichos de la variable peso fresco en función de los GEA según el modelo logístico (A: Experimento 1; B: Experimento 2), así como los Q-Q plot (C: Experimento 1; D: Experimento 2) y gráfico de residuos condicionales estandarizados versus valores predichos (E: Experimento 1; 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 GAE according to the logistic model (A: Experiment 1; B: Experiment 2), as well as the Q-Q plot (C: Experiment 1; D: Experiment 2) and graph of standardized conditional residuals versus predicted values (E: Experiment 1; F: Experiment 2) for the nonlinear model under the classical strategy. Tambor, Alajuela, 2012.

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

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

Table 2. Penalized information criteria (AIC and BIC) and log likelihood (loglik) 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 |
| | 2 | Sin efecto aleatorio | 334,04 | 343,60 |
| d | 309,51 | 320,48 | -148,76 | |
| 2 | 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 |

AIC = Criterio de Información de Akaike; **BIC** = Criterio de Información Bayesiano. / **AIC** = Akaike Information Criterion; **BIC** = Bayesian Information Criterion.

Ninguno de los modelos seleccionados cumplió el supuesto de homocedasticidad. Por ello, 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 incluyó 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 homocedasticidad (Figura 3C-D) ni al supuesto de normalidad (Figura 3E-F). Además, en el gráfico de ajuste se observaron líneas grises que representaban las desviaciones aleatorias del bloque sobre el parámetro d (Figura 3A-B). La línea negra corresponde a la curva promedio dada por todos los bloques.

Finalmente, a partir del mejor de los modelos se concluyó que existe significancia ($p \leq 0,05$) en cada uno de los estimadores de los parámetros 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 (loglik) 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 log likelihood (loglik) 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 |

AIC = Criterio de Información de Akaike; **BIC** = Criterio de Información Bayesiano. / **AIC** = Akaike Information Criterion; **BIC** = Bayesian Information Criterion.

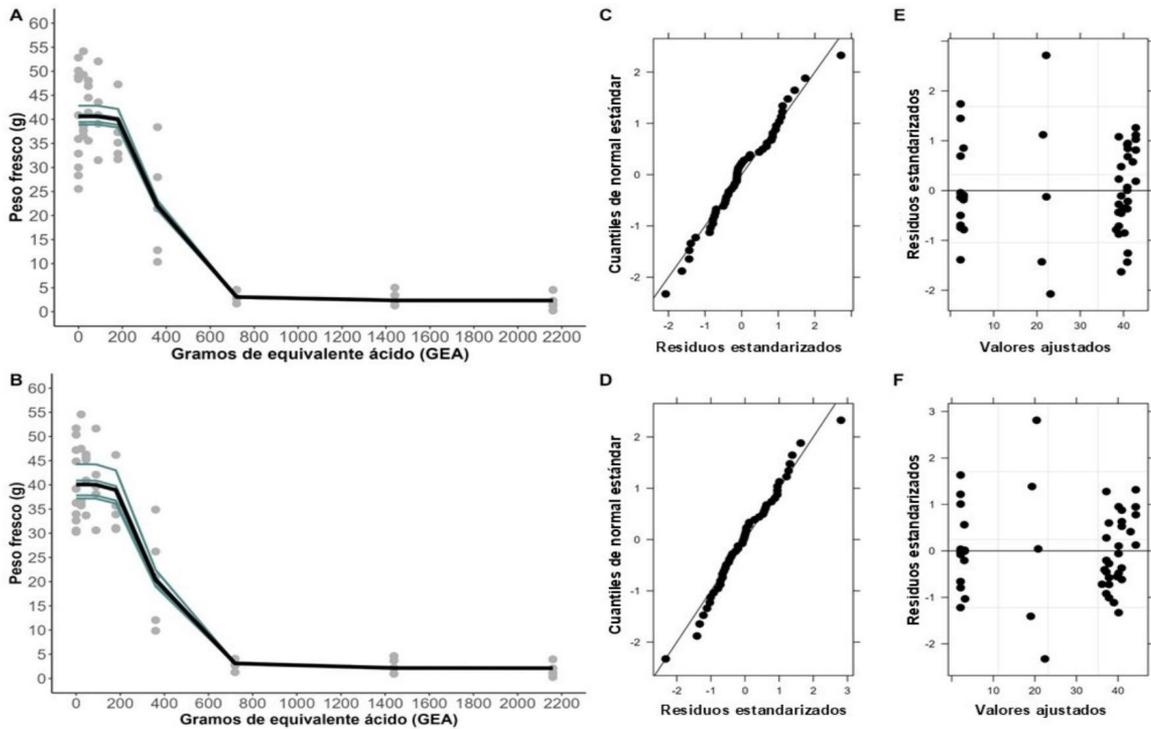


Figura 3. Diagrama de dispersión con los valores predichos de la variable peso fresco para cada bloque (líneas grises) y la predicción promedio (color negro) en función de los GEA según el modelo logístico con efecto aleatorio de bloque sobre el parámetro que estima el promedio del límite superior (d) con función de varianza VarPower, así como Q-Q plot y gráfico de residuos condicionales estandarizados versus valores predichos bajo la estrategia de modelos no lineales mixtos para los experimentos 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 GAE according to the logistic model with random block effect on the parameter estimating the average upper limit (d) with a VarPower variance function, as well as Q-Q plot and graph of standardized conditional residuals versus predicted values under the nonlinear mixed models strategy for experiments 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 |

EE = Error estándar; t = Estadístico t de Student. / EE = Standard error; t = Student's t-statistic.

Cuadro 5. Criterios de información penalizada (AIC y BIC) y logaritmo de la verosimilitud (loglik) 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 log likelihood (loglik) 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 |

AIC = Criterio de Información de Akaike; BIC = Criterio de Información Bayesiano. / AIC = Akaike Information Criterion; BIC = Bayesian Information Criterion.

Primero, se seleccionó el mejor modelo según la estructura aleatoria, y se obtuvo como resultado aquel en el cual 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, y 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 todos los parámetros estimados ($p \leq 0,05$). En este caso, se obtuvo una única estimación del parámetro e , de 359 g de GEA (Cuadro 6), con un error estándar reducido en un 62 % respecto a la estrategia clásica y en un 30 % en comparación con la estrategia de un modelo no lineal mixto por experimento. La representación gráfica de esta estrategia se muestra 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 usando 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 |

EE = Error estándar; t = Estadístico t de Student. / EE = Standard error; t = Student's t-statistic.

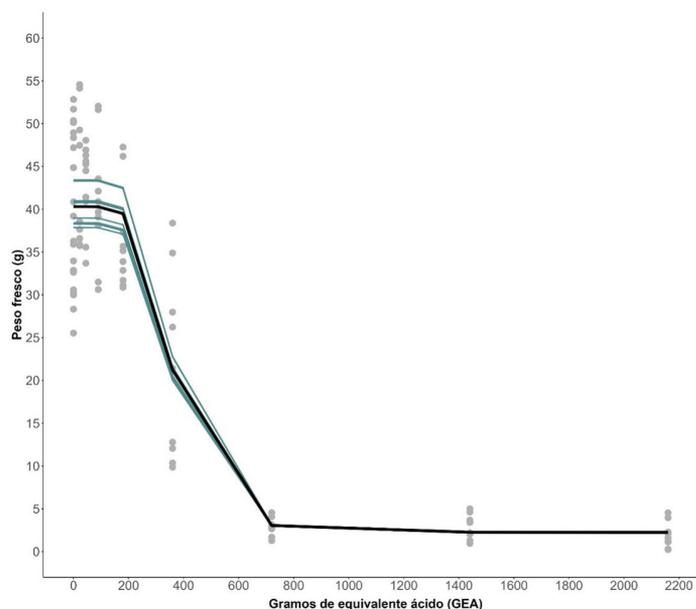


Figura 4. Diagrama de dispersión con los valores predichos de la variable peso fresco para cada bloque (líneas grises) y la predicción promedio (color negro) en función de los GEA según el modelo logístico con efecto aleatorio de bloque dentro del experimento sobre el parámetro d . Tambor, Alajuela,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

Figure 4. 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 GAE according to the logistic model with random block effect within the 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 basadas en modelos no lineales mixtos redujeron 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 una mayor cantidad de datos; además, 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.

Cuadro 7. Estimación de la dosis letal al 50 % (estimación puntual, intervalo de confianza, amplitud del intervalo e incertidumbre) según la 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 ₅₀ | 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 |

LI: Límite inferior. LS: Límite superior. / LI: Lower limit. LS: Upper limit.

Discusión

Actualmente, a pesar de la importancia de la estimación de la dosis efectiva en los experimentos de dosis-respuesta, no existe consenso sobre la metodología de análisis más adecuada. En este sentido, una condición necesaria para el 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 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 un aumento 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). Además, 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). 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 (Ritz et al., 2019). 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 las estimaciones de los parámetros c , d , b y e presentan variaciones, lo que concuerda con lo señalado por 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 datos agrupados (un único modelo) permitió obtener una sola estimación de la dosis letal media (DE50), lo cual 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 valores razonables de la dosis letal para el producto. Para estudios de dosis-respuesta, se recomienda ajustar todas las curvas de respuesta simultáneamente, a fin de permitir una comparación adecuada de los parámetros, y reportar 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 resultar en una subdosificación o sobredosificación y, en consecuencia, generar 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, 2006) han indicado que una adecuada selección del análisis estadístico posibilita obtener valores aproximados de la variable en estudio con errores estándar pequeños (EPPO, 2012), lo cual conduce a recomendar la dosis óptima de un producto dentro de un rango de aplicación con la menor amplitud posible.

El análisis de la información individual de cada experimento no fue suficiente para brindar información sobre la DE50 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 DE50, lo que permite recomendar el uso de una menor cantidad del insumo si se toma en cuenta el intervalo de confianza. Esto destaca la importancia de la correcta selección de la metodología de análisis.

Conclusiones

La estrategia de análisis que emplea de forma simultánea la información de ambos experimentos de dosis-respuesta, y que además considera la estructura del diseño experimental, representa fielmente la realidad del ensayo. Esta estrategia 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, posibilitó generar estimaciones de parámetros con menor incertidumbre.

La estrategia clásica y la estrategia de un modelo por experimento bajo modelos no lineales mixtos produjeron errores de estimación mayores, lo que implica dosis con mayor incertidumbre. La utilización de un modelo único mejora la precisión del intervalo de la DE50, aspecto crucial para recomendar dosis óptimas de productos de fitoprotección en el manejo de biotipos específicos. Esta mayor precisión contribuye a evitar aplicaciones ineficaces o que favorezcan el desarrollo de resistencia.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

Referencias

- Burgos, N. R., Tranel, P. J., Streibig, J. C., Davis, V. M., Shaner, D., Norsworthy, J. K., & 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 measurement data: an overview and update. *Journal of 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., Cuadroda, 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). 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* (3rd 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>
- Keshtkar, 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), Article 851. <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.
- Ramírez Muñoz, 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* (1st 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. E., Kells, J. J., & Penner, D. (1999). Statistical tests for hormesis and effective dosages in herbicide dose response. *Agronomy Journal*, *91*(4), 713–721. <https://doi.org/10.2134/agronj1999.914713x>
- Seefeldt, S. S., Jensen, J. E., & Fuerst, E. P. (1995). Log-logistic analysis of herbicide dose-response relationships. *Weed Technology*, *9*(2), 218–227. <http://www.jstor.org/stable/3987736>
- Streibig, J. C. (1980). Models for curve-fitting herbicide dose response data. *Acta Agriculturae Scandinavica*, *30*(1), 59–64. <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* (2nd ed.). Springer International Publishing.