

# FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO

Paquete de R y aplicación web Shiny para el análisis de datos provenientes de ensayos multiambientales

#### JULIA ANGELINI

TRABAJO FINAL PARA OPTAR AL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN BIOINFORMÁTICA

DIRECTOR: Dr. Gerardo Cervigni CO-DIRECTOR: Mgs. Marcos Prunello

**AÑO: 2021** 

## Paquete de R y aplicación Web para el análisis de datos provenientes de ensayos multiambientales

Julia	Angel	lini
Juna	Ange	11111

Licenciada en Estadística – Universidad Nacional de Rosario

Este Trabajo Final es presentado como parte de los requisitos para optar al grado académico de Especialista en Bioinformática, de la Universidad Nacional de Rosario y no ha sido previamente presentada para la obtención de otro título en ésta u otra Universidad. El mismo contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en el Centro de Estudios Fotosintéticos y Bioquímicos (CEFOBI), durante el período comprendido entre los años 2017 y 2021, bajo la dirección del Dr. Gerardo Cervigni y Mgs. Marcos Prunello.

Nombre y firma del autor		
Nombre y firma del Director		
Nombre y firma del Co - Director		
	Defendida:	de 20

# Agradecimientos

En este trabajo final, directa o indirectamente, participaron muchas personas a las que les quiero agradecer.

En primer lugar al Dr. Gerardo Cervigni por haberme propuesto realizar la Especialización Bioinformática, compartir su conocimiento y experiencia a lo largo de todo el proceso, contagiando su pasión, entusiasmo y energía.

Al Mgs. Marcos Prunello por acompañarme en el desarrollo del trabajo final, por su dedicación, sus consejos y su ejemplo que me incentiva a superarme como profesional. Sin su confianza, apoyo y atención, este trabajo no hubiera sido posible. No sólo me enriquecí en lo académico sino también con la amistad que pudimos forjar.

Al Centro Computacional del Centro Científico Teconológico de Rosario, miembro del Sistema Nacional de Computación de Alto Rendimiento, por la predisposición, asesoramiento e instalación de los recursos adicionales necesarios para este trabajo.

Al Dr. Sergio Arciniegas Alarcón por su predisposición en la inclusión de los avances metodológicos realizados por su equipo de investigación en este trabajo y por brindar los archivos de código de los mismos.

A mis compañeros de la Especialización, por las largas horas de cursos, mates y almuerzos. En especial, a Jor y Lu, por el aliento en todo momento, por compartir excelentes momentos y porque gracias a la ayuda de ambas he podido entender cosas que no habría podido sola.

Muchas gracias a los docentes de la Especialización en Bioinformática por su dedicación y paciencia para enseñarle a alumnos provenientes de las más diversas áreas esta hermosa combinación entre Biología, Informática y Estadística.

A mis padres por el amor y apoyo incondicional y por el esfuerzo de dedicar sus vidas a brindarnos a mi hermano y a mí la posibilidad de construir nuestros futuros. A mi hermano, por su cariño, apoyo, acompañamiento y sentido del humor. A Otto, por su incomparable

mezcla de amor y comprensión, por darme fuerzas en los momentos de debilidad y por alentarme a seguir a pesar de todo. A Segundo, Mia y Kalita, por su hermosa compañía día a día.

Por último, pero no menos importante, a Gaby y Euge mis compañeras de CEFOBI, por acompañarme en las partes más empedradas del camino, por compartir las risas y las lágrimas, por su amistad y consejos. No hubiese alcanzado mucho de mis logros sin su ayuda, compañía y aliento en todo momento.

# Abreviaturas

ACP: análisis de componentes principales.

AEC: coordenada ambiental promedio (del inglés Average environment coordination).

ANOVA: análisis de la variancia (del inglés, analysis of variance).

**AMMI**: modelo de efectos principales aditivos e interacción multiplicativa (del inglés, Additive Main effects and Multiplicative Interaction).

CCT: Centro Científico Teconológico.

COI: interacción con cambio de rango (del inglés, crossover interaction).

CONICET: Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas.

**CRAN**: Comprehensive R Archive Network.

DVS: descomposición de valores singulares.

EM: maximización de la esperanza (del inglés, Expectation Maximization).

EMA: ensayos multiambientales.

**G**: efecto genotípico.

**GE**: genotipo-ambiente (del inglés, Genotype-Environment).

**GGE**: genotipo más genotipo-ambiente (del inglés, Genotype plus Genotype-Environment).

**IGA**: interacción genotipo-ambiente.

NCOI: interacción sin cambio de rango (del inglés, no crossover interaction).

**SREG**: modelo de regresión por sitio (del inglés, *Site Regression model*).

SVP: partición de los valores singulares (del inglés, Singular Value Partition).

ui: interfaz del usuario (del inglés, user interface).

## Resumen

Las variedades mejoradas de cultivos vegetales son el resultado del trabajo de desarrollo genético llevado a cabo en los programas de fitomejoramiento, los cuales se extienden a lo largo de varios años y requieren cuantiosas inversiones. En etapas avanzadas, los ensayos multiambientales (EMA), que comprenden experimentos en múltiples ambientes, son herramientas fundamentales para incrementar la productividad y rentabilidad de los cultivos. La vigencia comercial de las variedades puede extenderse durante varias décadas, por lo que su elección es crítica para que el productor evite pérdidas económicas por malas campañas y el suministro al mercado sea constante. Consecuentemente, un análisis adecuado de la información de los EMA es indispensable para asegurar el éxito del programa de mejoramiento de cultivos. Actualmente, R es uno de los lenguajes de programación más utilizados para el análisis de datos debido a su distribución como software libre y a la gran variedad de herramientas que ofrece. Sin embargo, los mejoradores que no están familiarizados con la programación tienden a utilizar otros tipos de programas que responden a instrucciones por menú en lugar de escribir líneas de código, a pesar de los costos económicos derivados del pago de sus licencias. Aquellos que sí tienen afinidad con el uso de código para el análisis de datos se enfrentan con dificultades a la hora de identificar las herramientas apropiadas entre el gran número de instrumentos disponibles. Por lo tanto, en este trabajo se presenta el desarrollo de dos herramientas informáticas para asistir en el análisis de datos provenientes de EMA. Por un lado, se creó un nuevo paquete de R que incluye metodología recientemente publicada que no se encuentra disponible en el software y al mismo tiempo reúne todas aquellas de mayor utilidad, de modo que aquellos usuarios que posean un manejo del lenguaje puedan simplificar su tarea. Por otro lado, se confeccionó una interfaz gráfica de usuario mediante una aplicación web Shiny que permite realizar los principales análisis implementados en el paquete sin necesidad de programar y se encuentra publicada en internet para su libre acceso.

Palabras Clave: análisis estadístico, ensayos multiambientales, interfaz gráfica, lenguaje R, programación.

## Abstract

Crop improvement is the result of genetic development which requires several years and large investments. In advanced stages of breeding programs, multi-environment trials (MET), which consist of evaluating different cultivars in multiple environments, are essential tools to increase crop productivity. Since varieties remain on market for decades, their choice is essential to avoid economic losses due to bad seasons and to ensure a constant supply. Consequently, an adequate analysis of MET data is essential to guarantee the success of a breeding program. Currently, R is one of the most widely used programming language for data analysis due to its distribution as free software and the wide variety of tools it offers. However, breeders who are unfamiliar with programming tend to use other types of programs that respond to menu prompts instead of writing lines of code, despite the financial costs of their licenses. Whereas, those who have an affinity with the use of code for data analysis face difficulties in identifying the right tools from the large number of instruments available. Therefore, in this work two tools are develop for MET data analysis. On one hand, a new R package that includes new methodology not available in the software and at the same time brings together all those most useful created to facilitate the users task. On the other hand, a graphical user interface was created using a Shiny web application that allows the main analyzes implemented in the package to be carried out without the need for programming and is published on internet for free access.

**Keywords**: multi-environment trials, programming, statistical analysis, user interfaz, R languaje.

# Índice general

Ca	apitu	los		Pá	gina
1.	Intr	oducci	ión		1
2.	Obj	etivos			5
	2.1.	Objeti	ivo general		5
	2.2.	Objeti	ivos específicos		5
3.	Mét	odos			6
	3.1.	Métod	los estadísticos		6
		3.1.1.	Modelo AMMI y SREG		6
		3.1.2.	Modelo AMMI robusto		8
		3.1.3.	Métodos de imputación		9
	3.2.	Creaci	ión de un paquete de R		10
		3.2.1.	geneticae		11
		3.2.2.	Estructura general del paquete		11
		3.2.3.	Archivo DESCRIPTION		12
		3.2.4.	Archivos de código		13
		3.2.5.	Documentación		15
		3.2.6.	Uso de funciones de otros paquetes		16
		3.2.7.	Testeos		17
		3.2.8.	Datasets		18

		3 2 9	Archivo README	18
			Archivo NEWS	19
		3.2.11.	Viñetas	20
		3.2.12.	R CMD check e instalación	21
		3.2.13.	Publicación y difusión	21
	3.3.	Aplica	ción web Shiny	22
		3.3.1.	Programación de una aplicación web Shiny	22
4.	Res	ultados	S	24
	4.1.	Paquet	se de R geneticae	24
		4.1.1.	Conjuntos de datos en geneticae	25
		4.1.2.	Uso del paquete para ajustar el modelo AMMI	25
		4.1.3.	Uso del paquete para ajustar el modelo SREG	28
		4.1.4.	Uso del paquete para imputar matrices de datos incompletas	37
	4.2.	Aplica	ción web Geneticae	38
		4.2.1.	Lectura de un archivo de datos para el uso de la aplicación web Geneticae	39
		4.2.2.	Uso de la aplicación web $Geneticae$ para análisis descriptivo	40
		4.2.3.	Uso de la aplicación web ${\it Geneticae}$ para ajustar el modelo SREG $$	42
		4.2.4.	Uso de la aplicación web ${\it Geneticae}$ para ajustar el modelo AMMI	45
		4.2.5.	Ayuda	46
5.	Con	clusiór	1	47
Bi	bliog	rafía		49

# Índice de figuras

Figura 1.1:	Representación gráfica de tipos de interacción genotipo - ambiente: (A) crossover, (B) no crossover y (C) sin interacción	2
Figura 3.1:	Chequeo de disponibilidad del nombre geneticae elegido para el paquete en desarrollo mediante la función available() del paquete available.	11
Figura 3.2:	Creación del paquete geneticae mediante la función create_package() del paquete usethis.	12
Figura 3.3:	Archivo DESCRIPTION de geneticae	14
Figura 3.4:	Fragmento de función GGEmodel() del paquete geneticae	14
Figura 3.5:	Fragmento de los comentarios roxygen de la función GGEmodel() del paquete geneticae.	16
Figura 3.6:	Resultado de correr la función test() del paquete devtools en geneticae.	17
Figura 3.7:	Porcentaje del código de <i>geneticae</i> que es evaluado durante los testeos obtenido mediante la función test_coverage() del paquete <i>covr</i>	18
Figura 3.8:	Fragmento del archivo README mostrado en el respositorio GitHub del paquete geneticae.	19
Figura 3.9:	Archivo NEWS de geneticae	20
Figura 4.1:	Biplot GE obtenido del modelo AMMI clásico basado en los datos de rendimiento de trigo de invierno obtenidos en Ontario en 1993. El 71,66% de la variabilidad de la IGA se explica por los dos primeros términos multiplicativos. Los cultivares se muestran en letras minúsculas y los ambientes en mayúsculas	27
	ias y ios ambientes en mayusculas	41

Figura 4.2:	Biplot GGE basado en datos de rendimiento de trigo de invierno obtenido de Ontario en 1993. El método de partición de valores singulares utilizado es el simétrico (opción por defecto). El 78 % de la variabilidad de G e IGA se explica por los dos primeros términos multiplicativos. Los cultivares se muestran en minúsculas y los entornos en mayúsculas.	30
Figura 4.3:	Ranking de (A) cultivares en el ambiente OA93 y (B) ambientes para cultivar Kat, basado en datos de rendimiento de trigo de invierno obtenido de Ontario en 1993. El método de partición de valores singulares utilizado es el simétrico (opción por defecto). El 78 % de la variabilidad de G e IGA se explica por los dos primeros términos multiplicativos. Los cultivares se muestran en minúsculas y los entornos en mayúsculas.	31
Figura 4.4:	comparación de los cultivares Kat y Cas. El método de partición de valores singulares utilizado es el simétrico (opción por defecto). El 78% de la variabilidad de G e IGA se explica por los dos primeros términos multiplicativos. Los cultivares se muestran en minúsculas y los entornos en mayúsculas	32
Figura 4.5:	Vista poligonal del biplot GGE, que muestra qué cultivares presentaron mayor rendimiento en cada mega-ambiente. El método de partición de valores singulares utilizado es el simétrico (opción por defecto). El 78 % de la variabilidad de G e IGA se explica por los dos primeros términos multiplicativos. Los cultivares se muestran en minúsculas y los entornos en mayúsculas	33
_	(A) Evaluación de los cultivares con base en el rendimiento promedio y la estabilidad, y (B) clasificación de genotipos con respecto al genotipo ideal, basado en el método de partición de la descomposición en valores singulares enfocado en los genotipos	35
Figura 4.7:	(A) Relación entre ambientes y (B) clasificación de ambientes con respecto al ambiente ideal, basado en el escalado centrado en los genotipos.	37
Figura 4.8:	Conjuntos de datos (A) plrv y (B) yanwinterwheat disponibles en la aplicación web Geneticae	39
Figura 4.9:	Importar el conjunto de datos yanwinterwheat en la aplicación web Geneticae	40

Figura	4.10:	Diagrama de caja de (A) genotipos y (B) ambientes para el conjunto	
		de datos $yanwinterwheat$ obtenido con la aplicación web $Geneticae$	41
Figura	4.11:	(A) Gráfico y (B) matriz de correlación entre genotipos para el conjunto de datos <i>yanwinterwheat</i> obtenido con la aplicación web <i>Geneticae</i> .	41
Figura	4.12:	Gráfico de interacción para (A) ambientes a través de genotipos y (B) genotipos a través de los ambientes para conjunto de datos de yanwinterwheat obtenido con la aplicación web Geneticae	42
Figura	4.13:	Vistas del biplot GGE usando la partición en valores singulares simétrica obtenidos con la aplicación web <i>Geneticae</i>	43
Figura	4.14:	Vistas del biplot GGE usando la partición de valores singulares enfocada en los genotipos obtenidos con la aplicación web <i>Geneticae</i>	44
Figura	4.15:	Vistas del biplot GGE usando la partición de valores singulares enfocada en los ambientes obtenidas con la aplicación web <i>Geneticae</i>	44
Figura	4.16:	Biplot GE derivado del modelo AMMI clásico basado en datos de rendimiento de trigo de invierno obtenido de Ontario en 1993 obtenido con la aplicación web <i>Geneticae</i>	45

# Capítulo 1

# Introducción

A lo largo de la historia de la agricultura, el hombre ha desarrollado el mejoramiento vegetal en forma sistemática y lo ha convertido en un instrumento esencial para incrementar la producción agrícola en términos de cantidad, calidad y diversidad. Las variedades mejoradas son el resultado del trabajo llevado a cabo en los programas de fitomejoramiento, los cuales se extienden a lo largo de varios años y requieren cuantiosas inversiones. En etapas avanzadas de estos programas, comúnmente se llevan a cabo ensayos multiambientales (EMA) de comparación de rendimientos, donde un conjunto de variedades se evalúan en múltiples ambientes. Estos son esenciales debido a la presencia de interacción genotipo - ambiente (IGA) la cual es inevitable debido a las variaciones en las condiciones climáticas y de suelo de los distintos ambientes analizados. La IGA es considerada casi unánimemente por los fitomejoradores como el principal factor que limita la selección de cultivares superiores y, en general, afecta la eficiencia de los programas de mejoramiento (Crossa et al., 1990; Cruz Medina, 1992; Kang y Magari, 1996). Cuando los ambientes son muy diferentes, la IGA usualmente gana importancia porque cambia el rango de las líneas de mejoramiento. Gauch y Zobel (1997) explicaron que si no hubiera interacción, una sola variedad o híbrido rendirían al máximo en todo el mundo, además los materiales podrían evaluarse en un solo lugar y proporcionarían resultados universales.

Peto (1982) ha distinguido las interacciones cuantitativas, conocidas también como sin cambio de rango o no crossover interaction (NCOI), de las cualitativas, denominadas a su vez como con cambio de rango o crossover interaction (COI). Cuando dos genotipos  $G_1$  y  $G_2$  tienen una respuesta diferencial en dos ambientes, se dice que la IGA es del tipo COI si hay cambios en el orden de los genotipos según su rendimiento (Figura 1.1(A)) y del tipo

NCOI si su ordenamiento permanece sin cambios (Figura 1.1(B)). Por otro lado, se dice que la IGA es inexistente cuando los genotipos responden de manera similar en ambos ambientes (Figura 1.1(C)).

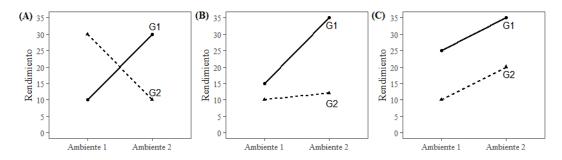


Figura 1.1: Representación gráfica de tipos de interacción genotipo - ambiente: (A) crossover, (B) no crossover y (C) sin interacción.

Entre las implicancias negativas de la IGA en los programas de mejoramiento vegetal se encuentra el impacto negativo sobre la heredabilidad, cuanto menor sea la heredabilidad de un carácter, mayor será la dificultad para mejorarlo. Conceptos importantes tales como regiones ecológicas, ecotipos, mega-ambientes, adaptación específica y estabilidad se pueden analizar a partir de la IGA (Yan y Hunt, 2001).

Un análisis adecuado de la información de los EMA es indispensable para el éxito del programa de mejoramiento genético de los cultivos. El rendimiento medio en los ambientes es un indicador suficiente del rendimiento genotípico sólo en ausencia de IGA (Yan y Kang, 2003). Sin embargo, la aparición de IGA es inevitable y no basta con la comparación de las medias de los genotipos, sino que se debe recurrir a una metodología estadística más aporopiada. Las más difundidas para analizar los datos provenientes de EMA se basan en modificaciones de los modelos de regresión, análisis de variancia (ANOVA de las siglas en inglés, analysis of variance) y técnicas de análisis multivariado.

Particularmente, para el estudio de la IGA y los análisis que de ella se derivan, dos modelos multiplicativos han aumentado su popularidad entre los fitomejoradores como herramientas de análisis gráfico: el modelo de los efectos principales aditivos e interacción multiplicativa (AMMI de las siglas en inglés, Additive Main effects and Multiplicative Interaction) (Gauch, 1988, 1992) y el de regresión por sitio (SREG de las siglas en inglés, Site Regression model) (Cornelius et al., 1996; Crossa y Cornelius, 1997). Estos modelos se ajustan en dos etapas. Primero, se realiza un ANOVA para obtener estimaciones de los efectos principales aditivos de ambientes y genotipos (G) en AMMI y sólo de los ambientes en SREG. En segundo lugar,

los residuos del ANOVA se ordenan en una matriz con genotipos en las filas y ambientes en las columnas y se aplica una descomposición de valores singulares (DVS), representando los patrones de IGA presentes en los residuos en AMMI, y de G e IGA conjuntamente en SREG. El resultado de los dos primeros términos multiplicativos de la DVS a menudo se presentan en un biplot llamado GE (genotipo-ambiente de las siglas en inglés, Genotype-Environment) para el modelo AMMI (Zobel et al., 1988) y GGE (genotipo más genotipo-ambiente de las siglas en inglés, Genotype plus Genotype-Environment) para SREG (Yan et al., 2000). Sin embargo, estos modelos no siempre son lo suficientemente eficientes para analizar la estructura de datos provenientes de EMA de programas de mejoramiento vegetal (de Oliveira et al., 2016; Jarquín et al., 2016; Hadasch et al., 2018). Por un lado, tienen serias limitaciones frente a información faltante y, a pesar de que los EMA están diseñados para que todos los genotipos se evalúen en todos los ambientes, la presencia de valores perdidos es muy común (Woyann et al., 2017; Aguate et al., 2019). Esto ocurre, por ejemplo, debido a errores de medición o destrucción de plantas por presencia de animales, inundaciones o problemas durante la cosecha, además de la dinámica propia de las evaluaciones en las que se incorporan y se descartan genotipos debido a su mal desempeño (Hill y Rosenberg, 1985). Numerosas metodologías de imputación se han estado desarrollando en los ultimos años para solventar esta limitación (Arciniegas-Alarcón et al., 2010, 2014; Josse y Husson, 2016; Arciniegas-Alarcón et al., 2020). Por otro lado, ambos modelos son sensibles a la presencia de observaciones atípicas, lo cual es una regla más que una excepción cuando se consideran datos reales. Para superar esta fragilidad, recientemente distintas metodologías robustas se han desarrollado para el modelo AMMI (Rodrigues et al., 2016).

En este contexto, el análisis de datos provenientes de EMA requiere metodología estadística cuyas rutinas informáticas no se encuentran disponibles en programas comerciales debido a su reciente desarrollo o bien se deben utilizar varios de ellos para cumplir un único objetivo. Esto último genera el inconveniente de tener que disponer de todos los programas necesarios para los distintos análisis, atender los requerimientos de formatos de datos usados por cada uno de ellos, y comprender los diversos tipos de salidas en las que se presentan los resultados obtenidos. Además, los costos de las licencias algunos programas pueden resultar muy elevados.

Ante estas dificultades, una alternativa para el análisis es el empleo de algún lenguaje de programación de distribución libre y gratuita, que le confiera al analista la flexibilidad necesaria para cumplir con su objetivo. En este contexto, R es uno de los lenguajes de programación desarrollados para el análisis de datos de mayor uso en la actualidad. R es un software de uso

libre y distribuido bajo los términos de la General Public Licence. Este programa se descarga de un repositorio mantenido por The R Foundation for Statistical Computing conocido como CRAN (Comprehensive R Archive Network), en el cual también se encuentran disponibles miles de paquetes adicionales que consisten en conjuntos de funciones desarrolladas con fines específicos que se distribuyen con un protocolo determinado, garantizando su correcto funcionamiento. Cualquier desarrollador puede producir su propio paquete y publicarlo en CRAN, siempre que cumpla con los requisitos establecidos y pase correctamente por los procedimientos de control. Además, hay paquetes que pueden obtenerse de otros repositorios como Github, Bioconductor, rOpenSci, entre otros. R es propicio para el análisis de datos de EMA puesto que se ha desarrollado metodología específica para este entorno computacional.

A pesar de estas ventajas, el análisis de datos de EMA en R presenta algunos desafíos. Por un lado, existen numerosos paquetes con funcionalidad afín que hay que identificar cómo combinar adecuadamente. Por otro lado, el software puede resultar dificultoso para aquellos analistas no familiarizados con la programación. Atendiendo a estas dos necesidades, se crea un paquete que incluya metodología recientemente publicada y reúna las funciones más útiles a fin de solventar la primera de ellas. Para la segunda, se crea una aplicación web Shiny de libre acceso mediante conexión a internet que permita realizar los principales análisis implementados en el paquete sin necesidad de escribir líneas de código.

# Capítulo 2

# Objetivos

# 2.1. Objetivo general

Desarrollar un paquete de R para el análisis de datos provenientes de EMA y una interfaz gráfica de usuario para el mismo a través de la aplicación web Shiny.

## 2.2. Objetivos específicos

- Mostrar un flujo de trabajo reproducible para la construcción de paquetes de R.
- Programar e incluir en el paquete metodología para el análisis de datos provenientes de EMA recientemente publicada y no disponible en R.
- Añadir en el paquete de R funciones ya existentes con modificaciones o agregados para favorecer su uso.
- Desarrollar una aplicación web Shiny que sirva como interfaz gráfica de usuario para el paquete.
- Publicar el paquete y la aplicación web para su libre uso.

# Capítulo 3

## Métodos

La primera parte de este capítulo presenta la metodología estadística para el análisis de datos provenientes de EMA incluída en el paquete de R y que puede ser empleada interactivamente mediante la aplicación web Shiny. En la segunda y tercera sección, se presenta un flujo de trabajo reproducible para el desarrollo del paquete de R y una descripción de las etapas para la creación de la aplicación web Shiny.

#### 3.1. Métodos estadísticos

### 3.1.1. Modelo AMMI y SREG

Para el estudio de la IGA y los análisis que de ella se derivan, dos modelos multiplicativos han aumentado su popularidad elntre los fitomejoradores como herramientas de análisis gráfico: el modelo de los efectos principales aditivos e interacción multiplicativa (AMMI de las siglas en inglés, Additive Main effects and Multiplicative Interaction) (Gauch, 1988, 1992) y el de regresión por sitio (SREG de las siglas en inglés, Site Regression model) (Cornelius et al., 1996; Crossa y Cornelius, 1997). Estos modelos se ajustan en dos etapas. Primero, se realiza un ANOVA para obtener estimaciones de los efectos principales aditivos de ambientes y genotipos en AMMI y sólo de los ambientes en SREG. En segundo lugar, los residuos del ANOVA se ordenan en una matriz con genotipos en las filas y ambientes en las columnas y se aplica una DVS, representando los patrones de IGA presentes en los residuos en AMMI, y de G e IGA conjuntamente en SREG.

Las ecuaciones de los distintos modelos son:

AMMI: 
$$y_{ij} = \mu + G_i + A_j + \sum_{k=1}^K \lambda_k \alpha_{ik} \gamma_{jk}$$
  
SREG:  $y_{ij} = \mu + A_j + \sum_{k=1}^K \lambda_k \alpha_{ik} \gamma_{jk}$ 

donde

- $y_{ij}$  es el carácter fenotípico evaluado (rendimiento o cualquier otro carácter de interés) del i-ésimo genotipo en el j-ésimo ambiente,
- $\mu$  es la media general,
- $G_i$  es el efecto del i-ésimo genotipo con i = 1, ..., g,
- $A_j$  es el efecto del j-ésimo ambiente con j = 1, ..., a,
- $\sum_{k=1}^{K} \lambda_k \alpha_{ik} \gamma_{jk}$  es la sumatoria de términos multiplicativos utilizadas para modelar la IGA en AMMI o de G e IGA conjuntamente en SREG. K es el número de términos multiplicativos retenidos en el modelo con  $K \leq min(g-1,a-1)$  en AMMI y  $K \leq min(g,a-1)$  en SREG;  $\lambda_k$  es el k-ésimo valor singular y  $\alpha_{ik}$  y  $\gamma_{jk}$  son los elementos de los autovectores asociados con el i-ésimo genotipo y el j-ésimo ambiente para el k-ésimo término multiplicativo, respectivamente. En general, los dos primeros términos multiplicativos (K=2) son suficientes para explicar los patrones de la IGA en AMMI y de G e IGA en SREG; la variabilidad remanente se interpreta como ruido aleatorio.

El resultado de los dos primeros términos multiplicativos de la SVD se presenta a menudo en un biplot llamado GE (genotipo-ambiente de las siglas en inglés, Genotype-Environment) para el modelo AMMI (Zobel et al., 1988) y GGE (genotipo más genotipo-ambiente de las siglas en inglés, Genotype plus Genotype-Environment) en SREG (Yan et al., 2000) y representan una aproximación de dos rangos de los efectos multiplicativos. Dado que para seleccionar cultivares el G e IGA debe considerarse simultáneamente, el modelo SREG resulta superior a AMMI para visualizar patrones en datos provenientes de EMA. Un biplot GGE que explica suficiente variabilidad debida a G e IGA de un conjunto de datos provenientes de EMA permite, entre otras cosas, visualizar tres aspectos importantes:

- (i) las relaciones entre los genotipos y ambientes representadas por el patrón "cuál-ganadónde" (which-won-where), que facilitan la investigación de mega-ambientes (Gauch y Zobel, 1997);
- (ii) las interrelaciones entre los ambientes de prueba, que facilitan la identificación de mejores ambientes para la evaluación de cultivares (Cooper et al., 1997) y de aquellos que son redundantes y pueden descartarse (Yan y Rajcan, 2002);
- (iii) las interrelaciones entre genotipos que posibilita la comparación entre ellos y la clasifi-

cación de los mismos considerando tanto en el rendimiento medio como la estabilidad (Yan et al., 2001).

En un biplot la puntuación del i-ésimo genotipo en la k-ésima componente principal se muestra como un punto definido por  $g_{ik} = \lambda_k^s \alpha_{ik}$ , y la correspondiente al j-ésimo ambiente en la k-ésima componente por  $e_{kj} = \lambda_k^{1-s} \gamma_{jk}$  donde k = 1, 2 para un biplot bidimensional y s es el factor de partición de los valores singulares. Teóricamente, el factor de partición puede tomar cualquier valor entre 0 y 1. Dentro de este rango, la elección de s no altera las relaciones o interacciones relativas entre los genotipos y los ambientes, aunque la apariencia del biplot será diferente. Cuando  $s=1, g_{ik}=\lambda_k\alpha_{ik}, y e_{kj}=\gamma_{jk}$ , los valores singulares se dividen por completo en los autovectores de los genotipos. En esta escala la unidad de las puntuaciones de los genotipos  $(q_{ik})$  es la unidad original del carácter fenotípico evaluado y las puntuaciones ambientales  $(e_{kj})$  están normalizadas (es decir no tienen unidad). Cuando s=0,  $g_{ik} = \alpha_{ik}$ , y  $e_{kj} = \lambda_k \gamma_{jk}$ , los valores singulares se dividen por completo en los autovectores de los ambientes. En esta escala las puntuaciones ambientales están en la unidad original del carácter fenotípico evaluado y las de los genotipos no tienen unidad. Cuando s = 0.5,  $g_{ik} = \lambda_k^{0,5} \alpha_{ik}$ , y  $e_{kj} = \lambda_k^{0,5} \gamma_{jk}$ , la partición es simétrica. En esta escala las puntuaciones de los genotipos y las ambientales tienen la misma unidad que es la raíz cuadrada de la unidad original. El valor de s=0.5 es empleado en el biplot GE y el más utilizado en GGE, aunque dependiendo de los intereses de la investigación, se pueden construir numerosas vistas del biplot GGE derivado de SREG. Independientemente del factor de partición en valores singulares utilizado, los biplots GGE revelan el mismo patrón which-won-where. Sin embargo, difieren en su precisión al mostrar la interrelación entre ambientes y genotipos. La partición centrada en los genotipos (s = 1) muestra la interrelación entre genotipos con mayor precisión que cualquier otro método; la partición enfocada en los ambientes (s=0)es la más informativa sobre las interrelaciones entre los ambientes; y la simétrica (s = 0.5)permite visualizar la magnitud relativa tanto de la variación de los genotipos como de los ambientes.

#### 3.1.2. Modelo AMMI robusto

El modelo AMMI, en su forma estándar, asume que no hay valores atípicos en el conjunto de datos. Sin embargo, la presencia de *outliers* es más una regla que una excepción cuando se consideran datos agronómicos debido características inherentes a los genotipos que se evalúan, errores de medición o el efecto inesperado de plagas o enfermedades que pueden afectar el

rendimiento de algunos genotipos.

Rodrigues et al. (2016) proponen una generalización robusta del modelo AMMI, que resulta de ajustar un modelo lineal robusto basado en el estimador M-Huber (Huber, 1981) y luego utilizar un procedimiento de DVS o de análisis de componentes principales (ACP) robusto. Para la DVS o el ACP los autores consideraron varios métodos, dando lugar a un total de cinco modelos robustos llamados: R-AMMI, H-AMMI, G-AMMI, L-AMMI, PP-AMMI.

El empleo de la versión robusta del modelo AMMI puede ser extremadamente útil debido a que una mala representación de genotipos y ambientes puede resultar en una mala decisión con respecto a qué genotipos seleccionar para un conjunto dado de ambientes (Gauch y Zobel, 1997; Yan et al., 2000). A su vez, la elección de los genotipos incorrectos pueden provocar grandes pérdidas en términos de rendimiento. Los biplots obtenidos de los modelos robustos mantienen las características e interpretación estándar del modelo AMMI clásico (Rodrigues et al., 2016).

#### 3.1.3. Métodos de imputación

Una limitación importante que presentan los modelos multiplicativos descriptos previamente es que requieren que el carácter fenotípico bajo estudio se encuentre registrado para todas las combinaciones entre genotipos y ambientes, es decir no admiten valores perdidos. Aunque los EMA están diseñados para que todos los genotipos se evalúen en todos los ambientes, la presencia de valores faltantes es muy común debido a errores de medición o pérdidas de plantas por animales, inundaciones o problemas durante la cosecha, además de la dinámica propia de las evaluaciones en las que se incorporan o descartan genotipos debido a su pobre desempeño (Hill y Rosenberg, 1985).

Se han propuesto numerosas metodologías para superar el problema de valores ausentes en el conjunto de datos, entre las cuales se encuentran:

- EM-AMMI: Gauch y Zobel (1990) desarrollaron un procedimiento iterativo que utiliza el algoritmo de maximización de la esperanza (EM de las siglas en inglés, *Expectation Maximization*) incorporando el modelo AMMI.
- EM-SVD: Troyanskaya et al. (2001) propusieron un método de imputación que combina el algoritmo EM con DVS.
- EM-PCA: Josse y Husson (2016) propusieron imputar los valores faltantes de un con-

junto de datos mediante un ACP.

- GabrielEigen: Arciniegas-Alarcón et al. (2010) presentaron un método de imputación que combina regresión y aproximación de rango inferior usando DVS.
- WGabriel Eigen: Arciniegas-Alarcón et al. (2014) plantearon una extensión ponderada del método GabrielEigen.

### 3.2. Creación de un paquete de R

Un paquete de R es un conjunto de funciones programadas en este lenguaje que comparten fines específicos y se distribuyen con un protocolo estandarizado, garantizando su correcto funcionamiento. Para la creación de un paquete se deben seguir ciertas convenciones referidas a la creación y almacenaje de carpetas y archivo con código de programación, documentación e instrucciones de sistema. La gestión de todos estos documentos puede ser manual, pero existen paquetes de R que asisten en la tarea del desarrollo de nuevos paquetes automatizando ciertas fases del proceso. En este trabajo se usaron los paquetes: devtools (Wickham et al., 2021), usethis (Wickham y Bryan, 2021), roxygen2 (Wickham et al., 2020), testihat (Wickham, 2011) y available (Ganz et al., 2019).

Una vez finalizada esta etapa, dichas carpetas y archivos se compilan y comprimen para su distribución. Si esto se realiza con Windows como sistema operativo, se debe descargar e instalar el software Rtools disponible en CRAN.

Todo este proceso se realizó utilizando Git y GitHub. Git es un sistema de control de versiones, una herramienta que toma inicialmente una versión de un documento y luego registra los cambios que sufre el mismo a lo largo del tiempo. Esto facilita el trabajo colaborativo entre distintas personas ya que si más de una persona trabaja en el mismo documento, el sistema de control de versiones las puede integrar en una nueva. Git es más útil cuando se combina con GitHub. Este último es el servicio de hosting que se utiliza para que el proyecto tenga una presencia en la web permitiéndole a otras personas explorar los archivos, su historia, sincronizarse con la versión actual, proponer y realizar cambios, etc. Git + GitHub es el entorno más popular para los desarrolladores de paquetes de R ya que permite a cualquier persona descargar e instalar un paquete e incluso realizar aportes, detectar bugs, incluir sugerencias, etc.

A continuación se detallan los distintos pasos que componen la creación de un paquete en R bajo un enfoque de trabajo reproducible, lo cual significa que los mismos pueden usarse de

ejemplo para el desarrollo de nuevos paquetes o para imitar la creación del paquete *geneticae* que es objeto de desarrollo de este trabajo.

#### 3.2.1. geneticae

En primer lugar se debe elegir el nombre del paquete cumpliendo con ciertas reglas: solo puede contener letras, números o puntos; debe tener al menos dos caracteres y empezar con una letra y no terminar con un punto. Se debe chequear si el nombre elegido está disponible en los repositorios CRAN, Bioconductor y GitHub. Para ello, se utiliza la función available() del paquete available, que además indicará si el nombre elegido tiene algún significado especial que podemos desconocer (revisa las webs de Wikipedia, Wiktionary y Urban Dictionary). El nombre elegido en este caso fue "geneticae" (Figura 3.1).

Figura 3.1: Chequeo de disponibilidad del nombre *geneticae* elegido para el paquete en desarrollo mediante la función available() del paquete available.

#### 3.2.2. Estructura general del paquete

Un paquete de R se construye creando y guardando diversos archivos y carpetas en un directorio cuyo nombre es igual al elegido en el paso anterior. Algunos elementos son de presencia obligatoria; entre ellos:

- Archivo DESCRIPTION: archivo de texto que describe el contenido del paquete, quienes son sus desarrolladores, establece como se va a relacionar con otros, el tipo de licencia con el que se distribuye, los requisitos de sistema, etc.
- Carpeta R: contiene el o los archivos de código (script) de R con las funciones del paquete.

- Carpeta man: incluye archivos con la documentación del paquete, funciones y datasets.
- README: archivo de texto que brinda información sobre el proyecto.
- Archivo NAMESPACE: declara las funciones del paquete que se ponen a disposición de los usuarios y lista las funciones de otros paquetes de las cuales hace uso.

Existen otros elementos cuya inclusión es opcional, por ejemplo:

- Carpeta data: contiene objetos de R con los conjuntos de datos.
- Carpeta vignettes: contiene los tutoriales que muestran ejemplos de uso del paquete, generalmente escritos en Rmarkdown
- Carpeta tests: incluye código que permiten someter al paquete a diversos controles.

Si bien estas carpetas y archivos pueden crearse en forma manual, es conveniente utilizar la función create\_package() del paquete *usethis* que se encarga de generar automáticamente un directorio con todas las componentes requeridas para el desarrollo del paquete que sirve de plantilla para facilitar la parte inicial de este proceso (Figura 3.2).

Figura 3.2: Creación del paquete *geneticae* mediante la función create\_package() del paquete *usethis*.

#### 3.2.3. Archivo DESCRIPTION

El archivo DESCRIPTION provee toda la metadata sobre el paquete presentada a través de campos, algunos de los cuales tienen que estar de forma obligatoria y otros son opcionales. Los campos obligatorios son:

Package: nombre del paquete.

- Title: título del paquete (hasta 65 caracteres).
- Version: número de la versión actual del paquete, en este caso 0.1.9000.
- Author, Maintainer o Authors@R: autores, contribuyentes y personas a cargo del mantenimiento del paquete.
- Description: descripción del paquete.
- License: nombre de la licencia bajo la cual se distribuye el paquete. Si se pretende que cualquiera lo puede usar, entonces se debe recurrir a los tipos más comunes de licencia para código abierto: CC0, MIT o GPL.

#### Los elementos no obligatorios son:

- Encoding: especifica la codificación que se utiliza para el archivo DESCRIPTION, los .R, el NAMESPACE y los archivos .Rd.
- LazyData: indica si los datos estan o no disponibles inmediatamente cuando se carga el paquete.
- RoxygenNote: versión de roxygen. ?????
- Imports: en el caso de que el código desarrollado haga uso de funciones pertenecientes a otros paquetes, los mismos deben ser listados en este campo.
- Suggests: listado de paquetes que no son imprescindibles para el uso del nuevo paquete, pero que pueden ser útiles como herramientas secundarias para el mismo (por ejemplo, para seguir los tutoriales).
- VignetteBuilder: paquetes requeridos para la creación de las viñetas.
- Depends: mínima versión de R con la cual el paquete es compatible.
- URL: dirección de la página web del paquete.
- BugReports: dirección donde los usuarios pueden enviar avisos sobre los problemas que encuentren al utilizar el paquete.
- Language: indica el idioma en la que se escribe la documentación del paquete.

El archivo DESCRIPTION del paquete *qeneticae* se muestra en la Figura 3.3.

#### 3.2.4. Archivos de código

Una vez creada la estructura del paquete y el archivo DESCRIPTION se deben programar las funciones que el mismo contendrá. Estas deben ser guardadas en *scripts* con extensión .R, en el subdirectorio R/. Los *scripts* pueden contener código para una o más funciones y ser guardadas con cualquier nombre, aunque es recomendable que el mismo este relacionado con su contenido (Figura 3.4).

Figura 3.3: Archivo DESCRIPTION de geneticae.

Figura 3.4: Fragmento de función GGEmodel() del paquete geneticae.

A medida que se desarrolla el paquete, se van generando relaciones complejas entre las

funciones programadas. Algunas de ellas son de uso interno (son invocadas por otras funciones del paquete para cumplir con alguna tarea específica) y otras son diseñadas para que estén disponibles para los usuarios (es decir se "exportan"). Además algunas funciones invocan a otras pertenecientes a paquetes escritos por terceros. Esto hace necesario realizar pruebas del funcionamiento del código producido durante todo el proceso de desarrollo para garantizar que el código realice lo que realmente se desea y para corregir errores en la programación (depuración o debugging). Para simular el proceso de construcción, instalación y carga del paquete durante su desarrollo se utiliza la función load\_all() que permite acceder a las funciones del paquete para su evaluación.

#### 3.2.5. Documentación

Uno de los aspectos más importantes de la creación de un paquete es la documentación donde se describe cómo se usa cada función, para qué sirven los argumentos, aclarar qué tipo de resultado devuelve, proveer ejemplos para el uso, etc. El paquete roxygen2 provee pautas para escribir comentarios con un formato especial que incluyan toda la información requerida antes de la definición de la función en el mismo archivo de código.

El flujo de trabajo para crear la documentación con el paquete roxygen2 es el siguiente:

- 1. Agregar comentarios a los archivos .R. Estos deben comenzar con #', para distinguirlo de los comentarios regulares, y preceden a cada función. La primera línea es el título y el párrafo que le sigue es su descripción. Para el resto de los campos de la documentación, se utilizan etiquetas listadas línea tras línea que comienzan con @, siendo las más importantes a incluir:
  - @param: detalla para qué sirve cada parámetro de la función, que tipo de objeto es y que valor toma por defecto (opcional).
  - @return: explica qué objeto devuelve la función.
  - @details: agrega cualquier aclaración que se considere necesaria.
  - @examples: incluye ejemplos de uso de la función.
  - @export: indica que esta función tiene que estar disponible cuando alguien cargue el paquete con library().
  - @references: inserta referencias bibliográficas.
- 2. Ejecutar document() del paquete devtools para convertir los comentarios escritos en formato roxygen en los archivos que compondrán el manual de ayuda y que deben ir

guardados en la carpeta man. Además, esto se encarga de generar el archivo NAMES-PACE, que tiene como objetivo declarar cuáles son las funciones del nuevo paquete que son para exportar, así como también listar todas las fuciones importadas de otros paquetes.

La figura 3.5 muestra un fragmento de los comentarios roxygen de la función GGEmodel() del paquete *geneticae*.

Figura 3.5: Fragmento de los comentarios roxygen de la función GGEmodel() del paquete geneticae.

#### 3.2.6. Uso de funciones de otros paquetes

Cuando el código desarrollado invoca a funciones de otros paquetes, los mismos deben ser listados en el campo Imports del archivo DESCRIPTION como se mencionó en la sección 3.2.3. Esto puede hacerse de manera manual o mediante la función use\_package() del paquete devtools indicando el nombre del paquete.

En el código se debe hacer uso de tales funciones anteponiendolo a su nombre el del paquete y el operador "::". Por ejemplo, dplyr::group\_by() invoca la función group\_by() del paquete dplyr. En el caso de que alguna función se aplicara con mucha frecuencia, se puede prescindir del comando anterior si se agrega el nombre de la función y el paquete de procedencia en la etiqueta @importFrom en los comentarios roxygen. Para el ejemplo anterior se debería indicar @importFrom dplyr group\_by. Esto permite mencionar a la función en el código sin el operador "::".

Si se utilizan repetidamente muchas funciones de otro paquete, es posible importarlas todas indicando el nombre del mismo en la etiqueta @import en los comentarios roxygen. Sin embargo, esta es la solución menos recomendada porque hace que el código sea más difícil de leer, y si tiene muchos paquetes, aumenta la posibilidad de que entren en conflicto nombres de funciones.

#### 3.2.7. Testeos

Probar el código desarrollado, somentiéndolo a casos particulares y a distintos ejemplos, es fundamental en la creación de paquetes ya que permite detectar y corregir errores y asegurarse que el código haga lo que realmente se desea.

Como se mencionó anteriormente, esto puede hacerse de manera dinámica e interactiva durante el desarrollo al instalar y cargar el paquete en gestación con load\_all(). Sin embargo, si siempre se realizan los mismos controles es posible automatizar este proceso. Para ello, se generan unidades de testeo que ponen a prueba el código corriendo parte del mismo bajo distintas circunstancias y comparando el resultado obtenido con el esperado por el desarrollador. La función use\_test() del paquete testthat, que agrega "testthat" al campo Suggest del archivo DESCRIPTION, crea un directorio test/testthat para ubicar los códigos con los testeos y un archivo testthat.R que se encarga de la ejecución de los mismos. Una vez escritos estos archivos que establecen cuales son los controles a realizar automáticamente, se pueden evaluar los resultados con la función test() del paquete devtools. Ante cada error encontrado, se debe corregir el código y repetir este proceso hasta que todas las unidades de testeo pasen la prueba. En la Figura 3.6 se muestra el resultado de evaluar las unidades de testeo creadas para el paquete geneticae.

```
> test()
i Loading geneticae
i Testing geneticae

/ OK F W S | Context
/ 6 | GGE_Model [0.2 s]
/ 7 | GGE_Plot [0.8 s]
/ 4 | impute [0.2 s]
/ 3 | r_AMMI [0.2 s]

Results

Duration: 1.4 s

[ FAIL 0 | WARN 0 | SKIP 0 | PASS 20 ]
```

Figura 3.6: Resultado de correr la función test() del paquete devtools en geneticae.

Una medida de la calidad de un paquete está dada por el porcentaje de código que es

evaluado durante los testeos. Esta se puede obtener mediante la función test\_coverage() del paquete covr (Hester, 2020). El paquete geneticae tiene un porcentaje total de cobertura de los test igual a 24.75 % (Figura 3.7).

geneticae coverage - 24.75%								
Files	s Source							
	File	\$	Lines 🛊	Relevant 🌲	Covered $\mbox{$\phi$}$	Missed 🛊	Hits / Line 🌲	Coverage \$
R/W_G	abrielEigen.	R	270	131	0	131	0	0.00%
R/Gabr	ielEigen.R		136	63	0	63	0	0.00%
R/rAMN	MI.R		235	126	2	124	0	1.59%
R/GGE	_Plot.R		465	238	57	181	1	23.95%
R/impu	te.R		186	49	37	12	1	75.51%
R/GGE	_Model.R		119	27	21	6	4	77.78%
R/EM_	AMMI.R		160	59	49	10	6	83.05%

Figura 3.7: Porcentaje del código de *geneticae* que es evaluado durante los testeos obtenido mediante la función test\_coverage() del paquete *covr*.

#### 3.2.8. Datasets

A menudo es útil incluir conjutnos de datos en un paquete a fin de proporcionar ejemplos de uso de las funciones incluidas. Los datasets que se deseen añadir a un paquete deben ser guardados como archivos .RData en el directorio data/. La función use\_data() del paquete usethis puede ser empleada para automatizar este proceso.

Los objetos de la carpeta data siempre se exportan, por lo cual se debe agregar documentación para los mismos. Esto se puede incluir en cualquier archivo de código .R dentro del directorio R/.

#### 3.2.9. Archivo README

Un README es un archivo de texto plano que se utiliza para documentar o brindar información sobre alguna pieza de software o proyecto. Si un directorio contiene un archivo README, se espera que el usuario lo lea antes de explorar el resto del contenido. En el contexto de creación de paquetes de R, el README se suele escribir en RMarkdown y describe brevemente por qué y para qué alguien podría usar el paquete, junto con menciones

para su instalación y un ejemplo introductorio. Además, este archivo se muestra en la página del paquete cuando este es publicado en plataformas como GitHub.

Para generar el README se utiliza la función use\_readme\_rmd() que crea un archivo de Rmarkdown con una plantilla donde se completa su contenido.

En el archivo README se suelen incluir insignias ("bagdes") y el logo del paquete. Algunas funciones del paquete *usethis* permiten agregar las insignias al README. Por otro lado, muchos de los paquetes de R disponen de un logo con forma hexagonal conocido como hexSticker. Esto permite darle identidad al paquete. El logo se puede crear con ayuda del paquete *HexSticker* y ser añadido al README con la función use logo(). La Figura 3.8 presenta un fragmento del archivo README mostrado en el respositorio GitHub del paquete *geneticae*.

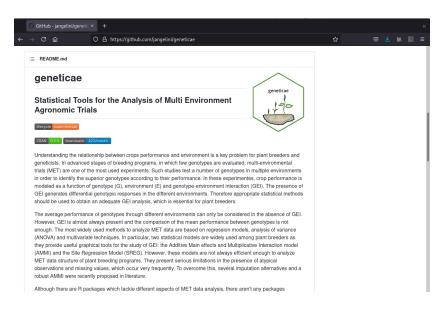


Figura 3.8: Fragmento del archivo README mostrado en el respositorio GitHub del paquete geneticae.

#### 3.2.10. Archivo NEWS

El archivo NEWS se encarga de contar los cambios presentes en cada versión nueva del paquete que se publica. Mientras que el README apunta a ser leído por nuevos usuarios, el archivo NEWS es para aquellos que ya usan el paquete.

Se sugiere usar RMarkdown para escribir este archivo y colocar un título principal para

cada versión, seguido por títulos secundarios que describen lo realizado (cambios principales, bugs arreglados, etc.). Si se trata de cambios impulsados por otras personas, por ejemplo, a través de sugerencias hechas en GitHub, se los menciona para darles mérito. Una buena práctica es ir escribiendo este archivo cada vez que se realiza algo nuevo en el paquete. La función que permite crear este archivo automáticamente es use\_news\_md() del paquete usethis.

La figura 3.9 presenta el contenido del archivo NEWS del paquete geneticae.

```
NEWS.md x

# geneticae 0.1.9000

Changed default option to "symmetrical" in the SVP argument of the GGEmodel()
function.

# geneticae 0.1.0

First submission to CRAN.

# geneticae 0.0.9000

This is the first development version of the package.
```

Figura 3.9: Archivo NEWS de geneticae.

#### **3.2.11.** Viñetas

Una viñeta es un tipo especial de documentación que puede agregarse al paquete para dar más detalles y ejemplos sobre el uso del mismo. En ella se brinda es una descripción el problema que el paquete está diseñado para resolver y muestra al lector cómo resolverlo. Se diferencian de las páginas de ayuda en que su adición es opcional y no sigue una estructura fija, dándole la libertad al autor de enseñar de la forma que más le guste cómo usar su paquete.

Muchos de los paquetes existentes tienen viñetas a las que se puede acceder utilizando la función browseVignettes("nombre del paquete") si el mismo se encuentra instalado o consultando en su página de CRAN, por ejemplo para el paquete geneticae: https://cran.r-project.org/web/packages/geneticae/vignettes/a-tutorial.html.

Generalmente, las viñetas son generadas en RMarkdown, un formato de escritura que facilita la presentación de texto entrelazado con código y resultados. Para crear viñetas se emplea la función use\_vignette("nombre del paquete") del paquete usethis que crea un

directorio vignettes/, agrega las dependencias necesarias a DESCRIPTION y genera una plantilla en RMarkdown para redactar la viñeta.

#### 3.2.12. R CMD check e instalación

Además de los controles interactivos o automatizados que los desarrolladores realicen, existe un riguroso proceso de control conocido como R CMD check que debe ser superado sin errores, adevertencias ni ningún tipo de nota si se desea publicar el paquete en algún repositorio oficial como CRAN. R CMD check esta compuesto por más de 50 chequeos individuales entre los cuales se encuentran: la estructura del paquete, el archivo DESCRIPTION, NAMESPACE, el código de R, los datos, la documentación, entre otros.

Se aconseja realizar verificaciones completas de que todo funciona a medida que se van incorporando funciones para detectar y solucionar problemas de forma temprana. Una vez que se desarrollaron todos los elementos necesarios para el paquete y no se detectan errores, advertencias o notas, se ejecuta la función install(), con el objetivo de instalar el paquete en la biblioteca.

#### 3.2.13. Publicación y difusión

Por último para que otros usuarios puedan utilizar el paquete desarrollado es necesario publicarlo en algún sitio de cual pueda ser descargado e instalado. Esto se logra subiéndolo a un proyecto público en GitHub o enviándolo a repositorios oficiales como CRAN. Para ser aceptado en CRAN, el paquete además de atravesar con éxito los rigurosos controles de R CMD check debe superar una serie de políticas que son comprobadas manualmente por revisores.

Con el fin de favorecer a la difusión del paquete una vez que el mismo es finalizado, es conveniente publicarlo en una página web. Esta es una tarea realtivamente sencilla gracias a dos factores. En primer lugar, la función build\_site() del paquete pkgdown (Wickham y Hesselberth, 2020) toma todo el material creado para el paquete (documentación, README, tutoriales, NEWS, etc.) y crea automáticamente en un sitio web que pude ser posteriormente personalizado. En segundo lugar, GitHub ofrece un servicio gratuito de web-hosting que posibilita la publicación del sitio en internet.

### 3.3. Aplicación web Shiny

El paquete *shiny* (Chang et al., 2020) de R permite construir aplicaciones web directamente desde RStudio sin necesidad de conocer en profundidad los lenguajes HTML / CSS / JavaScript. Estas aplicaciones constituyen una interfaz gráfica entre el usuario y R, que permiten realizar diversos análisis a través de un navegador web sin necesidad de programar.

#### 3.3.1. Programación de una aplicación web Shiny

El desarrollo de una aplicación web Shiny consiste en programar en lenguaje R dos componentes, la interfaz de usuario y las evaluaciones a ejecutar por el servidor que aloje a la aplicación.

La interfaz de usuario (conocida como ui por sus siglas en inglés, user interface) controla el diseño de la aplicación y se encarga de establecer cuáles son los argumentos de entrada (inputs) que el usario provee al hacer uso de la aplicación y las salidas (outputs) que el servidor debe mostrar luego de procesar los inputs. En general, definir las características de la interfaz de usuario puede no resultar tan sencillo ya que muchas de sus herramientas están vinculadas a otros lenguajes de programación, por ejemplo HTML, CSS o JavaScript. Sin embargo, las funciones del paquete shiny, junto con las de otros paquetes auxiliares como shiny Widgets (Perrier et al., 2020) shinythemes (Chang, 2018) y shinyhelper (Mason-Thom, 2019), facilitan la tarea, al proveer código en lenguaje R para administrar el contenido y apariencia de la página web.

El segundo elemento a programar recibe el nombre de server e incluye el código de R que le indica a la aplicación qué debe hacer y cómo debe funcionar, incluyendo la lectura y manipulación de datos, el armado de gráficos, el ajuste de modelos, etc. En la programación del server se debe prestar especial atención a los inputs (datos u opciones elegidas por el usuario a través de la ui) y outputs (resultados, tablas, gráficos, mapas, etc.), que se almacenan como objetos de R de tipo lista.

El código para la generación de una aplicación web Shiny debe finalizar con una llamada a la función shinyApp() que se encarga de la ejecución y lanzamiento de la aplicación.

Existen diversas formas para que un usuario pueda utilizar una aplicación Shiny:

■ En formal local, desde RStudio. Si se dispone del código fuente de forma local, se puede lanzar a correr la aplicación con la función shinyApp() del paquete *shiny*. Si el código

- está disponible en un repositorio público de GitHub, se lo puede correr con la función runGitHub() del paquete *shiny*. En ambos casos, se habilita el uso de la aplicación dentro del mismo RStudio o en algún navegador web como Gogole Chorme.
- En forma remota, accediendo a algún servidor donde la aplicación esté alojada. En este caso, se debe contar con conexión a internet para acceder a la web del servidor y poder hacer uso de la aplicación online.

# Capítulo 4

## Resultados

### 4.1. Paquete de R geneticae

Siguiendo el flujo de trabajo descripto en el capítulo anterior fue posible desarrollar el paquete de R *geneticae* que implementa los métodos estadísticos discutidos para el análisis de datos de EMA.

El paquete fue enviado a CRAN, donde pasó los exhaustivos controles de R CMD check exitosamente, logrando así una rápida aceptación. En el momento de la escritura de este informe, pasaron 3 semanas desde su publicación en el repositorio y cuenta con más de 400 descargas, a pesar de que aún no se ha hecho difusión del paquete.

Para instalar la versión del paquete publicada en CRAN: install.packages ("geneticae"), mientras que la versión en desarrollo se debe instalar desde el repositorio de GitHub: devtools::install\_github ("jangelini/geneticae"). Una vez instalado el paquete, se debe cargar en la sesion de R mediante el comando: library (geneticae).

Información detallada sobre las funciones del paquete geneticae se puede obtener mediante help(package = "geneticae"). La ayuda para una función, por ejemplo imputation(), en una sesión R se puede obtener usando ?imputation o help(imputation). La función browseVignettes("geneticae") permite obtener la viñeta del paquete, es decir una descripción el problema que está diseñado para resolver así como ejemplos de aplicación del mismo.

Además, se encuentra disponible una página web<sup>1</sup> que contiene una breve descripción de la utilidad del paquete, las funciones que se incluyen en él, un tutorial de uso, un enlace de

https://jangelini.github.io/geneticae/

acceso a la aplicación web Shiny, entre otros elementos.

#### 4.1.1. Conjuntos de datos en geneticae

El paquete *geneticae* proporciona dos conjuntos de datos que pueden utilizarse para ilustrar la metodología incluida para analizar los datos provenientes de EMA.

• yan.winterwheat dataset (Wright, 2020): cuenta con información sobre el rendimiento de 18 variedades de trigo de invierno cultivadas en nueve ambientes en Ontario en 1993. A pesar de que el experimento contaba con cuatro bloques o réplicas en cada ambiente, sólo el rendimiento medio para cada combinación de variedad y ambiente se encuentra disponible.

```
data(yan.winterwheat)
head(yanwinterwheat)[1:3,]

## gen env yield
## 1 Ann BH93 4.460

## 2 Ari BH93 4.417

## 3 Aug BH93 4.669
```

• plrv dataset (de Mendiburu, 2020): contiene información sobre el rendimiento, el peso de planta y de la parcela de 28 genotipos en 6 localidades de Perú. Cada clon fue evaluado tres veces en cada ambiente.

```
data(plrv)
   head(plrv)[1:3,]
     Genotype Locality Rep WeightPlant WeightPlot
##
                                                          Yield
## 1
       102.18
                                0.5100000
                                                 5.10 18.88889
                   Ayac
       104.22
                                0.3450000
                                                 2.76 12.77778
## 2
                   Ayac
## 3
       121.31
                   Ayac
                                0.5425000
                                                 4.34 20.09259
```

#### 4.1.2. Uso del paquete para ajustar el modelo AMMI

Para visualizar el efecto de IGA se utiliza el biplot GE obtenido del modelo AMMI a través de la función rAMMI(), que requiere datos en formato largo, es decir, cada fila corresponde a una observación y cada columna a una variable (genotipo, ambiente, fenotipo observado y, si existe, repetición). Si cada genotipo ha sido evaluado más de una vez en cada ambiente,

la media fenotípica para cada combinación de genotipo y ambiente se calcula internamente y luego se estima el modelo. El conjunto de datos puede contener variables adicionales no utilizadas en el análisis (a diferencia de lo que ocurre con muchos softwares y funciones de R disponibles hasta el momento). No se permiten valores perdidos pero se pueden imputar como se indica en la subsección 4.1.4.

El primer argumento de rAMMI() es el conjunto de datos de entrada, luego se indican los nombres de las columnas en las cuales se encuentra la información necesaria para aplicar la técnica y por último el biplot que se desea obtener que por defecto es el derivado del modelo AMMI clásico. Opcionalmente, se puede agregar el porcentaje de IGA explicado por el biplot como una nota al pie mediante el argumento footnote = T y un título con titles = T.

El biplot clásico para el conjunto de datos yan.winterwheat se muestra en la figura 4.1. En este ejemplo BH93, KE93 y OA93 son los ambientes que más contribuyen a la interacción ya que sus vectores son los de mayor magnitud. Los cultivares m12 y Kat presentan patrones de interacción similares (sus identificadores están próximos entre sí) y son muy diferentes de Ann y Aug, por ejemplo. La cercanía entre el cultivar Dia y el ambiente BH93 indica una fuerte asociación positiva entre ellos, lo que significa que BH93 es un ambiente extremadamente favorable para ese genotipo. Como los marcadores OA93 y Luc son opuestos, este ambiente es considerablemente desfavorable para ese genotipo. Por último, Cas y Reb están cerca del origen, lo que significa que se adaptan en igual medida a todos los ambientes.

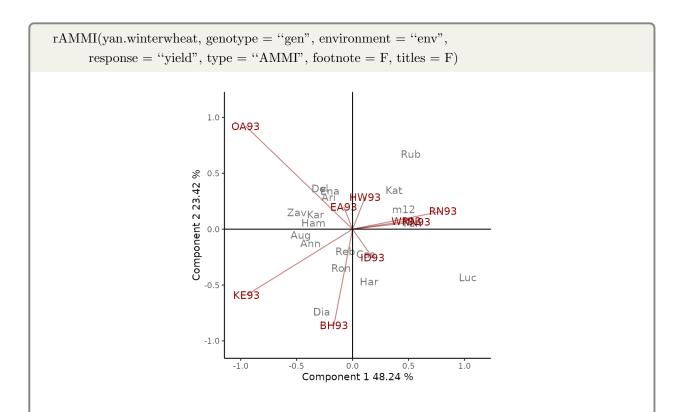


Figura 4.1: Biplot GE obtenido del modelo AMMI clásico basado en los datos de rendimiento de trigo de invierno obtenidos en Ontario en 1993. El 71,66 % de la variabilidad de la IGA se explica por los dos primeros términos multiplicativos. Los cultivares se muestran en letras minúsculas y los ambientes en mayúsculas.

Como se mencionó anteriormente, el modelo AMMI, en su forma estándar, asume que no hay valores atípicos en los datos. Por lo tanto, en presencia de *outliers* se debe utilizar alguna de las alternativas robustas propuestas por Rodrigues et al. (2016), las cuales no se encuentran disponibles en R hasta el momento. Sin embargo, dada la importancia práctica de este reciente avance metodológico, se incluyeron en la función rAMMI(). Para obtener los biplots GE derivados de los modelos robustos se debe indicar en el argumento *type* cuál de ellos se desea ajustar: "rAMMI", "hAMMI", "gAMMI", "lAMMI.º "ppAMMI".

Dado que el conjunto de datos de muestra yan.winterwheat no presenta valores atípicos, las conclusiones obtenidas con biplots robustos no difieren de las obtenidas con el biplot clásico (Rodrigues et al., 2016). Por lo tanto, no se presenta ninguna interpretación de los biplots robustos.

#### 4.1.3. Uso del paquete para ajustar el modelo SREG

Con el fin de visualizar conjuntamente el efecto de G e IGA Yan et al. (2000) propuso el biplot GGE mediante el cual se pueden abordar diversos aspectos relacionados con la evaluación de genotipos y ambientes. Para obtener dicho biplot en primer lugar se debe ajustar el modelo SREG mediante GGEmodel() que, del mismo modo que rAMMI(), requiere datos en formato largo. Si bien esta función invoca a GGEModel() del paquete GGEBiplots (Dumble, 2017), al ser utilizada mediante geneticae se permiten repeticiones y variables adicionales en el conjunto de datos. El rasgo fenotípico para cada combinación de genotipo y ambiente debe estar registrado, sino se debe recurrir previamente a alguna técnica de imputación para completar los datos (subsección 4.1.4).

Se presenta a continuación la sentencia utilizada para ajustar el modelo SREG para el conjunto de datos yan.winterwheat.

```
GGE1 <- GGEmodel(yan.winterwheat, genotype = "gen", environment = "env", response = "yield", rep = NULL, centering = "tester", scaling = "none", SVP = "symmetrical")
```

El primer argumento es el nombre del conjunto de datos y en los siguientes se indican los nombres de las columnas que contienen la información de los genotipos, ambientes y del rasgo fenotípico de interés. Por defecto, la función considera que no hay réplicas en el conjunto de datos, sin embargo, si existieran en el parámetro rep se debe indicar el nombre de la columna con dicha información. Otros argumentos son el método de centrado, de partición de los valores singulares (SVP por sus siglas en inglés, Singular Value Partition) y escalado. Por defecto los datos se centran utilizando la opción centering="tester" lo cual resulta en el modelo SREG. La elección del método de SVP no altera las relaciones o interacciones relativas entre los genotipos y los ambientes, aunque la apariencia del biplot será diferente (Yan, 2002). El método de partición de los valores singulares centrado en los genotipos (SVP="row") muestra la interrelación entre genotipos con mayor precisión, el enfocado a los ambientes (SVP="column") es el más informativo de las interrelaciones entre los ambientes, mientras que el simétrico (SVP="symmetrical") permite visualizar la magnitud relativa tanto de la variación de los genotipos como de los ambientes, por lo que se utiliza por defecto. Por último, se indica que los datos no se deben escalar con el parámetro scaling="none".

La salida de GGEModel() es una lista con los siguientes objetos:

• coordgenotype: coordenadas para los genotipos en cada componente.

- coordenviroment: coordenadas para los ambientes en cada componente.
- eigenvalues: vector de autovalores para cada componente.
- vartotal: variancia general.
- varexpl: porcentaje de varianza explicado por cada componente.
- *labelgen*: nombres de los genotipos.
- labelenv: nombres de los ambientes.
- axes: etiquetas de los ejes.
- Data: datos escalados y centrados.
- centering: método de centrado.
- scaling: método de escala.
- SVP: método de partición.

#### Comparaciones simples utilizando GGE biplot

El biplot básico se obtiene con el parámetro type = "Biplot" (Figura 4.2). En este ejemplo, el 78 % de la variabilidad de G e IGA se explica por los dos primeros términos multiplicativos. Los ángulos entre los marcadores de genotipos y entre los vectores ambientales son utilizados para interpretar el gráfico. Así, por ejemplo, Kat tiene un rendimiento por debajo de la media en todos los ambientes debido a su ángulo superior a 90° con todos ellos. Por otro lado, Fun presenta un rendimiento superior a la media en todas las localidades excepto OA93 y KE93, como lo indican los ángulos agudos. La longitud de los vectores ambientales es una medida de la capacidad del ambiente para discriminar entre cultivos.

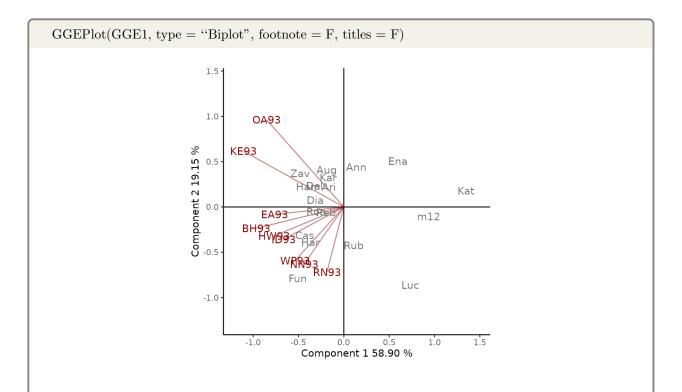


Figura 4.2: Biplot GGE basado en datos de rendimiento de trigo de invierno obtenido de Ontario en 1993. El método de partición de valores singulares utilizado es el simétrico (opción por defecto). El 78 % de la variabilidad de G e IGA se explica por los dos primeros términos multiplicativos. Los cultivares se muestran en minúsculas y los entornos en mayúsculas.

Con frecuencia, los mejoradores necesitan identificar los cultivares más adaptados a un ambiente particular, por ejemplo OA93. Para esto (Yan y Kang, 2003) sugieren construir un eje del ambiente de interés (OA93), trazando una recta que una el identificador del ambiente y el origen de coordenadas, y lo denominan eje OA93. Los genotipos se clasifican en función del rendimiento en dicho ambiente de acuerdo con sus proyecciones, en la dirección indicada por el eje OA93 (Figura 4.3 (A)). Para obtener esta vista del biplot GGE, se indica la opción Selected Environment en el argumento type de la función y el ambiente a evaluar en el argumento selectedE. En este ejemplo, el cultivar de mayor rendimiento fue es Zav seguido por Aug, Ham hasta llegar al genotipo Luc, que es el de menor rendimiento en ese ambiente. El eje perpendicular al del ambiente de interés separa los genotipos con rendimiento mayor al promedio: de Zav a Cas, de aquellos con valores inferior a la media, de Ema a Luc, en OA93.

En forma similar, es posible determinar el ambiente más adecuado para un cultivar graficando una línea que conecte el origen de coordenadas y el marcador del genotipo de interés, por ejemplo Kat, como se muestra en la figura 4.3 (B) (Yan y Kang, 2003). Los ambientes se clasifican a lo largo del eje del genotipo en la dirección indicada por la flecha. Para obtener este gráfico la opción Selected Genotype debe indicarse en el argumento type y el genotipo de interés en selectedG. El eje perpendicular al del genotipo separa los ambientes en los que el cultivar presentó un rendimiento por debajo y por encima del promedio. En este ejemplo, Kat presentó un desempeño por debajo de la media en todos los ambientes estudiados.

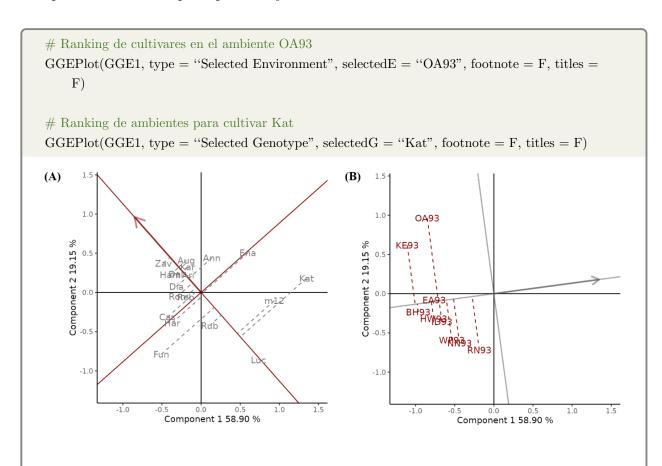


Figura 4.3: Ranking de (A) cultivares en el ambiente OA93 y (B) ambientes para cultivar Kat, basado en datos de rendimiento de trigo de invierno obtenido de Ontario en 1993. El método de partición de valores singulares utilizado es el simétrico (opción por defecto). El 78 % de la variabilidad de G e IGA se explica por los dos primeros términos multiplicativos. Los cultivares se muestran en minúsculas y los entornos en mayúsculas.

También es posible comparar dos cultivares, por ejemplo Kat y Cas, vinculándolos con

una línea y trazando una recta perpendicular a ella (figura 4.4). Este biplot se obtiene con Comparison of Genotype en el argumento type y los genotipos a comparar en selectedG1 y selectedG2. Cas fue más rendidor que Kat en todos los ambientes, ya que todos se ubican en el mismo lado de la línea perpendicular que Cas.

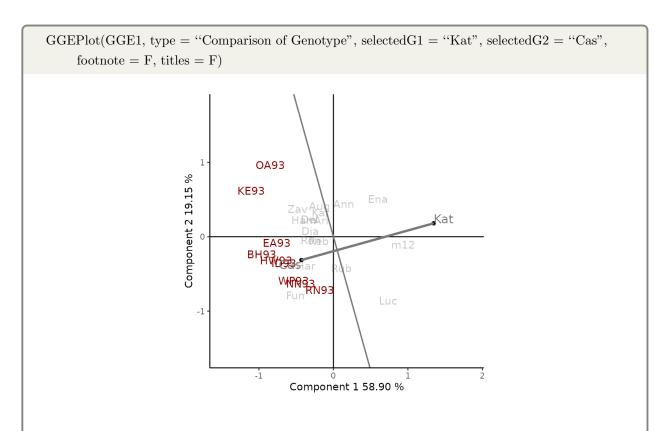


Figura 4.4: comparación de los cultivares Kat y Cas. El método de partición de valores singulares utilizado es el simétrico (opción por defecto). El 78 % de la variabilidad de G e IGA se explica por los dos primeros términos multiplicativos. Los cultivares se muestran en minúsculas y los entornos en mayúsculas.

#### Identificación de mega-ambientes con GGE biplot

La vista poligonal del biplot GGE, obtenida al indicar Which Won Where/What en el argumento type, proporciona un medio eficaz de visualización del patrón "quíen ganó dónde" de un conjunto de datos provenientes de EMA (Figura 4.5). El polígono se obtiene uniendo los cultivares (fun, zav, ena, kat y luc) que se encuentran más alejados del origen de coordenadas, de modo que todos los restantes se encuentren contenidos en el polígono. La distancia de los cultivares respecto del origen de coordenadas, en sus respectivas direcciones,

es una medida de la capacidad de respuesta a los ambientes. Aquellos ubicados en los vértices son los más alejados, por lo tanto son los cultivares que más responden, mientras que los que se encuentran en el origen de coordenadas no responden en absoluto a los ambientes estudiados.

Las rectas perpendiculares a los lados del polígono dividen al biplot en mega-ambientes. El cultivar de mayor rendimiento en todos los ambientes de un mega-ambiente es el que se encuentra en el vértice del polígono. Por un lado, se observa que OA93 y KE93 conforman un mega-ambiente y que Zav es el mejor cultivar. El resto de los ambientes, forman otro mega-ambiente (identificado como ME1) siendo Fun el cultivar que se encuentra en el vértice. En el sector con ena, kat y luc en los vértices del polígono no se observó ningún ambiente, lo cual indica que estos cultivares fueron los menos rendidores en algunos o todos los ambientes considerados.

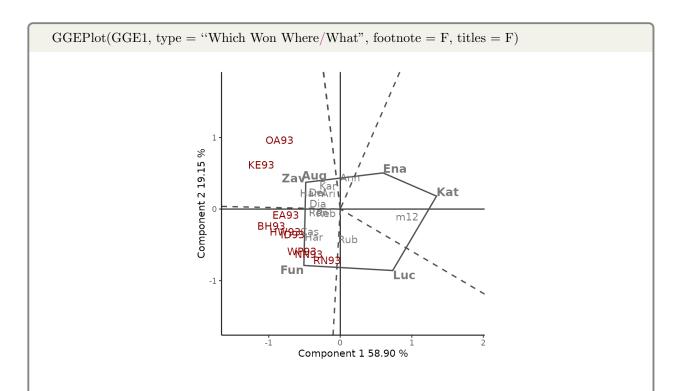


Figura 4.5: Vista poligonal del biplot GGE, que muestra qué cultivares presentaron mayor rendimiento en cada mega-ambiente. El método de partición de valores singulares utilizado es el simétrico (opción por defecto). El 78 % de la variabilidad de G e IGA se explica por los dos primeros términos multiplicativos. Los cultivares se muestran en minúsculas y los entornos en mayúsculas.

#### Evaluación de los cultivares dentro de un mega-ambientes con GGE biplot

Una vez identificado los mega-ambientes, el siguiente paso es seleccionar cultivares dentro de cada uno de ellos. De acuerdo con la figura 4.5, zav es el mejor cultivar para los ambientes en uno de los mega-ambiente y fun para el otro. Sin embargo, los fitomejoradores generalmente no seleccionan un único cultivar en cada mega-ambiente, sino que evalúan a todos con el fin de conocer su desempeño (rendimiento y estabilidad).

El biplot GGE, particularmente utilizando el factor de partición de la descomposición en valores singulares enfocando en los genotipos, es decir utilizando el argumento SVP = "row" en la función GGEmodel(), proporciona un medio superior para visualizar tanto el rendimiento medio como la estabilidad de los genotipos. Esto se debe a que la unidad de ambos ejes para los genotipos es la unidad original de los datos. Además, dado que el interés radica en los genotipos y no en los ambientes, estos son omitidos del gráfico con el argumento sizeEnv = 0.

La visualización del rendimiento medio y la estabilidad de los genotipos se logra dibujando una coordenada ambiental promedio (AEC, por sus siglas en inglés Average environment coordination). Por ejemplo, la Figura 4.6 (A) muestra el AEC para el mega-ambiente ME1 compuesto por los entornos BH93, EA93, HW93, ID93, NN93, RN93 y WP93. La abscisa representa el efecto de G y la ordenada el de la IGA, que es una medida de la variabilidad o inestabilidad asociada con cada genotipo. Los cultivares se clasifican de acuerdo a su rendimiento medio a lo largo de la abscisa del AEC de acuerdo a la dirección de dicho eje, mientras que una proyección sobre la ordenada AEC muy alejada del origen, independientemente de la dirección, significa mayor inestabilidad. El cultivar de mayor rendimiento promedio en este mega-ambiente fue Fun, seguido por Cas y Har, mientras que Kat fue el de peor rendimiento medio. Rub y Dia son más variables y menos estables que otros cultivares, por el contrario, Cas, Zav, Reb, Del, Ari y Kar, fueron más estables.

La Figura 4.6 (B) compara los cultivares con uno considerado "ideal" por ser el más rendidor y con estabilidad absoluta. Este cultivar ideal se usa como referencia, ya que rara vez existe. La distancia entre los cultivares y el ideal se puede utilizar como medida de conveniencia. Los círculos concéntricos ayudan a visualizar estas distancias. En el ejemplo, para el ME1, Fun es el más cercano al cultivo ideal, y por tanto el más deseable, seguido de Cas y Har, y Kat fue el más lejano.

```
ME1 <- yan.winterwheat[yan.winterwheat$env %in % c("BH93", "EA93", "HW93", "ID93", "
    NN93", "RN93", "WP93"), ]
# Modelo SREG enfocando SVD en los genotipos
GGE_Gpartition <- GGEmodel(ME1, genotype = "gen", environment = "env", response = "
    yield", SVP = "row")
# Visualizacion del rendimiento medio y la estabilidad
GGEPlot(GGE_Gpartition, type = "Mean vs. Stability", footnote = F, titles = F, sizeEnv = 0)
# Ranking de los genotipos respecto a uno ideal
GGEPlot(GGE_Gpartition, type = "Ranking Genotypes", footnote = F, titles = F, sizeEnv =
    0)
    (A)
                                                   (B)
                     Rub
      Component 2 12.00 %
                                                     Component 2 12.00
                   Rám
                            Αήn
                     Día
                     Component 1 67.47 %
                                                                    Component 1 67.47 %
```

Figura 4.6: (A) Evaluación de los cultivares con base en el rendimiento promedio y la estabilidad, y (B) clasificación de genotipos con respecto al genotipo ideal, basado en el método de partición de la descomposición en valores singulares enfocado en los genotipos.

#### Evaluación de los ambientes con GGE biplot

A pesar de que el objetivo principal de los EMA es seleccionar cultivares también es posible evaluar los ambientes. Esto incluye varios aspectos: (i) evaluar si la región objetivo pertenece a uno o más mega-ambientes; (ii) identificar mejores entornos de prueba; (iii) detectar ambientes redundantes que no brindan información adicional sobre cultivares; y (iv) determinar los ambientes que se pueden utilizar para la selección indirecta. Para ello,

se enfoca la partición de los valores singulares en los ambientes al ajustar el modelo SREG (SVP = "column") en la función GGEmodel()).

En la figura 4.7 los ambientes están conectados con el origen de coordenadas a través de vectores, permitiendo comprender las interrelaciones entre ellos. Esta visualización del biplot GGE se obtiene indicando Relationship Among Environments (Figura 4.7 (A)) en el parámetro type. El coeficiente de correlación entre dos ambientes es aproximadamente el coseno del ángulo entre sus vectores. En este ejemplo se considera la relación entre los ambientes de ME1. El ángulo entre los vectores para los entornos NN93 y WP93 es de aproximadamente 10° entre sus vectores; por lo tanto, están estrechamente relacionados; mientras que RN93 y OA93 presentan una correlación negativa débil ya que el ángulo es levemente mayor a 90°. El coseno de los ángulos no se traduce precisamente en coeficientes de correlación, ya que el biplot no explica toda la variabilidad en el conjunto de datos. Sin embargo, son lo suficientemente informativos como para comprender la interrelación entre los entornos de prueba.

Si algunos de los ambientes tienen ángulos pequeños entre sí y, por lo tanto, están altamente correlacionados, la información sobre los genotipos obtenidos de estos ambientes debe ser similar. Si esta similitud se repite a través de los años, estos ambientes son redundantes y la evaluación de uno solo debería ser suficiente, permitiendo reducir costos en la experimentación.

La capacidad de discriminación así como la representatividad respecto del ambiente objetivo, son medidas fundamentales para un ambiente. Si no tiene capacidad de discriminación, no proporciona información sobre los cultivares y, por lo tanto, carece de utilidad. A su vez, si no es representativo no sólo que carece de utilidad sino que también puede proporcionar información sesgada sobre los cultivares evaluados. Para visualizar estas medidas, se define una coordenada ambiental promedio (AEC mencionado anteriormente) y el ambiente ideal como el centro de un conjunto de círculos concéntricos (Figura 4.7 (B)). Para obtener este biplot se debe indicar Ranking Environments en el argumento type de GGEPlot(). El ángulo entre el vector de un ambiente y el eje proporciona una medida de la representatividad. Por lo tanto, EA93 e ID93 son los más representativos, mientras que RN93 y BH93 son los menos representativos del ambiente promedio, cuando se analiza ME1. Por otro lado, para ser discriminativo debe estar cercano al ambiente ideal. HW93 es el ambiente más cercano al ideal y, por lo tanto, es el más deseable del ME1, seguido por EA93 e ID93. Por el contrario, RN93 y BH93 fueron los ambientes de prueba menos deseables de ME1.

Figura 4.7: (A) Relación entre ambientes y (B) clasificación de ambientes con respecto al ambiente ideal, basado en el escalado centrado en los genotipos.

### 4.1.4. Uso del paquete para imputar matrices de datos incompletas

Una limitación importante de los modelos presentados anteriormente es que requieren que el conjunto de datos este completo, es decir que todos los genotipos sean evaluados en todos los ambientes. Por lo tanto, en el paquete se incluyen una serie de metodologías de imputación desarrolladas específicamente para datos genotipo-ambiente recientemente publicadas, algunas de las cuales no se encuentran disponible en R, para superar el problema de las observaciones perdidas. Entre los métodos incluidos se encuentran: "EM-AMMI", "EM-SVD", "Gabriel", "WGabiel" y "EM-PCA", los cuales se indican en la opción type de la función imputation(). El formato requerido para el conjunto de datos de entrada es análogo

al indicado en las otras funciones incluidas en el paquete.

Para presentar un ejemplo, se eliminan algunas observaciones del conjunto de datos yan.winterwheat ya que contaba con todos los registros completos:

```
# Generando datos faltantes yan.winterwheat [1,3] <-NA yan.winterwheat [3,3] <-NA yan.winterwheat [2,3] <-NA
```

La imputación de valores perdidos con el método "EM-AMMI" se puede realizar de la siguiente manera:

```
imputation(yanwinterwheat, PC.nb = 2, genotype = "gen", environment = "env", response = "yield", type = "EM-AMMI")
```

El resultado es la matriz con datos imputados en aquellas celdas vacías.

## 4.2. Aplicación web Geneticae

Siguiendo el procedimiento descripto se desarrolló la aplicación web *Geneticae*, con el objetivo de proporcionar una interfaz gráfica de usuario para el paquete, de modo que pueda ser utilizado por fitomejoradores y analistas sin experiencia previa en programación R.

Es un software interactivo, no comercial y de código abierto, que ofrece una alternativa gratuita al software comercial disponible para analizar datos provenientes de ensayos multiambientales. Momentáneamente se encuentra disponible en un servidor gratuito con una cuota mensual de horas de uso, al cual se puede acceder con el enlace https://geneticae.shinyapps.io/geneticae-shiny-web-app/ o desde la página web https://www.cefobi-conicet.gov.ar/bases-de-datos-y-programas/ del Centro de Estudios Fotosintéticos y Bioquímicos del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

A la brevedad la aplicación estará disponible para su uso ilimitado en los servidores del Centro de Cómputos del Centro Científico Teconológico (CCT) de Rosario, miembro del Sistema Nacional de Computación de Alto Desempeño. Como parte de este trabajo se solicitó al Centro de Cómputos la instalación de un *Shiny Server* (software que permite publicar este tipo de aplicaciones), habiendo resultado exitosa la publicación de una primera versión de prueba de *Geneticae*. Actualmente, la versión final se encuentra en la cola de trabajo del

equipo del CCT para su instalación definitiva y consiguiente apertura al público general.

En las subsecciones siguientes se presentará un ejemplo de cómo cargar y analizar datos con la aplicación web *Geneticae*.

# 4.2.1. Lectura de un archivo de datos para el uso de la aplicación web *Geneticae*

La aplicación web *Geneticae* requiere que los datos de entrada se encuentren en archivos de texto plano, con delimitaciones por comas o punto y coma (formato .csv) o tabulaciones (formato .txt). Los nombres de las columnas pueden ubicarse en la primera fila del archivo (heading). Los datos deben estar en formato largo, es decir, cada fila debe corresponder a una observación y cada columna a una variable (genotipo, ambiente, fenotipo observado y, si existe, repetición). Si cada genotipo ha sido evaluado más de una vez en cada ambiente, la media fenotípica requerida por el modelo SREG y AMMI para cada combinación de genotipo y ambiente se calcula internamente antes de ajustar dichos modelos. Las variables adicionales que no se utilizarán en el análisis pueden estar presentes en el conjunto de datos. No se permiten valores perdidos.

Los dos conjuntos de datos plrv y yanwinterwheat descriptos en la subsección 4.1.1 están disponibles en la pestaña  $Data \rightarrow Example\ datasets$  y se pueden descargar en formato .csv (Figura 4.8) para poder seguir el tutorial de uso de la aplicación. El conjunto de datos yanwinterwheat no tiene repeticiones, mientras que plrv sí.

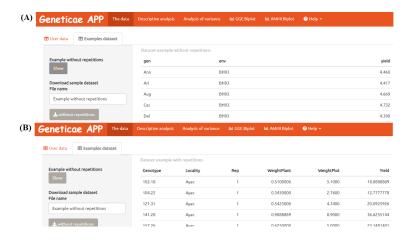


Figura 4.8: Conjuntos de datos (A) plrv y (B) yanwinterwheat disponibles en la aplicación web Geneticae.

En los siguientes ejemplos se trabajará con yanwinterwheat para mostrar el uso de la aplicación. Luego de obtener el archivo de datos con el formato indicado, es posible importarlo en la pestaña  $Data \rightarrow Upload\ data$ . Por ejemplo, para importar yanwinterwheat, se debe cargar el archivo .csv. Una vez cargado, se debe indicar que está delimitado por comas, que en la primera fila contiene los nombres de cada variable (heading) y los nombres de las columnas en las cuales se encuentra la información del genotipo, ambiente y rasgo fenotípico (gen, env y yield en este ejemplo) (Figura 4.9). Si hay repeticiones disponibles, se debe especificar el nombre de la columna con dicha información; de lo contrario, el campo queda vacío.

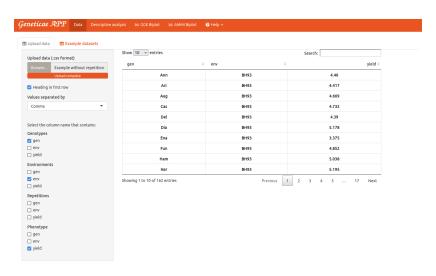


Figura 4.9: Importar el conjunto de datos yanwinterwheat en la aplicación web Geneticae.

### 4.2.2. Uso de la aplicación web *Geneticae* para análisis descriptivo

Cualquier estudio debe comenzar con un análisis descriptivo del conjunto de datos. La pestaña *Descriptive Analysis* proporciona algunas herramientas para esto, como *boxplot*, diagrama y matriz de correlación y gráficos de interacción.

Un boxplot que compara el rasgo cuantitativo entre ambientes o genotipos puede ser de interés (Figura 4.10). Las medidas de resumen utilizadas para su construcción se muestran de forma interactiva moviendo el mouse dentro del panel de la figura. Además, se puede descargar en formato .png o como un archivo interactivo .HTML, haciendo clic en la cámara que

aparece en el gráfico o en el botón Descargar, respectivamente. El usuario puede personalizar algunos aspectos del gráfico, como el color de las cajas y los nombres de los ejes.



Figura 4.10: Diagrama de caja de (A) genotipos y (B) ambientes para el conjunto de datos yanwinterwheat obtenido con la aplicación web Geneticae.

Los coeficientes de correlación de Pearson o Spearman entre genotipos se pueden mostrar con un gráfico o una matriz (Figura 4.11). Gráficamente, las correlaciones positivas se muestran en azul y las negativas en rojo, mientras que la intensidad del color y el tamaño del círculo son proporcionales a la magnitud de los coeficientes de correlación. La gráfica de correlación se puede descargar en formato .png. En el ejemplo, se observan altas correlaciones entre el rendimiento de los genotipos estudiados.

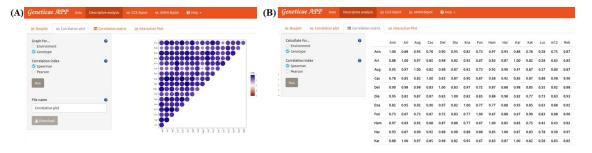


Figura 4.11: (A) Gráfico y (B) matriz de correlación entre genotipos para el conjunto de datos *yanwinterwheat* obtenido con la aplicación web *Geneticae*.

Dado que la IGA genera respuestas genotípicas diferenciales en diferentes ambientes complicando la selección de los mejores cultivares, una gráfico de interacción puede ser de interés (Figura 4.12). El cambio en el efecto genotípico a través de los ambientes se muestra en la figura 4.12 A, mientras que el cambio en el efecto ambiental a través de los genotipos en la figura 4.12 B. Estos también son gráficos interactivos por lo que es posible descargarla en

formatos .HTML o .png con el botón Descargar o haciendo clic en la cámara que aparece en el gráfico, respectivamente. Además, el usuario puede personalizar los nombres de los ejes. En este ejemplo se pueden ver inconsistencias en el desempeño de genotipos en diferentes ambientes.



Figura 4.12: Gráfico de interacción para (A) ambientes a través de genotipos y (B) genotipos a través de los ambientes para conjunto de datos de *yanwinterwheat* obtenido con la aplicación web *Geneticae*.

# 4.2.3. Uso de la aplicación web *Geneticae* para ajustar el modelo SREG

La aplicación web *Geneticae* permite generar las vistas del biplot GGE presentados en la subsección 4.1.3 mediante la pestaña *GGE Biplot*. Del mismo modo que en el paquete *geneticae*, los cultivares se presentan en minúsculas y los ambientes en mayúsculas. Dado que el modelo SREG requiere una única observación para cada combinación de genotipo y ambiente, si hay repeticiones, el valor fenotípico promedio se calcula automáticamente antes de ajustar el modelo. No se permiten valores perdidos.

Se debe seleccionar el método de partición de los valores singulares (SVP type). Como se mencionó anteriormente esta elección no altera las relaciones o interacciones relativas entre genotipos y ambientes, aunque la apariencia del biplot será diferente (Yan, 2002). La opción simétrica permite la comparación tanto de genotipos como de ambientes (opción por defecto); Genotype-Focused muestra la interrelación entre genotipos con mayor precisión que cualquier otro método y Environment-Focused es la que más informa sobre las interrelaciones entre ambientes. Una nota a pie del gráfico indica el método de centrado utilizado (para el biplot GGE siempre es tester-center), el método SVP elegido por el usuario y que no se

aplica ninguna escala a los datos. Además, se puede agregar el porcentaje de variabilidad de G e IGA explicado por las dos PC, mientras que la inclusión de títulos, ejes y etiquetas es opcional. Ciertos atributos estilísticos de dichos gráficos se pueden personalizar como el color y tamaño de los identificadores de los genotipos y de los ambientes. Los gráficos pueden ser descargados.

El biplot básico, la vista del biplot GGE que muestra los cultivares más adecuados para un ambiente particular (OA93), los ambientes más adecuados para un genotipo (Kat), la comparación de dos genotipos (Cas y Kat) y la vista del poligono se pueden obtener como se indica en la figura 4.13, donde el escalado es el simétrico ( $SVP\ type \rightarrow symmetrical$ ) y las opciones de plot type son Biplot, Selected Environment, Selected Genotype, Comparison of Genotype y Which Won Where/What, respectivamente. Al indicar Selected Environment el ambiente de interés se debe especificar, de igual modo cuando se utiliza Selected Genotype y Comparison of Genotype se debe señalar cuál es el genotipo a analizar.

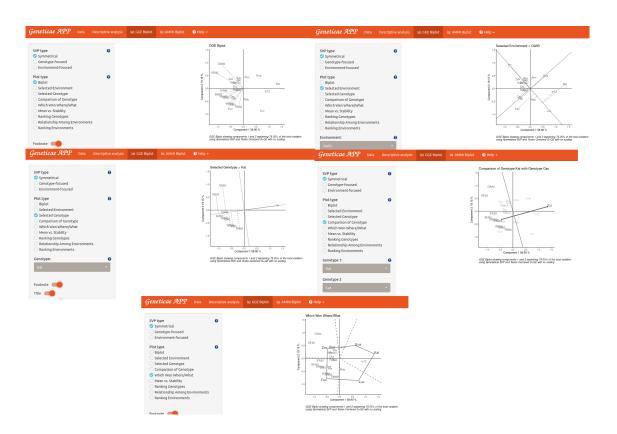


Figura 4.13: Vistas del biplot GGE usando la partición en valores singulares simétrica obtenidos con la aplicación web *Geneticae*.

La selección de cultivares dentro de cada mega-ambiente se realiza con la partición de valores singulares enfocada en los genotypos (SVP  $type \rightarrow genotype-focused$ ), y los tipos de gráficos que se pueden realizar son:  $Mean\ vs.$  Stability que permite la visualización de la media y estabilidad de genotipos y  $Ranking\ Genotypes$  que compara las cultivares con el "ideal" (Figura 4.14). Dado que estos análisis son propios de cada mega-ambiente, al indicar alguno de estas vistas del biplot GGE se tendrá que señalar cuales son los ambientes que forman el mega-ambiente de interés.

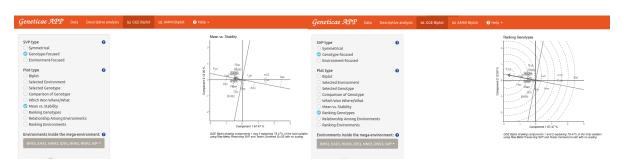


Figura 4.14: Vistas del biplot GGE usando la partición de valores singulares enfocada en los genotipos obtenidos con la aplicación web *Geneticae*.

Por último, para el análisis de los ambientes de cada mega-ambiente se utiliza el método de partición de valores singulares centrado en los ambientes ( $SVP\ type \rightarrow environment\text{-}focused$ ). El tipo de gráfico  $Relationship\ Among\ Environments$  permite comprender la interrelación entre los ambientes, mientras que  $Ranking\ Environments$  se utiliza para visualizar la capacidad de discriminación y representatividad (Figura 4.15). Como en el caso anterior, al indicar alguna de estas vistas del biplot GGE se tendrá que señalar cuales son los ambientes que forman el mega-ambiente de interés.

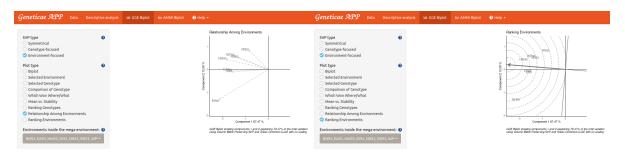


Figura 4.15: Vistas del biplot GGE usando la partición de valores singulares enfocada en los ambientes obtenidas con la aplicación web *Geneticae*.

# 4.2.4. Uso de la aplicación web Geneticae para ajustar el modelo AMMI

La pestaña AMMI Biplot crea el biplot GE. Dado que las alternativas clásica y robustas requieren una única observación para cada combinación de genotipo y ambiente, si hay repeticiones, el valor promedio fenotípico se calcula automáticamente antes de ajustar el modelo. No se permiten valores perdidos. Como con las figuras anteriores, se ofrecen opciones de configuración y de descarga.

Por ejemplo, para obtener el biplot GE derivado del modelo AMMI clásico se debe indicar AMMI en *plot type* (Figura 4.16). En caso de contar con *outliers*, alguna de las alternativas robustas (rAMMI, hAMMI, gAMMI, lAMMI o ppAMMI).

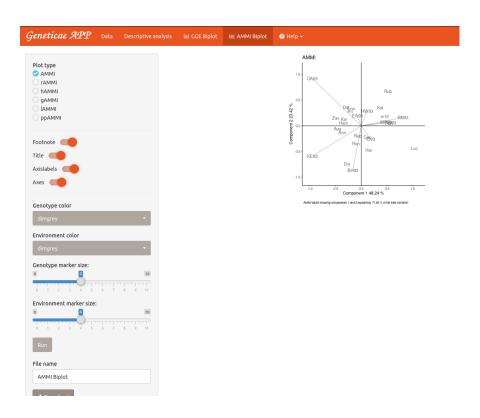


Figura 4.16: Biplot GE derivado del modelo AMMI clásico basado en datos de rendimiento de trigo de invierno obtenido de Ontario en 1993 obtenido con la aplicación web *Geneticae*.

## **4.2.5.** Ayuda

En la pestaña Help se presenta información general, un tutorial y un video sobre cómo utilizar la aplicación web Geneticae.

# Capítulo 5

## Conclusión

Como resultados del presente trabajo fue posible:

Mostrar un flujo de trabajo reproducible para la construcción de paquetes de R. El mismo se puede utilizar de ejemplo para el desarrollo de nuevos paquetes o imitar la construcción del paquete geneticae objeto de este trabajo.

Construir un paquete de R llamado *geneticae* para el análisis de datos provenientes de EMA. A pesar de que aún no se haya hecho difusión del paquete, en el momento de la escritura de este informe, pasaron 3 semanas desde su publicación en el repositorio CRAN y cuenta con más de 400 descargas. La gran utilidad del mismo se debe a que:

- incluye metodología recientemente publicada para ajustar el modelo AMMI en presencia de *outliers* y para el tratamiento de información faltante que no se encuentra disponible en R así como tampoco en softwares comerciales,
- ofrece mayor flexibilidad en el manejo de la estructura de los conjuntos de datos que en las herramientas disponibles hasta este momento,
- brinda la posibilidad de generar representaciones gráficas de los biplots de buena calidad y configurables,
- está acompañado por un manual de ayuda completo y por un tutorial (viñeta) para su uso.

Desarrollar una aplicación web Shiny denominada *Geneticae*, la cual es de suma importancia para aquellos analistas no familiarizados con la programación. Esta es de libre acceso mediante conexión a internet que permite realizar los principales análisis implemen-

tados en el paquete sin necesidad de escribir líneas de código.

Implementar una metodología de desarrollo de software colaborativa y basada en el sistema de control de versiones Git y los servicios web de GitHub, adhiriendo a los principios de la investigación reproducible y de libre acceso.

Como línea futura de trabajo se plantea continuar con la inclusión de los avances metodológicos que se vayan publicando en el contexto de datos provenientes de EMA tanto en el paquete como en la aplicación web Shiny.

# Bibliografía

- Aguate, F., Crossa, J., y Balzarini, M. Effect of missing values on variance component estimates in multienvironment trials. *Crop Science*, 59:508–517, 2019.
- Arciniegas-Alarcón, S., García-Peña, M., Dias, C., y Krzanowski, W. An alternativemethodology for imputing missing data in trials with genotype-by-environment interaction. *Biometrical Letters*, 47:1–47, 2010.
- Arciniegas-Alarcón, S., García-Peña, M., Krzanowski, W., y Dias, C. An alternative methodology for imputing missing data in trials with genotype-byenvironment interaction: some new aspects. *Biometrical Letters*, 51:75–88, 2014.
- Arciniegas-Alarcón, S., García-Peña, M., y Rodrigues, P. C. New multiple imputation methods for genotype-by-environment data that combine singular value decomposition and jackknife resampling or weighting schemes. *Computers and Electronics in Agriculture*, 176:105617, 2020.
- Chang, W. shinythemes: Themes for Shiny, 2018. URL https://CRAN.R-project.org/package=shinythemes. R package version 1.1.2.
- Chang, W., Cheng, J., Allaire, J., Xie, J., y McPherson, J. shiny: Web Application Framework for R, 2020. URL https://CRAN.R-project.org/package=shiny. R package version 1.5.0.
- Cooper, R., M.and Stucker, DeLacy, I., y Harch, B. Wheat breeding nurseries, target environments, and indirect selection for grain yield. *Crop Science*, 37:1168–1176, 1997.
- Cornelius, P., Crossa, J., y Seyedsadr, M. *Genotype by Environment Interaction*, cap. Statistical test and estimators of multiplicative models for genotype-by-environment interaccition., págs. 199–234. CRC Press, Boca Raton, 1996.

- Crossa, J. y Cornelius, P. L. Sites regresion and shifted multiplicative model clustering of cultivar trial sites under heterogeneity of error variances. *Crop Science*, 37:406–415, 1997.
- Crossa, J., Gauch, H., y Zobel, R. Additive main effects and multiplicative interaction analysis of two international maize cultivar trials. *Crop Science*, 30:493–500, 1990.
- Cruz Medina, R. Some exact conditional tests for the multiplicative models to explain genotype-environment interaction. *Heredity*, 69:128–132, 1992.
- de Mendiburu, F. agricolae: Statistical Procedures for Agricultural Research, 2020. URL https://CRAN.R-project.org/package=agricolae. R package version 1.3-3.
- de Oliveira, L. A., da Silva, C. P., Nuvunga, J. J., da Silva, A. Q., y Balestre, M. Bayesian gge biplot models applied to maize multi-environments trials. *Genetics and Molecular Research*, 15, 2016.
- Dumble, S. GGEBiplots: GGE Biplots with 'ggplot2', 2017. URL https://CRAN.R-project.org/package=GGEBiplots. R package version 0.1.1.
- Ganz, C., Csárdi, G., Hester, J., Lewis, M., y Tatman, R. available: Check if the Title of a Package is Available, Appropriate and Interesting, 2019. URL https://CRAN.R-project.org/package=available. R package version 1.0.4.
- Gauch, H. G. Model selection and validation for yield trials. *Theoretical and Applied Genetics*, 80:153–160, 1988.
- Gauch, H. G. Statistical analysis of regional yield trials: AMMI analysis of factorial designs. Elsevier, 1992.
- Gauch, H. y Zobel, R. Imputing missing yield trial data. *Theoretical and Applied Genetics*, 79:753–761, 1990.
- Gauch, H. y Zobel, R. Identifying mega-environments and targeting genotypes. *Crop Science*, 37:311–326, 1997.
- Hadasch, S., Forkman, J., Malik, W., y Piepho, H. Weighted estimation of ammi and gge models. *Journal of Agricultural, Biological and Environmental Statistics*, 23:255–275, 2018.
- Hester, J. covr: Test Coverage for Packages, 2020. URL https://CRAN.R-project.org/package=covr. R package version 3.5.0.

- Hill, J. R. y Rosenberg, J. Models for combining data from germplasm evaluation trials. *Crop Science*, 25:467–470, 1985.
- Huber, P. J. Robust Statistics. John Wiley and Sons, 1981.
- Jarquín, D., Pérez-Elizalde, S., Burgueño, J., y Crossa, J. A hierarchical bayesian estimation model for multi-environment plant breeding trials in successive years. *Crop Science*, 56:2260–2276, 2016.
- Josse, J. y Husson, F. missMDA: A package for handling missing values in multivariate data analysis. *Journal of Statistical Software*, 70:1–31, 2016.
- Kang, M. y Magari, R. *Genotype by Environment Interaction*, cap. New Developments in Selecting for Phenotypic Stability in Crop Breeding., págs. 201–213. Elsevier, New York, 1996.
- Mason-Thom, C. shinyhelper: Easily Add Markdown Help Files to 'shinyApp Elements, 2019. URL https://CRAN.R-project.org/package=shinyhelper. R package version 0.3.2.
- Perrier, V., Meyer, F., y Granjon, D. shiny Widgets: Custom Inputs Widgets for Shiny, 2020. URL https://CRAN.R-project.org/package=shinyWidgets. R package version 0.5.3.
- Peto, R. c. *Treatment of cancer*, cap. Statistical aspects of cancer trials, págs. 867–871. Chapman and hall, London, 1982.
- Rodrigues, P., Monteiro, A., y Lourenço, V. A robust ammi model for the analysis of genotype-by-environment data. *Bioinformatics*, 32:58–66, 2016.
- Troyanskaya, O., Cantor, M., Sherlock, G., Brown, P., Hastie, T., Tibshirani, R., Botstein, D., y Altman, R. Missing value estimation methods for dna microarrays. *Bioinformatics*, 17:520–525, 2001.
- Wickham, H. testthat: Get started with testing. The R Journal, 3:5–10, 2011.
- Wickham, H. y Bryan, J. usethis: Automate Package and Project Setup, 2021. URL https://CRAN.R-project.org/package=usethis. R package version 2.0.1.
- Wickham, H., Danenberg, P., Csárdi, G., y Eugster, M. roxygen2: In-Line Documentation for R, 2020. URL https://CRAN.R-project.org/package=roxygen2. R package version 7.1.1.

- Wickham, H. y Hesselberth, J. pkgdown: Make Static HTML Documentation for a Package, 2020. URL https://CRAN.R-project.org/package=pkgdown. R package version 1.6.1.
- Wickham, H., Hester, J., y Chang, W. devtools: Tools to Make Developing R Packages Easier, 2021. URL https://CRAN.R-project.org/package=devtools. R package version 2.4.2.
- Woyann, L. G., Benin, G., Storck, L., Trevizan, D. M., Meneguzzi, C., Marchioro, V. S., Tonnatto, M., y Madureira, A. Estimation of missing values affects important aspects of gge biplot analysis. *Crop Science*, 57:40–52, 2017.
- Wright, K. agridat: Agricultural Datasets, 2020. URL https://CRAN.R-project.org/package=agridat. R package version 1.17.
- Yan, W. Singular-value partitioning in biplot analysis of multienvironment trial data. *Agronomy Journal*, 94:990–996, 2002.
- Yan, W., Cornelius, P., Crossa, J., y Hunt, L. Two types of gge biplots for analyzing multi-environment trial data. *Crop Science*, 41:656–663, 2001.
- Yan, W. y Hunt, L. A. Genetic and environment causes of genotype by environment interaction for winter wheat yield in ontario. *Crop Science*, 41:19–25, 2001.
- Yan, W., Hunt, L. A., Sheng, Q., y Szlavnics, Z. Cultivar evaluation and mega-environment investigation based on the GGE biplot. *Crop Science*, 40:597–605, 2000.
- Yan, W. y Kang, M. GGE Biplot Analysis: A Graphical Tool for Breeders, Geneticists. CRC Press, 2003.
- Yan, W. y Rajcan, I. Biplot evaluation of test sites and traitrelations of soybean in ontario. Crop Science, 42:11–20, 2002.
- Zobel, R., Wright, M., y Gauch, H. Statistical analysis of a yield trial. *Agronomy Journal*, 80:88–393, 1988.