

# FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO

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

#### JULIA ANGELINI

# TRABAJO FINAL PARA OPTAR AL TITULO DE ESPECIALISTA EN BIOINFORMÁTICA

DIRECTOR: Gerardo Cervigni CO-DIRECTOR: Marcos Prunello

AÑO: 2020

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

т 1.	A 1
Julia	Angelini

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 2020, 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 confiar en mí y permitirme explorar el mundo de la Bioinformática durante mi tesis doctoral, para que hoy sea parte de mis conocimientos. Al Mgs. Marcos Prunello por acompañarme en el desarrollo del trabajo final, por su dedicación y sus consejos.

Todo esto nunca hubiera sido posible sin el apoyo y el cariño de mis padres, de mi hermano, de Otto, de Segundo y Kalita. Siempre estuvieron a mi lado, las palabras nunca serán suficientes para agradecerles.

A mis compañeras Jor y Lu, por su ayuda y por compartir excelentes momentos.

A Gaby y Euge mis compañeras de CEFOBI, gracias a ustedes este camino ha sido más fácil!

A mis amigos, por estar siempre presentes.

Muchas gracias a todos!

# Abreviaturas y Símbolos

EMA: ensayos multiambientales.

IGA: interacción genotipo ambiente.

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

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

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

AMMI: modelo de los efectos principales aditivos y interacción multiplicativa, del inglés Additive Main effects and Multiplicative Interaction

ACP: análisis de componentes principales

SREG: modelo de regresión por sitio, del inlés Site Regression model

DVS: descomposición de valores singulares

GNU: General Public Licence

CRAN: Comprehensive R Archve Network

EM: maximización de la esperanza, del inglés Expectation-Maximization

## Resumen

Las variedades mejoradas son el resultado del trabajo de desarrollo genético llevado a cabo en los programas de fi

tomejoramiento, 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 ecoómicas por malas campañas y el suministro al mercado sea constante. Consecuentemente, un análisis adecuado de la información de los EMA es indispensable para que el programa de mejoramiento de los cultivos sea efie

caz. Los programas informáticos se han convertido, hoy en día, en una herramienta esencial par el análisis de datos. Actualmente, R es uno de los programas más utilizados debido a su potencia y a su distribución como software libre. Actualmente existen numerosos paquetes de R lo cual provoca que no sea sencillo encontrar un paquete que sea útil para un determinado

propósito sino que se debe recurrir a varios de ellos. Frecuentemente, los mejoradores no tienen un manejo fluido de paquetes estadísticos que permitan entender la dinámica del problema. En este sentido el paquete Shiny que permite crear una interfaz gráfica entre R y el usuario, permitiendo acercar la potencia de R a todo tipo de usuarios. En el presente trabajo se desarrolló un paquete de R que permita analizar los datos provenientes de EMA para aquellos usuarios que tengan manejo del lenguaje de programación y una interfaz en Shiny que permita realizar los principales análisis del paquete sin necesidad de programar.

#### Palabras Clave:

# Abstract

Keywords:

# Índice general

Ca	Capítulos		Página		
1.	Intr	roducci	ión		1
2.	Obj	etivos			6
	2.1.	Objeti	ivo general		6
	2.2.	Objeti	ivos específicos		6
3.	Mét	Métodos			
	3.1.	Métod	los estadísticos		7
		3.1.1.	Modelo AMMI y SREG		7
		3.1.2.	Modelo AMMI robusto		8
		3.1.3.	Métodos de imputación		9
	3.2.	Paque	te de R $\ldots$		9
		3.2.1.	Creación de la estructura		10
		3.2.2.	Inclusión de funciones e inclusión de conjuntos de datos		11
		3.2.3.	Documentación		12
		3.2.4.	Pruebas del flujo de trabajo		13
		3.2.5.	Compilación e instalación		14
		3.2.6.	Publicación		15
	3.3.	Shiny	APP		15
		3.3.1.	Flujo de trabajo		16
		3.3.2.	Compartiendo una Shiny Web App		19
4.	Res	ultado	·S		20

	4.1.	a.1. Paquete de R geneticae		
		4.1.1.	Conjuntos de datos en geneticae	20
		4.1.2.	Aplicación de las funciones incluidas en el paquete	21
	4.2.	Geneti	icae Shiny Web App	33
		4.2.1.	Análisis de un caso	35
5.	Con	clusio	nes	46
Bi	Bibliografía		48	

# Índice de figuras

1.1.	Representación grafica de tipos de IGA: (A)IGA no crossover, (B) IGA crossover y (C) no IGA	2
3.1.	Esquema interno de la aplicación	16
4.1.	Biplot básico obtenido de la función GGEPlot()	23
4.2.	Ranking de cultivares para un ambiente determinado obtenido de la función $\operatorname{GGEPlot}()$	24
4.3.	Ranking de ambientes para cultivar determinado obtenido de la función GGEPlot()	25
4.4.	Comparación entre dos genotipos obtenido de la función GGEPlot()	26
4.5.	Identificación del mejor cultivar en cada ambiente a partir de la función GGEPlot()	27
4.6.	Evaluación de los cultivares con base en el rendimiento promedio y la estabilidad a partir de la función GGEPlot()	28
4.7.	Clasificación de genotipos con respecto al genotipo ideal a partir de la función GGEPlot()	29
4.8.	Relación entre ambientes obtenido de la función GGEPlot()	30
4.9.	Clasificación de ambientes con respecto al ambiente ideal a partir de la	
	función GGEPlot()	31
4.10.	Biplot GE obtenido del modelo clasico AMMI	32
4.11.	yanwinterwheat dataset disponible en Shiny Web App	34
4.12.	plrv dataset disponible en Shiny Web App	35
4.13.	Importar conjunto de datos	36
4.14.	Boxplot de ambientes a través de los genotipos para el conjunto de datos Plrv	37

4.15.	Boxplot de genotipos a través de los ambientes para el conjunto de datos	
	Plrv	38
4.16.	Boxplot de genotipos a través de los ambientes para el conjunto de datos	
	Plrv	38
4.17.	Boxplot de genotipos a través de los ambientes para el conjunto de datos	
	Plrv	39
	Boxplot de genotipos a través de los ambientes para el conjunto de datos	
	Plrv	40
	Boxplot de genotipos a través de los ambientes para el conjunto de datos	
	Plrv	41
	Boxplot de genotipos a través de los ambientes para el conjunto de datos	
	Plrv	42
	Boxplot de genotipos a través de los ambientes para el conjunto de datos	4.0
	Plrv	43
	Boxplot de genotipos a través de los ambientes para el conjunto de datos	
	Plrv	
4.23.	AMMI	44

# Índice de tablas

# Lista de tareas pendientes

# 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.

El fitomejoramiento, en un sentido amplio, busca alterar la frecuencia alélica de los genes para obtener cultivares genéticamente superiores, adaptados a condiciones específicas, con mayor rendimiento y mejor calidad que las variedades nativas o criollas (Allard, 1967). En otras palabras, su objetivo es desarrollar genotipos cuya superioridad genética esté de acuerdo con las condiciones agroclimáticas donde se producen, necesidades y recursos de todos aquellos que producen, transforman y consumen productos vegetales.

Las variedades mejoradas son el resultado del trabajo llevado a cabo en los programas de fitomejoramiento, los cuales se extienden por largo de varios años y requieren cuantiosas inversiones. Generalmente, en etapas tempranas de estos programas existe un gran número de genotipos experimentales con pocos antecedentes de evaluación; mientras que en etapas posteriores se evalúan pocos genotipos que con más repeticiones y en más ambientes/años. Estos ensayos multiambientales (EMA) son herramientas fundamentales para evaluar la productividad para así asegurar la rentabilidad de los cultivos.

Como consecuencia de que los EMA se llevan a cabo en múltiples ambientes/años, la aparición de la interacción genotipo × ambiente (IGA) es inevitable debido a las variaciones en las condiciones climáticas y de suelo. La IGA es considerada por los fitomejoradores como el principal factor factor limitante de respuesta a la selección y, en general, de la eficiencia de los programas de mejoramiento, por provocar respuestas altamente variables en los diferentes ambientes (Crossa et al., 1990; Cruz Medina, 1992); Kang y Magari, 1996). Gauch y Zobel (1997) explicaron la importancia de IGA como: si no hubiera interacción, una sola variedad híbridos 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, conocida también como interacción sin cambio de rango o no crossover (NCOI), de las interacciones cualitativas, denominada también con cambio de rango o crossover (COI) (Cornelius et al., 1996). Cuando dos genotipos X e Y tienen una respuesta diferencial en dos ambientes diferentes, y su ordenación permanece sin cambios, se dice que la IGA es del tipo NCOI (Figura 1.1(A)) es COI cuando hay cambios en el orden de los genotipos (Figura 1.1(B)), y. finalmente, es inexistente cuando los genotipos responden de manera similar en ambos ambientes (Figura 1.1(C)).

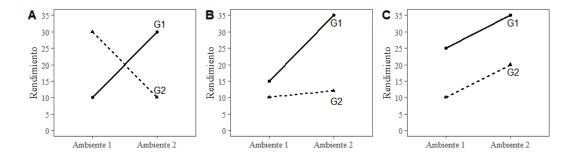


Figura 1.1: Representación gráfica de tipos de IGA: (A)IGA no crossover, (B) IGA crossover y (C) no IGA

Entre las implicancias negativas de la IGA en los programas de mejoramiento se encuentra el impacto negativo sobre la heredabilidad, cuanto menor sea la heredabilidad de un caracter, mayor será la dificultad para mejorarlo. Como consecuencia, la información sobre la estructura y la naturaleza de la IGA es particularmente útil para determinar si se deben desarrollar cultivares con adaptación amplia o específica (Bridges, 1989). La decisión sobre qué tipo de estrategia seguir, involucra considerar y analizar conceptos como regiones ecológicas, ecotipos y mega-ambientes (Kang et al., 2004).

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 que el programa de mejoramiento genético de los cultivos sea eficaz. El rendimiento medio en los ambientes es un indicador suficiente del rendimiento genotípico solo 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. La metodología estadística más difundida para analizar los datos provenientes de EMA se basa en modificaciones de los modelos de regresión, análisis de variancia (ANOVA) 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, especialmente como una herramienta de análisis gráfico: el modelo de los efectos principales aditivos e interacción multiplicativa (Additive Main effects and Multiplicative Interaction, AMMI) (Kempton, 1984; Gauch, 1988), y el de regresión por sitio (Site Regression model, SREG) (Cornelius et al., 1996; (Gauch y Zobel, 1997). Estos modelos combinan un ANOVA con la descomposición de valores singulares (DVS) o un análisis de componentes principales (ACP) sobre la matriz residual de ANOVA. En SREG, el ANOVA se realiza sobre el eefecto principal o ambiental (A), mientras que en AMMI el ANOVA se realiza sobre los efectos principales de genotipos (G) y A. Si bien a través del modelo AMMI se obtiene el gráfico biplot Genotipo × Ambiente (GA), el cual es usado para explorar patrones puramente atribuibles a los efectos la IGA, para el modelo SREG el biplot GGE es usado para explorar simultáneamente patrones de variación conjunta de G e IGA (Yan y Hunt (2002)).

Una limitación importante de la mayoría de las propuestas del análisis de EMA es que requieren que el conjunto de datos esté completo. Aunque los EMA están diseñados para que la totalidad de los genotipos se evalúen en todos los ambientes, las tablas de datos genotipo × ambiente completas son poco frecuentes (no todos los genotipos se encuentran en todos los ambientes). Esto ocurre, por ejemplo, debido a errores de medición o pérdidas de plantas por presencia de animales, inundaciones o problemas durante la cosecha, además de la dinámica propia de la evaluaciones en las que se incorporan y se descartan genotipos debido a su pobre desempeño (Hill y Rosemberg, 1985). En estos casos, entre las posibles soluciones para tratar con una tabla de datos incompleta se encuentran: (i) el uso de un subconjunto completo de datos, eliminando aquellos genotipos que tienen valores faltantes (Ceccarelli et al., 2007, Yan et al., 2011), (ii) completar datos faltantes con la media ambiental, o (iii) imputar los datos faltantes con valores estimados utilizando modelos multiplicativos (Kumar et al., 2012).

En este contexto, el análisis de datos provenientes de EMA requiere metodología estadística más sofisticada cuyas rutinas informáticas se encuentran disponibles en programas desarrollados por diferentes empresas. Esto 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 ofrecen los resultados obtenidos. Además, algunos procedimientos, especialmente aquellas metodologías recientes, no se encuentran disponibles, y los costos de las licencias de dichos programas resultan muy elevados.

Desarrollado por *The R Foundation for Statistical Computing* el programa R se trata de un proyecto colaborativo de uso libre y distribuido bajo los términos de la *General* 

Public Licence (GNU). R, surge como resultado de la implementación del lenguaje S uno de los más utilizados en investigación por la comunidad estadística. A diferencia de los programas estadísticos utilizados frecuentemente, R es un lenguaje de programación y no dispone de una interfaz gráfica que facilite el análisis usando menús, generando, su utilización, cierta dificultad para aquéllos que no se encuentran familiarizados con el lenguaje. Sin embargo, por ser un software libre, permite a los usuarios definir sus propias funciones dando lugar a mayores posibilidades respecto del manejo y análisis de los datos disponibles. Si bien la versión básica del programa dista mucho de ser amigable, RStudio, un entorno de desarrollo integrado (IDE) gratuito y de código abierto para R, permite una interacción más fluida con el programa, actuando como una interfaz amigable con el usuario. Al formar parte de un proyecto colaborativo, R promueve el hecho de que los usuarios compartan con la comunidad las funciones creadas por ellos, es decir que está en continuo desarrollo y actualización. A menudo, no resulta sencillo reutilizar una función creada por algún usuario, por ello, se ha introducido la posibilidad de crear paquetes (package) o librerías. Éstas son una colección de objetos desarrollados y organizados siguiendo un protocolo fijo, lo cual garantiza un soporte mínimo para el usuario así como la ausencia de errores (de sintaxis) en la programación.

Actualmente, R cuenta con 14 paquetes básicos y 29 recomendados para su funcionamiento que se instalan automaticamente en él, tal como base o stats. Entre los paquetes que extienden las funciones básicas de R se encuentran, plyr, lubridate, reshape2 y stringr para la manipulación de los datos; ggplot2 y rgl para la visualización; knitr y xtable para la presentación de resultados; entre otros. La lista completa de los paquetes oficiales puede consultarse en CRAN¹, que contaba con más de 14.000 paquetes disponibles hasta junio de 2019. Esta gran variedad de paquetes es una de las razones de la gran difusión de R, ya que cada usuario puede tratar su problematica utilizando un paquete desarrollado por otro usuario. Además de los paquetes oficiales, existen otros que pueden instalarse desde repositorios como Github. Sin embargo, no es sencillo encontrar un paquete con todas las rutinas necesarias para el análisis, sino que debe recurrirse a varios de ellos.

Con frecuencia, los mejoradores usan programas con interfaz gráfica para realizar el análisis estadístico, sin necesidad del manejo de un lenguaje de programación. Hoy en dia las aplicaciones web son muy populares debido a la facilidad de su uso, ya que no requiere de una instalación en el ordenador del usuario, simplemente se accede a través de un navegador. Por lo que es posible utilizar una aplicación web desde desde cualquier dispositivo con conexión a internet, ya sea un ordenador, un smartphone o una tablet, es

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>CRAN (Comprehensive R Archve Network) es el repositorio oficial de paquetes de R, el lugar donde se publican las nuevas versiones del programa, etc. Contiene la lista completa de paquetes oficiales. https://cran.r-project.org/web/packages/available\_packages\_by\_name.html

decir que es independiente del sistema operativo del usuario. Otra gran ventaja es el bajo consumo de recursos, ya que la mayor parte del tiempo estos se consumen en el servidor donde se encuentra alojada la aplicación, que generalmente tiene mucha más potencia de cómputo que cualquier ordenador personal.

Crear aplicaciones web puede resultar difícil para la mayoría de los usuarios de R debido a que se necesita un conocimiento profundo de las tecnologías web como HTML, CSS y JavaScript; y además hacer aplicaciones interactivas complejas requiere un análisis cuidadoso de los flujos de interacción para asegurarse de que cuando una entrada cambie, solo se actualicen las salidas relacionadas. En el año 2012 se creó el paquete *Shiny* de R que facilita el desarrollo de aplicaciones Web utilizando R, acercando la potencia de R a todo tipo de usuarios, sin tener que programar. Este paquete hace que sea mucho más fácil para el programador R crear aplicaciones web al proporcionar un conjunto de funciones de interfaz de usuario (UI para abreviar) que generan el HTML, CSS y JavaScript que necesita para tareas comunes. Esto significa que no se necesita conocer los detalles de HTML / CSS / JS.

El objetivo del presente trabajo es: (i) desarrollar un paquete de R para el análisis de datos provenientes de EMA que incluya metodologías existentes, modificadas para favorecer su uso, y otras recientemente publicadas y no disponibles en R y (ii) desarrollar una aplicación web Shiny que sirva como interfaz gráfica para el paquete sea más ágil de usar para aquellos que no tienen conocimientos del lenguaje de programación.

# Capítulo 2

# **Objetivos**

## 2.1. Objetivo general

Desarrollar un paquete de R para el análisis de datos provenientes de EMA y una interfaza gráfica 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 de R 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 para el paquete.
- Publicar el paquete y la aplicación para su libre uso.

# Capítulo 3

# Métodos

## 3.1. Métodos estadísticos

### 3.1.1. Modelo AMMI y SREG

El modelo AMMI propuesto por Zobel et al. (1988) es un modelo multiplicativo en el cual se expresa el fenotipo de un genotipo en un ambiente de la siguiente forma:

$$y_{ij} = \mu + G_i + A_j + \sum_{k=1}^{q} \lambda_k \alpha_{ik} \gamma_{jk}$$
  $i = 1, ..., g; \ j = 1, ..., a; \ q = min(g - 1, a - 1)$  donde

- $y_{ij}$  es el caracter fenotípico evaluado (rendimiento o cualquier otro caracter de interes) del *i*-ésimo genotipo en el *j*-ésimo ambiente,
- $\bullet$   $\mu$  es la media general,
- $G_i$  es el efecto del *i*-ésimo genotipo,
- $A_j$  es el efecto del j-ésimo ambiente
- $\sum_{k=1}^{q} \lambda_k \alpha_{ik} \gamma_{jk}$  es la sumatoria de componentes multiplicativas utilizadas para modelar la IGA. Siendo,  $\lambda_k$  el valor singular para la k-ésima componente principal (PC)  $\alpha_{ik}$  y  $\gamma_{jk}$  son los scores de las PC para el i-ésimo genotipo y el j-ésimo ambiente para la k-ésima componente, respectivamente.

En cambio, el modelo SREG (Cornelius et al., 1996; Crossa y Cornelius, 1997 y 2002) expresa el fenotipo de un genotipo en un ambiente en función del efecto ambiente aditivo y los efectos genotipo e interacción agrupados y en forma multiplicativa:

$$y_{ij} = \mu + A_j + \sum_{k=1}^{q} \lambda_k \alpha_{ik} \gamma_{jk}$$
  $i = 1, ..., g; \ j = 1, ..., a; \ q = min(g - 1, a)$ 

Los parámetros multiplicativos, tanto en el modelo AMMI como en el SREG, se estiman por medio de la Descomposición en Valores Singulares (DVS) de la matriz que

contiene los residuos del modelo aditivo luego de ajustar por mínimos cuadrados el modelo de efectos principales. Generalmente los dos primeros términos multiplicativos son suficientes para explicar los patrones de la IGA o de G e IGA en forma conjunta; la variabilidad remanente se interpreta como ruido.

Para visualizar el efecto de IGA o conjuntamente el efecto de G y IGA se proponen los gráficos biplots GE y GGE (proveniente de las siglas en inglés G de *Genotipe* y GE de *Genotipe-Environment*) (Yan et al., 2000) respectivamente. El concepto del biplot fue presentado por Gabriel (1971), que consiste en una representación de las filas (individuos) y las columnas (variables) de una matriz de datos en un mismo gráfico. Éstos biplots, son herramientas poderosas definidas para el análisis e interpretación de la estructura de datos provenientes de ensayos multiambientales utilizados en los programas de mejoramiento (Ebdon y Gauch, 2002; Samonte et al., 2004; Yan et al., 2000; Zobel et al., 1988).

El biplot GE ayuda a interpretar la variación producida por los efectos de la IGA. Por otro lado, el biplot GGE permite investigar la diferenciación de mega-ambientes entre los ambientes en estudio, seleccionar cultivares superiores en un mega-ambiente dado y seleccionar los mejores ambientes de evaluación para analizar las causas de la interacción GA. Se define como mega-ambiente a un grupo de ambientes en donde los cultivares de mejor desempeño son los mismos.

Hablar un poco de los metodos deSVD del modelo SREG que da lugar a distintos graficos. y ver si en AMMI tmb es asi

#### 3.1.2. Modelo AMMI robusto

El modelo AMMI, en su forma estándar, asume que no hay valores atípicos en el conjunto de datos. La presencia de observaciones atípicas es más una regla que una excepción cuando se consideran datos agronómicos debido a errores de medición, algunas plagas / enfermedad que puede influir en algunos genotipos resultando por ejemplo en un rendimiento inferior al esperado en un ambiente, o incluso debido a alguna característica inherente de los genotipos que se evalúan.

Rodrigues et al. (2015) proponen una generalización robusta del modelo AMMI, que se puede obtener en dos etapas: primero ajustar la regresión robusta basada en el estimador M-Huber (Huber, 1981) para reemplazar el ANOVA; y luego utilizar un procedimiento DVS / PCA robusto para reemplazar la DVS estándar. En la segunda etapa, 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 en los biplots puede dar como resultado un mala decisión con respecto a qué genotipos seleccionar para un conjunto dado de ambientes (Gauch1997, Yanetal2000). A su vez, la elección de los genotipos incorrectos pueden provocar grandes pérdidas en términos de producción de rendimiento. Los biplots obtenidos de los modelos robustos mantienen las características e interpretación estándar del modelo AMMI clásico (Rodrigues et al. (2015)).

### 3.1.3. Métodos de imputación

Una limitación importante que presentan los modelos multiplicativos descriptos previamente es que requieren que el conjunto de datos este completo, 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 la evaluaciones en las que se incorporan y se descartan genotipos debido a su pobre desempeño (Hill y Rosemberg, 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, del inglés *Expectation-Maximization*) incorporando el modelo AMMI.
- EM-SVD: Perry (2009a) propone un método de imputación que combina el algoritmo EM con DVS.
- EM-PCA:
- Gabriel Eigen: Arciniegas-Alarcón et al. (2010) propuso un método de imputación que combina regresión y aproximación de rango inferior usando DVS.
- WGabriel Eigen:

### 3.2. Paquete de R

En R, la unidad fundamental de código que se puede compartir es el paquete. Éste agrupa códigos, datos, documentación y pruebas, y es fácil de compartir con otros. Para crear uno de ellos, se deben seguir los siguientes pasos:

• Crear la estructura del paquete.

- Incluir funciones y conjuntos de datos.
- Redactar la documentación.
- Pruebar el flujo de trabajo.
- Compilar e instalar.
- Publicar.

Para el desarrollo del paquete se utilizan numerosas funciones incluidas en el paquete devtools (Hadley et al., 2019) ya que facilita el proceso de creación del mismo. Antes de comenzar, se debe tener instalada la última versión de R, luego mediante el siguiente código se instalarán los paquetes que se necesitan:

```
install.packages(c("devtools", "roxygen2", "testthat", "knitr"))
```

Se debe contar ademas con una versión reciente del IDE de RStudio.

#### 3.2.1. Creación de la estructura

Para crear la estructura del paquete se utiliza la función create\_package(). El principal y único argumento requerido por dicha función es el directorio donde el nuevo paquete se alojará. Por lo general, si el directorio se llama "geneticae", entonces el nombre del paquete también será "geneticae":

```
# Cargar la libreria devtools
library(devtools)
# Crear el paquete geneticae
create_package("C:/Users/Julia/Desktop/geneticae")
```

El resultado de ejecutar la función create\_package() es un paquete con los siguientes componentes:

- Un directorio R/.
- DESCRIPTION, un archivo simple cuyo objetivo es almacenar metadatos importantes sobre el paquete, epecifica el título, la versión del mismo, identifica al autor y brinda un mail de contacto, una breve descripción del paquete, la lista de los paquetes que el paquete creado necesita para funcionar, la licencia, entre otros. El contenido básico en un archivo DESCRIPTION es:

```
Package: geneticae
Title: What the Package Does (One Line, Title Case)
Version: 0.0.0.9000
Authors@R:
    person(given = "First",
```

```
family = "Last",
role = c("aut", "cre"),
email = "first.last@example.com",
comment = c(ORCID = "YOUR-ORCID-ID"))
```

Description: What the package does (one paragraph).

License: What license it uses

Encoding: UTF-8 LazyData: true

#### ■ Un archivo NAMESPACE

Estas carpetas se iran modificando a medida que el paquete se vaya creando. También puede incluir un archivo de proyecto de RStudio pkgname.Rproj, que hace que el paquete sea fácil de usar con RStudio; .Rbuildignore enumera los archivos que se necesitan, pero que no deben incluirse al compilar el paquete; .gitignore anticipa el uso de Git.

#### 3.2.2. Inclusión de funciones e inclusión de conjuntos de datos

Una vez creada la estructura del paquete se deben incluir las funciones que el mismo contendrá. Cada una de ellas debe ser guardada en un archivo de extensión .R, en el subdirectorio R/. Para ello, se utiliza la función use\_r() la cual crea y/o abre un script de la carpeta R/.

Una vez creada una función, se realizan pruebas para asegurar que el código realice lo que realmente se desea utilizando la función load\_all() que simula el proceso de construcción, instalación y conexión del paquete. Permite que las funciones creadas estén disponible rápidamente para uso interactivo, del mismo modo que si se hubiera construido e instalado el paquete y luego cargada en la sesión de R a través de la función library(geneticae).

Muy frecuentemente se utilizan funciones que se encuentran disponibles en otros paquetes, para ello se utiliza la función use\_package() que agrega el paquete al archivo DESCRIPTION.

A menudo es útil incluir datos en un paquete a fin de proporcionar ejemplos de aplicaciones de las funciones incluidas en él. Ellos se almacenan en el directorio data/, siendo cada archivo un .RData que sólo contiene un objeto. Para esto, se utiliza la función usethis::use\_data(). Notar que el archivo DESCRIPTION creado con la función create\_package(), mencionada anteriormente, contiene el campo LazyData: true, lo cual genera que los conjuntos de datos no ocupen memoria hasta que sean usados.

#### 3.2.3. Documentación

La documentación es uno de los aspectos más importantes del código, sin ella, los usuarios no sabrán cómo usar el paquete. Existen múltiples formas de documentar un paquete, la forma estándar es escribir archivos .Rd en la carpeta man, los cuales utilizan una sintaxis personalizada, basada en LaTeX. Sin embargo, el paquete roxygen2, utilizado en este trabajo, convierte los comentarios con formato especial en archivos .Rd. Esta última proporciona una serie de ventajas sobre la forma estándar:

- El código y la documentación son adyacentes, de modo que cuando el código se modifique, será fácil actualizar la documentación.
- Inspecciona dinámicamente los objetos que está documentando, para que pueda agregar automáticamente los datos que de otra forma se deben escribir a mano.
- Resume las diferencias en la documentación de los métodos S3 y S4, los genéricos y las clases, por lo que necesita aprender menos detalles.

Además de generar archivos .Rd, roxygen2 también creará el archivo NAMESPACE. El flujo de trabajo para crear la documentación con el paquete roxygen2 es el siguiente:

- Agregar comentarios a los archivos .R, los cuales comienzan con #'y preceden a una función. La primera oración se convierte en el título y el segundo párrafo es una descripción de la función. Seguidamente, las funciones son documentadas, la mayoría de las funciones tienen tres etiquetas: @param, @examples y @return.
  - @param describe los parámetros de la función, indica de que clase es el parámetro y para que sirve.
  - @examples proporciona un código ejecutable que muestra cómo usar la función en la práctica.
  - @return describe el resultado de la función.
- Ejecutar devtools::document() para convertir los comentarios de roxygen en archivos
   .Rd.

Roxygen2 permite utilizar la descripción de los parámetros de otras funciones usando @inheritParams. Esta documentará los parámetros que no están documentados en la función actual, pero que si lo están en la función fuente. La fuente puede ser una función en el paquete actual, vía @inheritParams function, u otro paquete, vía @inheritParams package::function. Además Roxygen2 permite incluir referencias utilizando @references.

A diferencia de las funciones que son documentadas directamente, para los objetos en data/, se debe crear un archivo y guardarlo en el directorio R/.

#### Viñetas

A diferencia de la documentación, en la cual se detalla como se utiliza cada una de las funciones del paquete, una viñeta es una descripción el problema que el paquete está diseñado para resolver y muestra al lector cómo resolverlo.

Muchos de los paquetes existentes tienen viñetas la cual puede ser buscada mediante la función browseVignettes ("packagename") si el mismo se encuentra instalado, sino deben consultarse en su página de CRAN, por ejemplo para el paquete dplyr: http://cran.r-project.org/web/packages/dplyr. Cada viñeta proporciona el archivo fuente original, una página HTML o PDF y un archivo de código R.

Las Viñetas se pueden construir de diversas formas, en este trabajo se utiliza se utiliza usethis::use\_vignette("my-vignette"). La misma crea un directorio vignettes/, agrega las dependencias necesarias a DESCRIPTION y redacta la viñeta. Las tres componentes fundamentales de la misma son las siguientes:

■ El bloque inicial de metadatos, que contiene la siguiente información:

title: "Vignette Title"
output: rmarkdown::html\_vignette
vignette: >
 %\VignetteIndexEntry{Vignette Title}
 %\VignetteEngine{knitr::rmarkdown}
 \usepackage[utf8]{inputenc}

• Markdown para formatear texto.

Knitr para interpretar texto, código y resultados.

### 3.2.4. Pruebas del flujo de trabajo

Las pruebas resultan fundamentales en el desarrollo de paquetes, asegura que el código haga lo que realmente se desea. Existen pruebas informales como aquellas realizadas con la función load\_all(). Sin embargo, estas pruebas interactivas pueden convertirse en scripts reproducibles, los cuales resultan superiores debido a que:

- Se indica explícitamente cómo debería comportarse el código, provocando que los errores solucionados no vuelvan a ocurrir.
- El código que es fácil de probar generalmente está mejor diseñado, reduce la duplicación en el código. Como resultado, las funciones serán más fáciles de probar,

comprender y trabajar.

• Si toda la funcionalidad del paquete tiene una prueba asociada, se pueden hacer grandes cambios sin preocuparse por generar errores.

Para ello se utiliza la función usethis::usetestthat() (Wickham,2011). Esta crea un directorio tests/testthat, agrega testthat al campo Suggests en el archivo DESCRIPTION y además, crea un archivo tests/testthat.R.

Las pruebas se organizan jerárquicamente, las expectativas se agrupan en pruebas que se organizan en archivos :

- Una expectativa describe el resultado esperado de un cálculo.
- Una prueba agrupa múltiples expectativas para probar la salida de una función simple, un rango de posibilidades para un solo parámetro de una función más complicada o una funcionalidad estrechamente relacionada de varias funciones.
- Un archivo agrupa múltiples pruebas relacionadas.

Existen tres formas de llevar a cabo las pruebas:

- Ejecutar todas las pruebas en un archivo o directorio test\_file() o test\_dir().
- Ejecutar pruebas automáticamente cada vez que algo cambie con la función autotest(). Estas son útiles cuando las pruebas se ejecutan con frecuencia. Si se modifica un archivo de prueba, probará ese archivo; si se modifica un archivo de código, volverá a cargar ese archivo y volverá a ejecutar todas las pruebas.
- Hacer que R CMD check ejecute sus pruebas.

### 3.2.5. Compilación e instalación

Mediante la función load\_all() fue utilizado para simular el proceso de construcción, instalación y conexión del paquete, con el fin de ir probando las funciones creadas. Sin embargo, R CMD check ejecutado en el shell o la función check(), es utilizado para verificar que un paquete R esta en pleno funcionamiento. La misma verificará que no haya errores de sintaxis o no se generen warnings. Está compuesto por más de 50 chequeos individuales entre los cuales se encuentran: la estructura del paquete, el archivo descripción, 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 ya que si se incorporan muchas y luego se verifican será dificil identificar y resolver los problemas. Una vez que las verificaciones completas no encuentran errores, advertencias o notas, se ejecuta la función install(), con el objetivo de instalar el paquete en la biblioteca.

#### 3.2.6. Publicación

Un repositorio es el lugar dónde se encuentran alojados los paquetes y desde el cuál se pueden descargarlos. Entre los repositorios más populares de paquetes R se encuentran:

- CRAN: es el principal repositorio de paquetes de R, está coordinado por la fundación R. Previa a la publicación en este repositorio el paquete debe pasar por diferentes pruebas para asegurar que cumple con las políticas de CRAN.
- **Bioconductor**: se trata de un repositorio específico para bioinformática. Del mismo modo que CRAN, tiene sus propias políticas de publicaciones y procesos de revisión.
- **GitHub**: a pesar que no es específico para R, github es con toda seguridad el repositorio más popular para la publicación de proyectos *open source* (del inglés, código abierto). Su popularidad procede del espacio ilimitado que proporciona para el alojamiento de proyectos *open source*, la integración con git (un software de control de versiones) y, la facilidad de compartir y colaborar con otras personas. Una de sus desventajas es que no proporciona procesos de control.
- R-Forge y RForge: son entornos de desarrollo de paquetes y repositorios. Eso significa que incluyen control de fuente, seguimiento de errores y otras características. Puede obtener versiones de desarrollo de paquetes de estos.

El paquete *geneticae* se encuentra en GitHub, para instalar el mismo se deben seguir las siguientes instrucciones:

```
library(devtools)
install_github("jangelini/geneticae")
```

## 3.3. Shiny APP

Shiny es un paquete R que permite crear aplicaciones web interactivas, permitiendo realizar análisis usando R a través de un navegador web sin necesidad de programar. Este paquete facilita al programador de R la creacion de aplicaciones web sin necesidad de conocer en profundidad HTML / CSS / JS.

Las componentes de una Shiny APP son:

- ui (user interfaz): la interfaz de usuario controla el diseño de la aplicación, recibe los inputs y muestra los outputs en el navegador.
- server, funciones de R que contienen las instrucciones que se necesitan para obtener los resultados de los análisis incluidos en la aplicación.
- shinyApp, función que crea objetos de aplicación Shiny a partir de ui / servidor.

El esquema interno de la aplicación puede observarse en la Figura 3.1.

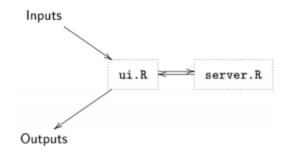


Figura 3.1: Esquema interno de la aplicación.

#### 3.3.1. Flujo de trabajo

En esta sección se motrará como mejorar los dos flujos de trabajo de Shiny más importantes: el ciclo de desarrollo básico de crear aplicaciones, realizar cambios y experimentar con los resultados; y la depuración, proceso de identificar y corregir errores de programación.

#### 1. Flujo de trabajo de desarrollo de la Shiny APP

El objetivo de optimizar el flujo de trabajo de desarrollo de la APP es reducir el tiempo entre hacer un cambio y ver el resultado. Cuanto más rápido se pueda iterar, más rápido se podrá experimentar y más rápido se podrá obtener la Shiny APP. Aquí hay dos flujos de trabajo principales para optimizar: crear la aplicación por primera vez y acelerar el ciclo iterativo de ajustar el código y probar los resultados.

#### Creación de la Shiny APP

Para poder crear una shiny APP se debe tener instado R, RStudio, y el paquete shiny. Una forma de desarrollar una aplicación es a partir de un nuevo directorio con un sólo archivo llamado app.R. En este archivo se realizan las siguientes tareas:

- Carga el paquete shiny: library(shiny)
- Define la interfaz de usuario, la página web HTML con la que los usuarios interactúan.
- Especifica el comportamiento de la aplicación definiendo la función server.
- Se ejecuta función shinyApp(ui, server) para construir e iniciar una aplicación Shiny desde la interfaz de usuario y el servidor.

```
library(shiny)
ui<- ...
server<- ...
shinyApp(ui = ui, server = server)
```

La sesión de R estará monitoreando la aplicación y ejecutando las ordenes dadas por el usuario y por lo tanto por lo que no se podrá ejecutar ningún comando.

En todo tipo de programación, es una mala práctica tener código duplicado; puede ser un desperdicio computacional y, lo que es más importante, aumenta la dificultad de mantener o depurar el código. Cuando se programa en R, se utilizan dos técnicas para lidiar con el código duplicado: guardar un valor usando una variable o utilizar una función para almacenar un cálculo. Ninguno de estos enfoques son apropiados en una Shiny APP, sino que se utilizan expresiones reactivas. Una expresión reactiva tiene una diferencia importante con una variable: sólo se ejecuta la primera vez que se llama y luego almacena en caché el resultado de la misma hasta que necesite actualizarse.

La programación reactiva es un estilo de programación que enfatiza valores que cambian con el tiempo, y cálculos y acciones que dependen de esos valores. Esto es importante para las aplicaciones Shiny porque son interactivas: los usuarios cambian los inputs, lo que hace que la lógica se ejecute en el servidor que finalmente resultan en actualización de los outputs/resultados.

#### Ver los cambios

Al crear o modificar la aplicacion, se la ejecuta para poder ver los cambios realizados, por lo que el dominio de flujo de trabajo de desarrollo es especialmente importante. La primera forma de reducir la velocidad de iteración es evitar hacer clic en el botón "Ejecutar aplicación" y, en su lugar, aprender el método abreviado de teclado Cmd/Ctrl+ Shift+ Enter. Esto brinda el siguiente flujo de trabajo de desarrollo:

- 1. Escribir un código.
- 2. Iniciar la aplicación con Cmd/Ctrl+ Shift+ Enter.
- 3. Experimentar interactivamente con la aplicación.
- 4. Cerrar la aplicación.
- 5. Ir a 1.

Otra forma de reducir aún más la velocidad de iteración es activar la recarga automática (options(shiny.autoreload = TRUE)) y luego ejecutar la aplicación en un trabajo en

segundo plano. Con este flujo de trabajo cuando se guarde un archivo, su aplicación se reiniciará: no es necesario cerrarla y reiniciarla. Esto conduce a un flujo de trabajo aún más rápido:

- 1. Escribir un código y presione Cmd/Ctrl+S para guardar en el archivo.
- 2. Experimentar interactivamente.
- 3. Ir a 1.

La principal desventaja de esta técnica es que debido a que la aplicación se ejecuta en un proceso separado, es considerablemente más difícil de depurar.

De manera predeterminada, cuando ejecuta la aplicación, aparecerá en una ventana emergente. Sin embargo ,existen otras dos opciones que puede elegir del menú desplegable  $Run\ App$ 

- 1. La ejecución en el panel del visor es útil para aplicaciones más pequeñas porque puede verla al mismo tiempo que ejecuta el código de la aplicación.
- 2. Ejecutar en un navegador externo es útil para aplicaciones más grandes, o si desea verificar que su aplicación se ve exactamente de la manera que espera en el contexto que la mayoría de los usuarios la verán.

#### 2. Depuración

Entre los problemas que pueden surgir al crear una Shiny app se encuentran los siguientes:

- Error inesperado.
- No se obtiene ningún error, pero un valor es incorrecto.
- Todos los valores son correctos, pero no se actualizan cuando espera.

Una vez localizado la fuente del error, la herramienta más poderosa es el depurador interactivo, éste detiene la ejecución y brinda una consola interactiva donde puede se ejecutar cualquier código para descubrir el error. Hay dos formas de iniciar el depurador:

- Agregar la función browser() en el código fuente.
- Agregar un punto de interrupción RStudio haciendo clic a la izquierda del número de línea. Puede eliminar el punto de interrupción haciendo clic en el círculo rojo. La ventaja de los puntos de interrupción es que no son código, por lo que nunca tendrá que preocuparse por registrarlos accidentalmente en su sistema de control de versiones.

## 3.3.2. Compartiendo una Shiny Web App

Una vez creada la aplicación se la publica para su libre uso. En este caso la Shiny Web App encuentra disponible en el servidor de CONICET www.cefobi.com. Además el proyecto se encuentra en GitHub https://github.com/jangelini/shinyAPP\_geneticae.

# Capítulo 4

# Resultados

## 4.1. Paquete de R geneticae

El paquete *geneticae* permite analizar datos provenientes de etapas avanzadas de los programas de mejoramiento, donde se evalúan pocos genotipos en diversos ambientes.

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). Además, a partir de la función browseVignettes("geneticae") se obtiene la viñeta del paquete, es decir una descripción el problema que está diseñado para resolver asi como ejemplos de aplicación del mismo.

### 4.1.1. Conjuntos de datos en geneticae

El paquete geneticae proporciona dos conjuntos de datos que permiten ilustrar la metodología incluida para analizar los datos obtenidos de EMA.

• yan.winterwheat dataset: 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 en el conjunto de datos, sólo el rendimiento medio para cada combinación de variedad y ambiente se encuentra disponible. Este conjunto de datos se obtuvo del paquete agridat (Wright, 2018) de R.

```
data(yan.winterwheat)
yanwinterwheat <- yan.winterwheat
head(yanwinterwheat)

## gen env yield
## 1 Ann BH93 4.460

## 2 Ari BH93 4.417

## 3 Aug BH93 4.669

## 4 Cas BH93 4.732

## 5 Del BH93 4.390

## 6 Dia BH93 5.178
```

• plrv dataset: Estudio de resistencia a PLRV (Patato Leaf Roll Virus) causante del enrollamiento de la hoja. Se experimentaron 28 genotipos en 6 ubicaciones en Perú. Cada clon fue evaluado tres veces en cada ambiente, y de cada uno de ellos se contaba con el rendimiento, peso de planta y parcela. Este conjunto de datos se obtuvo del paquete agricolae (CITA) de R.

```
data(plrv)
  plrv <- plrv
  head(plrv)
##
     Genotype Locality Rep WeightPlant WeightPlot
                                                        Yield
## 1
       102.18
                   Ayac
                              0.5100000
                                               5.10 18.88889
## 2
       104.22
                   Ayac
                              0.3450000
                                               2.76 12.77778
                                               4.34 20.09259
## 3
       121.31
                   Ayac
                              0.5425000
                          1
## 4
       141.28
                              0.9888889
                                               8.90 36.62551
                   Ayac
                          1
                                               5.00 23.14815
## 5
       157.26
                   Ayac
                              0.6250000
## 6
        163.9
                              0.5120000
                                               2.56 18.96296
                   Ayac
```

## 4.1.2. Aplicación de las funciones incluidas en el paquete

A fin de ilustrar la metodología incluida en el paquete se utiliza el conjunto de datos yan.winterwheat a modo de ejemplo.

#### GGE biplot

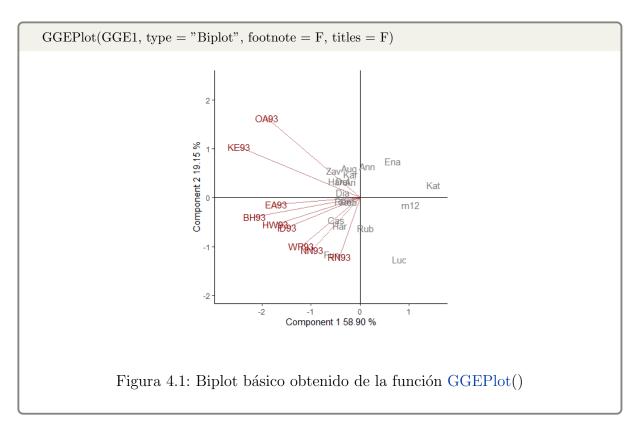
Para visualizar conjuntamente el efecto de G y IGA Yan et al. (2000) propuso el biplot GGE, con el cual se pueden abordar visualmente diversos aspectos relacionados con la evaluación de genotipos y ambientes. Para obtener dicho biplot en primer lugar se debe

ajustar el modelo SREG mediante la función GGEmodel(). Esta función es menos restrictiva que las disponibles actualmente en R en cuanto al conjunto de datos de entrada. En particular, es una modificación de la función GGEModel() del paquete GGEBiplots (CITA) el cual requiere que en el conjunto de datos de entrada los genotipos se encuentren en las filas y los ambientes en las columnas, es decir que no admiten replicas. En este caso, el conjunto de datos de entrada de GGEmodel() debe estar en formato largo, lo cual es más ordenado a la hora de registrar la información (CITA). Esto significa que las observaciones se encuentran en las filas y variables, genotipos, ambientes, repeticiones (en caso de que haya) y el fenotipo observado, en las columnas. Además puede incluir otras variables que no serán utilizadas en el análisis ya que al ajustar el modelo se deben indicar los nombres de las variables a emplear. Por otro lado, si cada genotipo ha sido evaluado más de una vez en cada ambiente, la función calcula automáticamente el valor fenotípico promedio para cada combinación de genotipo y ambiente para luego ajustar el modelo. Los valores faltantes no están permitidos, en caso de haber, un mensaje de error saldrá en la consola de R.

```
GGE1 <- GGEmodel(yanwinterwheat, genotype = "gen", environment = "env", response = "yield")
```

La salida de la función GGEmodel() es una lista que contiene las coordenadas para genotipos y ambientes de todas las componentes, el vector de valores propios de cada componente, la variancia total, el porcentaje de variancia explicada por cada componente, entre otros. Utilizando dicha información, la función GGEPlot() construye los biplots GGE. En dichos gráficos los cultivares se muestran en minúscula, para diferenciarlos de los ambientes, que están en mayúsculas. La primer componente principal se usa como la abscisa y la segunda como ordenada. Además, es posible adicionar el método de centrado, escala y SVD utilizado, y el porcentaje G + GE explicado por los dos ejes como una nota al pie del biplot con la opción footnote=T, así como también el nombre del gráfico con titles = T.

En la figura 4.1 se presenta un biplot básico, el cual explica el 78% de la variabilidad total de G+GE.



Los mejoradores en general están interesados en identificar los cultivares más adaptados a su área. Para identificar los mejores genotipos en un ambiente a través del biplot GGE, Yan y Hunt (2002) sugieren constituir un eje del ambiente, por ejemplo OA93, trazando una recta que pase por el identificador del ambiente y el origen. Los genotipos se pueden clasificar de acuerdo con sus proyecciones en el eje OA93 en función de su rendimiento en dicho ambiente, en la dirección indicada por la flecha (Figura 4.2). Por lo tanto, el cultivar de mayor rendimiento fue es Zav seguido por Aug, Ham, y así sucesivamente hasta llegar al genotipo Luc, que es el de rendimiento mas bajo en ese ambiente. La línea que pasa a través del origen de coordenadas y es perpendicular al eje OA93 separa los genotipos que rindieron por encima de la media, de Zav a Cas, de aquellos que rindieron por debajo de la media, de Ema a Luc, en OA93.



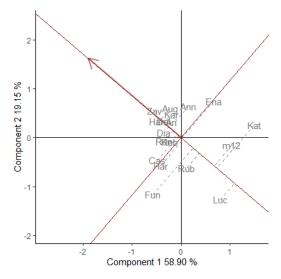


Figura 4.2: Ranking de cultivares para un ambiente determinado obtenido de la función GGEPlot()

Otro interes de los fitomejoradores es determinar cuál es el ambiente más adecuado para un cultivar. La figura 4.3 ilustra cómo visualizar la adaptación relativa del cultivar Luc en diferentes ambientes. Yan y Hunt (2002) sugieren graficar una línea que una el origen de coordenadas y el marcador de Luc, el cual llamaremos eje Luc. Los ambientes se clasifican a lo largo del eje Luc en la dirección indicada por la flecha. La línea que pasa por el origen y es perpendicular al eje de Luc separa los ambientes en los que Luc presentó un rendimiento por debajo de su promedio, OA93 a ID93, de aquellos en los que rindió por encima de la media, RN93 a WP93.

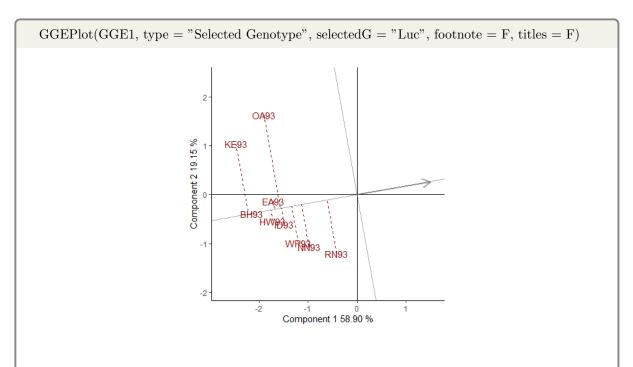
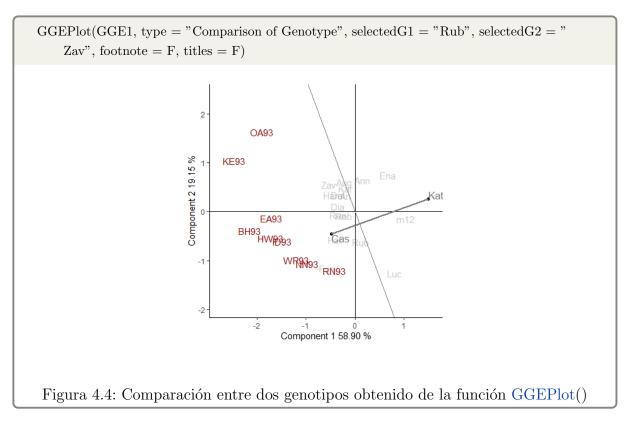


Figura 4.3: Ranking de ambientes para cultivar determinado obtenido de la función GGEPlot()

Para comparar dos cultivares, por ejemplo Rub y Zav, se propone unir mediante una línea recta los genotipos a comparar, luego trazar una línea que pase por el origen y que sea perpendicular a la línea que une a los genotipos. (figura 4.4). Se observa que tres ambientes, RN93, NN93 y WP93, se encuentran del mismo lado de la línea perpendicular que Rub, y los otros seis ambientes están en el otro lado de la línea perpendicular, junto el marcador del cultivar Zav. Esto indica que Rub fue mas rendidor que Zav en RN93, NN93 y WP93, pero Zav fue superior a Rub en los seis ambientes restantes.



La vista poligonal del biplot GGE, documentado por primera vez en Yan (1999), proporciona un medio eficaz de visualización del patrón "quíen ganó dónde" de un conjunto de datos EMA (Figura 4.5). El polígono se dibuja uniendo los cultivares (fun, zav, ena, kat y luc) que se encuentran más alejados del origen de coordenadas, de modo que todos los cultivares se encuentren contenidos en el polígono. Los cultivares de vértice son aquellos con vectores más largos, en sus respectivas direcciones, la cual es una medida de la capacidad de respuesta a los ambientes.

Las líneas perpendiculares a los lados del polígono dividen el biplot en megaambientes, cada uno de ellos tiene un cultivar de vértice, el de mayor rendimiento en todos los ambientes que se encuentran en él. Por un lado, se observa que OA93 y KE93 se encuentran en el mismo sector y que Zav es el mejor cultivar. Otro sector esta formado por el resto de los ambientes, siendo Fun el cultivar que se encuentra en el vertice de dicho sector. En los sectores con ena, kat y luc en los vértices no se observó ningun ambiente. Esto indica que estos cultivares fueron los menos rendidores en algunos o todos los ambientes considerados.

Se requieren dos criterios para sugerir la existencia de diferentes megaambientes (Gauch and Zobel, 1997). Primero, diferentes variedades superiores en los diferentes ambientes estudiados; en segundo lugar, la variación entre grupos debería ser significativamente mayor que la variación dentro del grupo. Ambos criterios se cumplen en el presente caso (Figura 4.5). La sugerencia de dos megaambientes coincide con la distribución geográfica de los

ambientes. La ubicación de OA (Ottawa) y KE (Kemptville) se extiende hacia el este de Ontario; BH (Bath) también pertenece al este de Ontario, pero es mucho más cálido que OA y KE. Los otros seis lugares pertenecen al oeste o sur de la provincia.

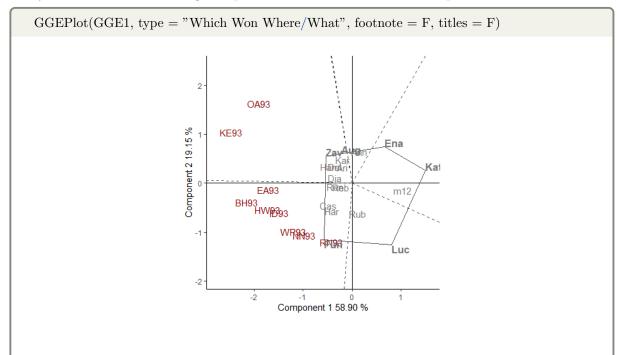


Figura 4.5: Identificación del mejor cultivar en cada ambiente a partir de la función GGEPlot()

Otro interés entre los fitomejoradores es seleccionar cultivares dentro de cada uno de los mega-ambientes definidos. De acuerdo con la figur 4.5, zav es el mejor cultivar para los ambientes en uno de los mega-ambiente y fun en el otro. Sin embargo, los mejoradores no seleccionarán un único cultivar en cada mega-ambiente, sino que es necesario observar en más detalle cada mega-ambiente y evaluar todos los cultivares con el fin de obtener una idea de su desempeño (rendimiento y estabilidad). El GGE biplot, particularmente su forma de escalado centrada en el genotipo, proporciona un medio superior para visualizar tanto el rendimiento medio como la estabilidad de los genotipos. La visualización del rendimiento medio y la estabilidad de los genotipos se logra a partir de una coordenada de medio ambiente en el biplot centrado en el genotipo (Figura 4.6). La abscisa representa el efecto de G mientras que la ordenada la IGA asociada con cada genotipo, que es una medida de la variabilidad o inestabilidad de los genotipos. Una mayor proyección sobre la ordenada AEC, independientemente de la dirección, significa mayor inestabilidad. Por lo tanto, rub y dia son más variables y menos estables que otros cultivares (Figura 4.6). El ambiente BH93 está ubicado en el este de Ontario caracterizado por inviernos más fríos, mientras que RN93 en el sur de Ontario caracterizado por un clima cálido y húmedo en la mayoría de los años. Esto justifica la inestabilidad de rub y dia, ya que el primero es temprano y tiene una poca resistencia al invierno por lo que se desempeñó bien en RN93 y mal en BH93, y el segundo, con un comportamiento contrario al anterior cultivar debido a que es tardío y alto. Los cultivares próximos al eje de las abscisas, cas, zav, reb, del, ari y kar, son más estables que el resto.

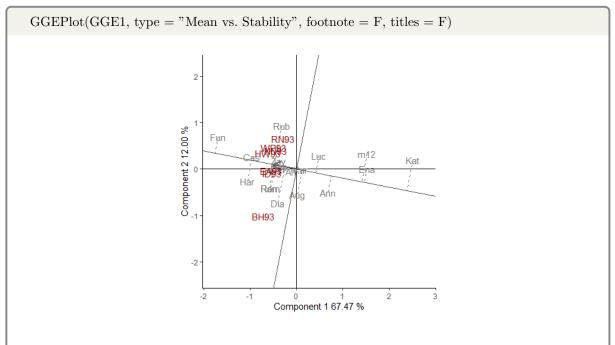


Figura 4.6: Evaluación de los cultivares con base en el rendimiento promedio y la estabilidad a partir de la función GGEPlot()

El biplot GGE permite visualizar tanto el rendimiento medio como la estabilidad de los genotipos en la unidad de rendimiento per se. Ésto permite que las dos medidas se combinen y visualicen en una sola medida (Figura 4.7). El pequeño círculo en la figura 4.7 representa el cultivar ideal ya que es el más rendidor del conjunto de datos y es absolutamente estable, al estar ubicado en el eje de abscisa del AEC. Tal genotipo ideal se utiliza como referencia para la evaluacion de los cultivares ya que rara vez es exista. La distancia entre los cultivares con respecto al ideal se puede utilizar como una medida de su conveniencia. Los círculos concéntricos, tomando el cultivar ideal como centro, ayudan a visualizar la distancia entre todos los cultivares y el ideal. El cultivar fun es el más próximo al ideal, y por lo tanto, el más deseable de todos los cultivares probados, seguido por cas y heno, que a su vez son seguidos por ron, ham, rub, zav, del y reb, etc.

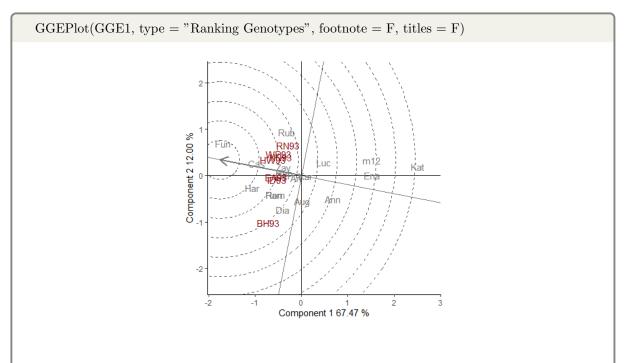


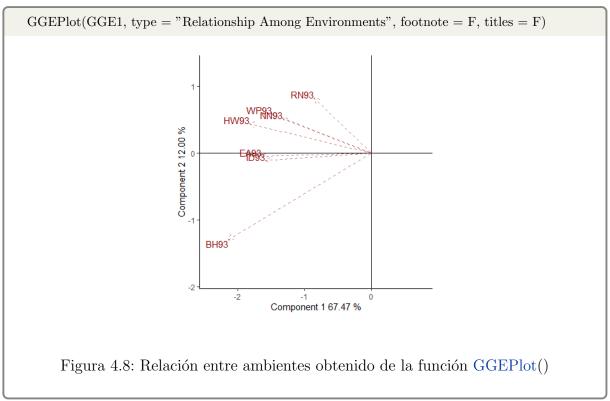
Figura 4.7: Clasificación de genotipos con respecto al genotipo ideal a partir de la función GGEPlot()

A pesar de que los EMA se realizan para evaluar cultivares, son igualmente útiles para evaluar los ambientes estudiados. Ésto incluye diversos aspectos: (i) evaluar si la región objetivo pertenece a uno o varios megaambientes; (ii) identificar mejores ambientes de prueba; (iii) identificar ambientes redundantes que no brindan información adicional sobre los cultivares; (iv) identificar ambientes que pueden usarse para la selección indirecta.

En la figura 4.8 se observa que los ambientes estan conectados con el origen de coordenadas a través de vectores, permitiendo comprender las interrelaciones entre los distintos ambientes. El coseno del ángulo entre los vectores de dos ambientes se aproxima al coeficiente de correlación entre ellos. Por ejemplo, NN93 y WP93 tienen un ángulo de aproximadamente 10° entre sus vectores; por lo tanto, se encuentran estrechamente relacionados; mientras que RN93 y OA93 presentan correlaciones leves y negativas ya que el ángulo supera los 90°. El coseno de los ángulos no se traduce con precisión en coeficientes de correlación, ya que el biplot no explica toda la variación en el conjunto de datos. Sin embargo, los ángulos son lo suficientemente informativos como para permitir una imagen completa sobre la interrelación entre el entorno de prueba.

Por otro lado, la Figura 4.9 ayuda a identificar ambientes redundantes. Si algunos de los ambientes tienen ángulos pequeños y, por lo tanto, están altamente correlacionados, la información sobre los genotipos obtenidos de estos ambientes debe ser similar. Si esta similitud es repetible a través de los años, estos ambientes son redundantes y por lo tanto, uno solo debería ser suficiente. Obtener la misma o mejor información utilizando menos

ambientes reducirá el costo y aumentará la eficiencia de producción.



La capacidad de discriminación es una medida importante de un ambiente, ya que si no tiene dicha capacidad no proporciona información sobre los cultivares y, por lo tanto, el ambiente carece de utilidad. Otra medida igualmente importante de un ambiente es su representatividad del ambiente objetivo, ya que si no es representativo no solo que carece de utilidad sino que también puede proporcionar información sesgada sobre los cultivares evaluados

La representatividad de un ambiente es difícil de medir, ya que no es posible muestrear todos los ambientes posibles dentro de un megaambiente y, posteriormente, determinar la representatividad de cada uno en forma individual. Mediante el biplot, la manera de medir la representatividad es definir un entorno promedio y usarlo como referencia. El ambiente promedio está indicado por el círculo pequeño en la figura 4.9. El ángulo entre el vector de un ambiente y el eje que pasa a través del origen biplot y el ambiente promedio es una medida de la representatividad del ambiente. 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 el mega-ambiente que no contiene a OA93 y a KE93.

Un ambiente de prueba ideal debe ser tanto discriminatorio como representativo. La figura 4.9, utiliza el ambiente ideal como el centro de un conjunto de circulos concéntricos que sirven como regla para medir la distancia entre un ambiente y el ideal. HW93 es el ambiente más cercano al ideal y, por lo tanto, es el más deseable de los siete entornos, es

seguido por EA93 e ID93, que a su vez son seguidos por WP93 y NN93. RN93 y BH93 fueron los ambientes de prueba menos deseable. Además, EA93 e ID93, y NN93 y WP93 son pares de entornos muy similares, lo cual tambien se visualizó que se pueden visualizar mejor desde la figura. Anterior

figu 4.9

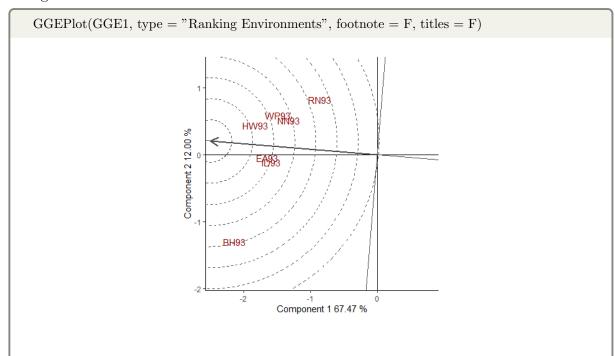


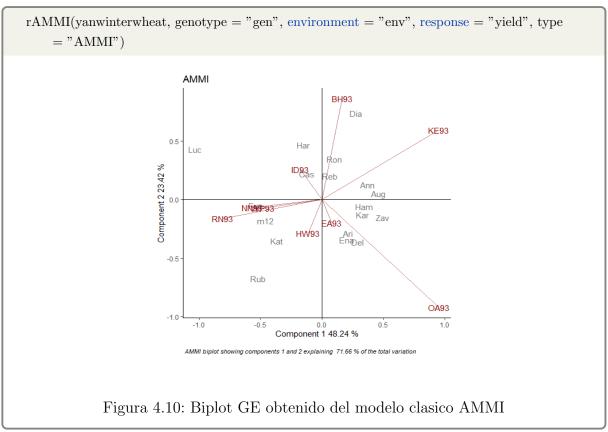
Figura 4.9: Clasificación de ambientes con respecto al ambiente ideal a partir de la función GGEPlot()

Falta un grafico q es discriminacion vs representatividad q no se como se interpreta....

#### Biplot GE

Para visualizar solamente el efecto de IGA se utilizan los biplots GE obtenidos del modelo AMMI. Para ejecutar la función rAMMI(), siendo el formato del conjunto de datos requerido igual al descripto para la función GGEmodel(). Sin embargo, en este caso la salida de la función es el biplot GE. Esta función no se encuentra disponible actualmente en R, es modificada de la publicación de Rodrigues et al. (2015). Esta versión de la función permite incluir otras variables en el conjunto de datos debido a que, al igual que en GGEmodel(), se deben indicar los nombres de las variables a emplear y además permite la presencia de repeticiones ya que la función calcula automáticamente el valor fenotípico promedio para cada combinación de genotipo y ambiente para luego ajustar el modelo. Los valores faltantes no están permitidos, en caso de haber, un mensaje de error saldrá en la consola de R.

El biplot clásico para el conjunto de datos yan.winterwheat se muestra en la figura 4.10 junto con la sentencia utlizada para obtener el mismo. Se observa que la magnitud de los vectores de los ambientes BH93, KE93 y OA93 es mayor a la de los demás ambientes, es decir que son los que más contribuyen a la interacción. La cercanía de los marcadores de los genotipos m12 y Kat indica que esos genotipos tienen patrones de interacción similares, y a la vez, muy distintos a los de los genotipos Ann y Aug. Del biplot también se destacan las cercanías entre el genotipo dia y el ambiente BH93 lo que indica, debido a la gran distancia al origen, una fuerte asociación positiva entre el genotipos y el ambientes, es decir, es un ambiente muy favorable para ese genotipo. Entre las altas asociaciones negativas se puede mencionar a la del ambiente OA93 con el genotipo Luc (marcadores opuestos en el biplot) y se interpreta que ese ambiente es considerablemente desfavorable para ese genotipo. También se observa que los genotipos Cas y Reb están próximos al origen, lo que quiere decir que se adaptan en igual medida a todos los ambientes.



En caso de contar con observaciones atípicas se debe recurrir al biplot obtenido de algunos de los cinco modelos AMMI robustos propuestos por Rodrigues et al. (2015) utilizando la función rAMMI().

El conjunto de datos *yan.winterwheat* no presentan observaciones diferentes del resto. Dado que según Rodrigues, et al. (2015) las conclusiones obtenidas con los biplots robustos no serán muy diferentes de las realizadas con el biplot clásico, siendo el modelo rAMMI

el que proporciona resultados más similares seguidos por el hAMMI(), carece de sentido interpretar dichos biplots en este ejemplo.

El biplot proveniente de alguno de los modelos robustos se puede obtener mediante la función rAMMI() indicando en la opción type cuál de ellos se desea obtener: "rAMMI", "hAMMI", "gAMMI", "lAMMI", "ppAMMI".

```
rAMMI(yanwinterwheat, genotype = "gen", environment = "env", response = "yield", type = "rAMMI")
```

#### Métodos de imputación

Una limitación importante de los modelos presentados anteriormente es que requieren una 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 propuestas, 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", "WGabrielz "EM-PCA", los cuales se indican en la opción type de la función imputation().

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

### 4.2. Geneticae Shiny Web App

Generalmente los mejoradores utilizan programas estadísticos que funcionan mediante una interfaz gráfica lo cual permite realizar el análisis de interés sin necesidad del manejo de un lenguaje de programación. Geneticae Shiny Web App, es una aplicación web que permite a los usuarios realizar muchos de los análisis incluidos en el paquete geneticae, sin necesidad de conocer el lenguaje de programación R.

Al iniciar Geneticae Shiny Web App, se muestra una pantalla en la cual se carga el conjunto de datos a analizar. Se admiten archivos con extensión .csv, delimitados por coma o punto y coma. Dado que esta aplicación se conecta con R y utiliza las funciones del paquete geneticae se debe respetar el formato requerido por el mismo. El conjunto de datos de entrada debe estar en formato largo, es decir que las observaciones se encuentran en las filas y las variables, genotipos, ambientes, repeticiones (en caso de que haya) y el fenotipo observado, en las columnas. Además puede incluir otras variables que no serán utilizadas en el análisis ya que al cargar el conjunto de datos se debe indicar que columna corresponde al genotipo, al ambiente, a las repeticiones y al valor fenotípico a analizar.

La primera fila del conjunto de datos puede contener los nombres de las varibles, y en ese caso se indicará al cargarlo en la aplicación. El número de repeticiones puede diferir con los genotipos y los ambientes.

Dos conjuntos de datos de ejemplo, plrv y yanwinterwheat, incluidos en el paquete geneticae, se encuentran disponibles en la aplicación para ser descargados y probar la misma (Figura 4.11,4.12). La ruta para realizar esto es siguente: The data  $\rightarrow$  Example datasets.

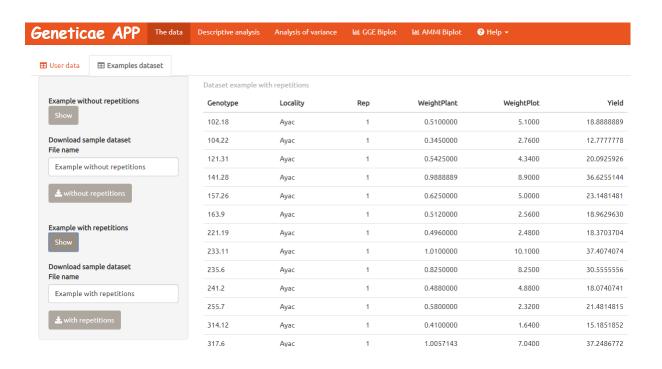


Figura 4.11: yanwinterwheat dataset disponible en Shiny Web App

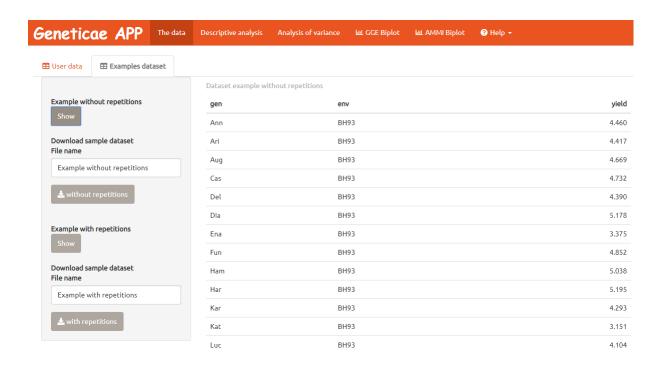


Figura 4.12: plrv dataset disponible en Shiny Web App

A fin de ilustrar los diferentes análisis que se pueden realizar con esta aplicación se utiliza el conjunto de datos *yanwinterwheat* (Figura 4.11). Como se dijo anteriormente, cuenta con información sobre el rendimiento medio de 18 variedades de trigo de invierno cultivadas en nueve ambientes en Ontario en 1993.

#### 4.2.1. Análisis de un caso

En primer lugar se debe importar el conjunto de datos, en este caso yanwinterwheat, se indica que el archivo .csv esta delimitado punto y coma, que la primera fila contiene los nombres de cada variable y además, el nombre de la columna que contiene la información de los genotipos, ambientes y valores fenotípicos de interés (Figura 4.13). En caso de contar con repeticiones, debería especificarse además el nombre de la columna con dicha información.

#### Análisis descriptivo

El primer paso de cualquier estudio debe ser un análisis descriptivo del conjunto de datos. La pestaña *Descriptive analysis* brinda diversas herramientas para llevar a cabo dicho análisis. Una de ellas es un boxplot que compara el caracter cuantitativo de interés a través de los ambientes (Figura 4.14) o a través de los genotipos. Este gráfico es interactivo, al posicionarse sobre cada una de las cajas se muestran las medidas resumen utilizadas para la construcción del mismo. Además los mismos se pueden descargar en formato

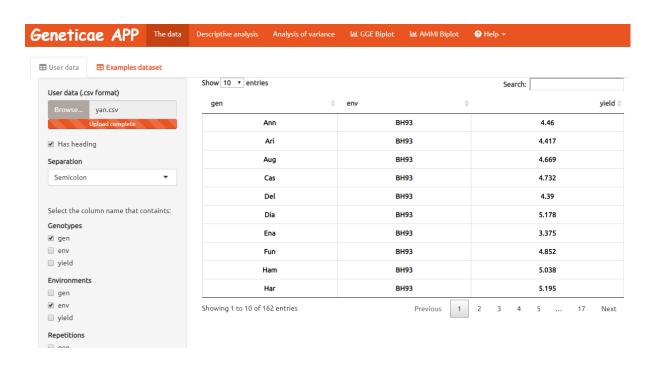


Figura 4.13: Importar conjunto de datos

interactivo (.HTML) al hacer click en *Download* así como también en formato .png al hacer click en la cámara que aparece en el gráfico (Figura 4.14). Algunos aspectos del gráfico, como el color de las cajas y los nombres de los ejes, pueden ser personalizados por el usuario.

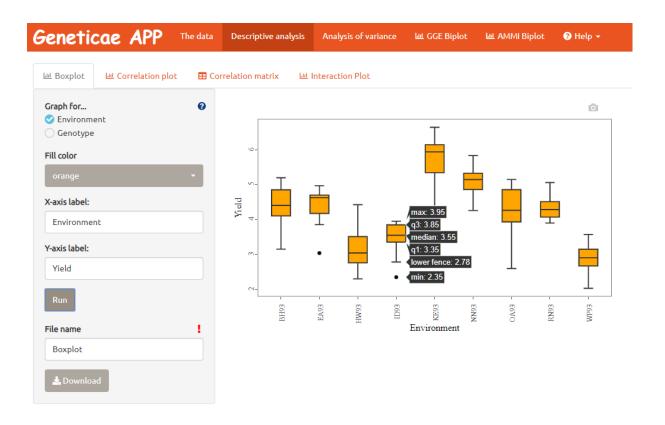


Figura 4.14: Boxplot de ambientes a través de los genotipos para el conjunto de datos Plrv

Otro interés puede ser estudiar la correlación entre los genotipos o entre los ambientes, para ello tanto el correlograma o gráfico de correlación como la matriz de correlación se pueden realizar (Figura 4.15 y 4.16). En ambos casos, se pueden estimar las correlaciones de Pearson o de Spearman. En el correlograma las correlaciones positivas se muestran en azul y las negativas en rojo y la intensidad del color y el tamaño del círculo son proporcionales a los coeficientes de correlación (Figura 4.15).

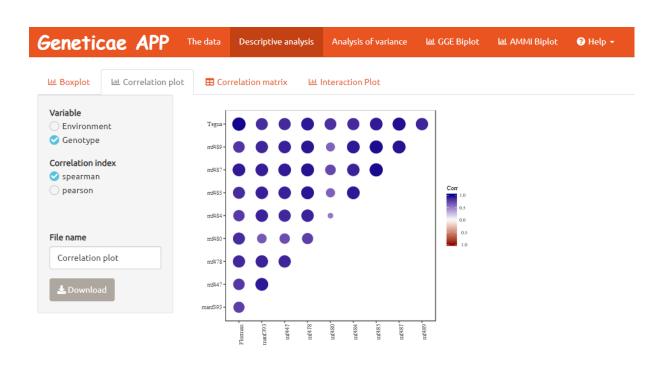


Figura 4.15: Boxplot de genotipos a través de los ambientes para el conjunto de datos Plrv

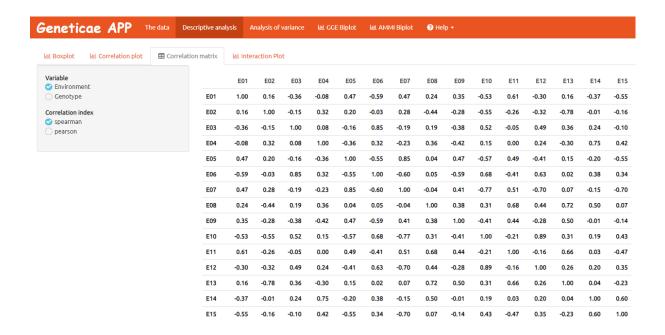


Figura 4.16: Boxplot de genotipos a través de los ambientes para el conjunto de datos Plrv

Por último, dado que inconsistencias en el rendimiento de los genotipo en diferentes amientes complican la tarea de los fitomejoradores ya que no existe un genotipo superior en todos los ambientes estudiados y que las técnicas de principal interés de la aplicación carecen de sentido cuando dicho efecto no esta presente en el conjunto de datos, un gráfico de interacción resulta de interés. En la figura 4.17 se observa el cambio en el efecto genotípico a través de los ambientes, sin embargo es posible también mostrar el cambio en el efecto ambiental a través de los genotipos. En forma análoga al boxplot, éste es un gráfico interactivo, y por lo tanto, es posible descargarlo en formato interactivo (.HTML) a partir del boton *Download*, así como también en formato .png al hacer click en la cámara (Figura 4.17). A su vez, los nombres de los ejes pueden ser personalizados por el usuario.

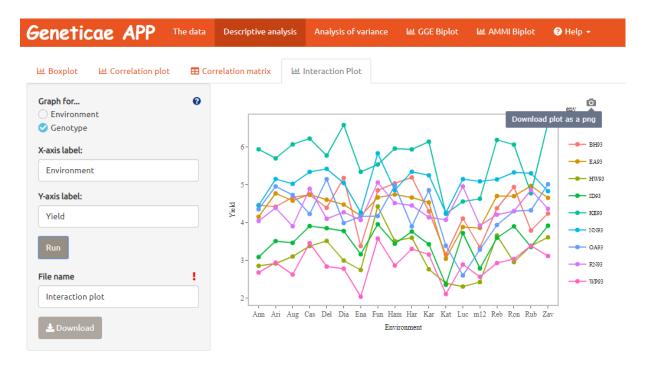


Figura 4.17: Boxplot de genotipos a través de los ambientes para el conjunto de datos Plrv

#### Análisis de la variancia

La variación fenotípica se puede explicar a partir de los efectos ambienteales, genotípicos y de la interacción entre ambos, cuya significancia se prueba con un ANOVA. Si únicamente los efectos de G y A resultan significativos (es decir, no hay efecto interacción), la interacción debe ser ignorada y los biplots carecen de sentido. En caso de no contar con repeticiones en el conjunto de datos, la interacción no podrá ser testeada y un mensaje aparecerá aclarando lo mencionado "The interaction effect can be tested".

since there are repetitions in the data set", VER. Por lo tanto, en este caso que no se cuenta con repeticiones, se puede prueba si existe efecto genotípicos y ambienteales (Figura 4.18)



Figura 4.18: Boxplot de genotipos a través de los ambientes para el conjunto de datos Plrv

La validez de las conclusiones del ANOVA depende del cumplimiento de que los errores tengan distribución normal con media cero y variancia constante. Tres pestañas de la aplicación: Check normality, Check homocedasticity y Outliers permiten verificar los supuestos mencionados.

El supuesto de normalidad se puede verificar gráficamente con un histograma y un gráfico de probabilidad normal (Figura 4.19). Además, se puede probar con el test de shapiro-wilks sobre los residuos del ANOVA. Al realizar este test, aparecerá un mensaje con la conclusión del mismo (Figura 4.19).

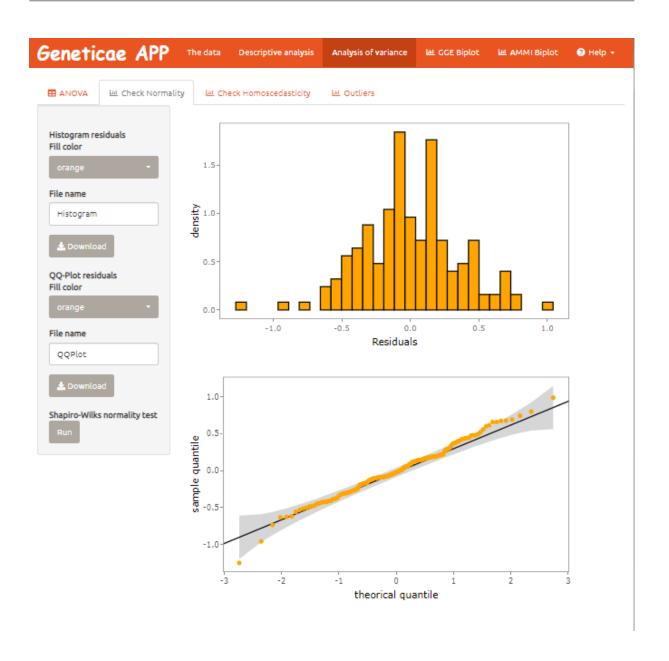


Figura 4.19: Boxplot de genotipos a través de los ambientes para el conjunto de datos Plrv

El supuesto de variancia constante u homocedasticidad se puede probar con un gráfico de residuos vs. valores predichos, así como también con el test de levene (Figura 4.20). Dicho test se puede verificarr tanto para los genotipos como para los ambientes, y al hacer click en el mismo un mensaje saldrá con la conclusión obtenida del mismo.

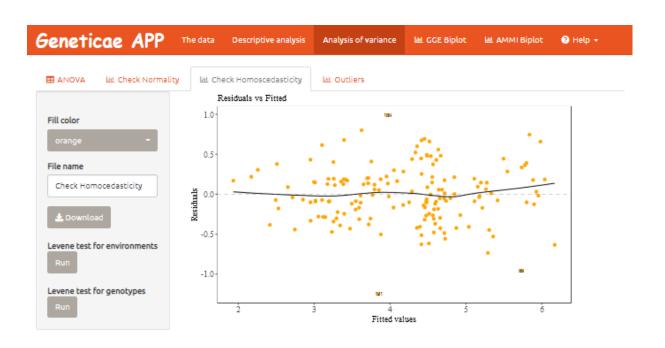


Figura 4.20: Boxplot de genotipos a través de los ambientes para el conjunto de datos Plrv

Por último, el ANOVA no es robusto ante la presencia de observaciones atipicas, por lo tanto se incluyen gráficos para detectar las mismas 4.21).

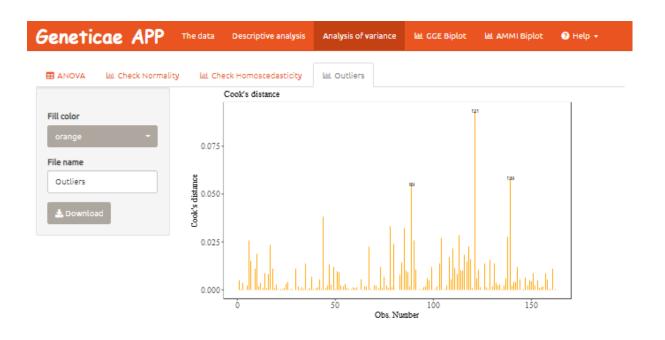


Figura 4.21: Boxplot de genotipos a través de los ambientes para el conjunto de datos Plry

Todos los gráficos mostrados para verificar los supuestos requeridos por la técnica ANOVA pueden ser descargados mediante el botón *Download* de la pestaña correspondiente.

#### **Biplots**

Geneticae Shiny Web App permite obtener tanto el biplot GGE (Figura 4.22) como el GE (Figura 4.23). Ciertos atributos estilísticos de dichos gráficos se pueden personalizar y además pueden ser descargados.

Dada la importancia del biplot GGE, se incluyen aquellos más utilizados en el análisis de datos provenientes de EMA. Entre ellos, el biplot básico y aquellos que permiten estudiar la relación entre los ambientes (*Relationship Among Environments*), la identificación del mejor cultivar en cada ambiente (*Which Won Where/What*), Discrimination vs. representativeness ( **Este es el q me falta interpretar en el paquete**), clasificación de los ambientes con respecto al ambiente ideal (*Ranking Environments*), evaluación de los cultivares con base en el rendimiento promedio y la estabilidad (*Mean vs. Stability*) y clasificación de genotipos con respecto al genotipo ideal (*Ranking Genotypes*). A la hora de indicar el biplot que se desea realizar se debe especificar el método de SVD, centrado

y escalado que se desea. Se debe tener en cuenta que no todos los biplots se hacen con el mismo método SVD, para más detalle recurrir a Yan ... CITA.

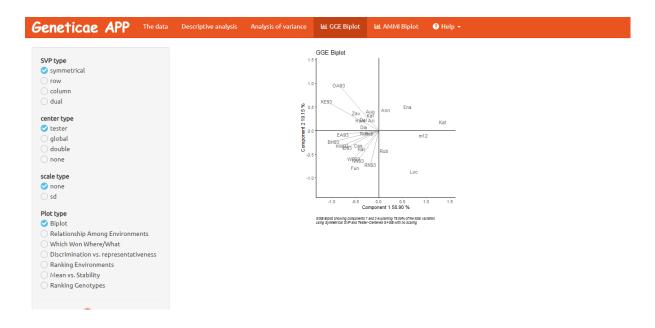


Figura 4.22: Boxplot de genotipos a través de los ambientes para el conjunto de datos Plrv

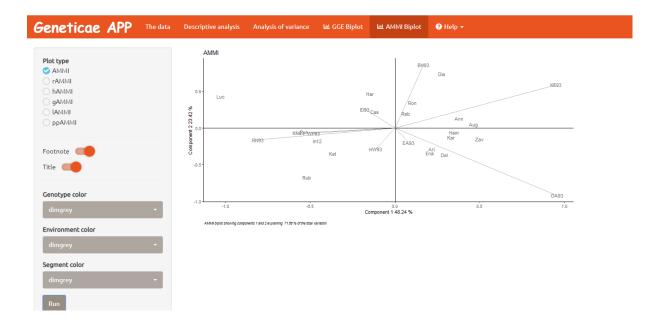


Figura 4.23: AMMI

#### Ayuda

Información general y un tutorial de cómo utilizar la aplicación se encuentra disponible en la última pestaña de la misma. Allí se encuentran disponibles ejemplos con una de los conjuntos de ejemplo disponible en la misma.

Capítulo 5

Conclusiones

# Perspectivas futuro

permitir imputar en la aplicación, permitir hacer graficas por mega ambiente

## Bibliografía

- R.W. Allard. Principios de la mejora genética de las plantas. Ediciones Omega, 1967.
- J. Crossa, H.G. Gauch, y R.W. Zobel. Additive main effects and multiplicative interaction analysis of two international maize cultivar trials. *Crop Science*, 30:493–500, 1990.
- R. Cruz Medina. Some exact conditional tests for the multiplicative models to explain genotype-environment interaction. *Heredity*, 69:128—132, 1992.
- H. G. Gauch. Model selection and validation for yield trials. *Theoretical and Applied Genetics*, 80:153–160, 1988.
- H.G. Gauch y R.W. Zobel. Identifying mega-environments and targeting genotypes. *Crop Science*, 37:311—-326, 1997.
- W. Hadley, J. Hester, y W. Chang. devtools: Tools to Make Developing R Packages Easier, 2019. URL https://CRAN.R-project.org/package=devtools. R package version 2.1.0.
- R. A. Kempton. The use of biplot in interpreting variety by environment interactions. Journal of Agricultural Science, 122:335–342, 1984.
- W. Yan y M. Kang. *GGE Biplot Analysis: A Graphical Tool for Breeders, Geneticists*. CRC Press, 2003.