



*Universidad Nacional de Córdoba*

*Facultad de Ciencias Agropecuarias*

*Escuela para Graduados*

---

**DESARROLLO DE HERRAMIENTAS  
ESTADÍSTICO-COMPUTACIONALES PARA EL  
ANÁLISIS DE ENSAYOS AGRÍCOLAS  
MULTIAMBIENTALES**

**Ing. Agr. Fernando Matías Aguate**

**Tesis**

**Para optar al Grado Académico de**

**Doctor en Ciencias Agropecuarias**

**Córdoba, 2018**

**DESARROLLO DE HERRAMIENTAS  
ESTADÍSTICO-COMPUTACIONALES PARA EL  
ANÁLISIS DE ENSAYOS AGRÍCOLAS  
MULTIAMBIENTALES**

**Ing. Agr. Fernando Matías Aguate**

**Comisión Asesora de Tesis**

**Director:** Ing. Agr. (*Dra*) Mónica Balzarini

**Asesores:** Ing. Agr. (*Dr*) Carlos Biasutti

Ing. Agr. (*Dra*) Cecilia Bruno

**Tribunal Examinador de Tesis**

Ing. Agr. (*Dr*) Carlos Biasutti

Ing. Agr. (*Dra*) Natalia Bonamico

Ing. Agr. (*Dr*) Ramiro Néstor Curti

**Presentación formal académica**

17 de Septiembre, 2018  
Facultad de Ciencias Agropecuarias  
Universidad Nacional de Córdoba

## AGRADECIMIENTOS

*El trabajo aquí presentado ha sido posible gracias a la colaboración de un gran número de personas e instituciones, a las cuales quiero expresar gratitud por el apoyo y la confianza que me han prestado.*

*En primer lugar quisiera agradecer a todas las personas que han hecho de la cátedra de Estadística y Biometría de la Facultad de Ciencias Agropecuarias - Universidad Nacional de Córdoba, un lugar de trabajo ameno y de compañerismo.*

*Debo un especial reconocimiento a mi directora de tesis, Dra. Mónica Balzarini por aceptarme para realizar esta tesis doctoral bajo su dirección. Su apoyo y confianza en mi trabajo y su capacidad para guiar mis ideas han sido un aporte invaluable, no solo en el desarrollo de esta tesis, sino también en mi formación académica y profesional.*

*A la Dra. Cecilia Bruno y el Dr. Carlos Biasutti por aceptar guiar este trabajo mediante su asesoría.*

*A los profesores Julio Di Rienzo y Mariano Córdoba por compartir sus ideas y conocimientos conmigo. A los profesores Laura González, Margot Tablada y David Morales por su motivación, consejos y sobre todo buena onda.*

*A los becarios, Diego, Franca, Pablito, Miguel, Andrés, Andrea, Angélica, Estefi, Euge, Moni Pic y Mati, por compartir su amistad, buenos y malos ratos conmigo.*

*A los profesores Dr. Victor Sadras, Dr. Pablo Abbate y Dr. Gustavo de los Campos por aceptarme como pasante en sus respectivos centros de investigación y compartir sus conocimientos.*

*A la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional de Córdoba por brindar un espacio de trabajo.*

*Al Consejo de Investigación Científica y Tecnológica por promover este y otros trabajos de investigación a través de incentivos y becas.*

*Agradezco a los Miembros del Comité Evaluador por aceptar gentilmente formar parte del tribunal examinador y por dedicar su valioso tiempo a la revisión de este trabajo.*

*A todas aquellas personas que han expresado su amistad de una u otra manera, incluyendo familiares, amigos y segundas familias.*

## RESUMEN

Los ensayos multiambientales son conducidos para evaluar genotipos a través de localidades y años, generando bases de datos que frecuentemente están incompletas debido a algunos genotipos no evaluados en algunos ambientes. El sesgo en las estimaciones de componentes de varianza derivadas de estas bases de datos, depende de la dimensión de los datos, la proporción de valores faltantes y el mecanismo de reemplazo de genotipos. El objetivo de este estudio es proponer y evaluar estrategias para el análisis estadístico confiable del mérito genético y la estabilidad de genotipos vegetales a través de ambientes en redes de ensayos. Los resultados, basados en datos reales y simulaciones, muestran que a pesar de la incompletitud de los ensayos, cuatro años de evaluación son preferidos para obtener estimaciones de componentes de varianza. Adicionar años al análisis de ensayos multiambientales es beneficioso para el entendimiento del desempeño de genotipos en sentido amplio y en sentido específico. Esto beneficia la recomendación de genotipos y debería ser considerado al momento de tomar decisiones relacionadas al reemplazo de genotipos. Los valores faltantes aumentan el sesgo de las estimaciones de componentes de varianza obtenidas mediante máxima verosimilitud restringida. No obstante, su efecto es menor cuando se analizan varios años de ensayos. El análisis de ensayos multiambientales necesita de mediciones del rendimiento parcelario que usualmente se obtiene luego de la cosecha. Sin embargo, existen nuevas metodologías para obtener información fenotípica antes del momento de cosecha que pueden agilizar la toma de decisiones y posiblemente reducir los recursos destinados al fenotipado. Mediante cámara hiperespectrales se mide la reflectancia a cientos de longitudes de onda, que puede usarse para predecir el rendimiento. En este estudio se compararon modelos predictivos usando información espectral para la predicción del valor fenotípico parcelario. Los resultados indicaron que un modelo bayesiano se destaca en su capacidad predictiva combinando información espectral. Finalmente, esta tesis propone el uso protocolar de algunas herramientas estadísticas para el análisis de ensayos multiambientales.

**Palabras clave:** estimación de componentes de varianza, interacción genotipo-ambiente, modelos lineales mixtos, predicción fenotípica, selección de genotipos.

## ABSTRACT

Multi-environment trials are conducted to evaluate cultivars across locations and years, generating datasets that are often incomplete due to cultivars not tested in some environments. The bias of variance component estimations derived from these datasets depends on data dimension, proportion of missing values and the drop-out mechanism implemented for cultivar selection. The objective of this study is to propose and evaluate strategies of statistical analysis to derive genetic merits and genotype stability of cultivars across environments in networks of trials. Results based in real and simulated data, showed that, regardless of the existing imbalance in the datasets, four or more years of evaluation are preferred to obtain estimations of variance components. Adding years to the analysis of multi-environment trials is beneficial to the understanding of cultivar performance in broad and narrow senses. This improve cultivar recommendations and should be consider when taking decisions of cultivar replacements. Missing values increase bias in variance component estimates obtained with restricted maximum likelihood methodolgy. Nevertheless, their effect is attenuated when analyzing several years of data. The analysis of multi-environment trials needs yield measurement of plots that are usually obtained after harvesting. However, new methodologies can obtain phenotypic data before harvesting, possibly expediting the decision-making process and reducing resources allocated to phenotyping. Hiper-spectral cameras measure reflectance at potentially hundreds of wave-lengths, which can be used to predict grain yield. This study compared predictive models using spectral information to obtain plot phenotypic values. Results showed that a bayesian model performs particularly well in predictive capacity combining spectral data. Finally, this thesis proposes a protocole using some statistical tools for the analysis of multi-environment trials.

**Key words:** Variance component estimation, genotype-by-environment interaction, mixed linear models, phenotypic prediction, cultivar selection.

# TABLA DE CONTENIDO

<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>1</b>
<b>INTRODUCCIÓN GENERAL</b> .....	<b>1</b>
OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	5
MARCO TEÓRICO .....	6
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	<b>14</b>
<b>IMPACTO DEL NÚMERO DE AÑOS INCLUIDOS EN ANÁLISIS MULTI-ANUALES DE REDES DE ENSAYOS COMPARATIVOS DE GENOTIPOS</b> .....	<b>14</b>
INTRODUCCIÓN .....	14
MATERIAL Y MÉTODOS .....	17
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	21
CONCLUSIONES .....	32
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	<b>34</b>
<b>EFFECTO DE VALORES FALTANTES EN LOS ESTIMADORES DE COMPONENTES DE VARIANZA EN ENSAYOS MULTIAMBIENTALES</b> .....	<b>34</b>
INTRODUCCIÓN .....	34
MATERIAL Y MÉTODOS .....	36
RESULTADOS .....	40
DISCUSIÓN .....	47
CONCLUSIONES .....	50
<b>CAPÍTULO 4</b> .....	<b>51</b>
<b>PROTOCOLO PARA EL ANÁLISIS DE ENSAYOS MULTIAMBIENTALES COMPARATIVOS DE GENOTIPOS</b> .....	<b>51</b>
INTRODUCCIÓN .....	51
ETAPA I: MODELACIÓN ESTADÍSTICA .....	53
ETAPA II: EXPLORACIÓN DE LA INTERACCIÓN G×E .....	59
ETAPA III: RECOMENDACIÓN DE GENOTIPOS .....	62
RUTINAS DE SOFTWARE PARA EL ANÁLISIS DE ENSAYOS MULTIAMBIENTALES .....	64
<b>CAPÍTULO 5</b> .....	<b>90</b>
<b>DESEMPEÑO ESTADÍSTICO DE MODELOS PARA FENOTIPADO AUTOMÁTICO DE ENSAYOS COMPARATIVOS DE GENOTIPOS</b> .....	<b>90</b>
INTRODUCCIÓN .....	90

MATERIALES Y MÉTODOS .....	92
RESULTADOS.....	98
DISCUSIÓN.....	101
CONCLUSIÓN .....	105
<b>CONCLUSIONES GENERALES .....</b>	<b>106</b>
<b>BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>108</b>
<b>ANEXO 1.....</b>	<b>119</b>
<b>DATOS COMPLEMENTARIOS A LOS RESULTADOS PRESENTADOS EN EL CAPÍTULO 2 .....</b>	<b>119</b>
<b>ANEXO 2.....</b>	<b>124</b>
<b>DATOS COMPLEMENTARIOS A LOS RESULTADOS PRESENTADOS EN EL CAPÍTULO 3 .....</b>	<b>124</b>
<b>ANEXO 3.....</b>	<b>128</b>
<b>DATOS COMPLEMENTARIOS A LOS RESULTADOS PRESENTADOS EN EL CAPÍTULO 4 .....</b>	<b>128</b>

## LISTA DE TABLAS

Tabla 2.1. Rendimiento (Rto) en granos, número de localidades (L) y número de genotipos (G), porcentaje de valores faltantes (VF) y estimación de componentes de varianza (CV) para cuatro tipos de ensayos multiambientales comparativos de rendimiento de trigo .....	23
Tabla 2.2. Varianza de estabilidad de genotipos de trigo (expresada como desviación estándar) a través de localidades (SL) y años (SY) en la subregión IV de la región triguera argentina. Correlación entre medidas de estabilidad y proporción de genotipos comunes en el tercio superior de ambas medidas de estabilidad. ....	30
Tabla 2.3. Rendimiento de trigo, número de localidades (L) y genotipos (G), porcentaje de valores faltantes (VF), componentes de varianza genética (G) e interacciones ( $G \times L$ y $G \times Y$ ) y repetibilidad genética (H) de ensayos en 4 subregiones dentro de la región triguera Argentina. ....	31
Tabla 3.1. Estimadores promedio obtenidos desde ocho Tablas de datos reales provenientes de evaluaciones multiambientales de genotipos de trigo para pan. ....	38
Tabla 3.2. Porcentaje de valores faltantes en relación al porcentaje de descarte de genotipos y del número de años en evaluación. ....	39
Tabla 3.3. Efectos del número de años y porcentaje de valores faltantes (VF) en las estimaciones de las componentes de varianza relacionadas a los efectos genotípicos (G, GL, GY y GLY). ....	45
Tabla 5.1. Modelos de regresión usados para predecir el rendimiento en granos desde 62 bandas de reflectancia capturadas mediante cámaras hiperespectrales. ....	96
Tabla 5.2. Correlación entre valores observados y ajustados para 9 modelos predictivos basados en información espectral de cultivo próxima a la cosecha. ....	100
Tabla 5.3. Correlación entre valores observados y ajustados para 9 modelos predictivos basados en información espectral de cultivo en 5 momentos entre floración y cosecha. ...	101



Tabla A1.1. Rendimiento (Rto) en granos, número de localidades (L) y número de genotipos (G), porcentaje de valores faltantes (VF) y estimación de componentes de varianza (CV) para cuatro tipos de ensayos multiambientales comparativos de rendimiento de trigo.....	120
Tabla A1.2. Varianza de estabilidad de genotipos (expresada como desviación estandar) a través de localidades (SL) y años (SY) en la subregión IV. Correlación entre ambas medidas de estabilidad y proporción de genotipos comunes en el tercio superior de ambas medidas de estabilidad. Información presentada para ensayos con tratamiento de fungicidas (CF) y ensayos sin tratamiento (SF) de genotipos con 4 niveles de largo de ciclo: ciclo corto (CC), ciclo corto-intermedio (CI), ciclo largo (CL) y ciclo largo intermedio (LI).....	121
Tabla A1.3. Mérito genético (BLUP), varianzas de estabilidad genotípica (expresadas como desvíos estandar) a través de los años (SY) y a través de las localidades (SL) para genotipos de ciclo corto evaluados en ensayos multiambientales con tratamiento con fungicidas. ..	122
Tabla A2.1. Efectos del número de años y porcentaje de valores faltantes (VF) en las estimaciones de las componentes de varianza relacionadas a los efectos genotípicos (G, GL, GY y GLY) y en el RMSE para el escenario dos (datos con 40 genotipos evaluados por año en 40 localidades). .....	125
Tabla A2.2. Efectos del número de años y porcentaje de valores faltantes (VF) en las estimaciones de las componentes de varianza relacionadas a los efectos genotípicos (G, GL, GY y GLY) y en el RMSE para el escenario tres (datos con 80 genotipos evaluados por año en 10 localidades). .....	126
Tabla A2.3. Efectos del número de años y porcentaje de valores faltantes (VF) en las estimaciones de las componentes de varianza relacionadas a los efectos genotípicos (G, GL, GY y GLY) y en el RMSE para el escenario cuatro (datos con 80 genotipos evaluados por año en 40 localidades).....	127
Tabla A3.1. Descripción de los ensayos evaluados. ....	129
Tabla A3.2. Número de variables latentes usadas (Seleccionados por validación cruzada) en la regresión por mínimos cuadrados parciales (PLS).....	129

Tabla A3.3. Correlación estimada mediante validación cruzada para cada método de predicción ajustado con datos de los tiempos T1 al T4. Errores estandar (EE) y comparaciones obtenidas de 30.000 remuestreos bootstrap. ....	130
Tabla A3.4. Correlación estimada mediante validación cruzada para cada método de predicción ajustado juntando datos tomados en diferentes tiempos. Errores estandar (EE) y comparaciones obtenidas de 30.000 remuestreos bootstrap. ....	131
Tabla A3.5. Proporción estimada de efectos no nulos en el modelo BayesB y región de confianza al 95% para el parámetro. ....	132

# LISTA DE FIGURAS

- Figura 2.1. Componentes de varianza en ensayos multiambientales de trigo, según cantidad de años que conforman la base de datos. Información presentada para ensayos tratados con fungicidas (cuadrados) y sin tratar (círculos). Barras verticales representan error estandar de las estimaciones. Las Figuras a la izquierda muestran resultados de los periodos de años hacia atrás y las Figuras a la derecha de los periodos hacia adelante. ....25
- Figura 2.2. Repetibilidad de la media de genotipos (H) obtenida de ensayos de genotipos de trigo en función de la base de datos. Información presentada para ensayos tratados con fungicidas (CF) y sin tratar (SF), para ensayos de genotipos de ciclo corto (CC) y de ciclo largo (CL). Las Figuras a la izquierda muestran resultados de los periodos de años hacia atrás y las Figuras a la derecha de los periodos hacia adelante. ....27
- Figura 2.3. Varianza de estabilidad de genotipos a través de años (panel izquierdo) y a través de las localidades (panel derecho), expresadas en desvíos estandar, y méritos genéticos (BLUP) de genotipos de ciclo corto evaluados en ensayos con tratamiento con fungicidas. Lineas de puntos horizontales y verticales representan la mediana de cada eje. Círculos negros representan genotipos con desempeño deseable. .... 32
- Figura 3.1. Sesgo relativo (%) de la estimación de varianza genotípica en relación al porcentaje de valores faltantes y al número de años de evaluación. Cuatro escenarios con diferentes números de genotipos por año (G) y localidades (L) son presentados: Escenario uno, 40 G en 10 L; Escenario dos, 40 G en 40 L; Escenario tres, 80 G en 10 L; Escenario cuatro, 80 G en 40 L. ....41
- Figura 3.2. Sesgo relativo (%) de la estimación de varianza de interacción genotipo×localidad en relación al porcentaje de valores faltantes y al número de años de evaluación. Cuatro escenarios con diferentes números de genotipos por año (G) y localidades (L) son presentados: Escenario uno, 40 G en 10 L; Escenario dos, 40 G en 40 L; Escenario tres, 80 G en 10 L; Escenario cuatro, 80 G en 40 L..... 43
- Figura 3.3. Sesgo relativo de la estimación de varianza de interacción genotipo×año en relación al porcentaje de valores faltantes y al número de años de evaluación. Cuatro

escenarios con diferentes números de genotipos por año (G) y localidades (L) son presentados: Escenario uno, 40 G en 10 L; Escenario dos, 40 G en 40 L; Escenario tres, 80 G en 10 L; Escenario cuatro, 80 G en 40 L. ....	44
Figura 3.4. Impacto de los valores faltantes en la repetibilidad de la media de genotipos con número variable de años. Cuatro escenarios con diferentes números de genotipos por año (G) y localidades (L) son presentados: Escenario uno, 40 G en 10 L; Escenario dos, 40 G en 40 L; Escenario tres, 80 G en 10 L; Escenario cuatro, 80 G en 40 L. ....	46
Figura 4.2. Biplot de un modelo AMMI. La información presentada corresponde al primer año de evaluación de 32 genotipos de trigo para pan en 17 localidades de la región triguera argentina.....	75
Figura 4.3. Biplot de un modelo AMMI. La información presentada corresponde al segundo año de evaluación (2008) de 32 genotipos de trigo para pan en 11 localidades de la región triguera argentina. ....	77
Figura 4.4. GGE biplot. Información presentada correspondiente al primer año de evaluación, de 32 genotipos de trigo para pan en 17 localidades de la región triguera argentina.....	78
Figura 4.5. GGE Biplot construido con la primera y la tercera componente principal. La información presentada corresponde al primer año de evaluación (2007) de 32 genotipos de trigo para pan en 17 localidades de la región triguera argentina. ....	79
Figura 4.6. Biplot AMMI de la interacción entre 84 genotipos de trigo para pan y 18 localidades de la región triguera argentina. ....	81
Figura 4.7. Relación lineal entre el rendimiento y la calidad ambiental (medida como la media del rendimiento en cada ambiente) de 3 genotipos de trigo para pan. ....	84
Figura 4.8. Identificación de genotipos superiores en rendimiento y de mayor estabilidad a través de ambientes formados por las localidades de Paraná, Rafaela y Maciel, que forman parte del norte de la región triguera argentina. La línea roja marca la media de genotipos evaluados. ....	87

Figura 4.9. Recomendación de genotipos basada en predicciones del rendimiento promedio de los genotipos y sus inestabilidades a través de 8 años de evaluación. La línea roja marca el rendimiento medio. ....	88
Figura 5.1. Gráfico de cajas del rendimiento en granos en ensayos de híbridos precomerciales de maíz llevados a cabo en la estación experimental del CIMMYT en Ciudad Obregón, Sonora, México, en 2014. ....	98
Figura 5.2. Correlación entre bandas a diferente longitud de onda (nm) en momento próximo a cosecha (Figura izquierda) y proporción de varianza explicada de las primeras componentes principales extraídas desde las 62 bandas. ....	99
Figura 5.3. Correlación entre valores observados y predichos para distintos modelos predictivos de rendimiento, ajustados con datos espectrales de distintos momentos entre floración y cosecha (T1, ..., T5) y con datos de varios momentos. ....	100

# LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

AIC: Criterio de información de Akaike  
AMMI: Efectos principales aditivos e interacción multiplicativa  
ANOVA: Análisis de varianza  
AR1: estructura autorregresiva de orden uno  
BayesB: Modelo bayesiano de penalización y selección de variables  
BCA: bloques completos aleatorizados  
BIC: Criterio de información de Bayes  
BLUE: Mejor estimador lineal insesgado  
BLUP: Mejor predictor lineal insesgado  
CC: Ciclo corto  
CF: Tratados con fungicidas  
CI: Ciclo corto-intermedio  
CIMMYT: Centro Internacional de mejoramiento de maíz y trigo  
CL: Ciclo largo  
CMAR: Valores faltantes completamente al azar  
 $cvd_i$ : Coeficiente de variación de la diferencia porcentual  
CWMI: Índice de agua en el canopeo  
EM: Ensayo multiambiental  
FA: Factor analítico  
FS: Fisher score  
**G**: Matriz de varianzas y covarianzas de los efectos aleatorios  
 $G \times E$ : Interacción genotipo-ambiente  
 $G \times L$ : Interacción genotipo-localidad  
 $G \times L \times Y$ : Interacción genotipo-localidad-año  
 $G \times Y$ : Interacción genotipo-año  
H: Repetibilidad genética de la media de genotipos  
INASE: Instituto Nacional de Semillas  
INTA: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria  
IV: Índice de vegetación  
LI: Ciclo largo-intermedio  
LRT: Prueba de cocientes de verosimilitud  
MAR: Valores faltantes aleatorios  
MCARI2: Índice modificado de la relación de absorbancia de la clorofila  
ML: Máxima verosimilitud  
MLM: Modelos lineales mixtos  
mND: Índice de la diferencia normalizada a 705 nm  
MTCI: Índice de clorofila terrestre  
NDVI: Índice de vegetación de diferencia normalizada  
NIR: Espectro infrarojo  
OLS: Regresión por mínimos cuadrados  
PC1: Primera componente principal  
PC2: Segunda componente principal  
PCA: Análisis de componentes principales  
PLS: Regresión por mínimos cuadrados parciales

PRI: Índice de la reflectancia fotoquímica  
**R**: Matriz de varianzas y covarianzas de los efectos residuales  
*rc*: Respuesta correlacionada  
*rd*: Respuesta directa  
REML: Máxima verosimilitud restringida  
RET: Red oficial de ensayos de genotipos comerciales de trigo para pan en Argentina  
*r<sub>g</sub>*: Correlación genética  
RMSE: Raíz del error cuadrático medio  
SC: Simetría compuesta  
SF: Tratamiento sin fungicidas  
SVD: Descomposición por valor singular  
VC: Componentes de varianza  
VL: Variable latente

# CAPÍTULO 1

## INTRODUCCIÓN GENERAL

La evaluación de variedades de distintos cultivos es una de las prácticas de investigación más antigua dentro de las ciencias agrícolas y ha tenido un enorme impacto en la producción mundial de alimentos, particularmente en los últimos 100 años. El aumento sostenido de la producción agrícola orienta a la investigación hacia alcanzar la producción de mayores cantidades y mejores calidades de commodities y productos agro-alimentarios en un marco de agricultura sostenible. La búsqueda de genotipos de buen desempeño a través de los ambientes de cultivo de una región, o de genotipos destacados en ambientes específicos, es crítica en la producción de agroalimentos (Khalil *et al.*, 2011). Con el desafío de aumentar la producción de cultivos a una tasa suficiente que asegure la soberanía alimenticia, es necesario la investigación tanto en herramientas biotecnológicas como en métodos de mejoramiento vegetal convencional. Para esto, resulta necesario que los métodos estadísticos utilizados sean capaces de analizar datos de evaluación de genotipos de la forma más eficiente e informativa posible. Resulta crucial identificar diferencias entre los genotipos vegetales y ajustar la tecnología productiva al ambiente biofísico y socio-económico del cultivo en cada territorio.

En Argentina, las regiones de producción de los principales cultivos para grano cubren extensas áreas geográficas, a lo largo de un amplio rango latitudinal, observándose importantes variaciones de condiciones climáticas (en especial balance hídrico, radiación y temperatura) y edáficas (tipos de suelo y manejo que condicionan aspectos tales como el nivel de materia orgánica, compactación de suelo y agua útil al inicio del cultivo). Éstas contribuyen fuertemente a las variaciones observadas en el comportamiento de los genotipos a través de los ambientes. La interacción genotipo×ambiente (G×E) influye tanto el rendimiento como la calidad de grano y por tanto el mercado de valores de los productos derivados (Dardanelli *et al.*, 2006; Munaro *et al.*, 2011). Para mejorar la comprensión de este fenómeno, existen numerosos ensayos multiambientales (EM) comparativos de genotipos. Los EM proveen datos para (i) evaluar el desempeño agronómico promedio de los genotipos y la estabilidad tanto en ambientes individuales como a través de los ambientes, e identificar así a los genotipos superiores; (ii) evaluar la relación entre ambientes de ensayos y definir si la región de interés puede ser dividida en diferentes mega-ambientes (Yan *et al.*, 2000) (iii)



estimar brechas de rendimientos entre el rendimiento alcanzable en situaciones controladas de ensayos y el rendimiento alcanzado por los productores en los distintos ambientes (Hall *et al.*, 2012); (iv) identificar los caracteres genotípicos más sensibles a las variaciones ambientales así como las variables climáticas y de suelo de mayor contribución en la explicación de la variabilidad de las respuestas de los genotipos en cada ambiente (Vargas *et al.*, 1999; Cirilo *et al.*, 2009; Bacigaluppo *et al.*, 2011).

Los estudios de interacción  $G \times E$  y de comparación de rendimientos en EM contribuyen a comprender procesos que son cruciales para obtener desarrollos tecnológicos de alta especialización y diferenciación en ambientes o grupos de ambientes particulares. Es por esto, que los programas de mejoramiento genético de los principales cultivos en todo el mundo obtienen información de sus materiales a partir de la implementación de EM para la selección de genotipos superiores. El análisis correcto y la efectiva interpretación de la información proveniente de estos ensayos constituyen una parte fundamental de todo programa de evaluación de genotipos.

Para la evaluación de EM existen modelos estadísticos contemporáneos que permiten el estudio de estabilidad de genotipos, conocer la contribución relativa de las diferentes fuentes de variación (usualmente año y localidad) y principalmente brindan herramientas de selección en función de las características en estudio. Con el desarrollo informático que caracteriza al siglo XXI se extendió al contexto de evaluación de EM el uso de modelos lineales mixtos (MLM) (West *et al.*, 2007). Éstos consisten en la estimación o predicción de una combinación lineal de efectos fijos y aleatorios para los términos especificados del modelo, resultando en la valoración ajustada de los efectos fijos y de las componentes de varianza (VC) asociadas a los efectos aleatorios. Existe un gran número de MLM que pueden ajustarse de acuerdo al objetivo del análisis, la información con la que se cuenta y la interpretación del problema. Particularmente, en el contexto de EM, existen muchas aristas de los MLM que aún no han sido evaluadas, algunas de las cuales serán abordadas en esta tesis.

La mayoría de las bases de datos que reúnen EM para realizar análisis multi-anales, no son balanceadas, es decir, no todas tienen la totalidad de los genotipos bajo ensayo en todos los años. Los genotipos de pobre desempeño son descartados tempranamente y continuamente se agregan nuevos genotipos cada año, lo que da lugar a bases de datos

fuertemente desbalanceadas. Desde el punto de vista estadístico, esto puede suponer un problema de análisis cuando el grado de desbalance alcanza niveles críticos. Particularmente, el desbalance afecta las estimaciones de varianzas en los modelos estadísticos y complica su procedimiento de cálculo. En la práctica, una solución común a este problema, fue el ajuste de modelos por año, tratando de unir sus resultados en una conclusión más general. Con el desarrollo de modelos estadísticos más avanzados, se hizo posible la obtención de mejores estimaciones combinando información de varios años de análisis, aún cuando no fuere balanceada. Las estimaciones de VC en EM permiten derivar medidas de estabilidad de los genotipos a través de los años y localidades, información útil en la toma de decisiones para la selección de genotipos. A pesar de la evolución en las metodologías de análisis estadístico, las cuales permiten el análisis de múltiples años de EM desbalanceados, las consecuencias de derivar estimaciones de VC desde estos datos no son claras. Según algunos autores (Piepho *et al.*, 2012; Arief *et al.*, 2015) existe un beneficio en analizar conjuntamente mayor cantidad de datos provenientes de EM. En la mayoría de las redes de EM de los principales cultivos en Argentina (soja, maíz, trigo, etc.), es común observar por ensayo un número de genotipos evaluados mayor a 20, y un número de ambientes por año que, si bien varía, es generalmente mayor a 10. Además, es común observar que los porcentajes de valores faltantes superen el 50% luego de 3-4 años de evaluación. La causa principal de esto es el dinamismo del mercado de semillas (no confundir con el porcentaje de adopción, que suele ser bastante menor). Bajo estas condiciones, los MLM suelen ser capaces de estimar la magnitud de las VC consideradas en el modelo. La cuantificación de las componentes de varianza genética y de interacción  $G \times E$  provee información valiosa para investigar la naturaleza y la causa de efectos de interés en el mejoramiento genético de los cultivos. Sin embargo, estas estimaciones podrían ser más o menos sensibles a la proporción de datos faltantes en función de la cantidad y la calidad de datos disponibles para el análisis. Los sesgos en las estimaciones son difíciles de cuantificar mediante datos experimentales de EM ya que no se conoce el verdadero valor de las VC que se quiere estimar. Por el contrario, los estudios de simulación estocástica permiten cuantificar estos sesgos usando los parámetros de simulación como los verdaderos valores a estimar.

Los MLM no sólo permiten obtener estimaciones ajustadas por el desbalance en la información, sino que también facilitan la modelación de correlaciones, por ejemplo espaciales, debidas a condiciones experimentales usadas en los ensayos de cada ambiente y

heterogeneidades de varianza de los datos provenientes de distintos ensayos (Balzarini *et al.*, 2002; Casanoves *et al.*, 2005). No obstante, el rol de los MLM en la interpretación de interacciones aún sigue siendo materia de discusión (Crossa *et al.*, 2010) y no cualquier MLM produce buen resultado bajo situaciones de desbalance. De esto se deriva la necesidad de desarrollar un protocolo de análisis para la evaluación de genotipos bajo contextos experimentales que conllevan a bases de datos desbalanceadas, por ejemplo, análisis multi-anuales.

Por otro lado, y haciendo uso del avance tecnológico en instrumentos de medición remota, actualmente los rendimientos de los genotipos que se evalúan pueden ser predichos más que obtenidos físicamente. La predicción se realiza en base a información espectral que emiten y que son posibles de captar mediante cámaras o satélites. Mediante cámaras hiperespectrales, la reflectancia de cada parcela de un ensayo puede ser medida a diferentes longitudes de onda. Con esta información suelen derivarse índices de vegetación (IV) (Babar *et al.*, 2006) que pueden estar correlacionados a caracteres agronómicos de interés, como el rendimiento en granos. Esta tecnología supone una herramienta rápida de fenotipado automático, cuyos datos generados pueden usarse luego para la comparación de genotipos. Las técnicas de calibración y la transformación de las medidas de reflectancia en una predicción certera del valor fenotípico, constituyen una limitación tecnológica (Montes *et al.*, 2007). Además de los IV, existen distintos modelos predictivos que pueden construirse a partir de la información espectral (es decir, reflectancia a diferentes longitudes de onda) para producir predicciones de rendimiento y otros caracteres de interés. Los modelos de regresión lineal que combinan la información espectral han sido estimados, generalmente, con métodos clásicos como mínimos cuadrados ordinarios (OLS). No obstante, métodos de estimación basados en mínimos cuadrados parciales u otros emparentados a los MLM, podrían proveer mejores predicciones de rendimiento en el contexto de abundante información espectral.

El primer capítulo de esta tesis introduce el marco teórico correspondiente al análisis de EM mediante MLM. El segundo capítulo, ilustra el análisis multi-anual de EM de genotipos comerciales de trigo, estimando VC que serán usadas para diseñar simulaciones con potencialidad para cuantificar sesgos de estimaciones de varianzas genotípicas y de interacción  $G \times E$  en el capítulo subsiguiente. El estudio por simulación pretende cuantificar la bondad de las estimaciones obtenidas mediante MLM e interpretar como éstas se ven

afectadas por la falta de datos en escenarios que difieren en el número de genotipos evaluados por año, el número de localidades y el número de años de ensayos que conforman la base de datos para el análisis multi-anual. En el cuarto capítulo se propone un protocolo de análisis para EM comparativos de genotipos que puede usarse para analizar bases de datos desbalanceadas. En el capítulo 5 se evalúan distintos modelos estadísticos para predecir rendimiento a partir de información espectral medida en las parcelas de los ensayos en distintos momentos del ciclo del cultivo. Finalmente, se realizan comentarios generales sobre las nuevas tecnologías, tanto de captura como de análisis de datos en series de EM.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Evaluar el impacto de extender el número de años de evaluación de ensayos multi-ambientales en las recomendaciones de genotipos.
2. Cuantificar la bondad de estimaciones de componentes de varianza obtenidas con máxima verosimilitud restringida en ensayos multiambientales bajo escenarios de bases de datos multi-anales desbalanceadas debido al reemplazo de genotipos.
3. Desarrollar protocolos para el análisis de series multi-anales de ensayos comparativos de rendimiento de genotipos precomerciales y comerciales.
4. Implementar el flujo de procesamientos de datos recomendados para el análisis de series de ensayos multiambientales (protocolo) en rutinas de software.
5. Investigar las diferencias en desempeño estadístico de modelos aplicables a nuevos datos provenientes de fenotipado automático en ensayos comparativos de genotipos.

## MARCO TEÓRICO

En esta sección se introducirán los modelos estadísticos que más adelante serán aplicados para el análisis de datos provenientes de EM. Vale aclarar que esta sección está inspirada principalmente en los trabajos de Smith et al. (2005) y van Eeuwijk et al. (2001), que describen en detalle la teoría necesaria para comprender las herramientas estadísticas mencionadas a lo largo de esta tesis.

La evaluación de genotipos está generalmente enfocada al análisis de datos de rendimiento. A pesar de que la metodología usada podría aplicarse a otras variables, como caracteres de calidad, este trabajo se basa principalmente en el estudio del rendimiento en grano en cultivos extensivos. El objetivo de los EM es el estudio del desempeño de los genotipos a través de un rango de localidades geográficas y años. De aquí se deriva la necesidad de cuantificar las fuentes de variación debidas a los genotipos, los ambientes (localidades y/o años), la interacción entre genotipos y ambientes, y la variación residual o del error dentro del ensayo. Además, usualmente se necesita una medida de la estabilidad de los genotipos a través de los ambientes, con los propósitos de identificar genotipos de alto rendimiento y estables (adaptación en sentido amplio) o para identificar variedades que tienen alto desempeño bajo ciertas condiciones (adaptaciones a ambientes específicos). En este contexto, el uso de MLM ha tomado gran importancia en el análisis de EM. En los siguientes párrafos se detalla la formulación general de los modelos mixtos y algunas alternativas que éstos ofrecen.

En el modelo clásico para el análisis de EM, los efectos del  $i$ -ésimo cultivar (o genotipo), de un total de  $m$ , en el  $j$ -ésimo ambiente, de un total de  $t$ , están dados por la siguiente ecuación:

$$\eta_{ij} = \mu + \alpha_i + \theta_j + \delta_{ij} \quad [1.1]$$

donde  $\mu$  es el efecto de la media general,  $\alpha_i$  es el efecto principal para el genotipo  $i$ ,  $\theta_j$  es el efecto principal para el ambiente  $j$  y  $\delta_{ij}$  es el efecto de interacción entre el  $i$ -ésimo genotipo y el  $j$ -ésimo ambiente. Este modelo puede re-escribirse en notación matricial de la siguiente manera:

$$\boldsymbol{\eta} = \mathbf{1}_{mt}\mu + (\mathbf{1}_t \otimes \mathbf{I}_m)\boldsymbol{\alpha} + (\mathbf{I}_t \otimes \mathbf{1}_m)\boldsymbol{\theta} + \boldsymbol{\delta} \quad [1.2]$$

donde  $\alpha = (\alpha_1 \dots \alpha_m)'$  es un vector de dimensiones  $m \times 1$  que contiene los efectos principales de genotipos,  $\theta = (\theta_1 \dots \theta_t)'$  es un vector de dimensiones  $t \times 1$  que contiene los efectos principales de ambientes y  $\delta$  es un vector  $mt \times 1$  con los efectos de interacción genotipo-ambiente. Siguiendo la notación estándar para matrices, el vector  $\mathbf{1}_{mt}$  denota un vector unitario de tamaño  $mt$  y la matriz  $\mathbf{I}_m$  denota una matriz identidad de tamaño  $m \times m$ . El símbolo  $\otimes$  representa el producto *Kronecker* de dos matrices. Históricamente, todos los efectos de este modelo se trataban como efectos fijos, pero luego se popularizaron versiones mixtas de este modelo. El efecto de interacción G×E, junto con al menos un efecto principal, son usualmente tratados como efectos aleatorios. El modelo asume a cada conjunto de efectos aleatorios como independientes, con una distribución normal de media nula y varianza constante.

Un escenario común en la práctica es considerar el efecto de cultivar como aleatorio y el efecto del ambiente como fijo. Para este caso, el vector  $\theta$  contiene los efectos fijos del modelo,  $\alpha$  y  $\delta$  contienen los efectos aleatorios:

$$\begin{pmatrix} \alpha \\ \delta \end{pmatrix} \sim N \left[ \begin{pmatrix} \mathbf{0} \\ \mathbf{0} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \sigma_\alpha^2 \mathbf{I}_m & \mathbf{0} \\ \mathbf{0} & \sigma_\delta^2 (\mathbf{I}_t \otimes \mathbf{I}_m) \end{pmatrix} \right] \quad [1.3]$$

donde  $\sigma_\alpha^2$  y  $\sigma_\delta^2$  son los componentes de varianza (VC) para el efecto principal de genotipo y la interacción G×E, respectivamente. Entonces:

$$\begin{aligned} E(\boldsymbol{\eta}) &= \mathbf{1}_{mt} \mu + (\mathbf{I}_t \otimes \mathbf{1}_m) \boldsymbol{\theta} \quad [1.4] \\ \text{var}(\boldsymbol{\eta}) &= (\sigma_\alpha^2 \mathbf{J}_t + \sigma_\delta^2 \mathbf{I}_t) \mathbf{I}_m \end{aligned}$$

donde  $\mathbf{J}_t$  es una matriz unitaria de dimensiones  $t \times t$  (es decir, con todos los elementos iguales a uno). La expansión de esta estructura de varianzas revelaría que todos los efectos de interacción G×E tienen la misma varianza ( $\sigma_\alpha^2 + \sigma_\delta^2$ ), no están correlacionados entre genotipos y para diferentes pares de ambientes (para el mismo genotipo) existe una misma covarianza ( $\sigma_\alpha^2$ ) y por tanto están correlacionados. Esta estructura de covarianzas es conocida con el nombre de estructura uniforme o de simetría compuesta.

Si se asume el escenario opuesto (donde los efectos de genotipos son fijos y los de ambientes aleatorios), también existiría una estructura de covarianzas uniforme, pero ahora

los efectos de interacción G×E para diferentes ambientes no estarían correlacionados y para pares de genotipos (en el mismo ambiente) existiría una misma covarianza ( $\sigma_{\theta}^2$ ).

Con datos balanceados, es decir, todos los genotipos evaluados en todos los ambientes, un modelo solo de efectos fijos (tipo análisis de la varianza, ANOVA) sería posible y la estimación de las VC sería estimable usando los cuadrados medios de una Tabla de ANOVA común. Sin embargo, en la práctica los datos de EM son comúnmente desbalanceados y por tanto el ANOVA no puede realizarse. Para derivar las VC de datos desbalanceados, el método más popular es el de máxima verosimilitud restringida o residual (REML; Patterson y Thompson, 1971). Una vez obtenidas las VC, los efectos fijos pueden estimarse usando estimadores lineales insesgados empíricos (E-BLUE) y los efectos aleatorios pueden predecirse mediante predictores lineales insesgados empíricos (E-BLUP), los cuales serán detallados más adelante.

El análisis descripto hasta ahora puede tener el problema bastante frecuente de asumir una estructura de varianzas uniforme, que puede no ser adecuada si existen varianzas y covarianzas heterogéneas. Además, es posible explorar formalmente la interacción G×E mediante métodos basados en regresiones que relacionan el desempeño de los genotipos con información ambiental como precipitaciones, humedad del suelo y fecha de siembra. El lector puede remitirse al modelo propuesto por Piepho et al. (1998a) para incluir covariables.

Para resumir los patrones de interacción G×E es posible utilizar análisis de componentes principales (PCA), que consisten en la descomposición de la matriz de los efectos de interacción en un número de términos multiplicativos. Esto se basa en la idea que los efectos de interacción G×E pueden explicarse con pocos términos desde un PCA, y que estos términos tienen una interpretación significativa. En el análisis de EM, a este método se lo conoce con el nombre de AMMI (*Additive Main effects and Multiplicative Interaction*; Gauch y Zobel 1996). También existen variantes de este método, como el llamado Regresión por sitio (SREG), el cual descompone el efecto principal de genotipo o ambiente más el efecto de interacción G×E, interpretando los resultados del PCA como efectos combinados (Crossa and Cornelius, 1997). En el contexto de modelos mixtos con efectos de genotipos aleatorios, es posible descomponer los efectos de interacción dentro del modelo considerando:

$$\boldsymbol{\eta} = \mathbf{1}_{mt}\boldsymbol{\mu} + (\mathbf{1}_t \otimes \mathbf{I}_m)\boldsymbol{\alpha} + (\mathbf{I}_t \otimes \mathbf{1}_m)\boldsymbol{\theta} + (\boldsymbol{\Lambda}_e \otimes \mathbf{I}_m)\mathbf{f}_v + \boldsymbol{\delta} \quad [1.5]$$

donde  $\Lambda_e$  es una matriz  $t \times K$  de los pesos ambientales (autovalores para los ambientes obtenidos mediante PCA),  $f_v$  es el vector  $mK \times 1$  asociado a los autovectores de genotipos y  $K$  es el número de componentes principales (términos multiplicativos) incluidos en el análisis. El vector  $\theta$  contiene los efectos fijos, los vectores  $\alpha$ ,  $f_v$  y  $\delta$  contienen efectos aleatorios definidos como:

$$\begin{pmatrix} \alpha \\ f_v \\ \delta \end{pmatrix} \sim N \left[ \begin{pmatrix} \mathbf{0} \\ \mathbf{0} \\ \mathbf{0} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \sigma_\alpha^2 \mathbf{I}_m & \mathbf{0} & \mathbf{0} \\ \mathbf{0} & \mathbf{I}_k \otimes \mathbf{I}_m & \mathbf{0} \\ \mathbf{0} & \mathbf{0} & \Psi_e \otimes \mathbf{I}_m \end{pmatrix} \right] \quad [1.6]$$

donde  $\Psi_e$  es una matriz diagonal  $t \times t$  con varianzas específicas, desde lo cual se deriva:

$$\begin{aligned} E(\eta) &= \mathbf{1}_{mt} \mu + (\mathbf{I}_t \otimes \mathbf{1}_m) \theta \quad [1.7] \\ \text{var}(\eta) &= \sigma_\alpha^2 (\mathbf{J}_t + \mathbf{I}_m) + (\Lambda_e \Lambda_e' + \Psi_e) \otimes \mathbf{I}_m \\ &= (\Lambda_e^* \Lambda_e^{*'} + \Psi_e) \otimes \mathbf{I}_m \end{aligned}$$

donde  $\Lambda_e^* = [\sigma_\alpha \mathbf{1}_t \Lambda_e]$ . Esta estructura de varianzas es conocida como *Factor Analytic* (FA) de orden  $K$ . Una de las ventajas de este modelo es que puede modelar covarianzas heterogéneas entre ambientes de una forma parsimoniosa en comparación al modelo más general, que tendría una estructura de varianzas “no estructurada” (Meyer, 2009). El modelo FA tiene algunas semejanzas con el modelo de regresiones mencionado anteriormente: puede ser visto como una regresión del rendimiento de los genotipos en covariables ambientales (pesos ambientales), pero estas covariables son estimadas desde los datos en lugar de ser medidas externamente. La desventaja de este método es que las covariables ambientales son dependientes de los datos, y por tanto, no pueden usarse para predicciones locales.

Cuando el objetivo del análisis de un EM es la selección (es decir, identificar los mejores genotipos) entonces el ordenamiento de los efectos predichos de genotipos requiere ser lo más parecido al ordenamiento de los verdaderos efectos de genotipos. Los BLUP de los efectos de genotipos, cuando estos son tratados como aleatorios, resultan óptimos para este ordenamiento (Robinson 1991). Las propiedades óptimas de los BLUP (ser insesgados, de mínima varianza uniformemente) se dan cuando las VC del modelo son conocidas. En la



práctica este no suele ser el caso, los parámetros de varianza son estimados desde los datos. Cuando los VC son estimados con suficiente precisión, el ordenamiento de genotipos mediante BLUP empíricos (E-BLUP) es confiable. Por otro lado, si el objetivo es determinar diferencias entre genotipos específicos (realizar una prueba de hipótesis para la diferencia de medias), el uso de medias de genotipos es más recomendable. Por lo tanto, en este caso el efecto de genotipos, debiera ser considerado como efecto fijo. Cabe aclarar que con datos balanceados, el ordenamiento de genotipos sería el mismo sin importar si fue considerado como efecto fijo o aleatorio.

Hasta ahora, no se ha especificado ninguna estructura para el vector de residuos, denotado como  $\varepsilon$ . Los modelos para  $\varepsilon$  pueden especificarse en forma de un análisis para cada ambiente individual, lo que permite varianzas heterogéneas entre estos ambientes. Un modelo general para los errores dentro de cada ambiente podría especificarse de la siguiente manera:

$$\varepsilon_j = \mathbf{X}_{pj}\boldsymbol{\tau}_{pj} + \mathbf{Z}_{pj}\mathbf{u}_{pj} + \mathbf{e}_j \quad [1.8]$$

donde  $\boldsymbol{\tau}_{pj}$  y  $\mathbf{u}_{pj}$  son vectores de efectos fijos y aleatorios, respectivamente, con matrices asociadas  $\mathbf{X}_{pj}$  y  $\mathbf{Z}_{pj}$ ;  $\mathbf{e}_j$  son vectores de error entre parcelas para el  $j$ -ésimo ambiente. Por lo general,  $\boldsymbol{\tau}_{pj}$  y  $\mathbf{u}_{pj}$  son efectos relacionados al diseño experimental y por tanto, no forman parte del objetivo central de análisis, pero deben ser considerados para aumentar la “confiabilidad” de las inferencias. Por lo general, los vectores  $\mathbf{u}_{pj}$  y  $\mathbf{e}_j$  se asumen con distribución normal de media nula y matriz de covarianzas dada por:

$$\text{var} \begin{pmatrix} \mathbf{u}_{pj} \\ \mathbf{e}_j \end{pmatrix} = \begin{bmatrix} \mathbf{G}_{pj} & \mathbf{0} \\ \mathbf{0} & \mathbf{R}_j \end{bmatrix} \quad [1.9]$$

Para cada ambiente pueden obtenerse medias ajustadas a partir del siguiente modelo:

$$y_j = \mathbf{M}_j\boldsymbol{\eta}_j + \mathbf{X}_{pj}\boldsymbol{\tau}_{pj} + \mathbf{Z}_{pj}\mathbf{u}_{pj} + \mathbf{e}_j \quad [1.10]$$

donde  $\boldsymbol{\eta}_j$  representa los efectos de los genotipos en el  $j$ -ésimo ambiente siendo  $\mathbf{M}_j$  la matriz de diseño de estos efectos. Si el experimento fue diseñado en bloques completos aleatorizados con  $n_{rj}$  réplicas, entonces  $\mathbf{u}_{pj}$  tendría una longitud de  $n_{rj}$  y asumiendo los efectos independientes con varianza constante, entonces  $\mathbf{G}_{pj} = \sigma_{rj}^2 \mathbf{I}_{n_{rj}}$  y si los efectos de

error son independientes con varianza  $\sigma_j^2$ , entonces  $\mathbf{R}_j = \sigma_j^2 \mathbf{I}_{n_{rj}}$ . En un diseño de bloques incompletos con  $n_{rj}$  réplicas y  $n_{bj}$  bloques incompletos por réplica (por ejemplo, un diseño *alpha látice*), habría dos sub-vectores  $\mathbf{u}_{pj}$ , uno con los efectos de réplicas y el otro con los efectos anidados de bloques dentro de réplicas. Asumiendo independencia y varianzas  $\sigma_{rj}^2$  y  $\sigma_{bj}^2$  para réplicas y bloques dentro de réplicas respectivamente,  $\mathbf{G}_{pj} = \text{diag}(\sigma_{rj}^2 \mathbf{I}_{n_{rj}}, \sigma_{bj}^2 \mathbf{I}_{n_{bj}})$ ,  $\mathbf{R}_j$  mantendría la misma estructura que en el diseño con bloques completos.

Cuando los ensayos son de gran tamaño (posiblemente varias hectáreas), pueden existir diferencias de fertilidad del suelo dentro del ensayo, que puede controlarse considerando la estructura espacial. Existen varias posibilidades para remover la heterogeneidad espacial de las estimaciones. Los métodos más antiguos consisten en agregar covariables que marcan la posición de las parcelas al modelo. Otros modelos consideran dos fuentes de variación espacial, la variación a gran escala, que se modela a través de las medias, y la variación a pequeña escala, que es modelada a través de la estructura de correlación de los errores. Las tendencias globales pueden modelarse incluyendo efectos en  $\boldsymbol{\tau}_{pj}$  y/o  $\mathbf{u}_{pj}$ . Las tendencias locales suelen contemplarse especificando una estructura de correlación para  $\mathbf{R}_j$ . Existen diferentes estructuras de correlación que pueden considerarse para esta matriz. En general, un proceso autorregresivo de orden uno (AR1) suele ajustar satisfactoriamente. Para elegir la estructura más adecuada existen herramientas de diagnóstico de los modelos que serán tratadas más adelante.

Finalmente, el modelo completo para el análisis de EM puede escribirse de la siguiente manera:

$$y|\boldsymbol{\eta} = \mathbf{M}\boldsymbol{\eta} + \mathbf{X}_p\boldsymbol{\tau}_p + \mathbf{Z}_p\mathbf{u}_p + \mathbf{e} \quad [1.11]$$

$$\boldsymbol{\eta} = \mathbf{X}_\eta\boldsymbol{\tau}_\eta + \mathbf{Z}_\eta\mathbf{u}_\eta$$

donde  $\boldsymbol{\eta} = (\boldsymbol{\eta}_1' \boldsymbol{\eta}_t)'$  es el vector de efectos de interacción G×E con su matriz de diseño asociada  $\mathbf{M} = \text{diag}(\mathbf{M}_j)$ . Los vectores  $\boldsymbol{\tau}_p$  y  $\mathbf{u}_p$  de longitud  $t$ , contienen efectos ensayo específicos (fijos y aleatorios, respectivamente) que modelan el diseño experimental y la variabilidad espacial y  $\mathbf{e}$  son los efectos del error, combinados para todos los ensayos. Las

matrices de diseño para estos efectos están dadas por  $\mathbf{X}_p = \text{diag}(\mathbf{X}_{pj})$  y  $\mathbf{Z}_p = \text{diag}(\mathbf{Z}_{pj})$ . Los efectos  $\boldsymbol{\tau}_\eta$  y  $\mathbf{u}_\eta$  (con sus matrices de diseño  $\mathbf{X}_\eta$  y  $\mathbf{Z}_\eta$ ) son efectos fijos y aleatorios, respectivamente, asociados con el modelo de interacción  $G \times E$ . Los efectos aleatorios  $\mathbf{u}_\eta$  se asumen con distribución normal de media nula y matriz de varianzas  $\mathbf{G}_\eta$ . Siguiendo la notación previa para el caso de efectos de ambiente considerados como fijo, el vector de efectos fijos sería  $\boldsymbol{\tau}_\eta = (\mu, \boldsymbol{\theta}')'$  con matriz de diseño  $\mathbf{X}_\eta = [\mathbf{1}_{mt} \mathbf{I}_t \otimes \mathbf{1}_m]$  y el vector de efectos aleatorios estaría dado por  $\mathbf{u}_\eta = (\boldsymbol{\alpha}', \boldsymbol{\delta}')'$  con matriz de diseño  $\mathbf{Z}_\eta = [\mathbf{1}_t \otimes \mathbf{I}_m \mathbf{I}_t \otimes \mathbf{I}_m]$  y matriz de varianzas  $\mathbf{G}_\eta = \text{diag}(\sigma_\alpha^2 \mathbf{I}_m, \sigma_\delta^2 \mathbf{I}_t \otimes \mathbf{I}_m)$ .

Los efectos aleatorios del modelo completo tienen distribución normal con media nula y matriz de covarianzas respectivas. Los vectores aleatorios se asumen independientes, es por eso la matriz 1.12 tiene una estructura diagonal.

$$\text{var} \begin{pmatrix} \mathbf{u}_\eta \\ \mathbf{u}_p \\ \mathbf{e} \end{pmatrix} = \begin{bmatrix} \mathbf{G}_\eta & \mathbf{0} & \mathbf{0} \\ \mathbf{0} & \mathbf{G}_p & \mathbf{0} \\ \mathbf{0} & \mathbf{0} & \mathbf{R} \end{bmatrix} \quad [1.12]$$

A continuación se dará una revisión general del método REML para la estimación de los parámetros de varianza que luego son usados para la estimación y predicción de los efectos fijos y aleatorios, respectivamente. Para esto, re-escribiremos el modelo completo en su forma más general:

$$\mathbf{y} = \mathbf{X}\boldsymbol{\tau} + \mathbf{Z}\mathbf{u} + \mathbf{e} \quad [1.13]$$

donde  $\boldsymbol{\tau} = (\boldsymbol{\tau}_\eta' \boldsymbol{\tau}_p)'$  es el vector de efectos fijos asociado a la matriz de diseño  $\mathbf{X} = [\mathbf{X}_\eta \mathbf{X}_p]$  (asumida de rango completo) y  $\mathbf{u} = (\mathbf{u}_\eta' \mathbf{u}_p)'$  es el vector de efectos aleatorios asociado a la matriz de diseño  $\mathbf{Z} = [\mathbf{Z}_\eta \mathbf{Z}_p]$ . Puede asumirse que la distribución conjunta de  $\mathbf{u}$  y  $\mathbf{e}$  es normal con media nula y matriz de varianzas

$$\text{var} \begin{pmatrix} \mathbf{u} \\ \mathbf{e} \end{pmatrix} = \begin{bmatrix} \mathbf{G} & \mathbf{0} \\ \mathbf{0} & \mathbf{R} \end{bmatrix} \quad [1.14]$$

donde  $\mathbf{G} = \mathbf{G}(\boldsymbol{\gamma})$  y  $\mathbf{R} = \mathbf{R}(\boldsymbol{\phi})$ ,  $\boldsymbol{\gamma} = (\boldsymbol{\gamma}_\eta', \boldsymbol{\gamma}_p)'$  y  $\boldsymbol{\phi}$  son los parámetros de varianza que deben ser estimados. Además,  $\mathbf{y}$  tiene distribución normal con media  $\mathbf{X}\boldsymbol{\tau}$  y matriz de varianzas  $\mathbf{Z}\mathbf{G}\mathbf{Z}' + \mathbf{R}$ .

Los efectos fijos del modelo son estimados mediante BLUE y los aleatorios predichos mediante BLUP, siguiendo las fórmulas:

$$\hat{\boldsymbol{\tau}} = (\mathbf{X}'\mathbf{H}^{-1}\mathbf{X})^{-1}\mathbf{X}'\mathbf{H}^{-1}\mathbf{y} \quad [1.15]$$

$$\hat{\mathbf{u}} = \mathbf{GZ}'\mathbf{H}^{-1}(\mathbf{y} - \mathbf{X}\hat{\boldsymbol{\tau}})$$

Generalmente, los parámetros en  $\mathbf{H}$  son desconocidos y en la práctica son reemplazados por estimadores REML. El método REML consiste en maximizar el logaritmo de la función de verosimilitud residual, que puede escribirse de la siguiente manera:

$$l_R = -\frac{1}{2}\{\log|\mathbf{H}| + \log|\mathbf{X}'\mathbf{H}^{-1}\mathbf{X}| + \mathbf{y}'\mathbf{P}\mathbf{y}\} \quad [1.16]$$

donde  $\mathbf{P} = \mathbf{H}^{-1} - \mathbf{H}^{-1}\mathbf{X}(\mathbf{X}'\mathbf{H}^{-1}\mathbf{X})^{-1}\mathbf{X}'\mathbf{H}^{-1}$ .

En general, la maximización de esta verosimilitud con respecto a los parámetros de varianza  $\mathbf{k} = (\boldsymbol{\gamma}', \boldsymbol{\phi}')'$  no tiene una solución matemática cerrada y, en la práctica, se hace mediante algoritmos iterativos. En el trabajo original, Patterson y Thompson (1971) utilizan un algoritmo llamado *Fisher Scoring* (FS) que requiere el cálculo de las esperanzas de las derivadas parciales respecto a cada parámetro en  $\mathbf{k}$ . Este algoritmo suele ser computacionalmente muy demandante, especialmente para grandes bases de datos o cuando existen muchos parámetros de varianzas a estimar. Como resultado, se han desarrollado nuevos métodos menos intensivos para trabajar con matrices dispersas (matrices con muchos elementos iguales a cero). Existen métodos para obtener estimaciones REML, como por ejemplo *Direct-Inversion Newton-Raphson*, *Direct-Inversion Average information*, *Expectation-Maximization*, por mencionar algunos. La elección de uno u otro método no debería cambiar demasiado las estimaciones, pero si posiblemente el tiempo de procesamiento.

## CAPÍTULO 2

# IMPACTO DEL NÚMERO DE AÑOS INCLUIDOS EN ANÁLISIS MULTI-ANUALES DE REDES DE ENSAYOS COMPARATIVOS DE GENOTIPOS

### INTRODUCCIÓN

Luego del proceso de selección de genotipos candidatos en un plan de mejoramiento genético, el desempeño de los nuevos genotipos es evaluado rutinariamente a través del tiempo y el espacio (Basford y Cooper 1998; Roozeboom *et al.*, 2008). La evaluación multiambiental es de interés para productores y mejoradores porque permite comparar el desempeño de genotipos recientemente liberados contra un amplio rango de genotipos comerciales. Estos estudios suelen considerar estadísticamente los efectos de años y localidades en la variabilidad del rendimiento, pero frecuentemente usan combinaciones de localidad-año como término para los efectos ambientales, sin separar la influencia de componentes de manejo del efecto ambiental (Anderson, 2010). La variación ambiental del rendimiento en la mayoría de los cultivos es mayor que la variación debida a genotipos, manejo o efectos de interacción G×E (Laidig *et al.*, 2008). En países productores de trigo para pan (*Triticum aestivum L.*), los genotipos comerciales son evaluados anualmente en ensayos multilocalidad para seleccionar los adaptados localmente. En estos ensayos, el cultivo crece bajo influencia de un rango de condiciones ambientales, generalmente combinadas con varias prácticas de manejo como la elección de la fecha de siembra de acuerdo al largo de ciclo o el control de enfermedades. Consecuentemente, evaluar genotipos nuevos implica la existencia de varias fuentes de variación que impactan el rendimiento en granos, el carácter más evaluado en la comparación de genotipos de trigo desde ensayos replicados.

En general, los datos para estudios multi-anales están altamente desbalanceados porque la mayoría de los genotipos son reemplazados luego de algunos años. En series de ensayos que se extienden por varios años, los datos faltantes se acumulan. Esto resulta en un nivel de desbalance que se incrementa a medida que se van incorporando más años de

evaluación en el análisis. En la mayoría de los EM, los datos dentro de un año tienden a estar completos con respecto a los genotipos y localidades evaluadas. Sin embargo, esto no suele cumplirse cuando se consideran las combinaciones de genotipos y años dentro de una base de datos que compila varios años de evaluación (Laidig *et al.*, 2008). Para evitar el problema del desbalance, el análisis estadístico es usualmente realizado por año. No obstante, el estudio de la adaptación específica o de la estabilidad de los genotipos requiere un número de años adecuado para determinar qué genotipos se adaptan mejor a la región objetivo. Brennan *et al.* (1981) considera que períodos de cuatro años de ensayos de trigo son necesarios para identificar grupos de ambientes consistentes. El análisis de un único año de evaluación de genotipos ha sido criticado debido a que no provee estimaciones de la interacción entre genotipos y años. El análisis de un año de evaluación puede producir estimadores sesgados de la varianza genética y la varianza de interacción genotipo-localidad (Arief *et al.*, 2015). Por el contrario, el análisis multi-anual permite separar la interacción  $G \times E$  en sus componentes: genotipo-localidad ( $G \times L$ ), genotipo-año ( $G \times Y$ ) y su interacción triple ( $G \times L \times Y$ ). El análisis multi-anual es importante porque provee estimaciones de la variabilidad genética interanual, lo que reduce el porcentaje de varianza de interacción  $G \times E$  no explicada y mejora la estimación de los efectos genotípicos. Sin embargo, este análisis puede no ser posible debido a restricciones computacionales o a la falta de conexión de los datos a través de los años. Piepho *et al.* (2012) proponen un método de ajuste de modelos estadísticos en varios pasos para el análisis de grandes series de EM (datos multi-anales). El método más simple consiste en dos pasos: en primer lugar, obtener medias ajustadas desde localidades individuales y, en segundo lugar, ajustar un modelo que integre estas medias a través de series de ensayos anuales. Sin embargo, los análisis anuales nunca aproximan la eficiencia estadística de los análisis multi-anales, excepto en los casos más simples donde la proporción de interacción  $G \times Y$  es excepcionalmente baja. Otra alternativa de análisis consiste en separar datos en períodos de algunos años y analizarlos separadamente para luego elaborar conclusiones generales. El número de años a usar para la evaluación confiable de genotipos está todavía en debate y debería variar con la magnitud relativa de VC y el grado de conexión de los datos a través de los años (es decir, el reemplazo de los genotipos en la red de ensayos).

Laidig *et al.* (2008), estimaron la variabilidad genotípica y ambiental del rendimiento para genotipos de 30 cultivos diferentes. Según sus resultados, menores valores de

interacción  $G \times E$ , especialmente para el componentes  $G \times Y$ , conducen a menores errores estándar para la comparación entre genotipos.

Uno de los principales objetivos de los EM es inferir el desempeño (media general y estabilidad) de los genotipos en estudio en sitios potenciales. Los efectos genotípicos,  $G \times L$  y  $G \times Y$  a predecir podrían ser tratados como aleatorios para este fin. La metodología estándar para las estimaciones de fuentes aleatorias de variación es la de modelos lineales mixtos (MLM), que producen BLUP de los efectos aleatorios (West *et al.*, 2007). Existe un número considerable de publicaciones que demuestran los beneficios de obtener BLUP comparados a otros procedimientos para evaluar efectos genotípicos y estabilidad a través de ambientes (Balzarini *et al.*, 2001; Piepho *et al.*, 2008).

Para evaluar el impacto de la cantidad de años de evaluación en las estimaciones de VC de interés, en esta tesis se realizó un estudio por simulaciones, que requiere de parámetros iniciales para las componentes de varianza. Con la finalidad de proveer a las simulaciones de valores paramétricos similares a los reales, se estimaron componentes de varianza a partir de la red oficial de ensayos de genotipos comerciales de trigo para pan (RET), establecida en Argentina en el año 1935. Esta red es actualmente coordinada por el Instituto Nacional de Semillas (INASE), y conducida por el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) junto con otras instituciones públicas y privadas, a través de toda la región triguera nacional. La evaluación de genotipos liberados recientemente con algunos genotipos comerciales es obligatoria y se realiza bajo dos condiciones de manejo: con tratamiento de fungicidas y sin tratamiento. Cuatro ensayos con diferentes fechas de siembra (que varían en largo de ciclo) son conducidos paralelamente en cada localidad y año. La tasa de renovación de genotipos alcanza el 50% en tres años, lo que resulta en bases de datos altamente desbalanceadas para el análisis multi-anual. En este capítulo se evalúan: (1) los cambios en las VC estimadas desde períodos de años de longitud variable; (2) los efectos de interacción y medidas de estabilidad de genotipos de trigo derivadas de ensayos bajo diferentes condiciones de manejo; (3) la asociación entre la estabilidad de genotipos a través de los años y a través de las localidades.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### DATOS

Los datos del rendimiento en grano de genotipos de trigo para pan están disponibles en la página del INASE ([www.inase.gov.ar](http://www.inase.gov.ar)). Los datos considerados en este estudio cuentan con ocho años (2007 a 2014) de EM, llevados a cabo en la región comprendida entre 23° a 40° latitud sur y 57° a 67° latitud oeste, cubriendo cinco de las nueve subregiones argentinas de producción de trigo. Estas cinco subregiones se denominan: I, IIN, IIS, IV y VN. La subregión I comprende el norte de la provincia de Santa Fé; la subregión IIN comprende el sur de esta provincia; la subregión IIS, el norte de la provincia de Buenos Aires; la subregión IV, el sur de esta provincia; y la subregión VN, gran parte de la provincia de Córdoba. En la RET se evalúan aproximadamente 10 localidades por subregión y por año. Los genotipos que forman parte de la RET son variedades de trigo desarrolladas por todas las empresas semilleras del país y comienzan a evaluarse en su primer año comercial. En el estudio de ocho años, un total de 171 genotipos comerciales de trigo para pan fueron evaluados. Existen diferencias importantes de suelo y condiciones climáticas entre subregiones, que forman parte de un gran área de 46000 km cuadrados de superficie, comprendiendo la mayor parte del este argentino. La subregion I cuenta con clima cálido y seco, siendo la subregion con las condiciones climáticas más adversas. La subregión IV está localizada al sur-este pampeano, con clima templado y húmedo. De acuerdo al largo de ciclo de crecimiento, los genotipos fueron agrupados en cuatro categorías: ciclo corto (CC), corto-intermedio (CI), largo-intermedio (LI) y largo (CL). Los genotipos fueron sembrados en dos fechas en una misma localidad, de acuerdo a su largo de ciclo y recomendaciones de las compañías semilleras. Como resultado, genotipos de diferente largo de ciclo florecieron en aproximadamente la misma fecha. La mayoría de los genotipos fueron evaluados solo en su subregión recomendada. Sin embargo, existió conexión a través de subregiones: 8 de 38 genotipos fueron evaluados en todas las subregiones en cualquier año. Cada categoría de largo de ciclo consistió en dos ensayos, uno tratado con fungicidas (CF) y uno no tratado (SF). No obstante, hubo menos ensayos CF que ensayos SF, porque en áreas marginales el uso de fungicida no es necesario. Los tratamientos fueron llevados a cabo con una mezcla de Triazol y fungicidas del grupo de las estrobirulinas, aplicados cuando el 50% de las parcelas tuvieron la hoja bandera completamente expandida (3.7 en escala *Zadoks*, *Zadoks et al.*, 1974). El uso de fungicidas apunta al control de varios patógenos presentes



frecuentemente en esta región, como *Puccinia triticina*, que causa roya de la hoja, *Drechslera tritici-repentis*, que causa mancha amarilla y *Septoria tritici*, que causa septoriosis. Una importante enfermedad fúngica que escapa este control es el golpe blanco, causado por *Fusarium graminearum*, el cual afecta por lo general en las zonas centro-norte de la región triguera. Los ensayos fueron establecidos bajo un diseño en bloques completos aleatorizados con tres o cuatro repeticiones. El tamaño de las parcelas fue de siete surcos distanciados cada 20 cm y de 5 metros de largo. Se cosecharon los cinco surcos centrales, determinando su rendimiento en grano y extrapolando a kilogramos por hectárea. La Tabla 2.1 muestra la estructura de los datos. Estos son altamente desbalanceados debido principalmente al reemplazo anual de genotipos. Cada año, ocho ensayos fueron llevados a cabo considerando las cuatro categorías de largo de ciclo en combinación con dos niveles de manejo (con y sin fungicidas). Más de 40 genotipos diferentes entraron en ensayos cada año y fueron evaluados por varios años. Alrededor de 17% de los genotipos fueron descartados luego del primer año de evaluación. Aproximadamente, 22% de genotipos dejaron los ensayos luego del segundo año de evaluación. En el período de ocho años de ensayos, menos de cinco genotipos de los sembrados inicialmente permanecieron en evaluación.

### **ANÁLISIS DEL RENDIMIENTO**

Un modelo factorial a tres vías fue implementado, con efectos debidos a genotipos ( $m$  = total de genotipos en el modelo), localidades ( $t$  = total de localidades en el modelo) y años ( $q$  = total de años en el modelo):

$$\eta_{ijk} = \alpha_i + \theta_j + \beta_k + (\beta\theta)_{kj} + (\alpha\theta)_{ij} + (\alpha\beta)_{ik} + (\alpha\theta\beta)_{ijk} \quad [2.1]$$

$$(y|\eta)_{ijk r} = \mu + \eta_{ijk} + (\beta\theta/b)_{kj/r} + e_{ijk r}$$

donde  $\eta_{ijk}$  es el efecto del  $i$ -ésimo genotipo en la  $j$ -ésima localidad y el  $k$ -ésimo año,  $\alpha_i$  es el efecto principal del  $i$ -ésimo genotipo,  $\theta_j$  es el efecto principal de la  $j$ -ésima localidad,  $\beta_k$  es el efecto principal del  $k$ -ésimo año,  $(\beta\theta)_{kj}$  es el efecto de interacción entre el  $k$ -ésimo año y la  $j$ -ésima localidad,  $(\alpha\theta)_{ij}$  es el efecto de interacción entre el  $i$ -ésimo genotipo y la  $j$ -ésima localidad,  $(\alpha\beta)_{ik}$  es el efecto de interacción entre el  $i$ -ésimo genotipo y el  $k$ -ésimo año y  $(\alpha\theta\beta)_{ijk}$  es el efecto de la triple interacción genotipo-localidad-año.

Además,  $(y|\eta)_{ijk_r}$  es el rendimiento parcelario de la  $r$ -ésima repetición (de un total de  $n$  repeticiones de genotipos por ambiente) condicionada a los efectos antes mencionados,  $\mu$  es la media general,  $(\beta\theta/b)_{kj/r}$  es el efecto de la  $r$ -ésima repetición del diseño en bloques completos para el  $kj$ -ésimo ensayo y  $e_{ijk_r}$  es el término de error asociado a la observación.

Todos los efectos en el modelo, excepto  $\mu$ , fueron asumidos como aleatorios, independientes y distribuidos normales con media nula y varianzas  $\sigma_G^2$ ,  $\sigma_L^2$ ,  $\sigma_Y^2$ ,  $\sigma_{YL}^2$ ,  $\sigma_{GL}^2$ ,  $\sigma_{GY}^2$ ,  $\sigma_{GLY}^2$ ,  $\sigma_B^2$  y  $\sigma_E^2$ , para los efectos de genotipo, localidad, año, interacción año×localidad, G×L, G×Y, G×L×Y, bloque y error, respectivamente. La diagonal de la matriz de covarianzas para los efectos aleatorios del modelo es:  $\sigma_G^2 \mathbf{I}_m$ ,  $\sigma_L^2 \mathbf{I}_t$ ,  $\sigma_Y^2 \mathbf{I}_q$ ,  $\sigma_{YL}^2 \mathbf{I}_q \otimes \mathbf{I}_t$ ,  $\sigma_{GL}^2 \mathbf{I}_m \otimes \mathbf{I}_t$ ,  $\sigma_{GY}^2 \mathbf{I}_m \otimes \mathbf{I}_q$ ,  $\sigma_{GLY}^2 \mathbf{I}_m \otimes \mathbf{I}_t \otimes \mathbf{I}_q$ ,  $\sigma_B^2 \mathbf{I}_n \otimes \mathbf{I}_t \otimes \mathbf{I}_q$ ,  $\sigma_E^2 \mathbf{I}_n$ , respectivamente, y los elementos fuera de la diagonal son todos ceros.

Los datos fueron divididos en períodos de dos a ocho años y las VC fueron estimadas separadamente para cada uno de los siete períodos que resultaron de esta partición. Las estimaciones de VC fueron obtenidas dos veces: hacia delante, comenzando desde el año 2007 (es decir, el período de dos años considera los años 2007 y 2008, el período de tres años, desde 2007 a 2009, etcétera); hacia atrás, comenzando desde el último año (es decir, el período de dos años comprende los años 2013 y 2014, el de tres años desde 2012 a 2014, etcétera). Combinar años hacia adelante y hacia atrás tiene el objetivo de comparar las estimaciones de VC entre períodos de igual longitud pero diferente secuencia cronológica, distinguiendo así entre tendencias repetibles debidas al número de años y no repetibles, debidas a los años cronológicos que entran en el análisis. Las estimaciones fueron obtenidas desde modelos de efectos aleatorios ajustados a cada ensayo usando REML (Patterson y Thompson, 1971) de la manera que está implementada en el paquete “*lme4*” dentro del software de programación estadística R (versión 3.2.3, R core team, 2015). Las estimaciones de VC de los términos genéticos ( $\sigma_G^2$ ,  $\sigma_{GY}^2$ ,  $\sigma_{GL}^2$ , y  $\sigma_{GYL}^2$ ) y la varianza del error ( $\sigma_E^2$ ) fueron combinadas para obtener la repetibilidad de la media de genotipos (H, Fehr, 1987, p. 97) mediante la fórmula:

$$H = \frac{\sigma_G^2}{\sigma_G^2 + \frac{\sigma_{GY}^2}{y} + \frac{\sigma_{GL}^2}{l} + \frac{\sigma_{GYL}^2}{yl} + \frac{\sigma_E^2}{ylb}} \quad [2.2]$$

dónde  $y$ ,  $l$  y  $b$  son promedios ponderados del número de años ( $q$ ), localidades ( $t$ ) y réplicas ( $n$ ) respectivamente, calculados como:

$$y = \frac{n_{mq}}{m}, l = \frac{n_{mqt}}{n_{mq}}, \text{ y } b = \frac{N}{n_{mqt}} \quad [2.3]$$

dónde  $n_{mq}$  es el número de combinaciones únicas de genotipos y años,  $n_{mqt}$  es el número de combinaciones únicas de genotipos, años y localidades y  $N$  es el número de observaciones.

### **ANÁLISIS DE ESTABILIDAD DEL RENDIMIENTO**

La evaluación de la estabilidad de los genotipos se basó en las predicciones de los términos de interacción genética. Los BLUP derivados de los términos aleatorios G×L y G×Y fueron usados para evaluar la estabilidad a través de las localidades y a través de los años, respectivamente. Una medida de la variación en la estabilidad de genotipos a través de las localidades se derivó calculando la desviación estándar de los BLUP de los efectos de interacción G×L. De igual manera, una medida de la variación de la estabilidad a través de los años se calculó mediante la desviación estándar de los BLUP para los efectos de interacción G×Y. Estas dos medidas de variación de estabilidad para los genotipos fueron obtenidas separadamente, solo para genotipos evaluados en tres o más localidades y en tres o más años. En ambos casos, valores altos indican genotipos inestables. Estas varianzas de estabilidad fueron obtenidas por subregión, porque usualmente se requieren recomendaciones específicas para cada subregión (es de interés la búsqueda de adaptaciones específicas dentro de subregiones). La correlación entre medidas de varianza de estabilidad de genotipos se obtuvo mediante el coeficiente de correlación de Pearson.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

La evaluación de genotipos implica el desafío de analizar EM llevados a cabo en varios años y localidades. La incorporación de estos efectos ambientales en un análisis estadístico multi-anual permite la interpretación de los efectos de interacción  $G \times E$ . En particular, para la RET el rendimiento en grano fue mayor en ensayos CF respecto a ensayos SF (Tabla 2.1). La respuesta promedio de genotipos al tratamiento con fungicidas a través de toda la base de datos fue 6% mayor con respecto a los ensayos sin tratar. Por otro lado, los genotipos de CL tuvieron medias mayores a los genotipos de CC (Tabla 2.1). Las subregiones, ambientalmente diferentes, tuvieron medias que variaron desde 3828 kg/ha en el norte (subregión I) a 5209 kg/ha en el sur-este (subregión IV). El porcentaje de datos faltantes para el análisis involucrando los ocho años de datos, fue en promedio 85%. Esto es debido principalmente al reemplazo de genotipos a través de los años. Sin embargo, la presencia de genotipos testigo (cultivares que por su éxito comercial fueron mantenidos varios años) a través de la mayoría de ambientes resultó en suficiente conexión para derivar estimaciones de VC mediante MLM. Sólo en un porcentaje menor de situaciones, el criterio de convergencia de REML para la estimación de estos modelos, no fue alcanzado (esto explica las celdas faltantes en la Tabla 2.1).

### **COMPONENTES DE VARIANZA**

Los componentes de varianza estimados para los períodos de años seleccionados hacia atrás, se presentan en la Tabla 2.1. Por cuestiones de simplicidad, sólo cuatro de los ocho ensayos analizados son presentados (en la sección Anexo 1 hay información complementaria relacionada al resto de los períodos de años armados). La cantidad de años usados en el análisis multi-anual mostró un pequeño impacto en las estimaciones de la varianza genética. En contraste, los VC para las interacciones genéticas fueron más afectados cuando se trabajó con pocos años de ensayos. La componente de varianza genética fue sustancialmente mayor en ensayos CF en comparación con ensayos SF, e incrementó cuando mayor cantidad de años fueron incluidos en el análisis. El control de factores ambientales externos, como el control de la influencia de enfermedades fúngicas mediante fungicidas, disminuye la variabilidad no controlada por el modelo y mejora las estimaciones de VC. Atlin y Frey (1990) describen como la varianza genética se ve enmascarada por mayor influencia

ambiental al pasar de un ambiente de mayor manejo (en este caso, ensayos CF) a uno de menor manejo (ensayos SF). Con menores varianzas genéticas, las diferencias entre genotipos son menos probables de ser detectadas si la variación en el error permanece constante. Los ensayos SF tuvieron, en general, menor varianza asociada al término de error comparados contra los ensayos CF, pero tuvieron mayor variación dada por las componentes ambientales, principalmente variación entre localidades. Las estimaciones de VC genética obtenidas a partir de dos y tres años de ensayos fueron menores y más sensibles a efectos anuales que las estimaciones desde cuatro o más años de ensayos. Esto se observó consistentemente tanto en períodos tomados hacia atrás o hacia adelante, en ensayos CF o en ensayos SF, sugiriendo que este resultado es repetible bajo distintas condiciones. El porcentaje de valores faltantes incrementó desde un promedio de 54% en bases de datos que involucraban dos años de ensayos, a 85% con ocho años. Las estimaciones fueron más robustas cuando fueron obtenidas desde varios años de evaluación. Siempre que se cuente con suficiente conexión a través de los años (materiales comunes en varios años), es esperable una mejora en las estimaciones de las varianzas genotípicas y de interacción con bases de datos que involucran cuatro o más años de ensayo.

Tabla 2.1. Rendimiento (Rto) en granos, número de localidades (L) y número de genotipos (G), porcentaje de valores faltantes (VF) y estimación de componentes de varianza (CV) para cuatro tipos de ensayos multiambientales comparativos de rendimiento de trigo.

Ensayo	Rto (kg/ha)	Período <sup>†</sup>		VF (%)	CV (expresadas como desviación estandar)								
		L	G		L	Y	LY	G	GL	GY	GLY	Error	
CFCL													
	5167	2013/14	14	52	55	832	542	1025	221	300	262	418	502
	4944	2012/14	15	58	63	1046	516	840	235	325	251	414	536
	5297	2011/14	16	69	71	927	757	838	262	301	241	400	515
	5426	2010/14	17	73	75	795	852	832	264	257	229	408	557
	5256	2009/14	17	80	76	756	816	997	253	229	211	403	538
	5131	2008/14	19	89	81	631	793	1069	251	212	200	405	529
	5052	2007/14	21	99	84	459	703	1165	252	200	213	410	512
CFCC													
	5147	2013/14	10	34	57	nd	268	1376	210	203	nd	256	737
	4747	2012/14	12	43	70	549	519	1209	241	228	224	268	692
	5294	2011/14	14	53	78	663	835	1064	275	191	233	296	567
	5346	2010/14	14	59	79	444	710	1257	247	174	218	339	602
	5242	2009/14	14	64	81	301	638	1263	250	155	197	317	586
	5070	2008/14	15	71	84	397	680	1189	261	145	191	303	561
	4973	2007/14	15	75	84	241	610	1243	274	132	182	307	539
SFCL													
	4201	2013/14	21	54	59	583	567	1223	179	274	337	397	456
	4096	2012/14	25	63	71	898	405	973	200	268	288	386	502
	4426	2011/14	26	73	76	875	591	933	204	243	268	398	459
	4538	2010/14	28	77	80	837	661	924	204	235	237	385	497
	4459	2009/14	29	87	83	824	623	1009	189	194	221	392	481
	4307	2008/14	33	97	86	740	663	1058	190	189	204	390	484
	4233	2007/14	39	$\frac{10}{6}$	89	726	588	1108	178	176	216	386	473
SFCC													
	4003	2013/14	20	38	59	1040	nd	1164	206	202	224	328	519
	3802	2012/14	23	51	72	958	nd	1158	247	174	209	343	510
	4252	2011/14	24	59	76	943	492	1129	258	131	203	358	450
	4334	2010/14	25	62	78	846	482	1185	223	140	215	368	480
	4281	2009/14	25	69	80	760	429	1209	199	131	206	351	467
	4067	2008/14	28	82	85	778	557	1161	202	126	194	330	471
	3970	2007/14	32	86	86	831	480	1168	211	119	182	332	455

<sup>†</sup>año inicial y final del período de evaluación.

CFCL: con fungicida, genotipos de ciclo largo; CFCC: con fungicida, genotipos de ciclo corto; SFCL: sin fungicida, genotipos de ciclo largo; SFCC: sin fungicida, genotipos de ciclo corto.

La estimación de varianza genética, expresada como porcentaje de la varianza total (sin considerar la varianza del término de error) en períodos de longitud variable, permite visualizar las diferencias que existen entre los ensayos CF y SF (Figura 1). Estos últimos tuvieron un menor porcentaje de variación genotípica. La contribución relativa de la variación genética al total de variación se incrementó significativamente ( $p$ -valor  $< 0,001$  de acuerdo al test de Tukey para comparaciones de a pares) cuando las estimaciones fueron obtenidas con cuatro años de análisis, en comparación a un análisis bianual. Con períodos de cuatro o más años de análisis, los porcentajes de varianza genética estimada mostraron bajas fluctuaciones.

Independientemente del número de años considerados en el análisis, las componentes de variación ambiental (debidas a las localidades, los años y su interacción) fueron dominantes en la variación total, resultando en un 88% del total de variación. Por otro lado, la variación genotípica y sus interacciones ( $G \times L$ ,  $G \times Y$  y  $G \times L \times Y$ ) fueron considerablemente menores. Laidig et al. (2008) presentaron estimaciones de VC para ensayos conducidos por 16 años, al evaluar 30 cultivos diferentes e informaron en todos los casos al ambiente como la mayor fuente de variación. Además, para la mayoría de los cultivos encontraron varianzas  $G \times L$  mayores que  $G \times Y$ . Para el caso de los ensayos de la RET, las varianzas  $G \times Y$  y  $G \times L$  son de magnitudes similares. Además, la varianza de triple interacción ( $G \times L \times Y$ ) fue mayor que los efectos de interacción  $G \times L$  y  $G \times Y$ . Este resultado también fue obtenido para los ensayos evaluados por Basford y Cooper (1998) en Australia. Aparentemente, ampliar el rango de variabilidad geográfica diluye el efecto de los años, mientras que el impacto de las localidades es más fuerte. Los resultados obtenidos mostraron que extendiendo el período de años de evaluación, disminuyó la varianza de interacción  $G \times L$  y  $G \times Y$ . Menores varianzas  $G \times E$  conducen a menor error estándar para la comparación de genotipos (Laidig et al., 2008), especialmente con menor varianza de interacción  $G \times Y$ . Los resultados también muestran varianzas de interacción  $G \times E$  más estables con cuatro o más años de evaluación, tanto en períodos tomados hacia adelante, como hacia atrás (Figura 2.1). Para el porcentaje de la CV  $G \times Y$ , las diferencias entre ensayos CF y SF fueron menores cuando se incrementó el número de años. Además, ensayos SF siempre tuvieron mayor contribución de la varianza

de interacción que ensayos CF. Con seis o más años, el porcentaje de variación  $G \times Y$  se estabiliza alrededor de 2% y 1,5% para ensayos SF y CF, respectivamente.

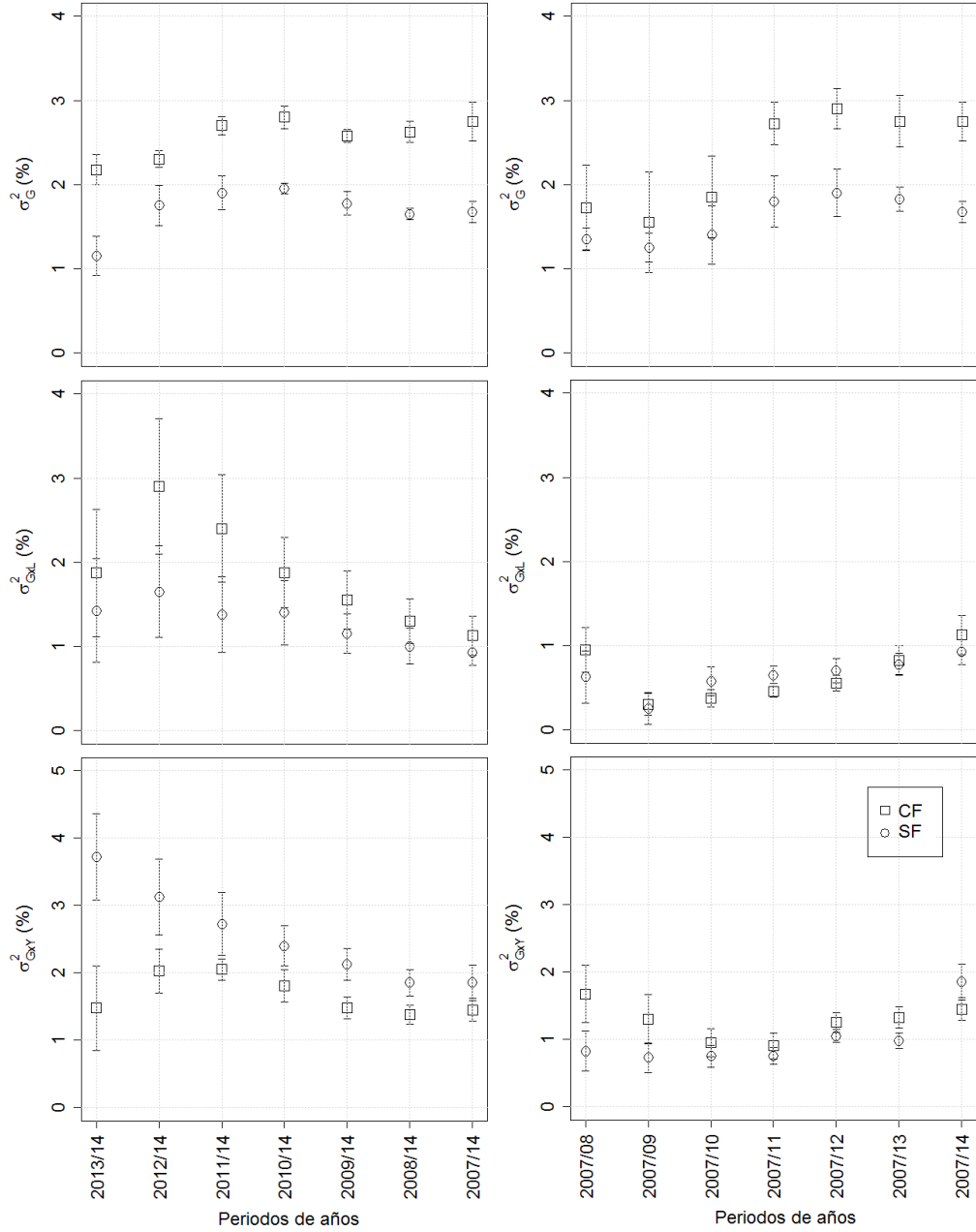


Figura 2.1. Componentes de varianza en ensayos multiambientales de trigo, según cantidad de años que conforman la base de datos. Información presentada para ensayos tratados con fungicidas (cuadrados) y sin tratar (círculos). Barras verticales representan error estándar de las estimaciones. Las Figuras a la izquierda muestran resultados de los periodos de años hacia atrás y las Figuras a la derecha de los periodos hacia adelante.



En períodos de dos años, genotipos de ciclo corto tuvieron menor varianza de interacción  $G \times E$  (considerando los efectos de interacciones  $G \times L$ ,  $G \times Y$  y  $G \times L \times Y$ , sobre otras fuentes de variación no atribuibles al término de error) que genotipos de ciclo largo. Los promedios en el porcentaje de varianza  $G \times E$  fueron de 7,8% y 12,4% para genotipos de CC y genotipos de CL, respectivamente. Además, períodos de ocho años de análisis mostraron una disminución proporcional de estas magnitudes (6,7% y 9% respectivamente). A pesar que el desempeño de los genotipos evaluados en un rango de ambientes diferentes es siempre afectado por interacción  $G \times E$  (Mohammadi y Amri, 2009), la evaluación de genotipos en pocos años (dos o tres años) puede conducir a sobreestimaciones de los efectos de interacción  $G \times E$ .

La Figura 2.2 muestra los efectos del número de años en evaluación en la repetibilidad de la media de genotipos en los cuatro tipos de ensayos (CF o SF y CL o CC). Como era de esperarse, la repetibilidad incrementó, con algunas variaciones debidas a error de muestreo, desde un promedio de 0,43 con dos años de datos, a 0,7 con ocho años. El mayor incremento fue de 18,6%, obtenido al adicionar un año al análisis bianual. Ensayos con genotipos de CC tuvieron menor repetibilidad, pero las diferencias entre ensayos no fueron consistentes con períodos de varios años (más de cuatro años). La repetibilidad de la media de genotipos es altamente afectada por cambios en las estimaciones de VC y claramente se beneficia con datos tomados por varios años.

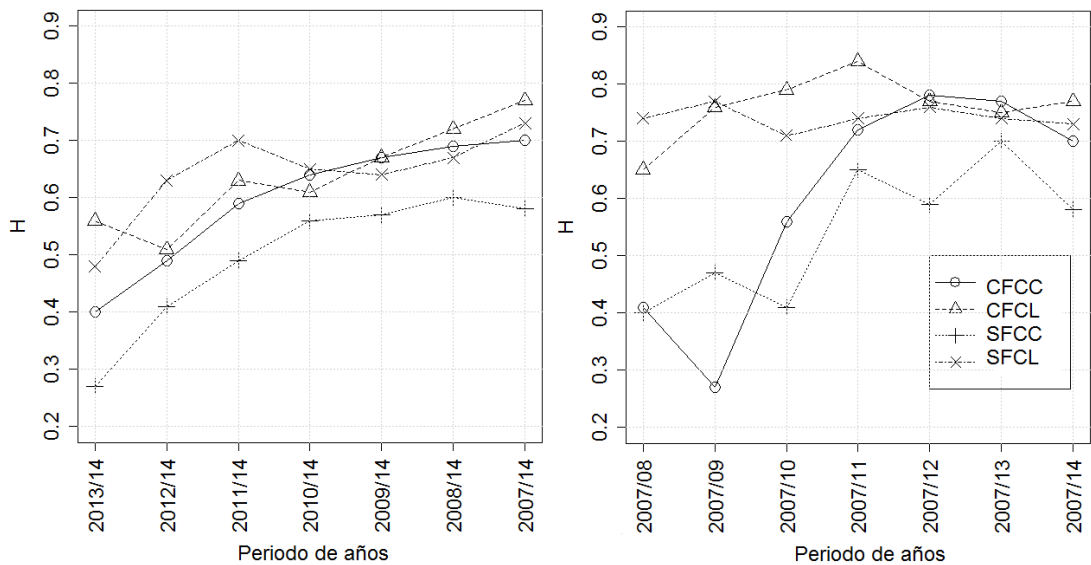


Figura 2.2. Repetibilidad de la media de genotipos (H) obtenida de ensayos de genotipos de trigo en función de la base de datos. Información presentada para ensayos tratados con fungicidas (CF) y sin tratar (SF), para ensayos de genotipos de ciclo corto (CC) y de ciclo largo (CL). Las Figuras a la izquierda muestran resultados de los periodos de años hacia atrás y las Figuras a la derecha de los periodos hacia adelante.

## **MEDIDAS DE ESTABILIDAD**

Las mediciones de estabilidad pueden agruparse en dos categorías: estabilidad en sentido estricto y estabilidad en sentido dinámico. El concepto de estabilidad en sentido estático se refiere al rendimiento constante de un cultivar a través de ambientes. Mientras que la estabilidad en sentido dinámico se refiere al rendimiento estable de un cultivar con respecto a la media ambiental, calculada con un grupo de genotipos evaluados en esos ambientes (Becker y Leon, 1988). Mediante los BLUP de los efectos aleatorios de interacción  $G \times Y$  y  $G \times L$  se calculó la estabilidad de genotipos en sentido dinámico, siendo este sentido de mayor interés agronómico. Una clara ventaja de derivar varianzas de estabilidad desde modelos mixtos es que no requieren de una Tabla de datos completa. Este es un escenario común en ensayos multiambientales, especialmente en ensayos que comprenden varios años de evaluación. Yan (2013) propuso un método de imputación de valores faltantes para datos de ensayos multiambientales, basado en una descomposición por valor singular (SVD, *singular value decomposition*) de la matriz que contiene efectos de interacción  $G \times E$ . Este método predice satisfactoriamente datos faltantes cuando el porcentaje es menor al 40%. Con mayores desbalances, como los encontrados en este trabajo (ver Tabla 2.1), los métodos basados en SVD, como los modelos AMMI, no son apropiados para el

estudio de la estabilidad de genotipos. En este contexto, los MLM son el método implementado para el análisis de series de ensayos (Smith *et al.*, 2005), no solo por la facilidad con la que trabaja con datos faltantes, sino también por su habilidad para predecir méritos genéticos e interacciones genéticas. Además, estos modelos permiten considerar estructuras de las matrices de varianza-covarianza para los efectos aleatorios para modelar efectos de interacción G×E (Balzarini *et al.*, 2001), lo cual puede potencialmente incrementar la habilidad predictiva del modelo. En EM, muchas veces la estructura de varianza-covarianza FA (Piepho, 1998b) suele ser más parsimoniosa y flexible que otras estructuras. Burgueño *et al.* (2011) realizaron un estudio comparando la capacidad predictiva de modelos con y sin estructura FA. Ese trabajo concluye que si la estructura G×E no es demasiado compleja, los modelos FA tienen similar capacidad predictiva que los modelos con estructura simple (una matriz de varianza-covarianza diagonal). Para los datos presentados en este trabajo, con interacciones G×L y G×Y menores al 4%, el beneficio de un modelo más complejo (es decir, un modelo FA) sería insignificante. Adicionar años al análisis disminuyó los porcentajes de interacción G×E, y esto justifica el uso del modelo simple aquí implementado.

En este trabajo, las medidas de varianzas de estabilidad a través de las localidades y a través de los años fueron expresadas como desviaciones estándar. La varianza de estabilidad G×L está asociada a efectos repetibles de la interacción G×E, los cuales pueden ser explotados mediante selección para adaptaciones amplias y/o específicas (Basford *et al.*, 1996). En contraste, la varianza de estabilidad G×Y corresponde a efectos de interacción G×E no repetibles, y a inconsistencias del desempeño de genotipos a través de los años. Los resultados mostraron mayores medianas de la varianza de estabilidad entre años con respecto a la varianza de estabilidad entre localidades para todas las subregiones (Tabla 2.2). La mediana fue usada en lugar de la media debido a la distribución asimétrica de los estadísticos de varianza de estabilidad. La Tabla 2.2 muestra las varianzas de estabilidad para la subregión IV, el mínimo y máximo en estas varianzas y la correlación entre ambas medidas de estabilidad (mayor información puede encontrarse en el Anexo 1). Genotipos de CC tuvieron menor varianza de estabilidad a través de las localidades, es decir, fueron más estables que genotipos de CL. El menor tiempo de exposición a condiciones ambientales de los genotipos de CC posiblemente explica la menor interacción G×L. Las diferencias entre ensayos CF y ensayos SF en términos de varianza de estabilidad no fueron claras. Las

correlaciones entre ambas varianzas de estabilidad fueron en general bajas (0,32 en promedio), pero significativas en la mayoría de los casos (intervalos de confianza para las correlaciones excluyendo el cero). Adicionar años de análisis resultó en un aumento insignificante de estas correlaciones (3% en promedio, desde tres a ocho años). La proporción de genotipos comunes en el tercio superior de ambas varianzas de estabilidad fue en promedio alrededor de 46%. Esto significa que genotipos altamente inestables a través de las localidades (para una subregión en particular) fueron menos de la mitad de las veces igualmente inestables a través de los años. Considerando la baja correlación, un productor situado en una localidad particular, debería sembrar-utilizar genotipos estables a través de los años, sin interés en que se desempeñen bien en otras localidades. Por otro lado, un mejorador debería considerar ambas medidas de estabilidad, especialmente cuando el objetivo es la búsqueda de adaptación amplia. Esto favorecería genotipos que se desempeñen bien en amplias subregiones, siendo esto último frecuentemente conveniente desde un punto de vista económico. La varianza de estabilidad de genotipos a través de localidades es particularmente importante para mejoradores, que frecuentemente prefieren evaluar ensayos en un rango amplio de localidades en lugar de hacerlo por varios años porque resulta más costoso. Sin embargo, el objetivo de la RET es proveer información sobre el desempeño de los genotipos comerciales evaluados principalmente para productores. Esto último justifica que la RET utilice recursos en evaluar genotipos por varios años, generando datos que permitan a productores seleccionar los genotipos con mayor estabilidad inter-anual.

Dada la variación interanual observada, los resultados indican que tener cuatro o más años de ensayos potencialmente ayudarían a productores a una mejor selección de genotipos. Similarmente, de la Vega y Chapman (2006) determinaron que para obtener repetibilidad superior al 0,80 en cultivos de girasol, son necesarios al menos cuatro años de evaluación. Reducir el número de años debería afectar negativamente la habilidad para predecir el desempeño de genotipos en EM.

Tabla 2.2. Varianza de estabilidad de genotipos de trigo (expresada como desviación estándar) a través de localidades (SL) y años (SY) en la subregión IV de la región triguera argentina. Correlación entre medidas de estabilidad y proporción de genotipos comunes en el tercio superior de ambas medidas de estabilidad.

Ensayo	SL	SY	Correlación SL vs. SY †	Tercio superior
CFCL	83	218	0.26 [0.00 ; 0.50]	0.39
CFLI	38	139	0.07 [-0.17 ; 0.30]	0.35
CFCI	60	148	0.17 [-0.07 ; 0.40]	0.41
CFCC	50	97	0.12 [-0.18 ; 0.39]	0.44
SFCL	143	165	0.21 [-0.06 ; 0.45]	0.39
SFLI	86	204	0.25 [0.01 ; 0.45]	0.50
SFCI	33	165	0.39 [0.17 ; 0.58]	0.59
SFCC	33	94	0.57 [0.34 ; 0.73]	0.62

† Intervalos de confianza entre corchetes.

CFCL: con fungicida, genotipos de ciclo largo; CFLI: con fungicida, genotipos de ciclo largo-intermedio; CFCI: con fungicida, genotipos de ciclo corto-intermedio; CFCC: con fungicida, genotipos de ciclo corto; SFCL: sin fungicida, genotipos de ciclo largo; SFLI: sin fungicida, genotipos de ciclo largo-intermedio; SFCI: sin fungicida, genotipos de ciclo corto-intermedio; SFCC: sin fungicida, genotipos de ciclo corto.

### **EJEMPLO ILUSTRATIVO**

Esta sección fue pensada para ilustrar un análisis de EM de genotipos de trigo para pan, obteniendo medidas del mérito genético de genotipos y de su estabilidad. Para este propósito se seleccionaron datos de 8 años de ensayos CF evaluando genotipos de CC (ver ensayo CFCC en Tabla 2.1). Las varianzas de estabilidad de genotipos a través de años y localidades fue evaluada dentro de cada una de 4 subregiones. El número de genotipos evaluados varió poco a través de los años, porque genotipos descartados fueron reemplazados por nuevos genotipos nunca antes evaluados. Alrededor del 70% de genotipos evaluados en un año fueron evaluados al año siguiente. Dos genotipos testigos conectaron el primer año de evaluación con el último. En total, 73 genotipos fueron evaluados en 13 localidades.

Las VC de los efectos genéticos y su interacción y la repetibilidad en los ensayos en 4 subregiones son presentadas en la Tabla 2.3. Las localidades de la subregión IIN son bastante homogéneas en términos climáticos; los rendimientos más altos fueron obtenidos en esta subregión. Sin embargo, el porcentaje de valores faltantes también fue el mayor (87%) resultando en baja repetibilidad. En cambio, la subregión IIS tuvo la mayor repetibilidad y la menor varianza de error (resultado no presentado), y por ende, la mayor aptitud para la evaluación de genotipos (es decir, los genotipos evaluados aquí se

desempeñaron consistentemente). Las subregiones IV y VN tuvieron baja repetibilidad, con baja habilidad para obtener consistentes diferencias entre genotipos.

Tabla 2.3. Rendimiento de trigo, número de localidades (L) y genotipos (G), porcentaje de valores faltantes (VF), componentes de varianza genética (G) e interacciones (G×L y G×Y) y repetibilidad genética (H) de ensayos en 4 subregiones dentro de la región triguera Argentina.

Subregión	Media (kg/ha)	Número de		VF (%)	G	GL	GY	H
		L	G					
IIN	5521	3	53	87	303	15	515	0.37
IIS	4912	4	53	75	239	236	250	0.55
IV	5095	4	59	61	158	206	258	0.38
VN	4193	2	29	68	357	330	372	0.32

Ensayos bajo tratamiento con fungicidas de genotipos de ciclo corto.

Estimar las varianzas de estabilidad a través de MLM tiene la mayor ventaja en aplicabilidad para analizar datos desbalanceados usando la metodología REML (Kassa *et al.*, 2006). Piepho y Möhring (2006) también demuestran los beneficios de obtener BLUP por sobre la obtención de BLUE mediante simulaciones en contexto de selección y datos faltantes. En este trabajo, la recomendación de genotipos se realizó con un ordenamiento basado en BLUP del efecto principal de genotipos y las varianzas de estabilidad a través de las subregiones, que también son derivadas desde predicciones BLUP. Esto permite la selección de genotipos con alto mérito genético, adaptación amplia y estabilidad a través de los años. Basado en estas predicciones, los genotipos AREX, BAGUETTE 501, BAGUETTE 9 y KLEIN RAYO fueron seleccionados como altamente estables con alto desempeño a través de los ambientes evaluados (Figura 2.3). Resultados más detallados para la comparación de genotipos pueden encontrarse en el Anexo 1.

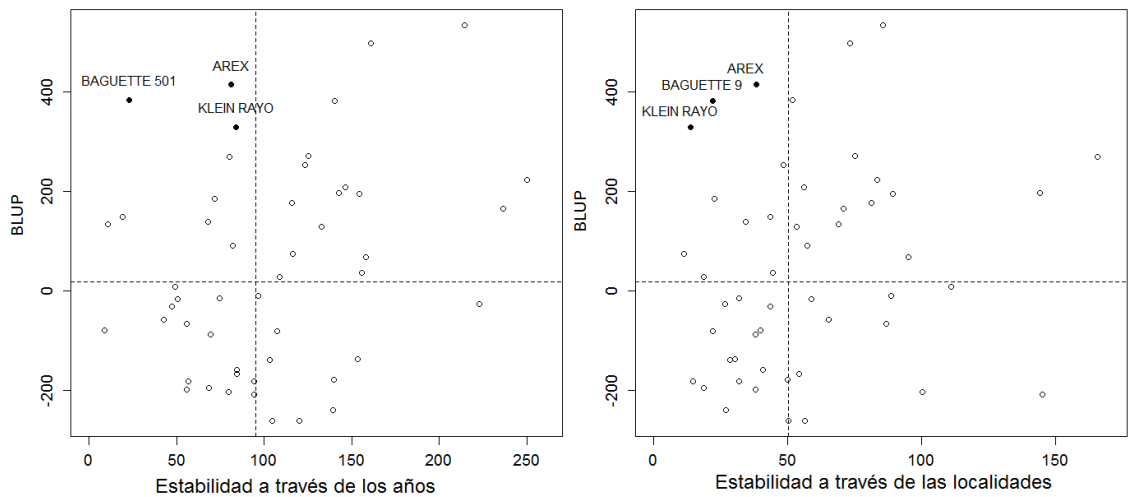


Figura 2.3. Varianza de estabilidad de genotipos a través de años (panel izquierdo) y a través de las localidades (panel derecho), expresadas en desvíos estandar, y méritos genéticos (BLUP) de genotipos de ciclo corto evaluados en ensayos con tratamiento con fungicidas. Líneas de puntos horizontales y verticales representan la mediana de cada eje. Círculos negros representan genotipos con desempeño deseable.

## CONCLUSIONES

Tanto el número de años como el control de factores ambientales externos (control de enfermedades fúngicas) afectan positivamente la relación entre la varianza genética y las varianzas ambientales. Las varianzas de interacciones genéticas son las más afectadas cuando se cuentan con pocos años de evaluación. Ensayos con 4 o más años de evaluación generan estimaciones de varianza genética más altas. Además, en estos ensayos las varianzas de interacción  $G \times E$  resultan menos sobreestimadas. La consecuente relación entre componentes de varianza provoca un incremento de la repetibilidad de la media de genotipos, incluso cuando es calculada a partir de datos con alta proporción de desbalance dado por el reemplazo anual de cultivares. Con modelos lineales mixtos estimados con suficiente información, es posible derivar medidas de estabilidad de los genotipos a través de las localidades y a través de los años a partir de los BLUP de los efectos  $G \times L$  y  $G \times Y$ . Es de esperar poca correlación entre la estabilidad de los genotipos a través de las localidades y la estabilidad de los genotipos a través de los años, sin importar la repetibilidad de la media de los genotipos.





# CAPÍTULO 3

## EFECTO DE VALORES FALTANTES EN LOS ESTIMADORES DE COMPONENTES DE VARIANZA EN ENSAYOS MULTIAMBIENTALES

### INTRODUCCIÓN

El éxito de un programa de mejoramiento genético vegetal es reflejado en su capacidad para producir genotipos superiores para una variedad de ambientes objetivo. En concordancia con esto, en los programas se llevan a cabo EM para evaluar genotipos a través de ambientes y estudiar la interacción  $G \times E$ . Estas interacciones se expresan como respuestas inconsistentes por parte de algunos genotipos relativos a otros debido al cambio del ordenamiento genético (llamado interacción *crossing over*) o a cambios en las diferencias absolutas entre genotipos sin cambio de rango (Bänziger and Cooper, 2001). Las interacciones *crossing over* son responsables por la falta de correlación genética a través de los ambientes, la cual complica la recomendación de genotipos. Resulta esencial particionar el total de la variabilidad en VC de efectos genéticos, ambientales y de interacción  $G \times E$ , no solo para diseñar estrategias de mejoramiento sino también para derivar estadísticos que hagan posible la cuantificación de las ventajas en el desempeño de genotipos y sus estabildades.

Calcular la repetibilidad del desempeño de un cultivar desde EM da una medida de calidad a las recomendaciones, la cual se espera que se incremente con más años de evaluación. Con más años, pocos genotipos comunes a través de los años son esperados. El reemplazo de genotipos en EM que evalúan genotipos comerciales es una práctica común; algunos genotipos son introducidos y otros descartados cada año resultando en bases de datos incompletas. Los métodos para obtener la estimación de VC estaban históricamente basados en un ANOVA, que particiona el total de la variación en fuentes debidas al genotipo, el ambiente y la interacción  $G \times E$ , como así también de fuentes de variación del error dentro de cada ensayo. Con bases de datos completos (es decir, con todas las combinaciones de genotipos y ambientes), las VC pueden ser estimadas igualando las medias cuadráticas en el

ANOVA con sus valores esperados (Searle *et al.*, 1992). En cambio, con datos de ensayos desbalanceados, el método estándar para la estimación de VC es el de REML. La estimación de MLM mediante REML tiene varias ventajas, como la capacidad de trabajar con bases de datos incompletas, la posibilidad de ajustar heterogeneidades entre y dentro de ensayos, y la de asumir algunos efectos aleatorios en lugar de fijos, permitiendo así modelar efectos con estructuras de varianza-covarianza.

Los MLM son eficientes ante el desbalance cuando faltan datos de forma completamente aleatoria, situación definida por Little y Rubin (2002) con las siglas CMAR (*missing completely at random*). Particularmente, en los ensayos de evaluación de genotipos en múltiples ambientes, los valores faltantes se producen por el descarte de los genotipos de bajo desempeño evaluados en función a la información previa. Como resultado, el patrón de falta de datos depende de valores observados hasta el momento, que se encuentran temporalmente dispuestos. Little y Rubin (2002) llamaron a este patrón con las siglas MAR (*missing at random*), refiriéndose principalmente a datos provenientes de evaluaciones clínicas, pero que también es válido para datos de ensayos agrícolas. La complejidad del mecanismo de descarte de genotipos no es trivial ya que puede causar sesgos en las estimaciones de VC y otros estadísticos derivados, como la repetibilidad. Para lidiar con valores faltantes, algunos estudios se han enfocado en métodos de imputación (Little y Rubin, 2002) que pueden ser usados para llenar celdas vacías de una tabla  $G \times E$  incompleta. Entre los métodos más populares de imputación de datos de ensayos agrícolas se encuentran los basados en SVD (Yan, 2013; Nuvunga, 2015). Sin embargo, aún no está claro si estos procesos de imputación son capaces de disminuir el sesgo en las estimaciones, o si por el contrario, tienen a aumentarlo. Obtener conclusiones a partir de bases de datos desbalanceadas puede llevar a inferencias inapropiadas y a una errónea comparación entre genotipos (Arciniegas-Alarcón *et al.*, 2010). Piepho y Möhring (2006) estudiaron los efectos de la selección de genotipos bajo diferentes mecanismos de descarte en la validez de ciertos procesos relacionados a los MLM, como la obtención de estimaciones de VC obtenidas por REML o máxima verosimilitud (ML), la estimación de BLUE y la predicción de BLUP. Los resultados muestran que los MLM generan resultados válidos cuando se analizan EM con patrones MAR, siempre que toda la información usada en el proceso de selección esté incluida en el análisis. Adicionalmente, Arief *et al.* (2015) sugirieron que pueden obtenerse estimaciones robustas de VC mediante MLM ajustados juntando series de años de ensayos

a campo conectados por algunos genotipos testigo presentes en varios años. La bondad de las estimaciones finalmente depende de tres factores principales: (i) la dimensión de los datos, (ii) la proporción de valores faltantes, y (iii) el mecanismo de descarte de genotipos. Arief et al. (2015) trabajaron sobre lo primero y Piepho y Möhring (2006) sobre lo último. No obstante, el impacto de los valores faltantes en las estimaciones de VC obtenidas desde ensayos multiambientales solo ha sido mencionado, pero nunca antes cuantificado, probablemente debido a que requiere una gran base de datos o un amplio rango de simulaciones computacionalmente demandantes. Los principales objetivos de este capítulo fueron: (1) analizar el impacto de diferentes proporciones de valores faltantes en el sesgo de las estimaciones de VC, y (2) su impacto sobre la repetibilidad de la media de genotipos calculada a partir de EM de trigo con diferentes cantidades de datos.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

Un estudio basado en simulaciones se implementó para generar cuatro escenarios hipotéticos con diferentes números de genotipos, localidades y años. El proceso de simulación se realizó para medir el sesgo relativo y el error cuadrático medio (RMSE) de estimaciones de varianzas obtenidas desde datos de EM desbalanceados. Los escenarios simulados se basaron en resultados obtenidos de bases de datos reales de una red de ensayos de trigo para pan (*Triticum aestivum*) que evalúa genotipos comerciales en Argentina. Las CV obtenidas desde estos datos reales fueron útiles para definir parámetros iniciales en las simulaciones. El patrón de valores faltantes observado en los datos reales inspiró la generación de simulaciones con valores faltantes como se describen más abajo. Las dimensiones de los datos (en términos del número de genotipos, localidades y años) también fueron intencionalmente similares entre los datos reales y las simulaciones.

### **DATOS REALES**

Los datos reales están compuestos por ocho bases de datos, cada una contiene registros del rendimiento en granos de genotipos de trigo para pan que forman parte de una red de ensayos multiambientales. Los ensayos son conducidos anualmente por el Instituto Nacional de Semillas (INASE), una institución gubernamental que evalúa el desempeño de todos los genotipos comerciales de trigo en Argentina. Las ocho bases de datos difieren en términos

del manejo y del largo de ciclo de los genotipos evaluados; la mitad de los ensayos fueron tratados con fungicidas, y la otra mitad no tuvo tratamiento fúngico. Bajo cada manejo, se evaluaron cuatro categorías de largo de ciclo (corto, corto-intermedio, intermedio-largo, y largo, respectivamente). Cada tabla (que resulta de la combinación de manejo y largo de ciclo) contiene ocho años de datos provenientes de ensayos multiambientales, desde el año 2007 hasta el año 2014. En promedio, 40 genotipos fueron evaluados por año, con tres repeticiones en 16 localidades. Para un análisis anual, los datos están balanceados (es decir, todos los genotipos fueron evaluados en todas las localidades), pero para un análisis multi-anual los datos están desbalanceados debido a la selección de genotipos. Cada año, aproximadamente el 75% de los genotipos son seleccionados, el resto son descartados y reemplazados por nuevos genotipos nunca antes evaluados. El proceso de selección consiste en ordenar a los genotipos de acuerdo a su desempeño promedio obtenido desde los datos colectados hasta el momento (el patrón de valores faltantes resulta de tipo MAR).

Cada base de datos se utilizó para obtener estimaciones de VC mediante el clásico modelo de tres vías de efectos aleatorios, de la siguiente manera:

$$y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \theta_j + \beta_k + (\beta\theta)_{kj} + (\alpha\theta)_{ij} + (\alpha\beta)_{ik} + (\alpha\theta\beta)_{ijk} + \varepsilon_{ijkl} \quad [3.1]$$

dónde  $y_{ijkl}$  es el rendimiento en granos observado de la  $l$ -ésima repetición, del  $i$ -ésimo genotipo en la  $j$ -ésima localidad y el  $k$ -ésimo año,  $\mu$  es la media general,  $\alpha_i$  es el efecto principal del  $i$ -ésimo genotipo,  $\theta_j$  es el efecto principal de la  $j$ -ésima localidad,  $\beta_k$  es el efecto principal del  $k$ -ésimo año,  $(\beta\theta)_{kj}$  es el  $kj$ -ésimo efecto de interacción localidad×año,  $(\alpha\theta)_{ij}$  es el  $ij$ -ésimo efecto de interacción G×L,  $(\alpha\beta)_{ik}$  es el  $ik$ -ésimo efecto de interacción G×Y,  $(\alpha\theta\beta)_{ijk}$  es el efecto de interacción triple G×L×Y, y  $\varepsilon_{ijkl}$  es el efecto del error aleatorio, cuya variación está asociada a las diferencias entre repeticiones del mismo  $i$ -ésimo genotipo,  $j$ -ésima localidad y  $k$ -ésimo año. Todos estos efectos fueron considerados como aleatorios, distribuidos normales, con media centrada en cero y varianzas homoscedásticas. Los estimadores REML de las VC, obtenidos desde los datos reales, fueron usados como valores iniciales en las simulaciones. La Tabla 3.1 muestra los valores iniciales para las varianzas de los efectos aleatorios. La varianza genotípica ( $\sigma_G^2$ ) y las varianzas correspondientes a los términos de interacción con el efecto genotípico ( $\sigma_{GL}^2$ ,  $\sigma_{GY}^2$  y  $\sigma_{GLY}^2$ ) explicaron aproximadamente 7,4% del total de variación no residual. Esta proporción es baja en relación

a la informada por Arief et al. (2015) o por Basford y Cooper (1997), pero está dentro de los rangos posibles observados en la mayoría de los cultivos (Laiding *et al.*, 2008).

Tabla 3.1. Estimadores promedio obtenidos desde ocho Tablas de datos reales provenientes de evaluaciones multiambientales de genotipos de trigo para pan.

Estadístico	Tamaño	% de la variación total
$\sigma_L$	696	17,4
$\sigma_Y$	578	12,0
$\sigma_{LY}$	1200	51,6
$\sigma_G$	234	2,0
$\sigma_{GL}$	158	0,9
$\sigma_{GY}$	203	1,5
$\sigma_{GLY}$	346	4,3
$\sigma_\varepsilon$	540	10,4
$\mu$	4593	

### **DATOS SIMULADOS**

Las simulaciones se generaron considerando el modelo presentado en la ecuación 3.1. Los efectos de este modelo se simularon mediante un procedimiento Monte-Carlo, que consistió en el remuestreo de distribuciones aleatorias independientes centradas en cero, de varianza constante y con función de densidad normal (Tabla 1). Las estimaciones de VC se obtuvieron mediante REML y tuvieron naturaleza homoscedástica. En notación matricial, la variación residual fue  $\varepsilon \sim N(0, \mathbf{I}\sigma_\varepsilon^2)$ , donde  $\mathbf{I}$  es una matriz identidad de dimensiones  $n \times n$ .

Se simularon cuatro escenarios de diferentes número de genotipos por año y localidades, intentando recrear el rango de dimensiones comunmente encontrado en EM de trigo. El escenario uno consistió en la evaluación de 40 genotipos por año en 10 localidades; el escenario dos también consistió en la evaluación de 40 genotipos por año, pero en 40 localidades; el escenario tres, consistió en 80 genotipos evaluados por año en 10 localidades; el escenario cuatro, el de mayor dimensión, consistió en 80 genotipos por año en 40 localidades. Inicialmente, todos los escenarios se simularon completamente balanceados (todos los genotipos evaluados en todas las combinaciones de localidades y años), con tres repeticiones. Empezando por estos ensayos balanceados, los valores faltantes se generaron siguiendo un patrón MAR: en un año de ensayo, los genotipos se seleccionaron basados en BLUP (Robinson, 1991) predichos con datos de los años previos de evaluación. El proceso

de selección consistió en ordenar a los genotipos de acuerdo a su BLUP y seleccionar un porcentaje de los superiores. Estos continuaron su evaluación el año siguiente, mientras que los remanentes genotipos se descartaron y reemplazaron por nuevos genotipos de efecto desconocido (remuestreados de la población de genotipos simulados). Los datos siguieron balanceados en términos de las combinaciones cultivar-localidad; el desbalance fue solo observable en combinaciones cultivar-año (los valores faltantes fueron causados únicamente por el reemplazo anual de genotipos). Con el objetivo de generar intensidad de selección variable, el porcentaje de genotipos descartados fue intencionalmente variado desde 10 a 90%. La cantidad de años de evaluación simulados también se varió de dos a ocho años, aplicando el proceso de selección y reemplazo cada año. Debido a que el número de genotipos evaluados anualmente se mantuvo fijo, el porcentaje de valores faltantes dependió del porcentaje de genotipos descartados y del período en estudio o del número de años (Tabla 3.2). Cada escenario simulado tuvo un número fijo de localidades con el mismo efecto a través de los años. El número de genotipos evaluados anualmente también se mantuvo fijo, pero con más años de ensayos, el número total de genotipos evaluados aumenta (una consecuencia natural del reemplazo de genotipos). Como resultado, el porcentaje de valores faltantes cambia drásticamente, desde 9.1% con dos años de datos y 10% de valores faltantes (equivalente a 90% de selección de genotipos), a 86% con ocho años de datos y 90% de descarte.

Tabla 3.2. Porcentaje de valores faltantes en relación al porcentaje de descarte de genotipos y del número de años en evaluación.

Descarte (%)	Número de años						
	2	3	4	5	6	7	8
10	9	17	23	29	33	38	41
20	17	29	38	44	50	55	58
30	23	38	47	55	60	64	68
40	29	44	55	62	67	71	74
50	33	50	60	67	71	75	78
60	38	55	64	71	75	78	81
70	41	58	68	74	78	81	83
80	44	62	71	76	80	83	85
90	47	64	73	78	82	84	86

Para cada combinación de la Tabla 2 con escenario, se simularon 300 corridas que resultaron en un total de 75600 Tablas simuladas (9 proporciones de descarte  $\times$  7 niveles de

número de años  $\times$  4 escenarios  $\times$  300 corridas). El proceso total de simulación fue computacionalmente demandante, llevó aproximadamente tres semanas de procesado en paralelo utilizando el software R (versión 3.2.3, R Core Team, 2015). Los modelos lineales mixtos fueron ajustados en el ambiente de R utilizando el paquete *lme4* como se encuentra definido en Bates et al. (2015). Cada una de las Tablas simuladas fue utilizada para estimar VC y calcular el sesgo relativo (diferencia promedio entre los estimadores y el valor esperado expresado en porcentaje del valor esperado), y la raíz cuadrada del error cuadrático medio (RMSE) de estimación. Finalmente, las estimaciones de VC fueron combinadas para derivar una medida de la repetibilidad de estimar la media de genotipos. Su cálculo fue descrito en el capítulo anterior.

## RESULTADOS

A partir de 75600 tablas de datos simuladas, se obtuvieron estimaciones de VC ajustando el modelo lineal mixto descrito en la ecuación 3.1. En el 99% de las tablas simuladas, las estimaciones de la varianza genotípica y sus interacciones con los efectos de años y localidades tuvieron valores mayores a cero. Solo el 1% de estas estimaciones fue exactamente cero (el método de estimación no permite valores de VC negativos); estas estimaciones fueron descartadas para el análisis. El sesgo relativo tuvo una distribución simétrica y normal en todos los escenarios simulados.

El sesgo de las estimaciones de varianza genotípica fue menor a 20% en todos los escenarios simulados y disminuyó con el incremento de años de ensayos (Figura 3.1). La Figura 1 muestra que el impacto de los valores faltantes fue mayor en simulaciones de solo dos años en comparación a simulaciones de más años; simulaciones con cuatro o más años de ensayos generaron estimaciones con 10% o menos sesgo relativo. Incrementando el número de años de muestreo de dos a ocho, progresivamente disminuyó el impacto de los valores faltantes, de 18% con dos años de ensayos a menos del 10% con ocho años. Las formas de las curvas en la Figura 3.1 están relacionadas al mecanismo implementado en la simulación de los datos; los incrementos en el sesgo relativo observables con el aumento del % de valores faltantes, son una consecuencia del reemplazo de genotipos. Simulaciones realizadas sin reemplazo de genotipos resultaron siempre en subestimaciones de  $\sigma_G^2$  cuando el % de valores faltantes incrementa (resultados no mostrados). Los efectos del descarte de genotipos que causan subestimación de  $\sigma_G^2$ , y los efectos del reemplazo de genotipos que

causan sobreestimación de  $\sigma_G^2$ , quedan compensados en el punto menor de sesgo relativo en valores absolutos. Este punto está entre el 30 y el 78% de valores faltantes dependiendo del número de años de ensayos. Las diferencias entre escenarios en términos de sesgo relativo fueron pequeñas, esto indica que el número de localidades y genotipos evaluados anualmente tiene poco impacto en las estimaciones de  $\sigma_G^2$ . En casos donde el número total de genotipos evaluados fue el mayor (>220 en escenarios uno y dos; >440 en escenarios tres y cuatro) las estimaciones de  $\sigma_G^2$  estuvieron menos sesgadas, sin importar el número de años. En términos de RMSE, las diferencias entre escenarios fueron importantes: con respecto al escenario uno, el RMSE de los escenarios dos, tres y cuatro fue menor en porcentajes de 13, 26 y 35%, respectivamente.

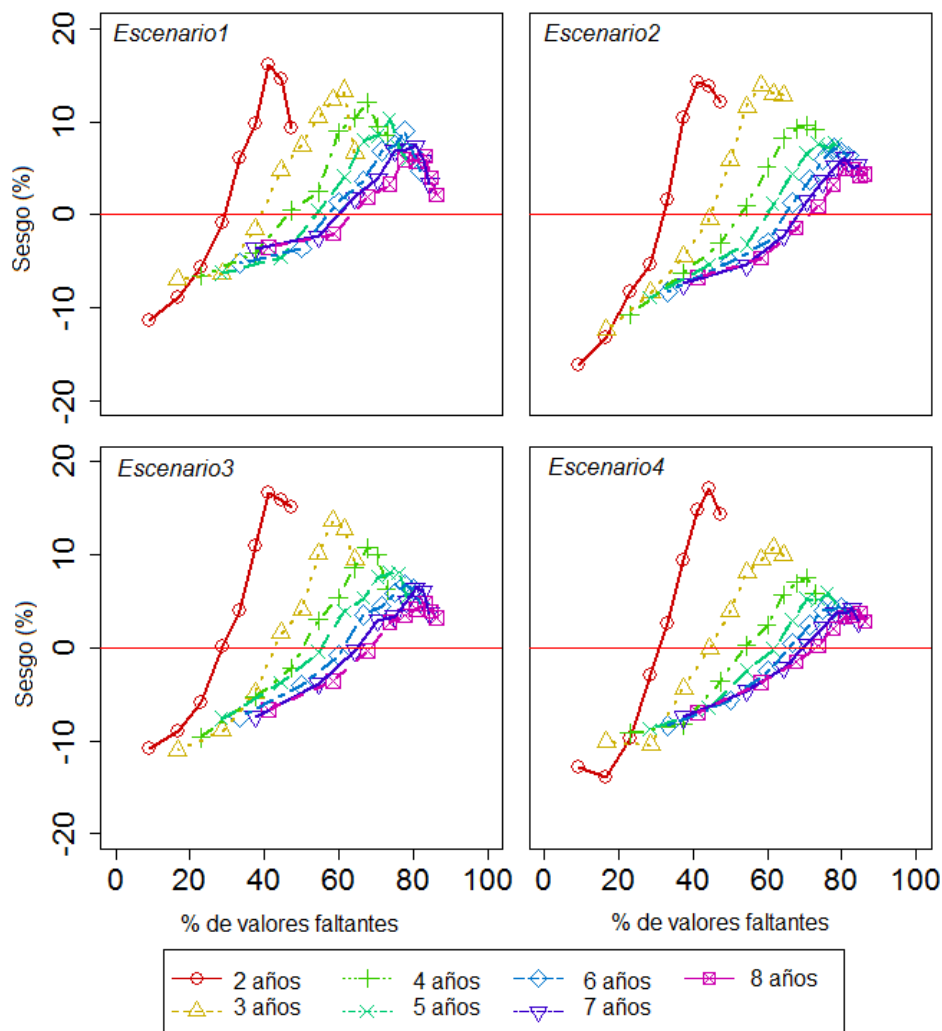


Figura 3.1. Sesgo relativo (%) de la estimación de varianza genotípica en relación al porcentaje de valores faltantes y al número de años de evaluación. Cuatro escenarios con diferentes números de genotipos por año (G) y localidades (L) son presentados: Escenario



uno, 40 G en 10 L; Escenario dos, 40 G en 40 L; Escenario tres, 80 G en 10 L; Escenario cuatro, 80 G en 40 L.

El incremento del porcentaje de valores faltantes tuvo un impacto diferente sobre el sesgo de las estimaciones de varianza G×L ( $\sigma_{GL}^2$ , Figura 3.2); los escenarios dos y cuatro, con 40 localidades bajo ensayo, generaron estimadores de  $\sigma_{GL}^2$  menos sesgados comparados con los escenarios uno y tres (con 10 localidades bajo ensayo). El escenario cuatro generó los estimadores más robustos de  $\sigma_{GL}^2$ , incluso bajo altas proporciones de valores faltantes. En contraste, el escenario uno generó estimadores de hasta 80% de sesgo con dos años de ensayos, 38% con tres años, y menos de 22% con cuatro o más años de ensayos.

Ensayos llevados a cabo por dos años generaron estimadores de  $\sigma_{GL}^2$  con un 15% de sesgo relativo en escenario dos y 48% de sesgo en escenario tres. Las diferencias de sesgo relativo entre escenarios estuvieron dadas por un número diferente de localidades. El RMSE de la varianza G×L fue 2,78 veces menor con ocho años de ensayos en relación a dos años de ensayos, y 2,84 veces menor entre escenarios uno a cuatro. El escenario tres generó estimaciones con 1,45 veces mayor RMSE que el escenario dos.

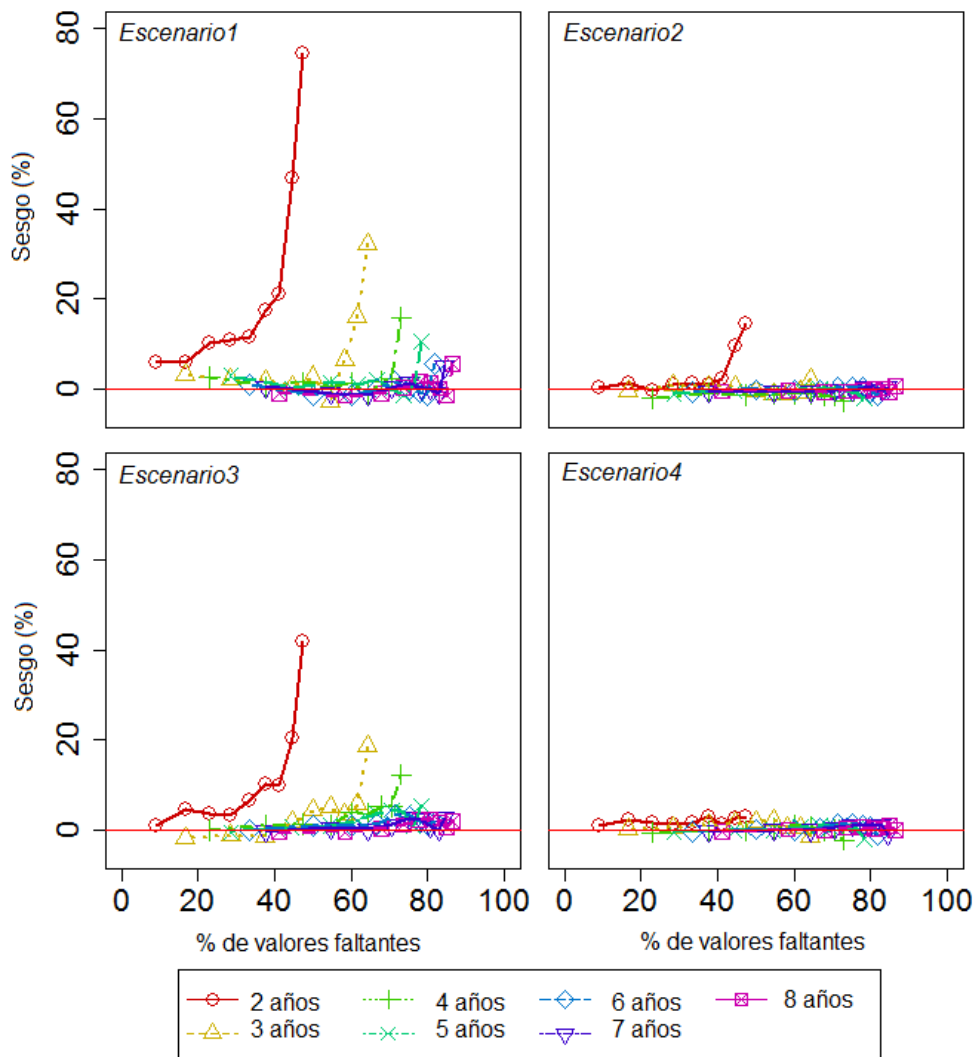


Figura 3.2. Sesgo relativo (%) de la estimación de varianza de interacción genotipo×localidad en relación al porcentaje de valores faltantes y al número de años de evaluación. Cuatro escenarios con diferentes números de genotipos por año (G) y localidades (L) son presentados: Escenario uno, 40 G en 10 L; Escenario dos, 40 G en 40 L; Escenario tres, 80 G en 10 L; Escenario cuatro, 80 G en 40 L.

En contraste con la estimación de  $\sigma_{GL}^2$ , las estimaciones de  $\sigma_{GY}^2$  fueron bastante afectadas por el desbalance, siendo subestimadas hasta un 15% con 40-50% de datos faltantes (Figura 3.3). Luego del punto máximo de sesgo relativo, el incremento en el número de genotipos evaluados parcialmente lo compensa, observándose una reducción en el sesgo. El número de años de evaluación de genotipos influye considerablemente en el sesgo de las estimaciones de varianza G×Y; con cuatro o más años de evaluación, el sesgo relativo en todos los escenarios fue menor al 10%. El número de años también tuvo un efecto en el RMSE de las estimaciones: EM simulados con ocho años generaron estimaciones de la

varianza G×Y con un RMSE 1,94 veces menor que el obtenido a partir de EM con dos años. No existieron diferencias claras entre escenarios con respecto al porcentaje de sesgo relativo. Sin embargo, el escenario uno tuvo 1,87 veces menor RMSE que el escenario cuatro. El RMSE de las estimaciones de  $\sigma_{GY}^2$  fue similar en los escenarios dos y tres, con magnitudes entre los escenarios uno y cuatro.

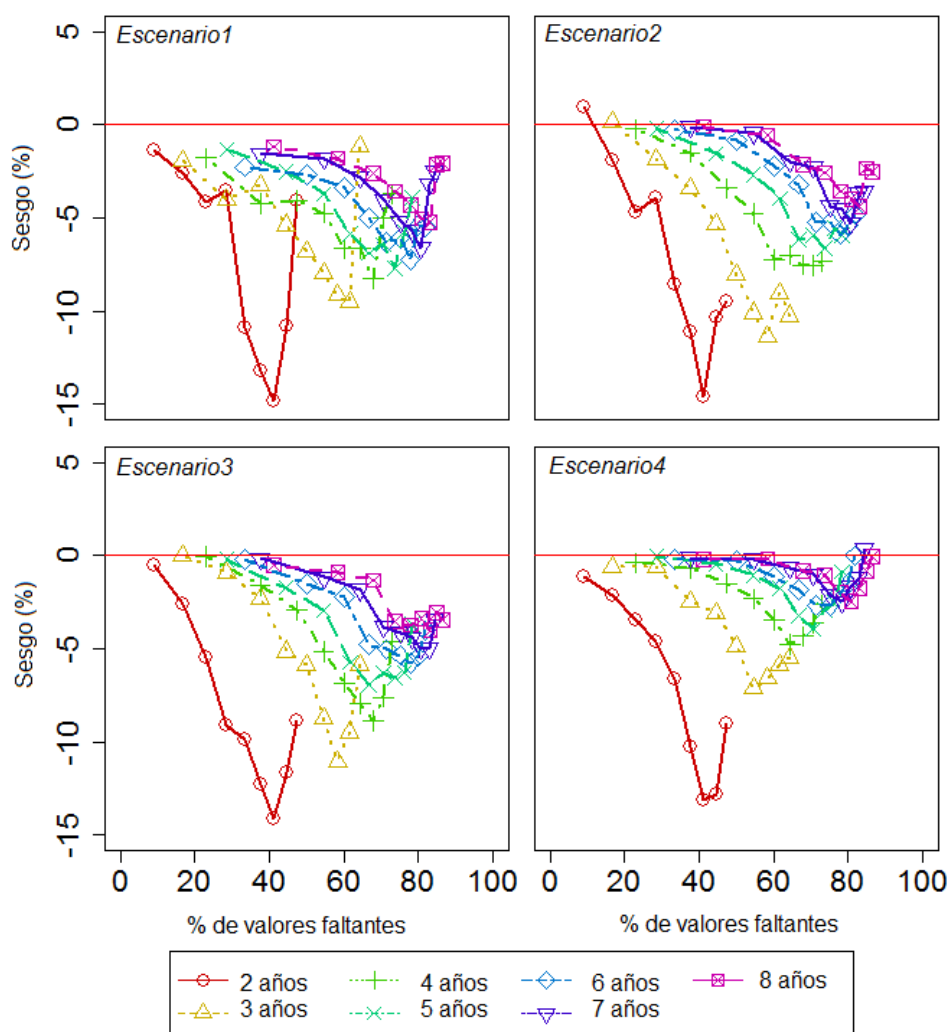


Figura 3.3. Sesgo relativo de la estimación de varianza de interacción genotipo×año en relación al porcentaje de valores faltantes y al número de años de evaluación. Cuatro escenarios con diferentes números de genotipos por año (G) y localidades (L) son presentados: Escenario uno, 40 G en 10 L; Escenario dos, 40 G en 40 L; Escenario tres, 80 G en 10 L; Escenario cuatro, 80 G en 40 L.

Las estimaciones de la varianza de interacción triple G×L×Y ( $\sigma_{GYL}^2$ ) fue la menos afectada por la presencia de valores faltantes (Tabla 3.3). Los escenarios dos y cuatro generaron estimaciones con sesgo relativo menor al 4%. En cambio, los escenarios dos y

tres generaron estimaciones que alcanzaron un sesgo negativo de 15 y 9%, respectivamente. Sin embargo, todos los escenarios simulados resultaron menos del 5% sesgados para estimaciones de la varianza de interacción triple con cuatro o más años de evaluación. Por cuestiones de practicidad, la Tabla 3.3 resume los resultados obtenidos solo para el escenario uno en casos con bajo, medio y alto porcentaje de datos faltantes (con 10, 50 y 90% de descarte, respectivamente). Las comparaciones entre escenarios pueden hacerse comparando las Tablas presentadas en el Anexo 2.

Tabla 3.3. Efectos del número de años y porcentaje de valores faltantes (VF) en las estimaciones de las componentes de varianza relacionadas a los efectos genotípicos (G, GL, GY y GLY).

Número de años	VF (%)	Sesgo relativo (%)				RMSE			
		G	GL	GY	GLY	G	GL	GY	GLY
2	9	-8,2	6,0	-3,4	-1,3	21305	12345	15641	16210
	33	9,2	14,2	-13,4	-2,3	24723	15380	18528	18340
	47	11,3	80,6	-2,0	-	26344	34701	24777	36351
3	17	-7,3	1,8	-1,3	-0,6	19492	8711	10880	12512
	50	5,8	7,0	-5,4	-1,0	19761	11009	14422	13181
	64	7,3	38,4	-1,1	-8,0	23230	24663	21136	27098
4	23	-5,2	1,0	-1,8	-0,5	17278	6592	8905	10667
	60	8,0	4,9	-5,5	-0,9	16824	9602	11798	12227
	73	8,3	21,7	-3,4	-4,5	19077	19046	16640	20912
5	29	-4,6	1,6	-2,1	-0,6	16129	5478	7621	9444
	67	8,1	3,8	-6,2	-0,7	15559	8633	9869	10351
	78	6,6	14,6	-3,5	-3,0	16142	15881	15084	17949
6	33	-4,7	0,1	-2,0	-0,2	16123	4791	6606	8223
	71	7,0	2,5	-5,2	-0,5	13906	7574	8997	9039
	82	5,0	10,6	-4,1	-2,2	14812	15138	13926	16623
7	38	-3,7	0,3	-1,6	-0,3	15483	4284	6225	7183
	75	6,1	1,5	-4,4	-0,1	12771	6895	8253	8222
	84	3,5	7,3	-2,3	-1,4	13536	13744	12466	15337
8	41	-3,2	-0,6	-1,1	-0,1	15445	4032	5645	6628
	78	5,8	1,7	-3,9	0,0	11782	6468	7366	7734
	86	2,6	6,1	-2,2	-0,9	12093	13602	11376	14888

Escenario uno (datos con 40 genotipos evaluados por año en 10 localidades).

La repetibilidad de la media de genotipos fue siempre negativamente afectada por el porcentaje de valores faltantes (Figura 3.4). Al igual que a los VC descriptos hasta el momento, el número de años en evaluación tuvo un importante impacto positivo en este parámetro. La repetibilidad alcanzó un valor aproximado de 0,6 en escenarios con 40

localidades, cuatro o más años de datos y menos de 50% de valores faltantes. Las estimaciones de repetibilidad fueron similares en los escenarios dos y cuatro; ambos escenarios tuvieron estimaciones mayores a los escenarios uno y tres.

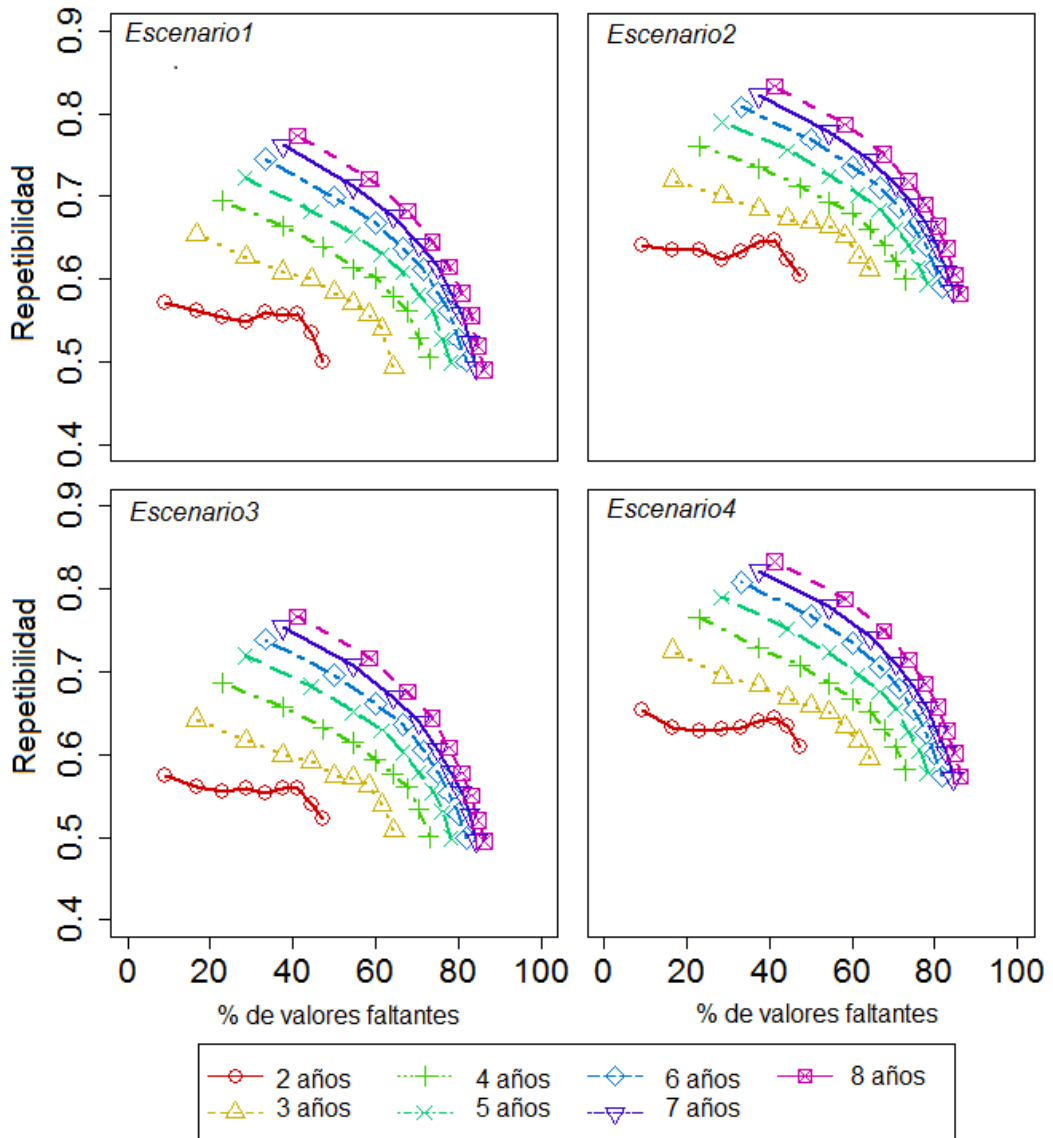


Figura 3.4. Impacto de los valores faltantes en la repetibilidad de la media de genotipos con número variable de años. Cuatro escenarios con diferentes números de genotipos por año (G) y localidades (L) son presentados: Escenario uno, 40 G en 10 L; Escenario dos, 40 G en 40 L; Escenario tres, 80 G en 10 L; Escenario cuatro, 80 G en 40 L.

## DISCUSIÓN

Las redes oficiales de evaluación de genotipos consisten en ensayos conducidos en múltiples localidades por varios años. Cada año, estos ensayos evalúan los mejores genotipos comerciales y pre-comerciales por un período de tiempo. Seleccionar estos genotipos basados en información de varios años consecutivos puede incrementar la ganancia de selección (Curnow, 1961). Descartar algunos genotipos permite hacer espacio para la evaluación de nuevos genotipos prometedores a ser evaluados. También reduce el costo que se afronta cuando se siguen evaluando genotipos no prometedores (Xu *et al.*, 1995). Muchas organizaciones públicas y privadas obtienen gran cantidad de datos fenotípicos desde la evaluación de genotipos en múltiples localidades y por varios años. Sin embargo, los datos resultantes suelen ser altamente desbalanceados: la mayoría de los genotipos son superados luego de algunos años y reemplazados por nuevos genotipos (Mackay *et al.*, 2011; Yan, 2013). A pesar del desbalance, es común el análisis de varios años de ensayos para cuantificar los factores genéticos y ambientales de la varianza total; esta práctica es útil en diversas áreas relacionadas a la genética de cultivos. La estimación a largo plazo de las varianzas genotípicas, ambientales y de interacción  $G \times E$  desde EM permite describir tendencias en las variaciones del rendimiento a lo largo del tiempo, así como también evaluar la adecuación de estrategias en la evaluación de genotipos (Talbot, 1984; Robinson, 1984; Laidig *et al.*, 2008; Mi *et al.*, 2014; Kleinknecht *et al.*, 2016).

Las estimaciones de VC desde ensayos de comparación de genotipos son útiles para el diseño e interpretación de los ensayos. Por ejemplo, la varianza genotípica mide el tamaño de las diferencias genéticas entre los genotipos evaluados. Cuando la varianza genética es grande y la varianza del error pequeña, las diferencias genéticas entre genotipos son más fáciles de detectar. La correcta cuantificación del efecto de interacción  $G \times E$  en los datos también resulta una etapa importante de análisis. Esto resulta informativo para cuantificar la estabilidad de los genotipos a través de los ambientes y explotar esta fuente de variación en la búsqueda de adaptaciones específicas (Finlay y Wilkinson, 1963). La interacción  $G \times E$  puede partitionarse en dos componentes: un componente estático, que está dominado por factores locales, más permanentes, que influyen un sitio particular (interacción  $G \times L$ ); y un componente dinámico, que es usualmente más errático porque está relacionado a eventos climáticos que frecuentemente resultan difíciles de predecir (interacción  $G \times Y$ ). La correcta cuantificación de la varianza de interacción  $G \times L$  puede motivar el desarrollo de programas

comerciales enfocados en ciertas subregiones. Por otro lado, una estimación sesgada de la varianza  $G \times L$  puede causar la pérdida de muchos recursos en la búsqueda infructuosa de adaptaciones específicas a ciertos ambientes.

La calidad de las estimaciones se ve afectada por la remoción e inclusión de nuevos materiales, algo común en ensayos de genotipos a través de los años. Debido a los datos incompletos, la estimación de varianzas mediante REML es el método estándar usado para resolver las ecuaciones de los MLM (Henderson, 1986; Piepho *et al.*, 2008). Un análisis basado en REML tiene la ventaja de que un patrón de datos faltantes de tipo MAR puede ser ignorado (Little y Rubin, 2002; Piepho y Möhring, 2006), siempre que todos los datos usados para la selección se incluyan en el análisis. Descartar genotipos completamente al azar tiende a generar menores RMSE que si se sigue un patrón MAR. Los resultados obtenidos muestran que las estimaciones de VC se sesgan con el reemplazo de genotipos y el consecuente incremento en el porcentaje de valores faltantes. La calidad de las estimaciones estuvo altamente influenciada por el número de años de ensayos y la proporción de valores faltantes. Es deseable usar la mayor cantidad posible de datos para estimar VC, pero las simulaciones sugieren que agregar años de evaluación es más beneficioso que agregar localidades.

Este trabajo analiza el impacto de diferentes proporciones de valores faltantes en las estimaciones de VC usando una aproximación basada en simulaciones. Para realizar el proceso de simulación, se sumaron efectos aleatorios muestreados desde realizaciones de distribuciones normales, independientes y de varianza constante. El proceso de simulación implementado es una simplificación estocástica de los procesos observados en datos reales de EM. Estas suposiciones son comunes en programas de optimización de datos para el mejoramiento genético (e.g., Curnow, 1961; Robinson, 1984; Xu *et al.*, 1995; Mi *et al.*, 2014). En EM reales, algunos autores (Frensham *et al.*, 1997; Cullis *et al.*, 1998) han reconocido la posibilidad de varianzas heterogéneas entre los efectos de interacción  $G \times E$ . La presencia de varianzas genéticas heteroscedásticas entre localidades incrementa las estimaciones de varianza  $G \times L$  si los efectos de interacción sin cambio de rango son importantes (Crossa *et al.*, 2004). Sin embargo, las simulaciones en este trabajo asumen que las interacciones con cambio de rango (*crossing over*) son predominantes, entonces una gran proporción del total de interacción  $G \times E$  es causada por correlaciones genéticas imperfectas entre ambientes. Las varianzas dentro de todas las localidades fueron asumidas de igual magnitud, sin covarianzas porque las localidades se generaron independientemente. Este es

el caso más simple de estructura de varianza-covarianzas para el análisis de EM. Existen algunas otras opciones para el modelado de la matriz de varianza-covarianza que relaciona los genotipos a través de las localidades. En el contexto de ensayos multiambientales, es común trabajar con una estructura FA para expresar el término de interacción  $G \times E$ , porque se asume más parsimoniosa y flexible que otras estructuras de varianza-covarianza (Kang *et al.*, 2004; Resende y Thompson, 2004; Smith *et al.*, 2005). Sin embargo, es de esperar que complicar las simulaciones usando una estructura FA no traiga beneficios, principalmente porque las varianzas fueron simuladas homoscedásticas en primer lugar. Adicionalmente, Burgueño *et al.* (2011) reportaron ganancias en predictibilidad, de modelos que consideran varianzas heteroscedásticas, no superiores al 6% bajo estructuras de interacción  $G \times E$  complejas. Kleinknecht *et al.* (2016) también trabajaron con datos simulados para evaluar la influencia de algunas variables relacionadas al diseño de EM en la ganancia genética potencial. El procedimiento de simulación utilizado en esta tesis es similar al procedimiento *naïve* descrito en el trabajo de Kleinknecht *et al.* (2016). Ellos abandonan la idea de simular  $y_{ijk}$  porque reportan una carga computacional prohibitiva. No obstante, en esta tesis esto fue resuelto mediante procedimientos de paralelización en lenguaje R, que permitió procesar todas las simulaciones en menos de un mes de trabajo. El procedimiento *naïve* es también implementado en el trabajo de Piepho y Mohring (2006) usando el software estadístico SAS (SAS Institute, 1999). La mayor diferencia entre este último trabajo y esta tesis, es que el número inicial de genotipos en las series de años es reducido cada año (simulando un proceso de selección sin reemplazo). En cambio, en esta tesis el número de genotipos evaluados cada año se mantuvo fijo, mediante la incorporación de nuevos genotipos. Esto último parece reflejar mejor lo observado en los datos reales de EM y hace que los resultados sean dependientes del número total de genotipos evaluados.

Tal como otros estudios han señalado, los resultados indican que es deseable tener tantos datos como sea posible para estimar las VC (Piepho y Mohring, 2006; Arief *et al.*, 2015). Las estimaciones deben obtenerse desde datos colectados en múltiples localidades y durante varios años o podrían estar sesgadas, a menos que la varianza  $G \times E$  sea despreciable, aunque rara vez sucede (Holland y Nyquist, 2010). La causa del sesgo es el confundimiento entre la varianza de interacción  $G \times E$  y la varianza genética si son estimadas a partir de un solo ambiente (año o localidad) o a partir de una muestra de ambientes solamente (Nyquist 1991). Los resultados muestran que incrementando el número de años de evaluación se



obtienen grandes beneficios: ensayos evaluados por ocho años generaron estimaciones de VC que estuvieron sesgadas en menos del 5% y con menor RMSE, incluso en contexto de alto desbalance (hasta 86%). Sin embargo, si al adicionar localidades y años de evaluación se introduce una cantidad considerable de desbalance, las estimaciones estarán sesgadas. Los resultados mostraron que las estimaciones de la interacción triple ( $G \times L \times Y$ ) son las más robustas a la incorporación de valores faltantes. Referencias a esta componente de varianza no son fáciles de encontrar, ya que es el resultado de las prácticas de manejo y la fluctuación de las condiciones ambientales a través de las combinaciones localidad-año (Cooper *et al.*, 2001). Es difícil identificar los efectos de interacción triple que son útiles para un programa de selección de genotipos, en algunos casos estos efectos quedan confundidos con el término de error, o necesitan evaluación extensiva de genotipos para caracterizar los genotipos por sus diferencias en rendimiento y adaptación (Bänziger y Cooper, 2001). Finalmente, la repetibilidad de la media de genotipos también se benefició por un incremento en la cantidad de los datos analizados, particularmente cuando se adicionan años de evaluación. También resultó afectada por el incremento en la proporción de valores faltantes. Eligiendo cuidadosamente el porcentaje de genotipos selectos, adicionando años de evaluación para el análisis de EM y manteniendo suficiente conectividad entre genotipos y localidades a través de los años permite incrementar la repetibilidad y beneficia las estimaciones de VC reduciendo su sesgo y RMSE.

## CONCLUSIONES

La alta proporción de valores faltantes es una de las principales causas de sesgos en las estimaciones de componentes de varianza obtenidas mediante REML. Los valores faltantes también incrementan el RMSE de las estimaciones, incluso en situaciones donde el sesgo es menor al 5%. Las estimaciones de varianzas genotípicas pueden sesgarse 10% o más cuando el porcentaje de valores faltantes es mayor al 40%. Sin embargo, adicionar años de ensayos al análisis beneficia las estimaciones, reduciendo su sesgo y también su RMSE. Estimaciones de VC obtenidas a partir de bases de datos con ocho años de ensayos tienen sesgos menores al 5%. En un contexto de reemplazo anual de cultivares, adicionar años de ensayos resulta más beneficioso, en términos de sesgo y RMSE, que incrementar el número de localidades o genotipos evaluados por año. La repetibilidad de la media de genotipos también se ve disminuida por incrementos en el porcentaje de valores faltantes.

## CAPÍTULO 4

### PROTOCOLO PARA EL ANÁLISIS DE ENSAYOS MULTIAMBIENTALES COMPARATIVOS DE GENOTIPOS

#### INTRODUCCIÓN

En las últimas dos décadas, se han publicado numerosas aplicaciones de herramientas estadísticas para el análisis de EM (Gauch, 2013; Malosetti *et al.*, 2013). Sin embargo, las aplicaciones con buenas prácticas de análisis no son tan comunes. Desafortunadamente, esto trae como consecuencia el desaprovechamiento de valiosa información y recursos.

El siguiente trabajo propone un protocolo para un efectivo análisis de ensayos multiambientales comparativos de genotipos comerciales y precomerciales. Este protocolo es ilustrado con datos provenientes de la red nacional de ensayos de trigo (*Triticum aestivum* L.), coordinada por el INTA, en Argentina. Finalmente se provee el código para su implementación en lenguaje R (R Core Team, 2017).

Los ensayos agrícolas tienen generalmente un diseño experimental, que involucra aleatorización, replicación, bloqueo y/o el uso de información espacial. El objetivo principal del diseño experimental es aumentar la precisión de las comparaciones entre tratamientos, es decir, disminuir el error experimental. Los diseños más implementados en ensayos comparativos de genotipos son el diseño en bloques completos aleatorizados (BCA), para ensayos con pocos genotipos, y el diseño en bloques incompletos, para ensayos con un alto número de materiales a evaluar.

En muchos cultivos, generalmente se miden varios caracteres, incluyendo el rendimiento en grano y sus componentes, resistencia biótica y abiótica y calidad. El presente trabajo se enfoca en el rendimiento en grano como única variable respuesta, pero debe tenerse en cuenta que muchas de las herramientas estadísticas mencionadas pueden implementarse también para otros caracteres de variación continua.

Mediante MLM, es posible separar la variación existente en variación debida a genotipos, al ambiente y a su interacción. A pesar de las diferencias posibles entre ensayos de rendimiento en granos, para la mayoría de los ensayos bien diseñados las proporciones

de estas varianzas suelen ser bastante estables. En ensayos de genotipos comerciales y precomerciales, es común observar una variación genética menor al 10%, una interacción G×E moderada (15-20%) y una alta variación ambiental (>70%). La búsqueda de adaptaciones generales está asociada con la variación entre genotipos, mientras que la adaptación específica está asociada con efectos G×E. La interacción G×E puede ocurrir con o sin cambio del ordenamiento de genotipos a través de ambientes. La interacción sin cambio de rango tiene poca importancia agronómica, al igual que las interacciones con cambio de rango de genotipos de pobre desempeño. Es la interacción con cambio de rango de genotipos superiores la que complica la recomendación de genotipos. Cuando esta interacción es alta y repetible en el tiempo, puede requerirse la partición de los ambientes de ensayo en dos o más grupos de ambientes, que en casos de EM de alta extensión geográfica suelen llamarse mega-ambientes. Un mega-ambiente es definido como un subconjunto de ambientes donde el ordenamiento de genotipos es consistentemente el mismo (o similar).

El hecho de que el análisis esté dirigido a genotipos establecidos (comerciales y precomerciales) supone algunas particularidades. Por ejemplo, es poco probable que exista una complicada relación de parentesco entre los genotipos. Cuando los genotipos están correlacionados la incorporación de información de pedigree en el modelo podría mejorar la precisión de las comparaciones entre genotipos. Debido a que estamos considerando genotipos establecidos, no existe depresión por endocria, y por consecuencia, no es necesario hacer una distinción entre especies autóгамas y alógamas. Además, el número de genotipos evaluados se supone relativamente grande (>15) y también se supone que el objetivo del análisis es identificar genotipos superiores. El protocolo que se propone será presentado en tres etapas: una etapa de modelación estadística y diagnóstico, donde se mencionarán algunas variantes de MLM que pueden implementarse y herramientas de diagnóstico, una segunda etapa de explorar interacción G×E y una última de recomendaciones de genotipos basada en la información generada mediante el modelo ajustado en la primera etapa.

## ETAPA I: MODELACIÓN ESTADÍSTICA

En los EM, diferentes genotipos son evaluados en distintas localidades geográficas por un número de años para que el comportamiento de los genotipos sea representativo de su desempeño cuando sean liberados al mercado (ambientes futuros). Una forma conveniente de resumir los datos provenientes de EM es mediante Tablas de medias de genotipos en los distintos ambientes (Tablas de dos vías). Los modelos estadísticos a ajustar sobre estas Tablas son parte de una estrategia de análisis que consta de dos etapas. En la primera, ensayos individuales son analizados con modelos incluyendo términos para cuestiones de diseño y variabilidad espacial. Desde estos análisis de ensayos individuales se obtienen medias ajustadas y pesos (usualmente recíprocos de la varianza de las medias) que son utilizados en la segunda etapa, para modelar estas medias. Existen diversas metodologías para obtener los ponderadores necesarios en un análisis de dos etapas (Welham *et al.*, 2010). Una buena elección de estos procedimientos puede llevar al análisis en dos etapas a producir resultados similares al análisis en una sola etapa (siempre más óptimo), con la ventaja que el análisis en dos etapas puede ser computacionalmente más sencillo.

Existen varios modelos posibles para el análisis de EM. La idea de esta sección es comenzar con modelos sencillos y avanzar paulatinamente hacia modelos más complejos. Partiendo desde el más sencillo y primitivo, un ANOVA simple podría escribirse como:

$$\eta_{ij} = \mu + \alpha_i + \theta_j + \delta_{ij} + \varepsilon_{ij} \quad [4.1]$$

Cuando se está trabajando con una Tabla de dos vías con medias ya ajustadas, no hay una manera sencilla de separar los efectos de interacción ( $\delta_{ij}$ ) de los efectos de error aleatorio ( $\varepsilon_{ij}$ ). Para identificar el término de error experimental, es necesario desarrollar un modelo basado en observaciones parcelarias. El uso de este modelo basado en datos por parcela puede ser no deseable en términos de parsimonia y solo permite estimar el desempeño de los genotipos en los ambientes que fueron incluidos en el EM. El modelo desarrollado por Finlay y Wilkinson (1963) resultó una alternativa más atractiva al modelo de análisis de varianza para explicar los efectos de interacción. Este modelo, llamado modelo de regresión en la media, describe los efectos de interacción  $G \times E$  como una recta regresionada en la calidad ambiental. La calidad ambiental es lo que el ambiente puede ofrecer para el desarrollo de los genotipos; por ejemplo, un ambiente de buena calidad ofrece

condiciones de suelo y meteorológicas propicias para el desarrollo de genotipos. Cuantificar la calidad ambiental suele requerir de mediciones meteorológicas y buen entendimiento de cómo éstas afectan la fisiología de los genotipos. Para su cuantificación, suele utilizarse genotipos testigos, estables a través de los años. En ausencia de medidas de calidad ambiental específicas, una posible medida de la calidad biológica de cada ambiente es el desempeño promedio de los genotipos evaluados en ese ambiente. Básicamente, un ambiente bueno tendrá una media de genotipos alta y un ambiente malo, tendrá un desempeño bajo de genotipos. Los efectos de interacción en el modelo pueden verse como pendientes de regresión para cada cultivar en función de la medida de calidad ambiental. Este modelo puede escribirse como:

$$\eta_{ij} = \mu + \alpha_i + \theta_j + b_i\theta_j + \varepsilon_{ij} \quad [4.2]$$

El término  $b_i\theta_j$  está capturando la variación debida a la interacción G×E mediante una pendiente  $b_i$  para el  $i$ -ésimo cultivar por cada efecto ambiental  $\theta_j$ . En este modelo de regresión, la interacción G×E puede explicarse en términos de la sensibilidad de los genotipos ante variaciones en la calidad ambiental. Algunos genotipos (los de mayor  $b_i$ ) se benefician más que otros por un incremento en la calidad ambiental. En este sentido, un genotipo que copia perfectamente la media ambiental, tendrá un  $b_i$  igual a cero. A diferencia del primer modelo presentado, este modelo puede predecir el desempeño de los genotipos en ambientes que no fueron evaluados en el EM, siempre que éstos se encuentren en un rango comprendido entre ambientes que sí fueron evaluados. La gran desventaja de este modelo es que la caracterización ambiental está basada en una sola variable modelada linealmente (a través de las medias de cada localidad), lo que puede resultar en una gran proporción de interacción G×E no explicada. Esta limitación puede superarse planteando un modelo más flexible, que permita que más de una variable caracterice la calidad ambiental. El modelo más popular es el modelo AMMI (Gauch and Zobel, 1988) que, siguiendo con la notación, puede escribirse como:

$$\eta_{ij} = \mu + \alpha_i + \theta_j + \sum_{k=1}^K b_{ik}z_{jk} + \varepsilon_{ij} \quad [4.3]$$

donde ahora la interacción G×E es explicada a través de K términos multiplicativos, cada uno formado por el producto de la sensibilidad genotípica ( $b_{ik}$ , pesos genotípicos) y

una hipotética caracterización ambiental  $Z_{jk}$  (pesos ambientales). Esta descomposición de los efectos de interacción proviene de un PCA, que maximiza la variación explicada por el producto de los pesos genotípicos y ambientales. De forma ordenada, se espera que el primer término ( $k = 1$ , primera componente principal) exprese la mayor variación debida a la interacción, seguido por el segundo, luego el tercero, etc. Los primeros términos pueden graficarse en lo que se conoce como biplots. Éstos facilitan la exploración de la interacción entre genotipos y ambientes: genotipos que son más similares en su desempeño evaluado a través de los EM se posicionan cercanos en el gráfico con respecto a otros menos similares. Lo mismo ocurre con los ambientes. Una modificación del modelo AMMI es considerar los efectos conjuntos de genotipos y de interacción  $G \times E$  en los términos residuales a explorar mediante PCA. Este modelo se conoce como regresión por sitio (SREG) (Crossa and Cornelius, 1997) y puede especificarse como:

$$\eta_{ij} = \mu + \theta_j + \sum_{k=1}^K b_{ik} Z_{jk} + \varepsilon_{ij} \quad [4.4]$$

Para este modelo, los pesos de los genotipos en los gráficos de dimensión reducida describen en conjunto las medias de genotipos y su interacción con el ambiente. El biplot resultante de un modelo SREG se conoce como GGE biplot (Zobel *et al.*, 1988).

Las variables de calidad ambiental o scores de ambientes, obtenidas en los modelos AMMI, no tienen interpretación en términos de variables cuantificables como la temperatura, las precipitaciones, los nutrientes, etc. Una forma sencilla de evaluar el efecto ambiental sería de correlacionar los pesos ambientales obtenidos en el modelo AMMI con covariables ambientales. También es posible incluir estas variables directamente en el modelo, mediante modelos de regresión factorial (Denis, 1988). Este modelo puede escribirse de forma similar al modelo AMMI, con la diferencia fundamental que  $Z_{jk}$  es ahora una covariable ambiental y no una variable artificial. Esta distinción permite entender mejor el modelo de regresión factorial, siendo posible explicar la sensibilidad de algunos genotipos a variables cuantificables del ambiente, como la concentración de cierto nutriente o la disponibilidad hídrica.

Los modelos descriptos arriba han sido ajustados primeramente como modelos de efectos fijos, pero también como MLM. Por ejemplo, los genotipos pueden considerarse como factores de efectos aleatorios (particularmente cuando se está evaluando un número

grande de genotipos). El modelo aditivo de efectos principales para el análisis de EM podría definirse como:

$$\eta_{ij} = \mu + \underline{\alpha}_i + \theta_j + \underline{\varepsilon}_{ij} \quad [4.5]$$

donde el subrayado indica que el efecto tiene una distribución aleatoria, en este caso:

$$\alpha_i \sim N(0, \sigma_G^2) \quad \varepsilon_{ij} \sim N(0, \sigma_\varepsilon^2) \quad [4.6]$$

En este caso, el término de interacción G×E y el término de error se encuentran confundidos. Este modelo sería apropiado si  $\sigma_\varepsilon^2$  es pequeña relativa a  $\sigma_G^2$ , lo que indicaría que no hay un efecto importante de interacción G×E, por tanto existe una alta correlación del ordenamiento de genotipos en cada ambiente. En este contexto, el ordenamiento de los genotipos podría obtenerse solo del ambiente que mejor separe las medias de los genotipos. Bajo este escenario de falta de interacción G×E, cuando se cuenta con varios años de evaluación y repeticiones dentro cada año, es aconsejable separar los efectos ambientales en efectos de localidades, efectos de años y su interacción, como en el siguiente modelo:

$$\eta_{ijk} = \mu + \underline{\alpha}_i + \theta_j + \beta_k + (\theta\beta)_{jk} + \underline{\varepsilon}_{ijk} \quad [4.7]$$

Sin embargo, resulta poco probable que en el contexto de EM la interacción G×E sea despreciable. El modelo de análisis debería incluir la interacción entre los genotipos y las localidades y entre los genotipos y los años de la siguiente manera:

$$\eta_{ijk} = \mu + \underline{\alpha}_i + \theta_j + \underline{\beta}_k + (\theta\beta)_{jk} + \underline{(\alpha\theta)}_{ij} + \underline{(\alpha\beta)}_{ik} + \underline{\varepsilon}_{ijk} \quad [4.8]$$

La teoría de los MLM indica que los efectos de interacción entre un efecto aleatorio y uno fijo deben ser aleatorios. Por lo tanto, suponiendo independencia los efectos de interacción tienen distribución aleatoria:

$$\beta_k \sim N(0, \sigma_Y^2) \quad (\alpha\theta)_{ij} \sim N(0, \sigma_{GL}^2) \quad (\alpha\beta)_{ik} \sim N(0, \sigma_{GY}^2) \quad [4.9]$$

Este modelo resulta más apropiado para modelar la interacción G×E pudiendo interpretarla en términos de patrones repetibles de interacción (dados por  $(\alpha\theta)_{ij}$ ) y patrones no repetibles de interacción (dados por  $(\alpha\beta)_{ik}$ ). Este último patrón de interacción estaría modelando condiciones ambientales cambiantes año a año (las condiciones ambientales que se dan en un año en particular, no necesariamente se repetirán al año siguiente). Una

complejización de este último modelo suele darse en cultivos perennes, como la caña de azúcar, dónde los ensayos multiambientales pueden conducirse en las mismas parcelas por varios años (Ostengo *et al.*, 2013). Para este cultivo, o bien se utilizan los modelos descriptos hasta el momento para comparar genotipos evaluados en la misma edad, o se considera la correlación que existe entre medidas de una parcela en diferentes tiempos. Los MLM permiten modelar esta correlación temporal planteando diferentes estructuras para la matriz de varianzas y covarianzas de los términos de error ( $\mathbf{R}$ ) o sobre la matriz  $\mathbf{G}$ . La estructura más común para modelar correlaciones en la matriz  $\mathbf{R}$  es la llamada autorregresiva de orden uno (AR1), que considera que la correlación entre observaciones de una misma parcela decae con la distancia temporal. También es posible incorporar un efecto aleatorio asociado a la unidad experimental o parcela en el modelo (Littell *et al.*, 2000), para inducir una correlación de simetría compuesta (SC) entre observaciones dentro de una misma parcela. Tanto las estructuras SC y AR1 suponen que las correlaciones entre pares de observaciones equidistantes y las varianzas a través del tiempo son constantes. La diferencia entre estas estructuras radica en que, para la AR1 la correlación disminuye exponencialmente a medida que las distancias en el tiempo aumentan (siempre que las distancias sean equidistantes); mientras que para la estructura SC, la correlación es la misma, independientemente del tiempo transcurrido. Si bien existen otros modelos para la matriz  $\mathbf{R}$ , el modelado de la correlación temporal suele hacerse con estas estructuras sencillas, porque frecuentemente resultan las más parsimoniosas. Los modelos mencionados hasta ahora, no contemplan la estructura del diseño experimental que debe considerarse para la obtención de la Tabla de medias de genotipos en ambientes (ver capítulo 1). Para la obtención de esta Tabla de dos vías, si se cuentan con datos georreferenciados, es posible ajustar un MLM que considere la correlación espacial si existe. Una forma simple de explorar y detectar variabilidad espacial es agrupar las observaciones disponibles en función de la distancia que las separa en el espacio y analizar las diferencias entre observaciones como función de la distancia espacial entre ellas. Sin profundizar en detalles, existen diferentes modelos teóricos que relacionan la varianza de las observaciones con la distancia. Estas funciones permiten calcular las covarianzas entre las observaciones para la matriz  $\mathbf{R}$ , mediante la estimación de unos pocos parámetros que las definen. Los modelos teóricos más utilizados son el exponencial, el esférico y el gaussiano. La selección entre un modelo u otro depende del beneficio obtenido en el ajuste del modelo.



Al ajustar distintos modelos a un mismo conjunto de datos, es necesario utilizar criterios para la comparación de los ajustes. Una de las herramientas utilizadas para la selección de modelos se conoce como criterios de información. Los criterios de información proporcionan una forma de evaluar el ajuste de un modelo basado en el logaritmo de su valor de verosimilitud (log-likelihood), después de aplicar una función de penalización debida a la cantidad de parámetros que se estima en el ajuste del modelo. Un menor valor del criterio indica un "mejor" ajuste. El criterio de información de Akaike (AIC) se puede calcular sobre la base (ML o REML) de la función de verosimilitud del modelo ( $L$ ) de la siguiente manera (Akaike, 1973):

$$AIC = -2\ln(L) + 2p \quad [4.10]$$

donde  $p$  representa el número total de parámetros que estima el modelo. El criterio de información de Bayes (BIC)(Schwarz, 1978) también es comúnmente utilizado y se calcula de la siguiente manera:

$$BIC = -2\ln(L) + p \ln(n) \quad [4.11]$$

El BIC aplica una penalización mayor para los modelos con más parámetros respecto a AIC, ya que multiplica el número de parámetros estimados por el logaritmo natural de  $n$ , siendo  $n$  el número total de observaciones utilizadas en la estimación del modelo. Otra herramienta que permite comparar MLM es la prueba de cocientes de verosimilitud (LRT, Neyman and Pearson, 1928). Este método permite comparar modelos anidados en sus parámetros mediante una prueba de hipótesis, donde la hipótesis nula establece que el modelo más simple (con menos parámetros,  $\theta_0$ ) es igual o mejor al modelo con más parámetros estimados ( $\hat{\theta}$ ).

$$LRT = 2 \log \left( \frac{L(\hat{\theta})}{L(\theta_0)} \right) = 2[l(\hat{\theta}) - l(\theta_0)] \sim \chi_{gl}^2 \quad [4.12]$$

El estadístico  $LRT$  se aproxima asintóticamente a una distribución *chi-cuadrado* con grados de libertad iguales a la diferencia en el número de parámetros entre ambos modelos. Utilizando esta ecuación puede decidirse si la presencia de cierto efecto, o efectos, en el modelo resulta significativamente informativa. Si el estadístico  $LRT$  es suficientemente grande, existe evidencia suficiente para rechazar la hipótesis nula y por lo tanto aceptar el modelo más complejo. Este test es especialmente útil para comparar modelos con diferente

número de componentes principales para el modelo AMMI o SREG (K términos multiplicativos óptimos). En el caso en el que los modelos que deseen compararse no se encuentren anidados, pueden usarse los criterios de información penalizada para seleccionar el modelo de mejor ajuste.

## **ETAPA II: EXPLORACIÓN DE LA INTERACCIÓN G×E**

En esta segunda etapa se explora la interacción de los efectos de genotipos con los efectos de sitios o localidades, partiendo que la VC de interacción G×L es importante. La contribución relativa de los distintos términos aleatorios del modelo ajustado a la variabilidad total de los rendimientos, se obtiene expresando cada VC como porcentaje de la varianza total (suma de las VC del modelo) de la variable respuesta. La exploración de una varianza de interacción entre genotipos y un efecto ambiental permite determinar si esta interacción conduce a cambios de rango en el ordenamiento de los genotipos en los distintos ambientes. Sino existe interacción con cambio de rango, los genotipos superiores pueden ser identificados en cualquier ambiente, aunque usualmente existe un ambiente de evaluación ideal en donde los efectos de genotipos son más evidentes. Existiendo interacción G×L con cambio de rango, resulta necesario determinar si los patrones de la interacción se repiten a través de los años (para responder esto es necesario contar con evaluaciones en varios años). Si las interacciones G×L resultan repetibles a través de los años en un EM con numerosas localidades, éstas podrían agruparse en mega-ambientes y la evaluación de genotipos debería conducirse separadamente por cada mega-ambiente (Yan y Tinker, 2006). Si no existe un patrón de interacción G×L repetible, entonces los efectos de localidades pueden tratarse como aleatorios en el MLM ajustado para derivar los efectos de genotipos.

La interacción G×L sin cambio de rango no justifica la búsqueda de adaptaciones específicas y puede descontarse del efecto aleatorio de interacción G×E especificando en el modelo la existencia de varianzas heterogéneas entre localidades. Así, el término de interacción G×L estará dado por variación exclusivamente de interacciones con cambio de rango. Además, existe una forma gráfica de diferenciar efectos de interacción con y sin cambio de rango: Yan et al. (2000) sugiere que la primera componente principal (PC1) del biplot resultante de un modelo SREG representa respuestas de los genotipos que son

proporcionales a los ambientes (interacción sin cambio de rango) y que la segunda componente (PC2) provee información sobre la interacción con cambio de rango.

Las estimaciones y predicciones del modelo ajustado permiten comparar los genotipos en cuanto a su desempeño general, derivar medidas de estabilidad a través de las localidades y a través de los años, y calcular la correlación genética a través de los ambientes. Utilizando predicciones de los efectos aleatorios de interacción G×L y G×Y es posible derivar medidas de estabilidad genética a través de las localidades y a través de los años. Supongamos que los efectos de interacción G×L están dispuestos en una matriz donde, cada fila corresponde a un genotipo diferente y cada columna a una localidad. Calculando el desvío estándar por fila, se obtiene una medida de inestabilidad de los genotipos a través de las localidades. De la misma manera, puede obtenerse la inestabilidad de genotipos a través de los años. El cálculo de inestabilidad a través de las localidades puede hacerse agrupando localidades similares, con el fin de maximizar la estabilidad dentro de estas localidades. La división de una región en subregiones más homogéneas puede incrementar la varianza genética (o el cociente entre ésta y la interacción G×L). La eficiencia relativa de la estrategia de dividir las localidades en grupo respecto a la de mantener un único mega-ambiente depende de la correlación genética ( $r_g$ ) entre ensayos dentro de la subregión ( $sr$ ) y en la región sin dividir ( $ur$ ), así como de la repetibilidad calculada en la subregión ( $H_{sr}$ ) y en la región ( $H_{ur}$ ) (Atlin *et al.*, 2000). Para determinar si la identificación de genotipos resultará efectiva considerando subregiones, puede usarse la siguiente fórmula:

$$\frac{rc}{rd} = r_g * \sqrt{H_{sr}/H_{ur}} \quad [4.13]$$

donde  $rc$  es la respuesta correlacionada en una subregión a la selección indirecta a través de la región sin dividir y  $rd$  es la respuesta directa a la selección dentro de una subregión (Atlin *et al.*, 2000). Cuando el cociente entre ambos tipos de respuesta es menor a 1, dividir la región resultaría en una selección más efectiva de los genotipos. La correlación genética entre la región y sus divisiones puede estimarse usando las VC derivadas de un MLM con interacción genotipo × subregión:

$$\eta_{ijkl} = \mu + \underline{\alpha_i} + \underline{(\theta/\omega)_{j/l}} + \underline{\beta_k} + \omega_l + \underline{\beta\omega_{kl}} + \underline{(\theta\beta/\omega)_{jk/l}} + \underline{(\alpha\omega)_{il}} + \underline{(\alpha\beta)_{ik}} + \underline{(\alpha\beta/\omega)_{ik/l}} + \underline{\alpha\beta\omega_{ikl}} + \underline{\varepsilon_{ijkl}} \quad [4.14]$$

donde  $(\theta/\omega)_{j/l}$  es el efecto de la  $j$ -ésima localidad anidado dentro de la  $l$ -ésima subregión,  $\omega_l$  es el efecto de la  $l$ -ésima subregión,  $\beta\omega_{kl}$  es el efecto de interacción entre el  $k$ -ésimo año y la  $l$ -ésima subregión,  $(\theta\beta/\omega)_{jk/l}$  es el efecto de interacción entre la localidad  $j$  y el año  $k$  anidados dentro de la subregión  $l$ ,  $(\alpha\omega)_{il}$  es el efecto de interacción entre el  $i$ -ésimo cultivar y la  $l$ -ésima subregión,  $(\alpha\beta/\omega)_{ik/l}$  es el efecto de interacción entre el  $i$ -ésimo cultivar y el  $k$ -ésimo año anidados dentro de la  $l$ -ésima subregión y  $\alpha\beta\omega_{ikl}$  es la interacción triple entre el cultivar  $i$ , el año  $k$  y la subregión  $l$ . Exceptuando los efectos  $\omega_l$  y  $\mu$ , el resto de los efectos son considerados aleatorios, todos independientes con distribución normal de media nula y varianza constante. De la estimación de estas varianzas puede derivarse:

$$r_g = \sqrt{\frac{\sigma_G^2}{(\sigma_G^2 + \sigma_{GS}^2)}} \quad [4.15]$$

dónde  $\sigma_G^2$  es el componente de varianza genética y  $\sigma_{GS}^2$  es el de la interacción entre genotipos y las subregiones. Las repetibilidades también pueden derivarse de este modelo:

$$H_{ur} = \frac{\sigma_G^2}{\sigma_G^2 + \frac{\sigma_{GS}^2}{s} + \frac{\sigma_{GL(S)}^2}{ls} + \frac{\sigma_{GY}^2}{y} + \frac{\sigma_{GYS}^2}{ys} + \frac{\sigma_e^2}{lys}} \quad [4.16]$$

$$H_{sr} = \frac{\sigma_{G(S)}^2}{\sigma_{G(S)}^2 + \frac{\sigma_{GL(S)}^2}{l} + \frac{\sigma_{GY}^2}{y} + \frac{\sigma_{GYS}^2}{s} + \frac{\sigma_e^2}{ly}}$$

donde  $\sigma_{G(S)}^2 = \sigma_G^2 + \sigma_{GS}^2$ ;  $l$ ,  $y$ ,  $s$  son el número ponderado de localidades, años y subregiones, respectivamente.

$$l = \frac{n_{mtq}}{n_{mq}} \quad y = \frac{n_{mq}}{m} \quad s = \frac{n_{mqs}}{n_{mq}} \quad [4.17]$$

dónde  $n_{mtq}$  es el número de combinaciones únicas de genotipos, localidades y años,  $n_{mq}$  es el número de combinaciones únicas de genotipos y años,  $m$  es el número de genotipos y  $n_{mqs}$  es el número de combinaciones de genotipos, años y subregiones. La idea es

maximizar la repetibilidad dentro de la subregión, para que la separación en subregiones tenga sentido.

### **ETAPA III: RECOMENDACIÓN DE GENOTIPOS**

Como resultado de los EM comparativos de genotipos, se seleccionan los genotipos que continuarán en ensayo hasta la recomendación de los mejores genotipos para una región en particular. Comúnmente se busca en la selección, genotipos que tengan alto rendimiento y estabilidad. Sin embargo, existen algunas cuestiones que deben considerarse al momento de realizar una recomendación basada en estos criterios. En primera medida, existen muchos parámetros de estabilidad que pueden llevar a conclusiones diferentes. En este trabajo, dos medidas de estabilidad derivadas de los efectos aleatorios de interacción han sido propuestas, al considerarlas particularmente útiles porque pueden ser derivadas de Tablas de datos no necesariamente balanceadas. Especialmente útil resulta la medida de estabilidad a través de los años dentro de un mega-ambiente porque reduce la susceptibilidad de la selección de genotipos a interacciones G×E impredecibles. La selección de genotipos estables solo tiene sentido dentro de un mega-ambiente, no a través de mega-ambientes. En efecto, la selección de genotipos estables a través de los mega-ambientes es un sacrificio de potenciales ganancias en el rendimiento dadas por adaptaciones específicas (DeLacy *et al.*, 1996). Otra consideración importante debe hacerse en cuanto al número de ensayos, que debe ser razonablemente alto para obtener medidas confiables de estabilidad. Annicchiarico (2002) propone para derivar medidas de estabilidad al menos 7 localidades. Por último, pensar a la inestabilidad solo como un problema a ser minimizado es un paradigma defectuoso porque la inestabilidad también representa para los mejoradores una fuente de oportunidades (Kang and Gauch, 1996) que, mediante las herramientas estadísticas propuestas, deberían ser aprovechadas.

Mirabella et al. (2016) propusieron una medida de estabilidad de los genotipos derivada desde los datos originales en lugar de usar parámetros de un modelo que debe estimarse. En primera medida, el rendimiento de los genotipos se expresa como la diferencia porcentual respecto del rendimiento promedio del ensayo mediante:

$$d_{ij} = \frac{y_{ij} - \bar{y}_j}{\bar{y}_j} 100 \quad [4.18]$$

donde  $d_{ij}$  es la diferencia porcentual en el rendimiento del  $i$ -ésimo cultivar con la media del  $j$ -ésimo ensayo ( $\bar{y}_j$ ). Estas medias, pueden ser medias ajustadas por el diseño del ensayo. Luego por cultivar, se obtiene la variabilidad de estas diferencias a través los ensayos calculando:

$$cvd_i = \frac{\sqrt{\sum_{j=1}^t (d_{ij} - \bar{d}_i)^2 / (t-1)}}{|\bar{d}_i|} 100 \quad [4.19]$$

donde  $cvd_i$  es el coeficiente de variación de la diferencia porcentual del  $i$ -ésimo cultivar y  $t$  es el número de ensayos considerados. El promedio de las diferencias porcentuales para un cultivar y su coeficiente de variación a través de los ambientes, pueden visualizarse conjuntamente en gráficos de dispersión que resultan adecuados para identificar genotipos de alto rendimiento y mayor estabilidad. No obstante, estas medidas, simples de obtener, no incorporan la información disponible de ensayos de rendimiento donde el cultivar en cuestión no ha sido evaluado.

Por el contrario, con el uso de medidas de desempeño promedio y de estabilidad derivadas desde un MLM, toda la información disponible es usada para ajustar los estadísticos referidos a cada cultivar. En el contexto de los MLM planteados en este capítulo, la recomendación o selección de los mejores genotipos en términos de rendimiento también puede hacerse con los BLUP de efectos de genotipos (Robinson, 1991). Éstos, junto a los BLUP de efectos de interacción  $G \times Y$  y/o  $G \times L$ , usados como medida de estabilidad dentro de la región o subregión de interés, permiten identificar los genotipos de más altos rendimientos y mayor estabilidad.

## RUTINAS DE SOFTWARE PARA EL ANÁLISIS DE ENSAYOS MULTIAMBIENTALES

Las rutinas desarrolladas se ilustrarán con ejemplos reales de ensayos de genotipos comerciales de trigo para pan llevados a cabo por INASE y coordinados por INTA, en periodo de años 2007 y 2014.

Las rutinas han sido desarrolladas en R (R Core Team 2017, version 3.4.2). Para su correcto funcionamiento, es necesario instalar los paquetes de R que permiten ajustar MLM (*nlme* y *lme4*) y el que permite realizar descomposición por valor singular (*bcv*). El siguiente código debe escribirse dentro de la consola de R:

```
install.packages("nlme", "lme4", "bcv")
```

Los colores en el código presentado son simplemente a modo de simplificar su lectura. Las entradas de código al programa serán identificadas con fondo celeste y las salidas con fondo gris. Existen muchos caminos posibles para cargar los datos dentro del programa. En este caso, un archivo con extensión *.rdata* (descargar desde: [https://drive.google.com/file/d/1yBaLyl\\_9ZERleSlOfgdV-Hb8P-O636KX/view?usp=sharing](https://drive.google.com/file/d/1yBaLyl_9ZERleSlOfgdV-Hb8P-O636KX/view?usp=sharing)) contiene la Tabla de datos en un objeto llamado justamente *datos*, que puede cargarse mediante:

```
load(choose.files())
```

Una primera exploración de los datos permite comprobar su formato:

```
head(datos)
```

```
  AÑO  LOC          CUL REP    RTO
1 2007 MANFREDI      ACA 201  1 3445.74
2 2007 MANFREDI      ACA 303  1 3501.20
3 2007 MANFREDI      ACA 304  1 4251.43
4 2007 MANFREDI      ACA 315  1 3832.95
5 2007 MANFREDI      BAGUETTE 19  1 4564.79
6 2007 MANFREDI BAGUETTE PREMIUM 11  1 5151.07
```

```
summary(datos[,c(2,3,5)])
```

```
      LOC          CUL          RTO
BALCARCE :1485      ACA 315          : 364      Min.   : 44.99
PERGAMINO: 738      KLEIN GUERRERO    : 354      1st Qu.: 4020.00
TANDIL   : 729      BAGUETTE PREMIUM 11: 342      Median : 5192.96
CHACABUCO: 723      LE 2330           : 302      Mean   : 5088.26
LADULCE  : 651      BIOINTA 3005       : 300      3rd Qu.: 6227.04
BARROW   : 645      BIOINTA 3004       : 291      Max.   :10877.89
(Other)  :4800      (Other)           :7818
```

Para las columnas de localidad y cultivar se muestran las cantidades de observaciones para cada nivel y para rendimiento una estadística descriptiva propia de variables cuantitativas. Los datos se encuentran en kilogramos por hectárea y algunos valores atípicos de rendimiento (incluyendo ceros) han sido eliminados. Los datos de rendimiento se transformaron a valores enteros:

```
datos$RTO = as.integer(datos$RTO)
```

Es importante que los modelos que se ajustarán más adelante, identifiquen las variables numéricas como categorías cuando se desea interpretarlas como niveles. De lo contrario, tratará de ajustar un modelo de regresión lineal, aumentando los residuales del modelo si la variable no es interpretable linealmente. Un ejemplo serían las medias anuales, ya que no es de esperar que haya una tendencia lineal entre años consecutivos. Para evitar una mala interpretación por parte del modelo, es recomendable transformar a factor las variables que deseen interpretarte como niveles:

```
datos$AÑO = as.factor(datos$AÑO)
datos$REP = as.factor(datos$REP)
```

La combinación entre la columna que identifica los años y la que identifica las localidades forma la columna que identifica al ensayo. Osea que un ensayo es un conjunto de parcelas llevadas a cabo en una localidad en particular y en un año en particular. En total, la base de datos cuenta con 101:

```
datos$ENS = with(datos, as.numeric(as.factor(paste(AÑO, LOC))))
length(unique(datos$ENS))
[1] 101
```

Para realizar un análisis de valores extremos se pueden utilizar los cuantiles de la distribución de rendimiento dentro de cada ensayo. Se puede considerar como extremo, valores que distan de los cuantiles 0,25 o 0,75 en una distancia superior a 1,4 veces el rango intercuantílico. En una distribución normal, sin importar su desviación estandar, solo el 1% de los datos quedarían fuera de este intervalo. Más aún, si se considerara una distancia de 2 veces el rango intercuantílico, solo el 0,1% de los datos quedaría fuera de ese intervalo (y por tanto sería considerado extremo). Este último limite será utilizado para considerar un valor como extremo dentro de cada ensayo:

```
out. = with(datos, boxplot(RTO ~ ENS, range=2, plot=FALSE)$out)
lo. = with(datos, boxplot(RTO ~ ENS, range=2, plot=FALSE)$group)
na. = with(datos, boxplot(RTO ~ ENS, range=2, plot=FALSE)$names)
outlier = data.frame(
  "trial"=factor(lo., levels=1:length(na.), labels=na.),
  "outlier"=out.)
nrow(outlier)/nrow(datos)*100
[1] 0.5935933
```

Los valores extremos representan el 0,59% de las filas en la tabla (una fila es una repetición de una variedad llevada a cabo en un ensayo en particular). Para eliminar valores atípicos, se identificará las filas de la Tabla que los contienen y se descartará cada fila.



```

atipico = unlist(apply(outlier, 1, function(x){ which(datos$ENS ==
as.numeric(x[1]) & datos$RTO == as.numeric(x[2]))
}))
datos = datos[-atipico,]

```

Algunas medidas generales de los datos pueden ayudar a entenderlos mejor luego de la depuración. Por ejemplo, la media general de rendimiento:

```

mean(datos$RTO)
[1] 5089.736

```

El número de observaciones, genotipos, localidades y años:

```

nrow(datos)
[1] 9713
length(unique(datos$CUL))
[1] 99
length(unique(datos$LOC))
[1] 18
length(unique(datos$AÑO))
[1] 8

```

El rendimiento por localidad:

```

aggregate(RTO ~ LOC, datos, mean)

```

	LOC	RTO
1	9DEJULIO	4140.655
2	BALCARCE	5848.321
3	BARROW	4714.075
4	BELLOCQ	3801.003
5	CHACABUCO	5496.687
6	GRAL.VILLEGAS	3881.782
7	HUANGUELEN	4592.510
8	LADULCE	6419.270
9	MACIEL	5414.690
10	MANFREDI	4480.335
11	MARCOSJUAREZ	5011.525
12	MIRAMAR	5682.300
13	PARANA	4351.990
14	PERGAMINO	4488.747
15	PLA	4901.894
16	RAFAELA	4127.592
17	TANDIL	5552.946
18	VENADO TUERTO	4851.494

El número de genotipos evaluados por ensayo:

```

table(do.call("rbind", as.list(by(datos, datos$ENS,
function(x){ length(unique(x$CUL)) } ))))

```

15	17	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34
2	1	3	2	6	13	6	4	24	3	10	11	4	4	4	3	1

De 15 a 34 genotipos fueron evaluados por ensayo. En 24 ensayos se evaluaron 26 genotipos, siendo esta la cantidad de genotipos por ensayo más común. De los genotipos evaluados, ¿Existe alguno que haya sido evaluado en todos los ensayos?

```

any(colSums(table(datos$ENS, datos$CUL)!=0)==length(unique(datos$ENS)))
[1] FALSE

```

No existe. En este caso, ¿Cuáles son los genotipos que están en al menos el 90% de los ensayos si es que existen?

```
names(which(colSums(table(datos$ENS, datos$CUL) != 0) >
(length(unique(datos$ENS)) * .9)))
[1] "ACA 315" "BAGUETTE PREMIUM 11" "KLEIN GUERRERO"
```

Hay 3 genotipos que están presentes en el 90% de los ensayos. Probablemente estos fueron usados como testigos y debieran proveer suficiente conexión entre ensayos para evitar problemas de convergencia.

## ETAPA I: MODELACIÓN

A continuación, se ajustarán MLM, con diferentes grados de complejidad. Para esto es necesario cargar la librería *nlme*.

```
library(nlme)
```

En caso de contar con datos espaciales, estos pueden usarse para el ajuste de medias considerando la correlación espacial mediante una función que mida la *distancia euclídea* entre puntos en el espacio y estime la correlación en función de esa distancia. A continuación se proveen dos funciones para el ajuste de medias (*ajustarMedias* y *SPajustarMedias*). Ambas funciones pueden ajustar medias en ensayos con un diseño en bloques completos aleatorizados (*design = "rcb"*) o un diseño en bloques incompletos en *lattice* (*design = "lattice"*). La diferencia entre funciones es que la segunda ajusta un modelo espacial (se debe contar con las posiciones de las parcelas en filas y columnas) con función de correlación exponencial. Las librerías de *nlme* permite el ajuste de otras funciones de correlación, que pueden ser implementadas en el código provisto cambiando el argumento dónde se indica el tipo de correlación espacial a considerar.

```
ajustarMedias = function(Ensayo, design = "rcb"){
  require(lme4)
  miModelo = switch(design,
                    lattice = lmer(RTO ~ CUL + (1|REP/BLOQUE), data=Ensayo,
REML=TRUE),
                    rcb = lmer(RTO ~ CUL + (1|REP), data=Ensayo, REML= TRUE)
  )
  Ensayo$RTOaj = predict(miModelo)
  aggregate(RTOaj ~ AÑO + LOC + CUL + ENS, data=Ensayo, mean)
}

SPajustarMedias = function(Ensayo, design = "rcb"){
  require(nlme)
  miModelo = switch(design,
                    lattice = lme(RTO ~ CUL, random=list(REP=pdIdent(~1),
BLOQUE=pdIdent(~1)), correlation=corExp(form=~as.numeric(as.character(columnas))
+ as.numeric(as.character(filas)), metric="euclidean", nugget=FALSE),
method="REML", data=Ensayo),
                    rcb = lme(RTO ~ CUL, random=list(REP=pdIdent(~1)),
correlation=corExp(form=~as.numeric(as.character(columnas)) +
as.numeric(as.character(filas)), metric="euclidean", nugget=FALSE),
method="REML", data=Ensayo)
  )
  Ensayo$RTOaj = predict(miModelo)
  aggregate(RTOaj ~ AÑO + LOC + CUL + ENS, data=Ensayo, mean)
}
```

Como en el conjunto de datos de ilustración las parcelas no han sido georreferenciadas (no existen coordenadas espaciales), se ajustarán las medias con la primera función:

```
datosaj = do.call("rbind", by(datos, datos$ENS, ajustarMedias))
```

```
datosaj$RTOaj = round(datosaj$RTOaj)
```

Un MLM a ajustar podría considerar efectos fijos de año y localidad y un efecto aleatorio de cultivar:

```
Modelo1 = lme(RTOaj ~ AÑO + LOC, random=list(CUL=pdIdent(~1)),  
method="REML", data=datosaj)
```

Podría también incluirse la interacción G×L y G×Y:

```
Modelo2 = lme(RTOaj ~ AÑO + LOC, random=list(CUL=pdIdent(~1),  
CUL=pdIdent(~AÑO), CUL=pdIdent(~LOC)), method="REML", data=datosaj)
```

La interacción localidad×año, no es estimable cuando existe desbalance y es considerada como un factor de efectos fijos. Por ello, puede estimarse un modelo con todos los efectos como efectos aleatorios. Esto permite incluir la interacción año×localidad como efecto aleatorio. La librería *lme4* permite correr modelos con muchos efectos aleatorios de una forma más eficiente que la librería *nlme* (Bates *et al.*, 2015).

```
library(lme4)  
Modelo3 = lmer(RTOaj ~ 1 + (1|CUL) + (1|AÑO) + (1|LOC) + (1|CUL:AÑO) +  
(1|CUL:LOC) + (1|AÑO:LOC), REML=T, data=datosaj)
```

Las VC, expresadas como desvío estándar, estimadas con el modelo 3, son:

```
VarCorr(Modelo3)
```

Groups	Name	Std.Dev.
	Cultivar:Location (Intercept)	205.53
	Cultivar:Year (Intercept)	208.19
	Year:Location (Intercept)	1183.74
	Cultivar (Intercept)	229.56
	Location (Intercept)	450.52
	Year (Intercept)	688.15
	Residual	476.60

Con la librería *nlme* es posible especificar varianzas heterogéneas por localidad. Se propone un modelo anidado al 2 con pesos para las varianzas de cada localidad. El modelo que se propone (modelo 4) está más parametrizado que el modelo 2, para asegurar su convergencia se agregó un argumento a la función que controla el número máximo de iteraciones.

```
Modelo4 = lme(RTOaj ~ AÑO + LOC, random=list(CUL=pdIdent(~1),  
CUL=pdIdent(~AÑO), CUL=pdIdent(~LOC)),  
weights=varComb(varIdent(form=~1|LOC)), control=lmeControl(niterEM=350,  
msMaxIter=600), method="REML", data=datosaj)
```

Para la comparación de los modelos ajustados, puede obtenerse el criterio de bondad de ajuste AIC o BIC:

```
round(sapply(list(Modelo1, Modelo2, Modelo3, Modelo4),AIC))  
[1] 44505 44509 41188 44201
```

```
round(sapply(list(Modelo1, Modelo2, Modelo3, Modelo4),BIC))  
[1] 44664 44679 41235 44471
```

Los modelos anidados 2 y 4 pueden compararse mediante la prueba LRT:

```
anova(Modelo2, Modelo4)
```

	Model	df	AIC	BIC	logLik	Test	L.Ratio	p-value
Modelo2	1	29	44509.20	44679.33	-22225.60			
Modelo4	2	46	44200.77	44470.63	-22054.39	1 vs 2	342.4286	<.0001

El valor p significativo indica que hay diferencias significativas a favor del modelo con más número de parámetros (modelo 4).

## **ETAPA II: INTERACCIÓN CON EL AMBIENTE**

Obtener una Tabla de dos vías, con medias de genotipos en filas y ambientes en columnas, puede ser una forma práctica de resumir los datos provenientes de EM para realizar estudios exploratorios de interacción G×E. Para obtener esta Tabla, es necesario ajustar las medias por ensayo, descontando los efectos de diseño experimental. Con las medias ajustadas, es posible correr un ANOVA de efectos principales (sin interacción).

```
Modelo5 = lm(RTOaj ~ CUL + LOC + AÑO, data=datosaj)
anova(Modelo5)
```

**Analysis of Variance Table**

Response: RTOaj

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
CUL	98	555108738	5664375	4.1481	< 2.2e-16 ***
LOC	17	1101787196	64811012	47.4620	< 2.2e-16 ***
AÑO	7	1137427986	162489712	118.9935	< 2.2e-16 ***
Residuals	2510	3427491599	1365535		

---  
Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Para ajustar el modelo de regresión en la media, es necesario una medida de la calidad ambiental, que puede obtenerse calculando la media de cada ambiente:

```
mediaAMB = aggregate(RTOaj ~ AÑO + LOC, datosaj, function(x)
round(mean(x, na.rm=T) ) )
colnames(mediaAMB)[3] = "mediaAMB"
datosajma = merge(datosaj, mediaAMB, by=c("AÑO", "LOC"), all.x= TRUE)
```

El modelo de regresión en la media puede pedirse mediante el siguiente código:

```
Modelo6 = lm(RTOaj ~ CUL + CUL:mediaAMB, data=datosajma)
```

Debido al desbalance, los efectos ambientales calculados a partir de medias aritméticas de los ambientes pueden estar sesgadas. En lugar de usar las medias, el modelo 6 puede ajustarse con predicciones insesgadas de los efectos de localidades y años e interacción localidad-año, extraídas del modelo de efectos aleatorios (modelo 3). A este modelo de regresión, que considera una medida de calidad ambiental derivada a partir de estos BLUP

de efectos ambientales, le llamaremos modelo 6-bis. Para los genotipos seleccionados (Figura 4.7) la diferencia entre usar medias o BLUPs, para evaluar la calidad ambiental, fue pequeña debido a que estos genotipos están profusamente evaluados.

```

LOCb = ranef(Modelo3)$LOC ; colnames(LOCb) = "LOCb" ; LOCb$LOC =
row.names(LOCb)
AMBBLUP = merge(mediaAMB, LOCb, by = "LOC")
AÑOb = ranef(Modelo3)$AÑO ; colnames(AÑOb) = "AÑOb" ; AÑOb$AÑO =
row.names(AÑOb)
AMBBLUP = merge(AMBBLUP, AÑOb, by = "AÑO")
AÑOLOCb = ranef(Modelo3)$"AÑO:LOC" ; colnames(AÑOLOCb) = "AÑOLOCb" ;
AÑOLOCb$AÑOLOC = row.names(AÑOLOCb)
AMBBLUP$AÑOLOC = paste0(AMBBLUP$AÑO, ":", AMBBLUP$LOC)
AMBBLUP = merge(AMBBLUP, AÑOLOCb, by = c("AÑOLOC"))
AMBBLUP$AMBb = AMBBLUP$LOCb + AMBBLUP$AÑOb + AMBBLUP$AÑOLOCb +
mean(AMBBLUP$mediaAMB)
datosajma2 = merge(datosaj, AMBBLUP, by=c("AÑO", "LOC"), all.x= TRUE)
Modelo6bis = lm(RTOaj ~ CUL - 1 + CUL:AMBb, data=datosajma2)

```

El ajuste de un modelo AMMI puede hacerse descomponiendo los efectos de interacción G×E que se encuentran confundidos con los residuos del modelo aditivo (modelo 5). De igual manera, para ajustar un modelo que permita obtener un GGE, se necesitan solo ajustar los efectos ambientales, para que los efectos de interés (de cultivar y su interacción con el ambiente) estén confundidos en los efectos residuales.

```

Modelo7 = lm(RTOaj ~ LOC + AÑO, data=datosaj)

```

Estos residuos deben disponerse en forma matricial para realizar el PCA. Para llevar los residuos a su forma matricial, se puede usar la siguiente función:

```

thematrix = function(mycultivars, myenvironments, myresiduals)
{
  thedata = data.frame(
    "y"=as.factor(mycultivars),
    "x"= as.factor(myenvironments),
    "z" = myresiduals)
  thematrix = matrix(NA,
    nrow=length(unique(thedata$y)),
    ncol=length(unique(thedata$x)))
  colnames(thematrix) = unique(thedata$x)
  rownames(thematrix) = unique(thedata$y)
  for (w in 1:nrow(thedata)){
    thematrix[as.character(thedata$y[w]),
    as.character(thedata$x[w])] = thedata$z[w] }
  thematrix
}

```

A continuación, se pedirán los residuos del modelo 5 y 7 y se llevarán a su forma matricial mediante la función propuesta.

```

Geres = thematrix(datosaj$CUL, paste(datosaj$AÑO, datosaj$LOC),
residuals(Modelo5))

```

```
GGEres = thematrix(datosaj$CUL, paste(datosaj$AÑO, datosaj$LOC),
residuals(Modelo7))
```

Esta matriz tiene valores faltantes correspondientes a las combinaciones faltantes de genotipos y ambientes. La proporción de valores faltantes es igual en ambas matrices y puede calcularse mediante:

```
sum(is.na(GEres)) / (nrow(GEres) * ncol(GEres))
[1] 0.7366737
```

El PCA requiere que la matriz esté completa. Usualmente, cuando las proporciones de valores faltantes son bajas (menores al 40%), los datos faltantes pueden imputarse con errores pequeños. En este caso, con una proporción de valores faltantes tan alta, los errores de predicción serán demasiado altos (Yan, 2013). El siguiente código separa los datos por año, calcula las dimensiones de las matrices resultantes y la proporción de valores faltantes dentro de cada año. Además descarta genotipos que fueron evaluados menos de 4 veces por año, disminuyendo así el porcentaje de valores faltantes.

```
yearI = unlist(lapply(strsplit(colnames(GEres), " "), function(x)x[1]))
yearC = unique(yearI)
GEyear = list()
GGEyear = list()
for(i in 1:length(yearC)){
  GEyear[[i]] = GEres[,yearI == yearC[i]]
  GGEyear[[i]] = GGEres[,yearI == yearC[i]]

  colnames(GEyear[[i]]) = gsub('[0-9]+ ', '', colnames(GEyear[[i]]))
  colnames(GGEyear[[i]]) = gsub('[0-9]+ ', '', colnames(GGEyear[[i]]))

  GEyear[[i]] = GEyear[[i]][rowSums(!is.na(GEyear[[i]]))>3,]
  GGEyear[[i]] = GGEyear[[i]][rowSums(!is.na(GGEyear[[i]]))>3,]
  GEyear[[i]] = GEyear[[i]][,colSums(!is.na(GEyear[[i]]))>3]
  GGEyear[[i]] = GGEyear[[i]][,colSums(!is.na(GGEyear[[i]]))>3]

  print(paste("year =", yearC[i], "dim =", paste(dim(GEyear[[i]]),
collapse="x"),
            "Mvp =", round(sum(is.na(GEyear[[i]])) / (nrow(GEyear[[i]]))
* ncol(GEyear[[i]]), 2) ))
}
[1] "year = 2007 dim = 32x17 Mvp = 0.24"
[1] "year = 2008 dim = 32x11 Mvp = 0.15"
[1] "year = 2009 dim = 34x14 Mvp = 0.26"
[1] "year = 2010 dim = 30x11 Mvp = 0.2"
[1] "year = 2011 dim = 31x13 Mvp = 0.25"
[1] "year = 2012 dim = 29x13 Mvp = 0.2"
[1] "year = 2013 dim = 32x12 Mvp = 0.23"
[1] "year = 2014 dim = 37x10 Mvp = 0.21"
```

De aquí puede observarse que, luego del descarte, un promedio de 32 genotipos fueron evaluados en 12 localidades cada año. Además, el porcentaje de valores faltantes siempre

resulta menor al 26%, un valor que podría ser razonable para imputar. Para esto, es necesario cargar la librería *bcv* que permite realizar la imputación mediante SVD de las matrices.

```
library(bcv)
```

A modo didáctico, la imputación de los valores faltantes puede observarse gráficamente comparando las Figuras, o esquema de Tablas de datos, que produce el siguiente código:

```
image(GEyear[[2]], yaxt='n', xaxt='n')  
image(impute.svd(GEyear[[2]], k=1, maxiter = 10000)$x, yaxt='n',  
xaxt='n')
```

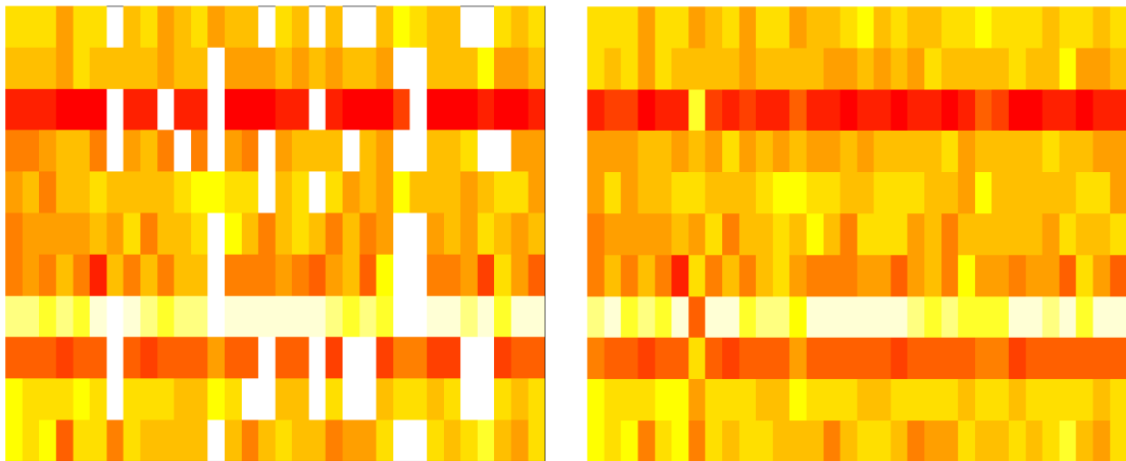


Figura 4.1. Esquema de valores faltantes en la matriz de residuos de interacción  $G \times L$ ; sin imputar (izquierda) y luego de la imputación de datos faltantes (derecha). Color blanco representa valores faltantes; de amarillo a rojo se indican valores decrecientes de residuos de interacción.

Para imputar dentro de cada año:

```
for (i in 1:length(yearC)){  
  GEyear[[i]][,] = impute.svd(GEyear[[i]], k=1, maxiter=10000)$x  
  GGEyear[[i]][,] = impute.svd(GGEyear[[i]], k=1, maxiter=10000)$x  
}
```



La siguiente función permite graficar un biplot:

```
ObtainBiplot = function(mymatrix, mylim=.5, Labcex=c(.8, .8), PCs =
c(1,2)){
  windows(300, 300)
  Limits = c(-mylim, mylim)
  PC = prcomp(scale(mymatrix))
  thesv = round(((PC$sdev)^2 / sum(PC$sdev^2))*100, 1)
  lambda = PC$sdev * sqrt(nrow(PC$x))
  plot(t(t(PC$x) / lambda)[, PCs], pch=16,
       ylab=paste0('PC', PCs[2], ' - ', thesv[PCs[2]], '% de varianza
explicada'), cex=0,
       xlab=paste0('PC', PCs[1], ' - ', thesv[PCs[1]], '% de varianza
explicada'), xlim=Limits, ylim=Limits)
  if(is.numeric(Labcex[1])){
    text(t(t(PC$x) / lambda)[, PCs], labels=rownames(t(t(PC$x) /
lambda)[, PCs]), cex=Labcex[1])
  }else{
    points(t(t(PC$x)/lambda)[, PCs])
  }
  par(new=T)
  Rot = t(t(PC$rotation)*lambda)
  XLIM = c(-max(abs(Rot[, PCs[1]])), max(abs(Rot[, PCs[1]])))
  XLIM = XLIM+(XLIM*0.1)
  plot(Rot[,PCs], col=4, axes=FALSE, xlim=XLIM, ylim=XLIM, pch="",
       ylab='', xlab='')
  arrows(rep(0, nrow(PC$rotation))*0.9, rep(0, nrow(PC$rotation))*0.9, Rot[,
PCs[1]]*0.9, Rot[, PCs[2]]*0.9, col='red')
  text(Rot[, PCs], rownames(Rot), col='red', cex=as.numeric(Labcex[2]))
}
```

Con esta función obtuvo, a modo de ilustración, un biplot para el modelo AMMI del primer año de evaluación:

```
ObtainBiplot(GEyear[[1]], Labcex=c(.7, .7))
```

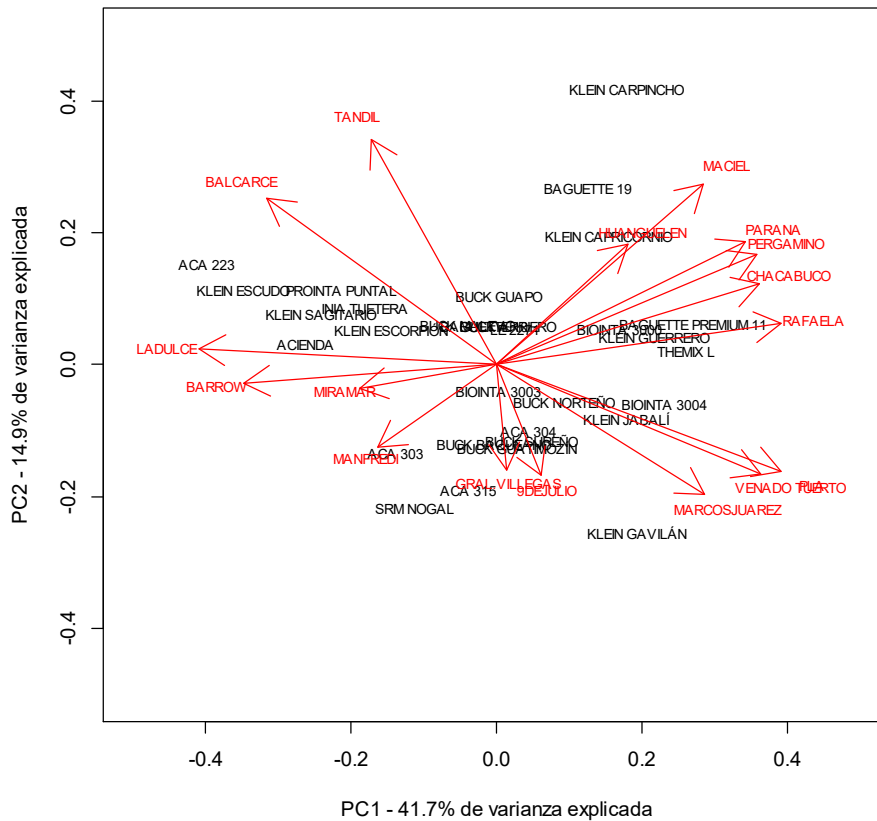


Figura 4.2. Biplot de un modelo AMMI. La información presentada corresponde al primer año de evaluación de 32 genotipos de trigo para pan en 17 localidades de la región triguera argentina.

El ángulo que forman los vectores de las localidades representa la correlación entre estas localidades: un ángulo agudo entre dos localidades representa una correlación positiva, un ángulo recto correlación cercana a cero y un ángulo obtuso una correlación negativa o inversa en términos de interacción  $G \times L$ . La posición de los genotipos en el gráfico representa su interacción con las localidades: un genotipo que se orienta en el mismo sentido a un vector de localidad (por ejemplo, *Klein Gavilán* está orientado hacia el cuadrante inferior derecho al igual que *Marcos Juárez*) significa una interacción positiva de ese genotipo en esa localidad. Cuando esta relación se da en sentido horizontal, la correlación que mide la interacción del genotipo con el ambiente es más fuerte que cuando se observa sobre la PC2. Asumiendo que una gran proporción de la variabilidad total en los residuos es debida a efectos de interacción y no a efectos propios del error, las componentes principales capturan las fuentes de variación más importantes para explorar los patrones de interacción. En este gráfico se ha considerado las primeras dos componentes principales, que explican un 55% de la variabilidad total en los residuos. Cuando el porcentaje de variabilidad explicado por

las primeras dos PCs es bajo, es necesario definir cuántas componentes principales más deben analizarse para analizar la interacción. Mediante la prueba LRT se pueden comparar dos modelos anidados, uno con un determinado número de componentes, y otro con más PCs. Si el LRT resulta en diferencias estadísticamente significativas entre ambos modelos, el análisis debe realizarse con el modelo que incluye mayor número de componentes. Para el conjunto de datos de ilustración se comparó mediante LRT, un modelo con las primeras 2 PCs con otro que usa las primeras 3 PCs para representar la interacción G×E.

```
PC = prcomp(scale(GEyear[[1]]))
thesv = round(((PC$sdev)^2 / sum(PC$sdev^2))*100, 1)
lambda = PC$sdev * sqrt(nrow(PC$x))
PCs = as.data.frame(t(t(PC$x) / lambda))
PCs$CUL = row.names(PCs)
datosaj2 = merge(datosaj[datosaj$AÑO == 2007,], PCs, by = "CUL")
ModPC2 = lm(RTOaj ~ LOC + PC1 + PC2, data=datosaj2)
ModPC3 = lm(RTOaj ~ LOC + PC1 + PC2 + PC3, data=datosaj2)
anova(ModPC2, ModPC3)
```

#### Analysis of Variance Table

```
Model 1: RTOaj ~ LOC + PC1 + PC2
Model 2: RTOaj ~ LOC + PC1 + PC2 + PC3
```

	Res.Df	RSS	Df	Sum of Sq	F	Pr(>F)
1	392	121057675				
2	391	120422605	1	635070	2.062	0.1518

Para el primer año de evaluación de genotipos, no hay ganancia en el porcentaje de variabilidad total explicada cuando se consideran 3 PCs en lugar de 2. Se podría seguir probando con un mayor número de componentes, pero dada la dificultad de interpretar un número alto de componentes, se decide explorar el patrón que surge en el gráfico de las dos primeras, conociendo que algunas correlaciones entre localidades y genotipos, de menor cuantía a las que se ven en el gráfico, no serán identificadas.

La función *ObtainBiplot* propuesta, permite graficar componentes principales diferentes a las primeras dos, cambiando el argumento *PCs* de la función. Puede observarse, en la Figura 4.3, como algunas localidades están correlacionadas en términos de interacción en el biplot conformado con las 2 primeras PCs. Claro que esto no significa que estas localidades sean similares en términos de rendimiento o calidad ambiental, ni que estas localidades deban formar un mega-ambiente. Para continuar la ilustración, se muestra biplot para el segundo año de evaluación:

```
ObtainBiplot(GEyear[[2]], Labcex = c(.7, .7))
```

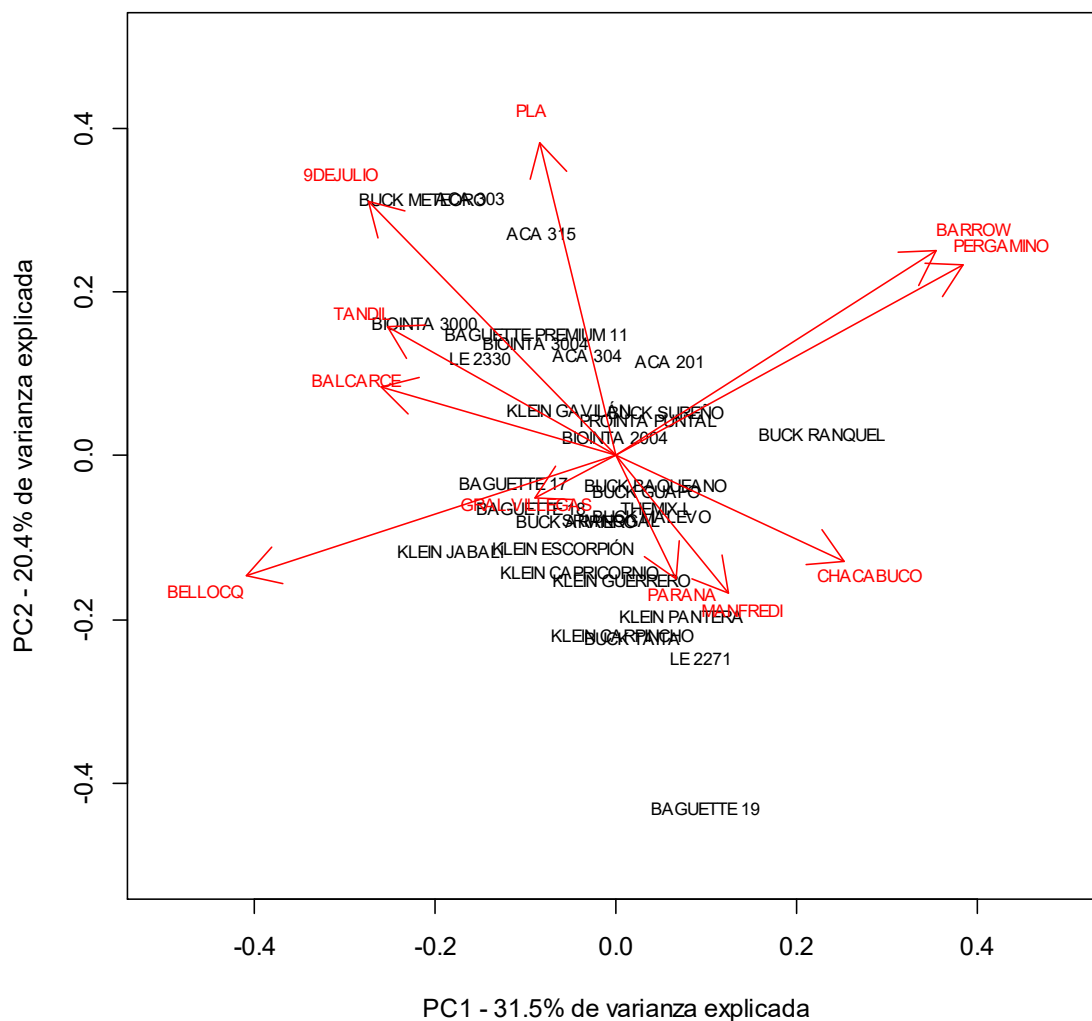


Figura 4.3. Biplot de un modelo AMMI. La información presentada corresponde al segundo año de evaluación (2008) de 32 genotipos de trigo para pan en 11 localidades de la región triguera argentina.

La comparación de la estructura de correlación entre localidades a través de distintos biplots anuales puede soportar inferencias sobre la existencia o no de mega-ambientes. No obstante, la técnica más recomendada para la formación de mega-ambientes, es el GGE biplot. Usualmente, la primera componente principal de este modelo representa respuestas de los genotipos que son proporcionales a través de los ambientes, las cuales se asocian con la interacción  $G \times E$  sin cambio de rango. Mientras que la PC2 representa respuestas de los genotipos no proporcionales a través de los ambientes, es decir aquellas responsables de la interacción  $G \times E$  con cambio de rango.

```
ObtainBiplot(GGEyear[[1]], Labcex=c(.7, .7))
```

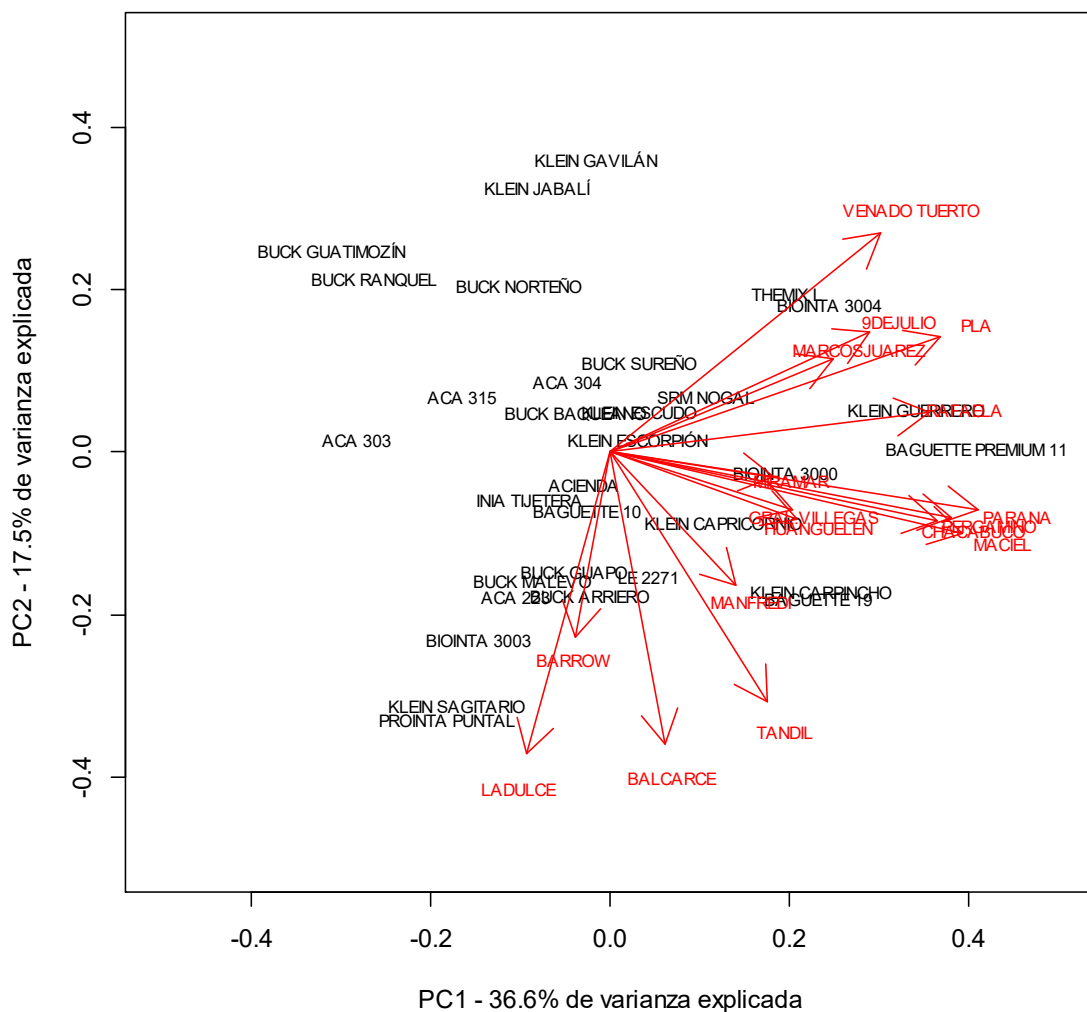


Figura 4.4. GGE biplot. Información presentada correspondiente al primer año de evaluación, de 32 genotipos de trigo para pan en 17 localidades de la región triguera argentina.

En esta Figura, localidades de mayor rendimiento están ubicadas a la derecha del gráfico, discriminadas por la primera componente principal. Además, puede observarse interacción con cambio de rango entre algunas localidades que forman ángulos obtusos, como es el caso de *Barrow* y *Venado Tuerto*. Además, en las localidades *Paraná*, *Pergamino* y *Maciel* los genotipos se ordenaron de forma similar, con un alto rendimiento en el primer año de evaluación. El cultivar *Baguette Premium 11* se destacó dentro el ambiente comprendido entre estas localidades. La interacción con cambio de rango fue pobremente representada en este gráfico (solo el 17% de la varianza total está representada en la PC2). En casos como este, es recomendable observar la tercera componente principal, en busca de interacciones con cambio de rango no representadas en esta segunda componente:

```
ObtainBiplot(GGEyear[[1]], Labcex=c(.7, .7), PCs=c(1,3))
```

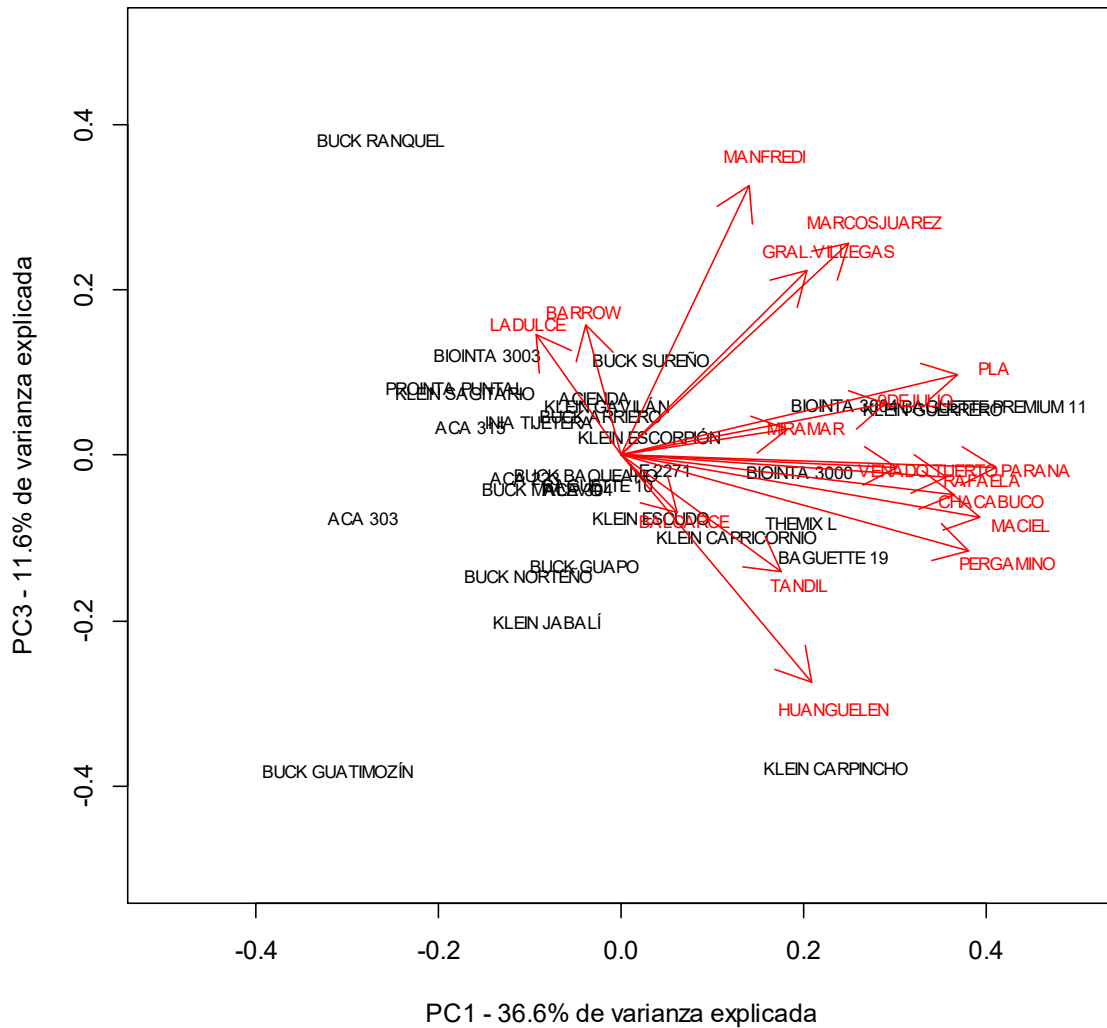


Figura 4.5. GGE Biplot construido con la primera y la tercera componente principal. La información presentada corresponde al primer año de evaluación (2007) de 32 genotipos de trigo para pan en 17 localidades de la región triguera argentina.

En la tercera componente principal sigue observándose diferencias entre las localidades *Venado Tuerto* y *Barrow*, pero ahora la relación entre *Barrow* y otras localidades, (como *Tandil*) es opuesta. Estos gráficos y patrones deberían ser analizados en todos los años antes de poder sugerir un mega-ambiente que resulte estable con el paso de los años.

Otra forma de explorar la interacción cultivar-localidad es usando una matriz  $G \times L$  conteniendo los BLUP de interacción para cada genotipo en cada ambiente. Algunos de los genotipos podrían no haber sido evaluados en alguna localidad y, en ese caso, se propone imputar los datos faltantes, con un algoritmo SVD, los valores faltantes. El siguiente código, identifica los términos de interacción faltantes.

```

GLEffect = as.data.frame(ranef(Modelo3)$"CUL:LOC")
GLmatrix = thematrix(sapply(rownames(GLEffect),
function(x)unlist(strsplit(x, ":"))[[1]]),
                    sapply(rownames(GLEffect),
function(x)unlist(strsplit(x, ":"))[[2]]),
                    GLEffect$`(Intercept)`))
sum(is.na(GLmatrix)) / (nrow(GLmatrix)*ncol(GLmatrix))
[1] 0.4214366

```

Estas predicciones tienen un 42% de valores faltantes que deberían imputarse. Aunque es posible reducir este valor descartando algunos genotipos probados en muy pocas localidades o eliminando genotipos de un desempeño promedio muy bajo, ya que la interacción de importancia se relaciona a los genotipos de mejor desempeño. En este ejemplo, se eliminaron los genotipos (filas de la matriz de interacción G×L) evaluados en menos de 3 localidades.

```

GxLmm = GLmatrix[rowSums(!is.na(GLmatrix))>3, ]
dim(GxLmm)
[1] 84 18
sum(is.na(GxLmm)) / (nrow(GxLmm)*ncol(GxLmm))
[1] 0.3353175

```

Eliminando genotipos que fueron evaluados en 3 o menos localidades el porcentaje de valores faltantes disminuye de 42% a 33%. Posteriormente, se procede a la imputación.

```

GxLmm[ , ] = impute.svd(GxLmm, k=1, maxiter=10000)$x

```

Esta misma matriz puede graficarse mediante:

```

ObtainBiplot(GxLmm, Labcex=c("", .7))

```

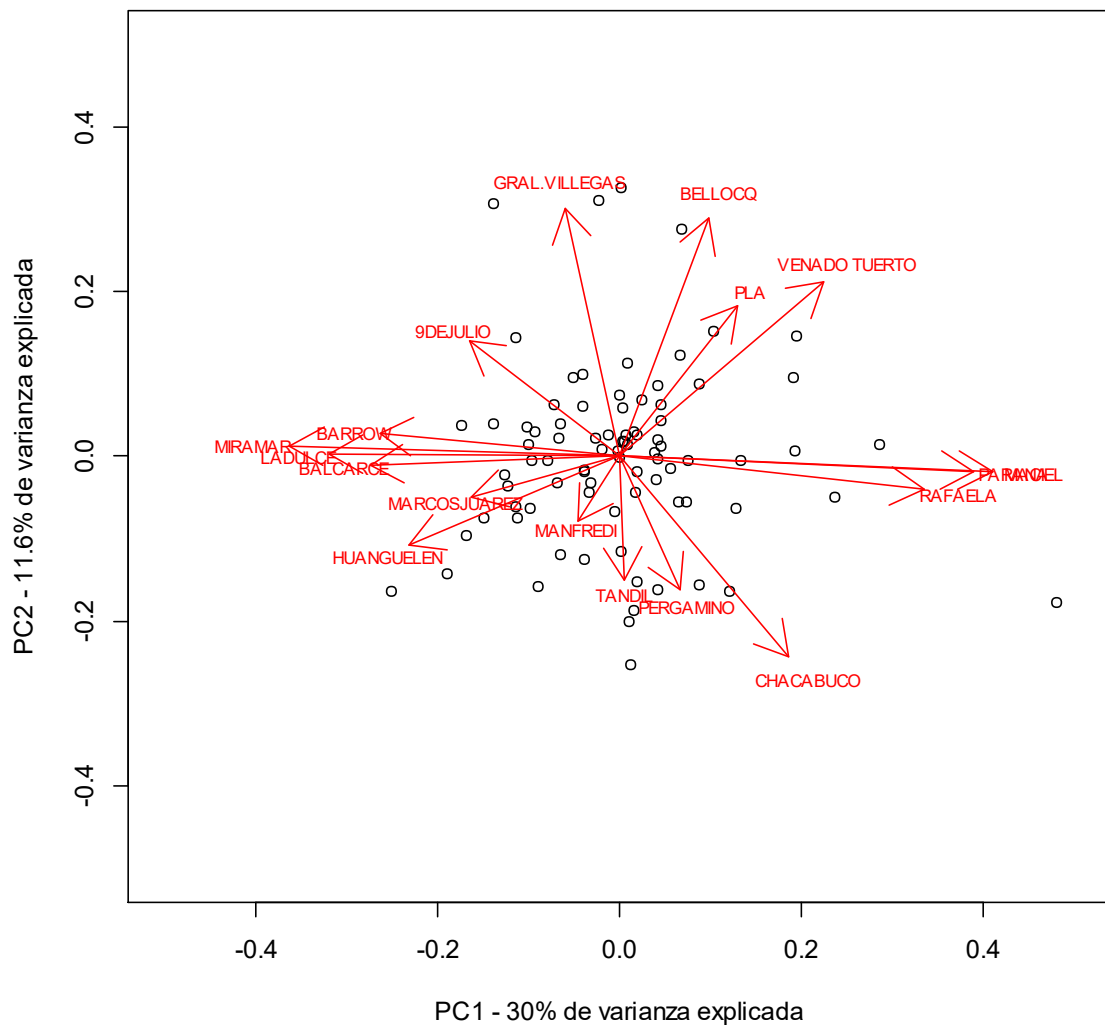


Figura 4.6. Biplot AMMI de la interacción entre 84 genotipos de trigo para pan y 18 localidades de la región triguera argentina.

En la Figura 4.6 se omitieron los nombres de los genotipos. Las correlaciones genéticas entre localidades son así elaboradas a partir de la información de todos los años. Por lo tanto, desde este gráfico es posible armar subregiones que, en promedio, resultan consistentes a través de los años.



A continuación, se proponen 4 posibles subregiones derivadas del agrupamiento de localidades:

```
Subregion = data.frame("LOC"=colnames(GxLmm), "Subregion"=rep(0,18))
Subregion[Subregion$LOC %in% c("PARANA", "MACIEL", "RAFAELA"), 2] = "A"
Subregion[Subregion$LOC %in% c("MIRAMAR", "BARROW", "BALCARCE",
"LADULCE"), 2] = "B"
Subregion[Subregion$LOC %in% c("9DEJULIO", "GRAL.VILLEGAS", "BELLOCQ",
"PLA", "VENADO TUERTO"), 2] = "C"
Subregion[Subregion$LOC %in% c("CHACABUCO", "PERGAMINO", "TANDIL",
"MANFREDI", "MARCOSJUAREZ", "HUANGUELEN"), 2] = "D"
datosaj2 = merge(datosaj, Subregion, by="LOC")
datosaj2$LSR = paste(datosaj2$LOC, datosaj2$Subregion)
```

Para calcular la correlación genética entre ensayos dentro de las subregiones es necesario ajustar un nuevo MLM, que considere el efecto de subregion y nuevos términos de interacción con este efecto (Atlin *et al.*, 2000). A partir de este modelo, se extrajeron las VC.

```
Modelo8 = lmer(RTOaj ~ 1 + (1|AÑO) + Subregion + (1|LSR) +
(1|AÑO:Subregion) + (1|AÑO:LSR) + (1|CUL) + (1|CUL:AÑO) +
(1|CUL:Subregion) + (1|CUL:LSR) + (1|CUL:AÑO:Subregion), REML=T,
data=datosaj2)
varmodelo8 = as.data.frame(VarCorr(Modelo8))[, c(1,4)]
Vg = varmodelo8[varmodelo8$grp=="CUL", 2]
Vgs = varmodelo8[varmodelo8$grp=="CUL:Subregion", 2]
Vg_s = Vg + Vgs
Vgl_s = varmodelo8[varmodelo8$grp=="CUL:LSR", 2]
Vgy = varmodelo8[varmodelo8$grp=="CUL:AÑO", 2]
Vgys = varmodelo8[varmodelo8$grp=="CUL:AÑO:Subregion", 2]
Ve = varmodelo8[varmodelo8$grp=="Residual", 2]

rg = Vg / sqrt(Vg*(Vg+Vgs))
```

Usando estas VC estimadas, puede calcularse la repetibilidad genética agrupando en subregiones y la repetibilidad genética en la región sin particionar. Para esto, es necesario obtener medias ponderadas del número de años, localidades y subregiones, mediante el siguiente código:

```
datosaj2$YG = paste(datosaj2$AÑO, datosaj2$CUL)
datosaj2$YLG = paste(datosaj2$AÑO, datosaj2$CUL, datosaj2$LOC)
datosaj2$YSG = paste(datosaj2$AÑO, datosaj2$CUL, datosaj2$Subregion)

y = with(datosaj2, length(unique(YG)) / length(unique(datosaj2$CUL)))
l = with(datosaj2, length(unique(YLG)) / length(unique(YG)))
s = with(datosaj2, length(unique(YSG)) / length(unique(YG)))
Hur = Vg / (Vg+Vgs / s+Vgl_s / (1*s)+Vgy / y+Vgys / (y*s)+Ve / (1*y*s))
Hsr = Vg_s / (Vg_s+Vgl_s / l+Vgy / y+Vgys / y+Ve / (1*y))
rg * sqrt(Hur / Hsr)
[1] 0.5181309
```

Este cociente de respuestas es menor a uno, por lo tanto, las subregiones armadas son válidas. Sin embargo, en la última Figura no resulta claro si las localidades *Marcos Juárez* y *Huanguelen* pertenecen realmente a la subregión D o podrían considerarse dentro de la subregión B. Un posible indicador de la conveniencia de incluir estas localidades dentro de la subregión B sería preguntarse si este cambio produce una disminución del cociente de respuestas. Reajustando el modelo en función de estos cambios propuestos, se observó un aumento en el cociente de respuestas (0.53) y, por lo tanto, se concluyó que sería recomendable mantener la localidad dentro de la subregión D.

### **ETAPA III: IDENTIFICACIÓN DE GENOTIPOS SUPERIORES**

Basado en el modelo de regresión del desempeño de los genotipos en relación con la calidad ambiental, se pueden obtener gráficos útiles para evaluar diferencias entre genotipos a nivel de su respuesta al ambiente (Figura 4.7). Es importante notar que no se está linealizando la respuesta promedio de los genotipos sino su interacción con el ambiente. A continuación, se presentará un ejemplo para 3 genotipos ampliamente ensayados en el conjunto de datos de ilustración.

```
genotipos = c("ACA 315", "BAGUETTE PREMIUM 11", "KLEIN GUERRERO")
plot(c(min(datosajma2$AMBb), max(datosajma2$AMBb)),
     c(min(datosajma2$AMBb), max(datosajma2$AMBb)), xlab="Calidad ambiental
(kg/ha)", ylab="Rendimiento (kg/ha)", pch="")
abline(0, 1, lty=2)
for (i in 1:length(genotipos)){
  param = coef(Modelo6bis)[grepl(genotipos[i], names(coef(Modelo6bis)),
fixed=T)]
  abline(param, col=i+1)
}
legend("bottomright", legend=genotipos, lty=1,
col=(1:length(genotipos))+1, cex=0.7)
```

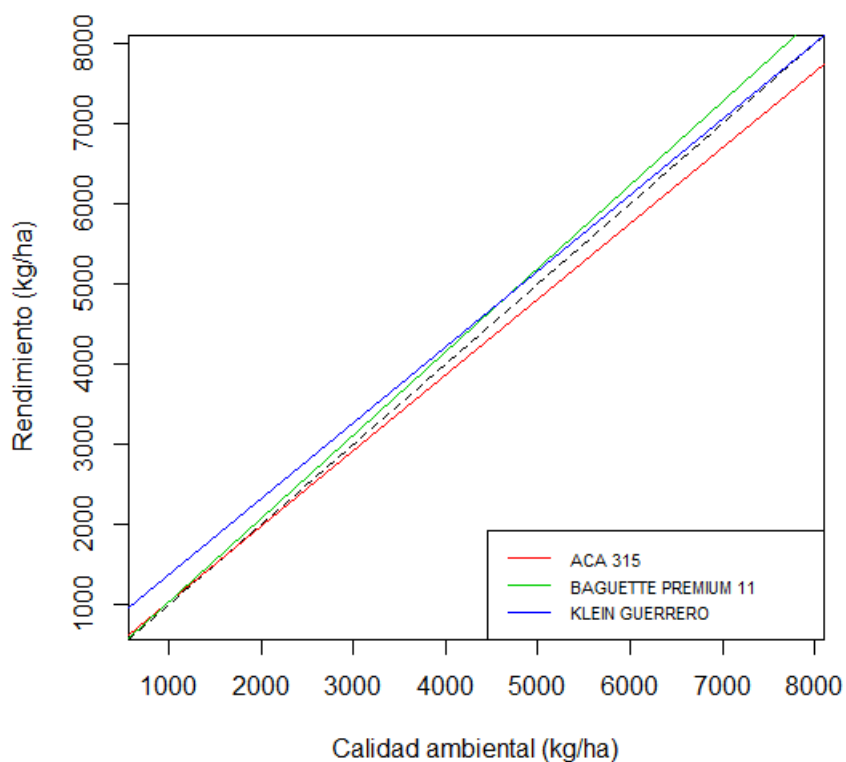


Figura 4.7. Relación lineal entre el rendimiento y la calidad ambiental (medida como la media del rendimiento en cada ambiente) de 3 genotipos de trigo para pan.

En este ejemplo, puede observarse como el cultivar en color verde interacciona positivamente con ambientes de alta calidad (es decir, ambientes cuyas medias están por encima de 5000 kg/ha), superando la línea de puntos con pendiente a 45 grados que representa la no interacción. Para ambientes de baja calidad (es decir, ambientes cuyas medias de rendimiento están por debajo de 3000 kg/ha) en cambio, el cultivar representado en azul tiene interacción más positiva.

Para derivar una medida de estabilidad a través de los ambientes, se propone la siguiente función, cuyo argumento principal son los BLUP de interacción derivados del MLM ajustado.

```
estBLUP = function(BLUP, gpos, func){
  genotypes = names(lapply(by(BLUP[,1], do.call("rbind",
  strsplit(rownames(BLUP), ":"))[,gpos], I), length)) [
  which(unlist(lapply(by(BLUP[,1], do.call("rbind",
  strsplit(rownames(BLUP), ":"))[,gpos], I), length))>1)]
  if(length(genotypes)==0){return('NA')}else{
  if("AsIs" %in% class(BLUP)) {
  class(BLUP) <- class(BLUP)[-match("AsIs", class(BLUP))]}
  BLUP = cbind(BLUP, 1)
  BLUP2 = BLUP[which(do.call("rbind", strsplit(rownames(BLUP), ":"))[,gpos]
  %in% genotypes), ]
  BLUPv = unlist(lapply(by(BLUP2[,1], do.call("rbind",
  strsplit(rownames(BLUP2), ":"))[, gpos], I), func))
  data.frame(BLUPv)}
}
```

La inestabilidad genotípica a través de las localidades se obtiene mediante esta función y el objeto de efectos de interacción  $G \times L$  anteriormente evaluado.

```
estGL = estBLUP(GLeffect, 1, sd)
```

Esta medida de inestabilidad es útil para la búsqueda de adaptaciones generales. También puede obtenerse una medida de inestabilidad genotípica dentro de cada subregión evaluada.

```
locorder = factor(do.call("rbind", strsplit(rownames(GLeffect),
":"))[,2])
levels(locorder) = Subregion[match(as.factor(levels(locorder)),
Subregion$LOC), 2]

estA = estBLUP(GLeffect[locorder=="A", , drop=FALSE], 1, sd)
estB = estBLUP(GLeffect[locorder=="B", , drop=FALSE], 1, sd)
estC = estBLUP(GLeffect[locorder=="C", , drop=FALSE], 1, sd)
estD = estBLUP(GLeffect[locorder=="D", , drop=FALSE], 1, sd)
```

La función también puede usarse para obtener una medida de inestabilidad de los genotipos a través de los años:

```
estGY = estBLUP(ranef(Modelo3)$"CUL:AÑO", 1, sd)
```

La fórmula descripta por Mirabella *et al.*, (2016) permite calcular el coeficiente de variación de la diferencia porcentual de un cultivar respecto del rendimiento promedio del ensayo.

```
datosaj = merge(datosaj, aggregate(RTOaj ~ ENS, datosaj, mean), by="ENS",
all.x=T)
datosaj$dij = (datosaj$RTOaj.x - datosaj$RTOaj.y) / datosaj$RTOaj.y*100
cvd = as.data.frame(sapply(by(datosaj, datosaj$CUL, I), function(x)
sd(x$dij) / abs(mean(x$dij))*100))
colnames(cvd) = "cvd"
head(round(cvd))
```

	cvd
ACA 201	365
ACA 202	77
ACA 223	155
ACA 302	NA
ACA 303	336
ACA 304	256

El programa asignará “NA” a valores para genotipos que no pueden obtenerse por falta de datos. Esta Tabla tendrá tantas filas como genotipos evaluados. Por cuestiones de simplicidad, solo se presentan los 6 primeros registros usando la función *head*.

Finalmente, la recomendación de un genotipo por adaptación general con los BLUP obtenidos y su estabilidad a través de las localidades. Una vez más se presentarán solo los primeros 6 registros:

```
estab = merge(estGL, ranef(Modelo3)$CUL, by="row.names")
colnames(estab) = c("Cultivar", "Inest", "BLUP")
head(estab)
```

	Cultivar	Inest	BLUP
1	ACA 201	69.30534	-123.19846
2	ACA 202	44.15279	-243.22299
3	ACA 223	112.20138	-249.49660
4	ACA 303	103.60524	-167.35981
5	ACA 304	99.47754	-202.59565
6	ACA 307	122.20250	12.33256

Para recomendar un genotipo por adaptación específica dentro de una subregión, se usarán los BLUP de la interacción cultivar×subregión y los BLUP del efecto principal de cultivar. Ambos BLUP escalados, más la estimación del intercepto pueden utilizarse para obtener una predicción del rendimiento promedio del cultivar dentro de cierta subregión. En este caso, y a modo de ejemplo, se presentarán gráficos de recomendaciones específicas para la subregión “A”.

```

estab = merge(estGL, ranef(Modelo3)$CUL, by="row.names")
colnames(estab) = c("Cultivar", "Inest", "BLUP")
head(estab)
BLUPGS = ranef(Modelo8)$"CUL:Subregion" / sqrt(Vgs)
srorder = factor(do.call("rbind", strsplit(rownames(BLUPGS), ":"))[, 2])
BLUPA = BLUPGS[srorder=="A", , drop=FALSE]
row.names(BLUPA) = gsub(":A", "", row.names(BLUPA))
BLUPA = transform(merge(BLUPA, ranef(Modelo8)$"CUL" / sqrt(Vg), by=0),
row.names=Row.names, Row.names=NULL)
BLUPA$BLUP = BLUPA[, 1]+BLUPA[, 2]
BLUPA$RTOaj = BLUPA$BLUP*sqrt(Vg) + fixed.effects(Modelo8)[("(Intercept)"]
SRA = merge(BLUPA[, 4, drop=F], estA, by="row.names")
colnames(SRA) = c("CUL", "RTOaj", "Inest")
plot(SRA$Inest, SRA$RTOaj, xlab="Inestabilidad", ylab="Rendimiento",
main="Subregion A", cex=0.5)
abline(h=fixed.effects(Modelo8)[("(Intercept)"], col=2)
Selected = SRA[SRA$RTOaj > 4600 & SRA$Inest < 90, ]
text(Selected$Inest, Selected$RTOaj + 20, labels=Selected$CUL, cex=0.5)
points(Selected$Inest, Selected$RTOaj, pch=19, cex=0.5)

```

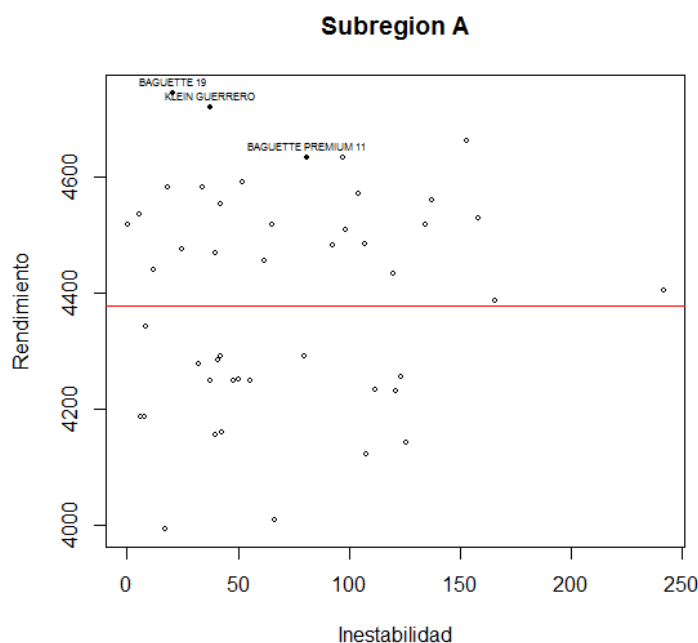


Figura 4.8. Identificación de genotipos superiores en rendimiento y de mayor estabilidad a través de ambientes formados por las localidades de Paraná, Rafaela y Maciel, que forman parte del norte de la región triguera argentina. La línea roja marca la media de genotipos evaluados.

En la Figura 4.8 se identifican 3 genotipos con alto rendimiento y que resultan relativamente estables dentro de esta subregión. Cuando se cuenta con un número suficiente de años de evaluación, es recomendable que los genotipos selectos sean evaluados también en función de su estabilidad a través de los años. Para tal fin se presenta el siguiente código:

```
SRAGY = merge(BLUPA[, 4, drop=F], estGY, by="row.names")
colnames(SRAGY) = c("CUL", "RTOaj", "Inest")
plot(SRAGY$Inest, SRAGY$RTOaj, xlab="Inestabilidad", ylab="Rendimiento",
main="Subregion A", cex=0.5)
abline(h=fixed.effects(Modelo8) ["(Intercept)"], col=2)
SelectedY = SRAGY[SRAGY$CUL %in% Selected$CUL, ]
text(SelectedY$Inest, SelectedY$RTOaj + 20, labels=SelectedY$CUL,
cex=0.5)
points(SelectedY$Inest, SelectedY$RTOaj, pch=19, cex=0.5)
```

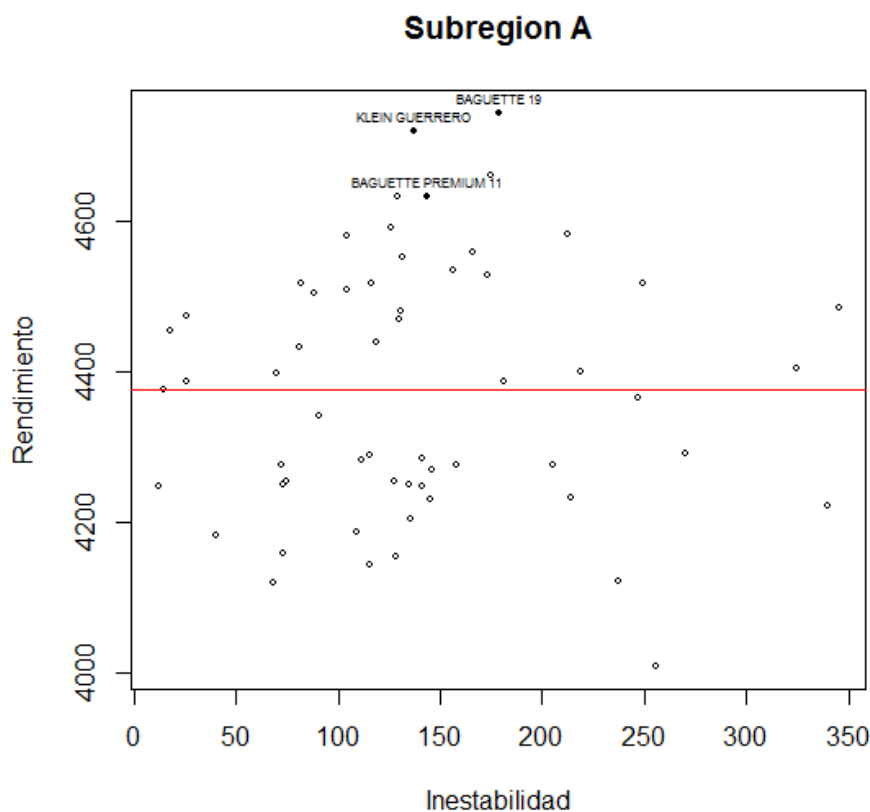


Figura 4.9. Recomendación de genotipos basada en predicciones del rendimiento promedio de los genotipos y sus inestabilidades a través de 8 años de evaluación. La línea roja marca el rendimiento medio.

## CONCLUSIÓN

Distintos MLM deben ser usados en la secuencia de análisis de los EM para llegar a identificar los genotipos a recomendar. Los códigos provistos permiten el ajuste de MLM con efectos aleatorios de genotipo y con interacciones modeladas a través de componentes principales para obtener los BLUP de los efectos de genotipos, explorar la interacción  $G \times E$  y cuantificarla a través de los BLUP de interacción. El uso del marco teórico de MLM permite un análisis completo de varios años de EM bajo desbalance.



## CAPÍTULO 5

### DESEMPEÑO ESTADÍSTICO DE MODELOS PARA FENOTIPADO AUTOMÁTICO DE ENSAYOS COMPARATIVOS DE GENOTIPOS

#### INTRODUCCIÓN

El rendimiento en granos es afectado por un gran número de factores genéticos y ambientales (Lee and Tollenaar, 2007), excluyendo enfermedades, el estrés calórico e hídrico están considerados entre los más importantes (Wang *et al.*, 2003). Estos factores afectan muchos aspectos de la fisiología de las plantas, incluyendo el contenido de clorofila, la biomasa aérea, el contenido hídrico de la planta y, finalmente el rendimiento en granos (Yordanov *et al.*, 2000; Sinsawat *et al.*, 2004). Muchos aspectos fisiológicos y características agronómicas que afectan el rendimiento en grano de un cultivo, también producen diferencias en la reflectancia de la radiación electromagnética a diferentes longitudes de onda. Estas diferencias pueden ser medidas usando cámaras hiperespectrales que colectan datos a diferentes fases del desarrollo del cultivo (Hatfield y Prueger, 2010).

Las plataformas de fenotipado automático se utilizan para evaluar un gran número de genotipos a un costo relativamente pequeño mediante un método no destructivo (Montes *et al.*, 2007; Andrade-Sanchez *et al.*, 2014). Los datos de reflectancia son comunmente usados para derivar índices de vegetación (IV) que son predictivos de caracteres como el área foliar total, el contenido de clorofila, el contenido hídrico de la planta, biomasa o rendimiento (Thorp *et al.*, 2015). La mayoría de los IV están basados en algunas bandas de reflectancia del espectro medido. Por ejemplo, el índice de vegetación de diferencia normalizada (NDVI) está basado en la relación de la diferencia entre la reflectancia en el espectro del infrarrojo cercano (llamado NIR, por sus siglas en inglés), desde 700 nm a 1100 nm, y parte del espectro en el color rojo (a 670 nm), relativizada a la suma de ambos (Tucker, 1979). Otros índices comunmente usados para el estudio de caracteres agronómicos incluyen el índice de agua en el canopeo (CWMI, Winterhalter *et al.*, 2011), el índice de la diferencia normalizada a 705 nm (mND, Sims y Gamon, 2002), el índice de clorofila terrestre basado en el satélite

MERIS (MTCI, Dash y Curran, 2004), el nuevo índice modificado de la relación de absorbancia de la clorofila (MCARI2, Haboudane *et al.*, 2004), y el índice de la reflectancia fotoquímica (PRI, Gamon *et al.*, 1992). Cabe destacar que las traducciones al español de estos índices pueden variar, para mayor información, remitirse a la bibliografía citada.

Las cámaras hiperespectrales pueden medir reflectancias a muchas longitudes de onda (también llamadas bandas). El presente trabajo se basa en la hipótesis que los modelos predictivos alimentados con datos de todas las bandas medidas pueden alcanzar mayor capacidad predictiva que los modelos basados en un IV. De esta manera, el primer objetivo del presente trabajo fue cuantificar la capacidad predictiva que pueden alcanzar ecuaciones de regresión que usan datos de todo el espectro medido y compararla con predicciones basadas en IV.

Los modelos predictivos basados en datos de imágenes hiperespectrales pueden constituirse de un gran número de coeficientes de regresión. Estimar estos parámetros frecuentemente requiere el uso de metodología que sea capaz de lidiar con los desafíos estadísticos que surgen en modelos con gran número de parámetros: la comúnmente llamada “maldición de la dimensionalidad”. En las últimas décadas, hubo un importante desarrollo de metodologías estadísticas para regresiones de gran dimensión (Friedman *et al.*, 2001). Recientemente, algunos autores consideraron el uso de métodos de penalización y selección de variables para ajustar regresiones con información de todo el espectro para predecir el rendimiento de cultivos (Hernandez *et al.*, 2015) o componentes de la leche en ganado vacuno (Ferragina *et al.*, 2015). Basado en esto, el segundo objetivo de este trabajo fue evaluar métodos alternativos de predicción considerando 3 propuestas: regresión por mínimos cuadrados (OLS) con toda la información de las bandas disponibles, regresión por mínimos cuadrados parciales (PLS, un método de reducción de dimensionalidad, Kramer, 1998), y un método bayesiano de penalización y selección de variables (BayesB, Meuwissen *et al.*, 2001).

Los datos de reflectancia pueden ser medidos en múltiples fases del desarrollo del cultivo. Las mediciones de la reflectancia del cultivo en diferentes puntos temporales proveen información de diferentes aspectos de la fisiología del cultivo. Basado en esto último, se hipotetizó que combinando información recolectada en múltiples momentos en un mismo modelo predictivo, puede usarse para incrementar la capacidad predictiva en

comparación a la alcanzada usando una sola imagen de reflectancia. Finalmente, el tercer objetivo fue cuantificar los efectos de combinar datos espectrales tomados desde múltiples puntos temporales durante el ciclo del cultivo en la predicción del rendimiento en granos. Para este fin, para cada método considerado, se compararon los desempeños predictivos alcanzados usando datos tomados en un único punto temporal con predicciones hechas con datos de múltiples momentos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Las bases de datos analizadas en este capítulo consisten en 11 ensayos que evalúan el rendimiento de 467 híbridos precomerciales de maíz. Los ensayos se llevaron a cabo en condiciones de estrés térmico e hídrico en la estación experimental del Centro Internacional de mejoramiento de maíz y trigo (CIMMYT) en Ciudad Obregón, Sonora, México ( $27^{\circ}20'$  N,  $109^{\circ}54'$  W, a 38 metros sobre el nivel del mar). Los datos fueron recolectados durante la estación cálida (verano-otoño) del año 2014 (ver Anexo 3 para un resumen de las condiciones ambientales, el número de genotipos y replicas de cada ensayo). Las temperaturas durante la temporada de crecimiento variaron desde  $22^{\circ}\text{C}$  a medianoche a  $41^{\circ}\text{C}$  al mediodía durante floración. Los ensayos se plantaron el 20 de junio en parcelas de dos surcos y 4,5 metros de longitud, a una densidad de 6,9 plantas por metro cuadrado con 80 cm de espaciado entre surcos y fueron cosechados el 5 de octubre del mismo año. Los ensayos fueron plantados con un diseño de bloques incompletos tipo *alpha lattice* con 2 (ensayos 1, 5 al 11) o 3 repeticiones (ensayos 2 al 4). Durante los primeros 45 días luego de la siembra, las pérdidas por evapotranspiración fueron completamente compensadas cada semana mediante riego. Transcurrido ese tiempo, el crecimiento del cultivo se valió únicamente del agua residual y dos pequeñas lluvias ocurridas los días 21 (de 15 mm) y 31 (10 mm) luego de floración (definida como la fecha en que el 50% de las plantas comenzara a producir polen). Todos los ensayos recibieron dos tratamientos fertilizantes: 100 kg/ha de  $(\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$  y 500 kg/ha de  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  al momento de la siembra y 250 kg/ha de  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  al comienzo del período V5 (según la escala fenológica definida por Hanway, 1963). Malezas, insectos y enfermedades fueron controladas cuando hizo falta. Las plantas fueron cosechadas manualmente cuando todas las parcelas tuvieron una humedad en el grano igual

o inferior a 15%. El carácter analizado en este estudio fue rendimiento en granos, ajustado al 12,5% de humedad y convertido a ton/ha.

### **DATOS DE IMÁGENES ESPECTRALES**

Los datos espectrales se recolectaron usando una cámara hiperespectral (*VNIR Headwall Photonics Micro-Hyperspec ARS3, Headwall Photonics, Inc., Fitchburg, MA, USA*) montada en una aeronave mono-motor de dos tripulantes. Los vuelos comenzaron a los 55 días luego de la siembra (cuando la mayoría de los ensayos tuvo el 50% de las parcelas en floración) y fueron repetidos a los 62, 69, 75 y 83 días luego de la siembra (desde aquí en adelante llamados T1, T2, ..., T5, respectivamente). Para alcanzar la resolución de 30 cm por pixel, los vuelos fueron llevados a cabo a una altitud de 300 m y a una velocidad terrestre de aproximadamente 34 m/s. La cámara hiperespectral tuvo una resolución radiométrica de 10 bits. Ésta adquiere imágenes desde los 392 a los 850 nm, subdivididas en 62 bandas espectralmente equidistantes con una resolución de 1,9 nm, cubriendo el espectro visible y parte del espectro infrarrojo cercano.

Además, se aplicó un filtro a las imágenes para excluir píxeles correspondientes a la mezcla entre el cultivo y el suelo, y para calibrar la intensidad de la reflectancia. La corrección atmosférica fue llevada a cabo con el modelo de simulación *SMARTS* desarrollado por el Laboratorio Nacional de Energía Renovable, del Departamento Estadounidense de Energía (Gueymard, 2001). El procedimiento se realizó con mediciones de la profundidad óptica del aerosol a 550 nm con un fotometro solar *Micro-Tops II (Solar LIGHT Co., Philadelphia, PA, USA)*. Las cámaras hiperespectrales fueron radiométricamente calibradas con un sistema de fuente de luz uniforme (esfera de integración, *CSTM-USS 2000C Uniform Source System, LabSphere, NH, USA*) a 4 diferentes niveles de iluminación y 6 diferentes tiempos de integración. Las imágenes de las parcelas fueron recortadas excluyendo 2 o 3 píxeles de borduras por parcela. Las coordenadas de las parcelas fueron definidas basadas en una grilla de poligonos representando las parcelas de los ensayos. Esta grilla fue ajustada en el mapa basada en la posición real medida con un sistema de posicionamiento global *Trimble R4*. Cada una de las 62 bandas de reflectancia fue medida usando el valor medio obtenido de los píxeles centrales de cada parcela. A partir de los datos de reflectancias, varios índices fueron obtenidos (NDVI, CWMI, mND, MTCL, MCARI2 y PRI) siguiendo las fórmulas reportadas en la Tabla 5.1.

## MODELOS DE REGRESIÓN

Los modelos lineales ajustados con datos tomados en un punto temporal se obtienen regresionando medidas fenotípicas ( $y_{ij}$  dónde  $i$  representa al  $i$ -ésimo ensayo y  $j$  a la  $j$ -ésima parcela dentro del  $i$ -ésimo ensayo) sobre entradas obtenidas en un punto temporal (T1, T2, T3, T4 o T5). Las entradas fueron las 62 bandas, variables latentes (VL) derivadas de las 62 bandas usando PLS, o un IV. Todas las entradas fueron estandarizadas antes de ajustar el modelo. Las ecuaciones de regresión usadas para ajustar los modelos en un punto en el tiempo fueron:

$$\text{Para el modelo basado en 62 bandas: } y_{ij} = \mu_{(t)} + \sum_{k=1}^{62} x_{ijk(t)}\beta_{k(t)} + \varepsilon_{ij(t)}$$

$$\text{Para el modelo basado en VLs: } y_{ij} = \mu_{(t)} + \sum_l LV_{ijl(t)}\gamma_{l(t)} + \varepsilon_{ij(t)}$$

$$\text{Para el modelo basado en IV: } y_{ij} = \mu_{(t)} + z_{ij(t)}\alpha_{(t)} + \varepsilon_{ij(t)}$$

donde  $\mu_{(t)}$  son interceptos,  $x_{ijk(t)}$  representa la reflectancia tomada de la  $k$ -ésima banda colectada al  $t$ -ésimo punto temporal ( $t=1, 2, \dots, 5$ ),  $LV_{ijl(t)}$  es la  $l$ -ésima variable latente evaluada en la  $ij$ -ésima parcela derivada del espectro colectado al  $t$ -ésimo tiempo,  $z_{ij(t)}$  es un índice de vegetación (ya sea NDVI, CWMI, mND, MTCI, MCARI2 o PRI) derivado de datos colectados al  $t$ -ésimo punto temporal en la  $ij$ -ésima parcela, y  $\beta_{k(t)}$ ,  $\gamma_{l(t)}$ ,  $\alpha_{(t)}$  son coeficientes de regresión para las entradas mencionadas. El término de error ( $\varepsilon_{ij(t)}$ ) se asumió independiente con media nula y varianza igual a  $\sigma_{\varepsilon(t)}^2$ . Los coeficientes de regresión fueron estimados mediante OLS o usando un método de penalización y selección de variables (modelo BayesB, Meuwissen *et al.*, 2001). BayesB es un modelo de regresión lineal bayesiano comunmente usado en el ámbito de predicción genómica. En un modelo BayesB, los efectos a priori son asumidos independientes, e idénticamente distribuidos, cada uno consistió en una mezcla de distribuciones que corresponde a una distribución  $t$  con un punto de mayor densidad en el cero. Más precisamente, las distribuciones *a priori* para cada efecto siguen la siguiente fórmula:

$$p(\beta_{k(t)}|\pi, S, df) = \pi t(\beta_{k(t)}|, df, S) + (1 - \pi)1(\beta_{k(t)} = 0) \quad [5.1]$$

donde  $\pi$  representa la proporción de efectos no nulos,  $t(\beta_{k(t)} | df, S)$  es la densidad de una distribución t escalada con grados de libertad  $df$  y parámetro de escala  $S$ ), y  $1(\beta_{k(t)} = 0)$  es el incremento de densidad en el cero, cuyo peso en la distribución es igual a  $(1 - \pi)$ . El parámetro  $\pi$  controla la proporción de efectos no nulos (es decir, cuantas predicciones entran en el modelo y cuantas son igualadas a cero). Aquellas que entran en el modelo son estimadas con penalización dada por la distribución t escada. El tamaño de la selección de variables y la penalización de los estimadores de los efectos que no son igualados a cero son controlados por los hiper-parámetros  $\{\pi, df, S\}$ . La implementación del modelo BayesB se realizó mediante la librería “*BGLR*” en lenguaje R (Pérez y de los Campos, 2014),  $\pi$  y  $S$  son estimados desde los datos y  $df$  es fijado por defecto en un valor igual a 5, lo cual confiere a la distribución  $t$  una densidad mayor que la normal en las colas. Mayores detalles acerca de este modelo pueden encontrarse en Meuwissen et al. (2001) y de los Campos et al. (2013). Un resumen de los modelos de regresión considerados se provee en la Tabla 1.

Tabla 5.1. Modelos de regresión usados para predecir el rendimiento en granos desde 62 bandas de reflectancia capturadas mediante cámaras hiperspectrales.

Modelo <sup>†</sup>	Entradas <sup>‡</sup>	# de entradas	Método de estimación
Modelos basados en IV:			
NDVI	$(R_{800} - R_{670}) / (R_{800} + R_{670})$	1	OLS
CWMI	$R_{850} / R_{725}$	1	OLS
mND	$(R_{750} - R_{705}) / (R_{750} + R_{705} - 2R_{445})$	1	OLS
PRI	$(R_{531} - R_{570}) / (R_{531} + R_{570})$	1	OLS
MTCI	$(R_{753} - R_{708}) / (R_{708} + R_{681})$	1	OLS
MCARI2	$\frac{1.5[2.5(R_{800} - R_{670}) - 1.3(R_{800} - R_{550})]}{\sqrt{(2R_{800} + 1)^2 - (6R_{800} - 5\sqrt{R_{670}}) - 0.5}}$	1	OLS
Modelo PLS:			
PLS	Variables latentes derivadas de 62 bandas	2-23 <sup>§</sup>	PLS
Regresión con 62 bandas:			
OLS	62 bandas	62	OLS
BayesB	62 bandas	62	BayesB

<sup>†</sup> NDVI = Índice de vegetación de diferencia normalizada; CWMI = Índice de agua en el canopy; mND = Índice de la diferencia normalizada a 705nm; MTCI = Índice de clorofila terrestre basado en MERIS; MCARI2 = Índice modificado de la relación de absorbancia de la clorofila; PRI = Índice de la reflectancia fotoquímica; OLS = Estimación por mínimos cuadrados ordinarios; PLS = Regresión por mínimos cuadrados ordinarios; BayesB = Método bayesiano de penalización y selección de variables.

<sup>‡</sup> Para los índices de vegetación, las fórmulas se reportan con un sub-índice indicando las longitudes de onda (en nm). Para el resto de los modelos, las entradas son 62 bandas de reflectancia o variables latentes derivadas de éstas.

<sup>§</sup> El número de variables latentes fue elegido usando validación cruzada (en el set de entrenamiento). Los números de la Tabla representan el rango del número de variables latentes obtenido para los diferentes modelos considerados. Para más detalles, ver Tabla 2 en anexos.

Los modelos utilizando información de múltiples momentos fueron similares a los modelos descriptos hasta el momento, pero se ajustaron con entradas de múltiples puntos temporales (T<sub>t</sub>:T<sub>5</sub> donde *t* fue 1, 2, 3, 4 o 5). Por ejemplo, modelos T1:T5 incluyeron datos provenientes de todos los puntos temporales, mientras que modelos T2:T5 incluyeron datos provenientes de los puntos temporales 2, 3, 4 y 5, así sucesivamente. El modelo NDVI<sub>1:5</sub> incluyó 5 predictores que correspondieron a mediciones de NDVI para datos de imágenes colectados al tiempo T1, T2, ..., y T5. Para el modelo BayesB, al usar datos provenientes de varios puntos temporales, se estimaron diferentes parámetros de regularización (escala y proporción de efectos no nulos) para punto temporal.

## COMPARACIÓN ENTRE MODELOS Y ESTIMACIÓN

La comparación entre modelos se realizó basándose en la habilidad para predecir el rendimiento en granos de ensayos que no fueron usados para el ajuste de modelos. La metodología resultante es una validación cruzada dejando un ensayo afuera, o sea trabajando con 11 particiones con ensayos enteros asignados a cada partición. Para cada método de predicción, la validación cruzada produjo 11 estimadores (es decir, uno por ensayo) de la correlación de predicción dentro de ensayo ( $r_i$ ). Con estas correlaciones se calculó un promedio ponderado para cada modelo mediante la siguiente fórmula:

$$\bar{r} = \frac{\sum_{i=1}^{11} \frac{r_i}{v_i}}{\sum_{i=1}^{11} \frac{1}{v_i}} \quad v_i = \frac{1-r_i^2}{n_i-2} \quad [5.2]$$

dónde  $v_i$  es una aproximación a la varianza de muestreo para los estimadores de la correlación, que a su vez es función del cuadrado de las correlaciones observadas ( $r_i^2$ ) y del número de datos ( $n_i$ ) usados para calcular esa correlación (Rahman *et al.*, 1968). Los errores estandar (ES) de cada  $\bar{r}$  fueron estimados mediante un procedimiento *bootstrap* que generó 30.000 réplicas. El procedimiento *bootstrap* consiste en un muestreo con reposición para generar un gran número de estimaciones de  $\bar{r}$ . Los resultados de las muestras *bootstrap* también se usaron para estimar la proporción de veces que un método produjo correlaciones superiores a otro método.

Todo los procedimientos descriptos en este capítulo fueron llevados a cabo en el software de programación estadística R (R Core Team, 2016). Las regresiones OLS se ajustaron usando la función *lm* del lenguaje R. El modelo BayesB fue implementado usando la librería “*BGLR*” (Pérez y de los Campos, 2014). La regresión PLS fue implementada usando la librería *PLS* (Mevik y Wehrens, 2007). El número de variables latentes usadas en el modelo PLS fue elegido mediante validación interna. Esto significa que en el procedimiento de validación cruzada, los 10 ensayos que fueron usados como datos de entrenamiento fueron nuevamente particionados en dos conjuntos con proporciones 70-30 (entrenamiento-evaluación). El modelo PLS fue ajustado con estos datos de entrenamiento, probando un rango de 1 a 50 variables latentes para la predicción del 30% de los datos separados para evaluación. Finalmente, para cada ensayo, se seleccionó el número de VL que logra la mayor correlación de las predicciones hechas en el conjunto de evaluación.



## RESULTADOS

El rango de la mediana del rendimiento por ensayo fue de 2,28 a 3,99 ton/ha (Figura 5.1) y la desviación estandar se movió en rangos entre 0,59 y 1,12 ton/ha. El rendimiento en granos tuvo una distribución relativamente normal dentro de los ensayos, con excepción del moderadas asimetrías observadas en el ensayo #2. Un análisis de la varianza del rendimiento reveló que el 21% de la variación total puede atribuirse a las diferencias entre ensayos.

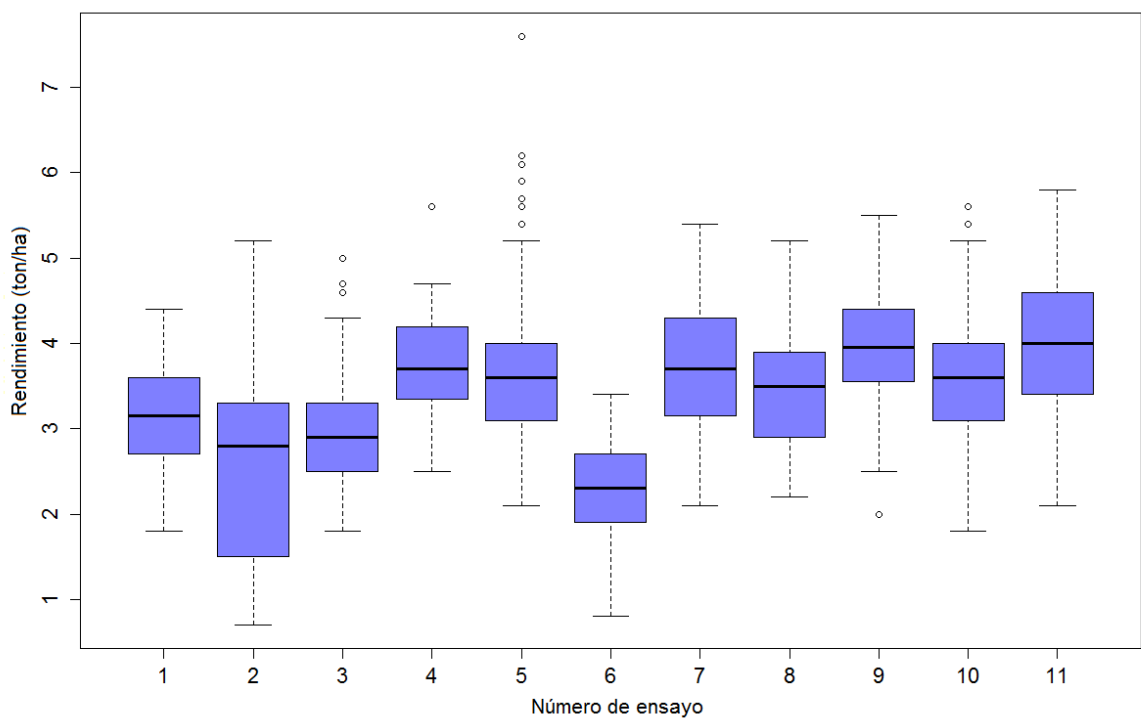


Figura 5.1. Gráfico de cajas del rendimiento en granos en ensayos de híbridos precomerciales de maíz llevados a cabo en la estación experimental del CIMMYT en Ciudad Obregón, Sonora, México, en 2014.

Una observación de las correlaciones marginales entre las 62 bandas (Figura 5.2) mostró que las mediciones de reflectancia pueden separarse en 2 grupos de bandas correlacionadas, uno incluyendo bandas medidas en el espectro visible (entre los 390 a 720 nm) y el otro incluyendo bandas en el espectro NIR (desde 720 a 850 nm). Este agrupamiento resulta más claro al observar puntos temporales más cercanos a cosecha. Un análisis de componentes principales de las bandas de reflectancia en T5 indicó que el espectro puede

reducirse a 5 componentes principales que juntas logran explicar el 98% de la variación total en los datos (ver panel derecho en la Figura 5.2).

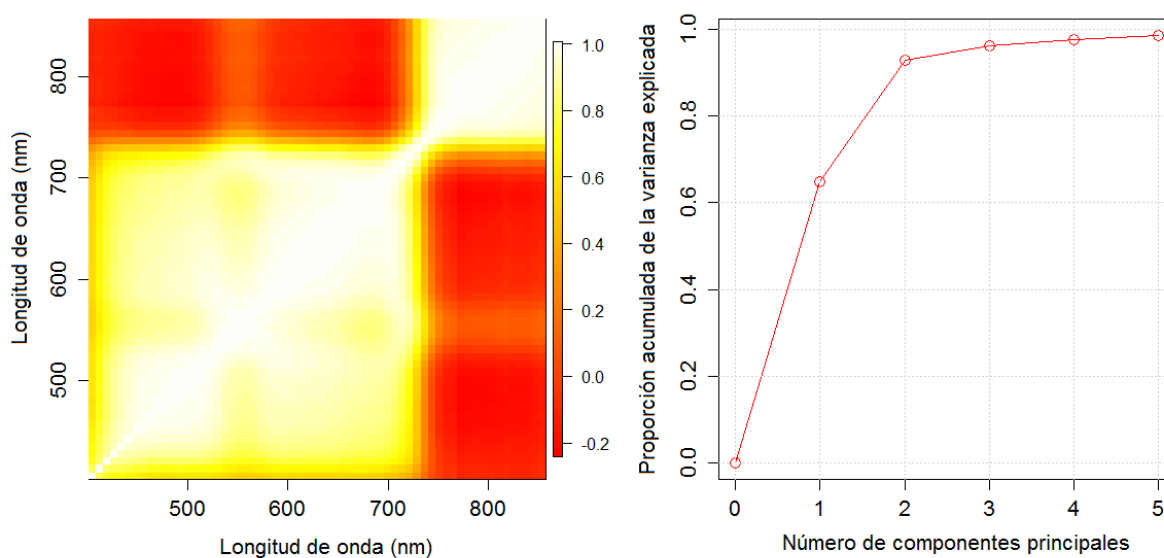


Figura 5.2. Correlación entre bandas a diferente longitud de onda (nm) en momento próximo a cosecha (Figura izquierda) y proporción de varianza explicada de las primeras componentes principales extraídas desde las 62 bandas.

La Tabla 5.2 muestra las correlaciones obtenidas mediante validación cruzada usando datos colectados al tiempo T5, que fue el de mayor capacidad predictiva. Un resumen de los resultados obtenidos por punto temporal puede observarse en el panel izquierdo de la Figura 5.3. Las correlaciones obtenidas mediante validación cruzada variaron entre 0,34 y 0,41. Entre todos los modelos evaluados, el modelo BayesB produjo predicciones con mayor precisión (0,41), seguido por los modelos PLS (0,39), PRI y mND (ambos con valores de 0,38), que además fueron los índices de mejores predicciones. En comparación, el modelo BayesB produjo mejores predicciones que los modelos PRI y mND en 76 y 79% de las 30.000 muestras *bootstrap*, respectivamente. Los resultados obtenidos con datos de imágenes espectrales tomadas en otros puntos temporales (T1, T2, T3 y T4) están presentados en las Tablas del Anexo 3. En general, la capacidad predictiva de los modelos baja desde el T5 al T1. Sin embargo, esta reducción es más notable en los modelos basados en IV.

Tabla 5.2. Correlación entre valores observados y ajustados para 9 modelos predictivos basados en información espectral de cultivo próxima a la cosecha.

	Correlación promedio dentro de ensayo (EE)	Proporción de veces que el modelo en la fila tuvo mayor correlación que el modelo en la columna								
		NDVI	CWMI	mND	PRI	MTCI	MCARI2	OLS	PLS	BayesB
NDVI	0.35 (0.029)		0.91	0.23	0.21	0.60	0.58	0.26	0.13	0.06
CWMI	0.29 (0.032)	0.09		0.02	0.02	0.15	0.12	0.03	0.01	0.00
mND	0.38 (0.028)	0.77	0.98		0.47	0.83	0.83	0.54	0.35	0.21
PRI	0.38 (0.031)	0.79	0.98	0.53		0.84	0.84	0.57	0.38	0.24
MTCI	0.34 (0.031)	0.40	0.85	0.17	0.16		0.47	0.20	0.09	0.04
MCARI2	0.34 (0.028)	0.42	0.88	0.17	0.16	0.53		0.20	0.09	0.04
OLS	0.37 (0.028)	0.74	0.97	0.46	0.43	0.80	0.80		0.31	0.18
PLS	0.39 (0.029)	0.87	0.99	0.65	0.62	0.91	0.91	0.69		0.34
BayesB	0.41 (0.028)	0.94	1.00	0.79	0.76	0.96	0.96	0.82	0.66	

Comparaciones obtenidas de 5.000 remuestreos bootstrap.

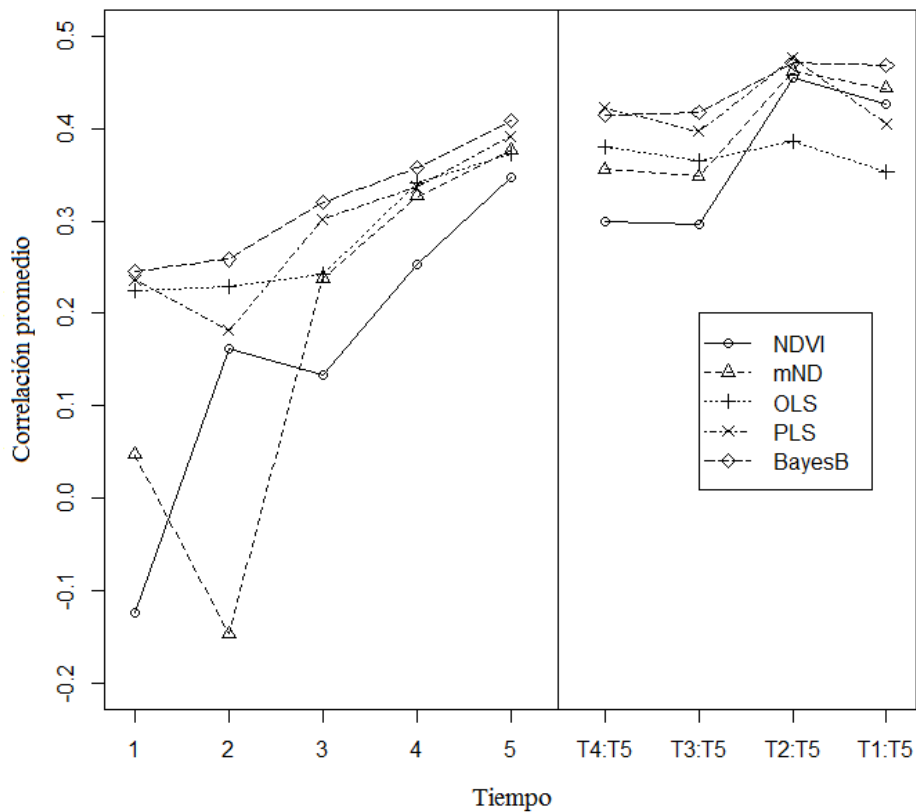


Figura 5.3. Correlación entre valores observados y predichos para distintos modelos predictivos de rendimiento, ajustados con datos espectrales de distintos momentos entre floración y cosecha (T1, ..., T5) y con datos de varios momentos.

La Tabla 5.3 muestra resultados obtenidos combinando datos provenientes de los T1 a T5 en un único modelo. En general, las correlaciones entre rendimientos observados y predichos incrementaron (entre 10 y 20%, Figura 5.3) comparadas con los resultados obtenidos con datos colectados en el tiempo T5. Entre todos los métodos evaluados, el modelo BayesB fue el de mejores predicciones (correlación estimada de 0,47), seguido por el modelo mND (0,44). En el análisis *bootstrap*, las predicciones del modelo BayesB fueron superiores a las de los modelos PLS y mND 92 y 72% de las veces, respectivamente.

Los resultados obtenidos combinando datos de otros puntos temporales (T4:T5, T3:T5 y T2:T5) son presentados en el Anexo 3.

Tabla 5.3. Correlación entre valores observados y ajustados para 9 modelos predictivos basados en información espectral de cultivo en 5 momentos entre floración y cosecha.

	Correlación promedio dentro de ensayo (EE)	Proporción de veces que el modelo en la fila tuvo mayor correlación que el modelo en la columna								
		NDVI	CWMI	mND	PRI	MTCI	MCARI2	OLS	PLS	BayesB
NDVI	0.43 (0.029)		0.99	0.34	0.8	0.93	0.43	0.96	0.69	0.16
CWMI	0.32 (0.033)	0.01		0	0.04	0.14	0	0.2	0.03	0
mND	0.44 (0.029)	0.66	1		0.9	0.97	0.59	0.99	0.81	0.28
PRI	0.39 (0.029)	0.2	0.96	0.1		0.77	0.16	0.83	0.38	0.04
MTCI	0.36 (0.030)	0.07	0.86	0.03	0.23		0.05	0.59	0.17	0.01
MCARI2	0.43 (0.029)	0.57	1	0.41	0.84	0.95		0.98	0.74	0.21
OLS	0.35 (0.029)	0.04	0.8	0.01	0.17	0.41	0.02		0.12	0
PLS	0.41 (0.032)	0.31	0.97	0.19	0.62	0.83	0.26	0.88		0.08
BayesB	0.47 (0.031)	0.84	1	0.72	0.96	0.99	0.79	1	0.92	

Comparaciones obtenidas de 30.000 remuestreos bootstrap.

## DISCUSIÓN

El desarrollo continuo de sensores remotos, equipamiento aéreo (es decir, vehículos aéreos no tripulados) y tecnologías de procesamiento de imágenes han abierto grandes oportunidades para la implementación de plataformas de fenotipado automático (Araus y Cairns, 2014). Estas plataformas pueden ser usadas para recolectar información en ensayos a gran escala (gran número de parcelas) mediante un procedimiento no destructivo (Cabrera-Bosquet *et al.*, 2012). Las cámaras hiperespectrales pueden proveer datos de reflectancia a potencialmente cientos de longitudes de onda; estos datos son de particular interés agrícola porque los pigmentos de las plantas pueden absorber una gran porción de la radiación dentro

del espectro visible (desde 400 a 700 nm) y la mayor parte de la radiación reflejada por las estructuras celulares se encuentra en la parte del espectro correspondiente a ondas del infrarrojo cercano (entre 700 y 1100 nm). Tradicionalmente, los datos de reflectancia han sido usados para identificar bandas que proveen información sobre procesos fisiológicos como la actividad fotosintética (Lu *et al.*, 2015); estas bandas son generalmente combinadas para formar un índice de vegetación. Basados en este procedimiento, varios IV han sido propuestos para el fenotipado a gran escala de la biomasa, el contenido de nitrógeno, la composición de los pigmentos y el estado fotosintético (Fiorani y Schurr, 2013).

Sin embargo, al reducir los datos hiperespectrales en un IV derivado de unas pocas bandas puede llevar a la pérdida de información espectral. Con esto en mente, el presente trabajo estudió la capacidad predictiva que puede alcanzarse en la predicción del rendimiento en granos de maíz usando modelos con datos hiperespectrales (62 bandas entre los 400 y los 850 nm). En general, los resultados indicaron que reduciendo datos hiperespectrales en un IV conlleva una pérdida en la capacidad predictiva. En algunos casos, para datos provenientes de un solo punto temporal, las pérdidas en capacidad predictiva incurridas al reducir los datos hiperespectrales a índices fue pequeña. Sin embargo, en los casos donde se combinó datos hiperespectrales de varios puntos en el tiempo, la capacidad predictiva de los modelos basados en IV fue substancialmente menor que la de modelos basados en todas las bandas de reflectancia. Como resultado, se concluye que existen claros beneficios en el uso de la información hiperespectral para la predicción del rendimiento en granos. No obstante, es importante recalcar que a diferencia de un IV (que es una función determinística de la reflectancia dada en ciertas bandas), el uso de modelos de predicción hiperespectral requiere la estimación de coeficientes de regresión en sus ecuaciones. Es probable que estos coeficientes varíen de carácter en carácter y probablemente bajo diferentes condiciones ambientales. Como consecuencia, a diferencia de los IV, los modelos ajustados con todas las bandas espectrales necesitan ser calibrados para cada carácter y condición ambiental.

Entre los modelos basados en datos hiperespectrales, el de mejor capacidad predictiva fue el modelo BayesB; en todas las situaciones evaluadas este modelo tuvo el mejor desempeño o estuvo cercano al método de mejor desempeño. Por otro lado, los resultados obtenidos con otros métodos (OLS, PLS o algunos índices como mND o PRI) fueron menos estables, su capacidad predictiva tuvo diferencias importantes a través de los ensayos y puntos temporales.

Estudios previos también consideraron el uso de datos multi o hiperespectrales para la predicción de caracteres agronómicos. Por ejemplo, Hernandez et al. (2015) usaron ridge regression (también llamada regularización de Tikhonov, Hoerl y Kennard, 1970) para ajustar un modelo lineal para predicción del rendimiento en granos usando datos de bandas entre los 350 a los 2500 nm. En ese trabajo, el método ridge regression tuvo un incremento en la bondad de ajuste en los datos de entrenamiento en relación al uso de IV. Sin embargo, Hernandez et al. (2015) compararon modelos basados en la bondad de ajuste en los datos de entrenamiento y no mediante validación cruzada. Más recientemente, Montesinos-Lopez et al. (2017) también consideraron el uso de datos hiperespectrales para el ajuste de modelos predictivos del rendimiento en granos de trigo, y reportaron mayor capacidad predictiva usando datos hiperespectrales en relación al uso de IV.

El estudio de los patrones de correlación entre las 62 bandas de reflectancia colectadas, indicó que la reflectancia puede separarse en 2 grupos bien correlacionados (uno con longitudes de onda por debajo de los 730 nm y otro por encima). Una separación similar es reportada en maíz por Weber et al. (2012). Adicionalmente, los primeros 5 autovalores obtenidos de una reducción de dimensionalidad mediante componentes principales, lograron explicar 98% del total de la variación en el espectro. Estos patrones sugieren que los métodos de reducción de dimensión como el modelo PLS con algunas variables latentes debería desempeñarse satisfactoriamente. El modelo PLS fue capaz de superar al modelo OLS para casos donde se combinó datos provenientes de múltiples puntos temporales, pero no logró superar al modelo BayesB, sugiriendo que la reducción de dimensionalidad también puede llevar a una pérdida parcial de información. Ferragina et al. (2015) reportaron resultados similares cuando compararon PLS contra modelos bayesianos para la predicción de ácidos grasos en leche vacuna usando datos de transmitancia en el infrarrojo medio. Estudios previos también notaron las limitaciones del modelo PLS y sugirieron que la reducción de dimensión usando algoritmos comunes en estudios genéticos pueden superar al modelo PLS (Kaleita *et al.*, 2006).

Se consideraron 6 diferentes índices de vegetación, incluyendo el tradicional NDVI y otros que fueron diseñados para evaluar características del cultivo como el contenido de agua en el canopeo (CWMI), el contenido de clorofila (mND) o la eficiencia fotosintética (PRI), u otros propuestos más recientemente, el MCARI2 y el MTCI. En promedio, la mayoría de los índices tienen una capacidad predictiva similar; no obstante, los índices mND y PRI

tuvieron mayor capacidad predictiva del rendimiento en granos de maíz en comparación con el resto de los índices evaluados.

Babar et al. (2006) estudió la correlación entre la biomasa y el NDVI a tres estadios de crecimiento en trigo: desarrollo de la hoja bandera, espigazón y llenado en granos. Por su parte, Monteiro et al. (2012) estudiaron la correlación entre el rendimiento en granos y el NDVI en legumbres. Al igual que los resultados presentados en esta tesis, ambos trabajos encontraron mayores correlaciones fenotípicas en períodos de llenado en granos.

En ambientes con limitaciones hídricas severas, la habilidad de las plantas de retener agua es clave para su supervivencia. Las bandas de reflectancia relacionadas a la eficiencia del uso del agua son informativas del desempeño del cultivo bajo circunstancias de estrés hídrico (reportados para cereales C3 en Araus *et al.*, 2002). Sin embargo, el modelo basado en CWMI mostró un desempeño pobre en relación a otros IV evaluados. Winterhalter et al. (2011) también encontró correlaciones bajas entre CWMI y el rendimiento en granos de maíz, atribuyendo la correlación relativamente baja a la habilidad del cultivo de maíz de recuperarse de un estrés hídrico.

El índice mND es una modificación del NDVI que según Sims y Gamon (2002) resulta más correlacionado con el contenido de clorofila (incluso en situaciones de estresantes, como es el caso de las condiciones predominantes en este trabajo), que otros índices. Los resultados indican que los índices mND y PRI fueron los de mayor capacidad predictiva. Este último índice resulta útil en las predicciones de pigmentos xantófilos y de eficiencia fotosintética en girasol (Gamon *et al.*, 1992), también tiene un buen desempeño en maíz (e.g., Strachan *et al.*, 2002).

Combinar datos de múltiples puntos temporales condujo a ganancias moderadas en capacidad predictiva. Los datos espectrales colectados a diferentes puntos temporales pueden proveer información útil acerca de diferentes aspectos de la fisiología del cultivo; esto podría explicar el beneficio dado por la combinación de datos espectrales en la capacidad predictiva y en la estabilidad de esas predicciones. Los beneficios mencionados fueron más marcados para algunos IV (particularmente NDVI) que para los modelos OLS, PLS o BayesB. Cuando se combinaron datos espectrales de los 5 puntos temporales evaluados, los modelos de predicción OLS y BayesB tuvieron que estimar 310 coeficientes de regresión. Con esta cantidad de coeficientes en el modelo, las estimaciones OLS tienen

una gran varianza de muestreo, lo que podría explicar porqué el modelo OLS no mostró grandes beneficios al combinar datos en comparación con el modelo BayesB. Para este tipo de modelos, los beneficios de usar métodos de selección y penalización de parámetros son claros.

En este estudio, se asumieron errores independientes dentro de parcelas. Una extensión de la metodología empleada podría considerarse incluyendo correlaciones espaciales y varianzas heterogéneas para los términos de error. Es probable que considerando estos factores pueda mejorarse la predicción de valores genéticos. Sin embargo, estas complejizaciones en el modelo podrían no tener un gran impacto en la capacidad de predecir fenotipos desde datos hiperespectrales, que fue el enfoque dado a este trabajo.

## **CONCLUSIÓN**

Los resultados de este trabajo demuestran que es posible el fenotipado automático de caracteres agronómicos en ensayos comparativos de híbridos de maíz a partir de la reflectancia del cultivo medida usando cámaras hiperespectrales. Existen varias posibilidades de modelación para la predicción fenotípica. Los modelos basados en reducción y selección de efectos tienen mejor capacidad predictiva que cualquier índice de vegetación basado en pocas bandas espectrales. Utilizar toda la información disponible para el análisis es beneficioso para el ajuste de modelos predictivos.



## CONCLUSIONES GENERALES

En el estudio de ensayos agrícolas multiambientales para evaluar genotipos comerciales y pre-comerciales, la variabilidad genética es la fuente para la selección de adaptaciones generales y la variabilidad dada por interacciones con cambio de rango permiten la selección de adaptaciones específicas. La variabilidad puramente atribuida al ambiente es irrelevante y la interacción de genotipos con años resulta perjudicial. En el primer capítulo de esta tesis se describen aspectos relacionados al ajuste de MLM con datos de ensayos multiambientales. En contexto de datos desbalanceados, la cantidad de años en evaluación afecta la calidad de las estimaciones de varianzas obtenidas resolviendo los MLM mediante REML. Cualquier estadístico derivado de estas estimaciones también es afectado (como los BLUP o la repetibilidad de la media de genotipos). Estimaciones de VC obtenidas de ensayos multiambientales con datos faltantes suelen tener sesgos indeseables o alto RMSE. Los capítulos 2 y 3 de esta tesis estudian el beneficio de contar con suficientes datos para las estimaciones REML de VC obtenidas mediante MLM, desde bases de datos reales y simuladas. Es necesario al menos 4 años de ensayos multiambientales para estimar consistentemente las componentes de varianza relacionadas con la interacción  $G \times E$  y obtener una buena medida de la repetibilidad de la media de los genotipos. Realizar un análisis combinando información de varios años suele aumentar el porcentaje de valores faltantes en los datos, al punto de generar inconectitudes que no permiten el ajuste de MLM. Los valores faltantes ocasionan sesgos e incrementan el RMSE de las estimaciones. Las estimaciones de varianzas genotípicas pueden sesgarse 10% o más cuando el porcentaje de valores faltantes es mayor al 40%. Sin embargo, adicionar años de ensayos al análisis beneficia las estimaciones, reduciendo tanto su sesgo como su RMSE. El efecto de la imputación de valores faltantes como método para disminuir el sesgo y/o el RMSE es una línea futura de investigación.

No basta con contar con suficiente información para generar estimaciones insesgadas que permitan entender los patrones de interacción  $G \times E$ , también es necesario proponer técnicas de análisis adecuadas. En el capítulo 4 de esta tesis se propone un protocolo implementando métodos que permiten explorar la interacción  $G \times E$  y considerar, no solo medidas de desempeño promedio, sino también de estabilidad en la recomendación de

genotipos. Los métodos planteados están dentro del marco teórico de los MLM, haciendo posible su ejecución aún en series multi-anales de EM con alto nivel de desbalance dado por la selección de genotipos. Futuros trabajos podrían orientarse a una validación exhaustiva de las situaciones de análisis no tratadas en esta tesis y a nuevos métodos de entendimiento de los patrones  $G \times E$ , particularmente algoritmos relacionados al *Machine learning* como *Gradient Boosting Machine*.

Por otro lado, existe poca bibliografía respecto a las nuevas tecnologías de fenotipado automático a partir de ensayos multiambientales. El análisis de EM se basa en un supuesto fundamental: que los datos fenotípicos recolectados de cada parcela representan fehacientemente el carácter agronómico sobre el cual se pretende realizar el estudio multiambiental. En el último capítulo de esta tesis se comparan modelos predictivos para el fenotipado automático del rendimiento en granos del cultivo de maíz mediante datos provenientes de ensayos multiambientales. Obtener predicciones del rendimiento mediante datos hiper-espectrales es posible mediante modelos que permitan reducir la dimensionalidad de los datos. Particularmente, los modelos bayesianos se destacan por su capacidad de reducción de efectos y selección de variables, que permite lograr alta capacidad predictiva en este contexto. Las técnicas de predicción mediante datos hiper-espectrales están en pleno desarrollo, su predicción en diferentes ambientes o de diferentes caracteres agronómicos ha sido poco estudiada. Los modelos ajustados basados en la lectura sobre bandas hiper-espectrales superan en capacidad predictiva a modelos basados en índices de vegetación.

## BIBLIOGRAFIA

Akaike H. 1973. Information theory and an extension of the maximum likelihood principle. *Int. Symp. on Information Theory and Control* 2:267-281.

Anderson W. 2010. Closing the gap between actual and potential yield of rainfed wheat. The impacts of environment, management and cultivar. *Field Crops Res.* 116:14-22.

Andrade-Sanchez P., Gore M., Heun J., Thorp K., Carmo-Silva A., French A., Salvucci M. and White J. 2014. Development and evaluation of a field-based high-throughput phenotyping platform. *Funct. Plant Biol.* 41:68-79.

Annicchiarico P. 2002. Genotype by environment interaction: Challenges and opportunities for plant breeding and cultivar recommendations. *Food and Agric. Org. No.* 174. Rome, Italy, 105 pp.

Araus J. and Cairns J. 2014. Field high-throughput phenotyping: the new crop breeding frontier. *Trends Plant Sci.* 19:52-61.

Araus J., Slafer G., Reynolds M. and Royo C. 2002. Plant breeding and drought in C3 cereals: What should we breed for?. *Ann. Bot.* 89:925-940.

Arciniegas-Alarcón S., García-Peña M., Dias C. and Krzanowski W. 2010. An alternative methodology for imputing missing data in trials with genotype-by environment interaction. *Biometrical Letters* 47(1):1-14.

Arief V., DeLacy I., Crossa J., Payne T., Singh R., Braun H., Tian T., Basford K. and Dieters M. 2015. Evaluating testing strategies for plant breeding field trials: redesigning a CIMMYT international wheat nursery. *Crop Sci.* 55:164-177.

Atlin G. and Frey K. 1990. Selecting oat lines for yield in lowproductivity environments. *Crop Sci.* 30:556-561.

Atlin G., Baker R., McRae K. and Lu X. 2000. Selection response in subdivided target regions. *Crop Sci.* 40(1):7-13.

Babar M., Reynolds M., Van Ginkel M., Klatt A., Raun W. and Stone M. 2006. Spectral reflectance to estimate genetic variation for in-season biomass, leaf chlorophyll, and canopy temperature in wheat. *Crop Sci.* 46(3):1046-1057.

Bacigaluppo S., Bodrero M., Balzarini M., Gerster G., Andriani J., Enrico J. and Dardanelli J. 2011. Main edaphic and climatic variables explaining soybean yield in Argiudolls under no-tilled system. *Eu. J. Agron. Elsevier Sci.* 35:247-254.

Bänziger M. and Cooper M. 2001. Breeding for low input conditions and consequences for participatory plant breeding examples from tropical maize and wheat. *Euphytica* 122(3):503-519.

Balzarini M., Milligan S. and Kang M. 2001. Best linear unbiased prediction: A mixed model approach in multi-environment trials. *CROP Improv. Chall. Twenty-First Century* Haworth Press Inc. 315-345.

Balzarini M. 2002. Applications of Mixed Models in Plant Breeding. En: M. S. Kang (ed.) *Quantitative Genetics, Genomics, and Plant Breeding*. CABI Publishing, London, UK, 365 pp.

Basford K., Kroonenberg P. and Cooper M. 1996. Three-mode analytical methods for crop improvement programs. En: Cooper, M., Hammer, G.L. (ed.) *Plant adaptation and crop improvement*. CAB Internatl., ICRISAT & IRRI, Wallingford, UK, 305 pp.

Basford K. and Cooper M. 1998. Genotype x environment interactions and some considerations of their implications for wheat breeding in Australia. *Aust. J. Agric. Res.* 49:153-174.

Bates D., Mächler M., Bolker B. and Walker S. 2015. Fitting linear mixed-effects models using lme4. *J. of Stat. Softw.* 67(1):1-48.

Becker H. and Leon J. 1988. Stability analysis in plant breeding. *Plant Breed.* 101:1-23.

Brennan P., Byth D., Drake D., Lacy I. and Butler D. 1981. Determination of the location and number of test environments for a wheat cultivar evaluation program. *Crop Pasture Sci.* 32:189-201.

Burgueño J., Crossa J., Cotes J., Vicente F. and Das B. 2011. Prediction assessment of linear mixed models for multi-environment trials. *Crop Sci.* 51:944-954.

Cabrera-Bosquet L., Crossa J., von Zitzewitz J., Serret M. and Luis Araus J. 2012. High-throughput phenotyping and genomic selection: The frontiers of crop breeding converge. *J. Integr. Plant Biol.* 54:312-320.

Casanoves F., Baldessari J. and Balzarini M. 2005. Evaluation of multienvironment trials of peanut cultivars. *Crop Sci.* 45(1):18-26.

Cirilo A., Dardanelli J., Balzarini M., Andrade F., Cantarero M., Luque S. and Pedrol H. 2009. Morpho-physiological traits associated with maize crop adaptations to environments differing in nitrogen availability. *Field Crops Res.* 113(2):116-124.

Cooper M., Woodruff D., Phillips I., Basford K. and Gilmour A. 2001. Genotype-by-management interactions for grain yield and grain protein concentration of wheat. *Field Crops Res.* 69(1):47-67.

Crossa J. and Cornelius P. 1997. Sites regression and shifted multiplicative model clustering of cultivar trial sites under heterogeneity of error variances. *Crop Sci.* 37:406-415.

Crossa J., Yang R. and Cornelius P. 2004. Studying crossover genotype  $\times$  environment interaction using linear-bilinear models and mixed models. *J. Agric. Biol. Environ. Stat.* 9(3):362-380.

Crossa J., Vargas M. and Joshi A. 2010. Linear, bilinear, and linear-bilinear fixed and mixed models for analyzing genotype  $\times$  environment interaction in plant breeding and agronomy. *Can. J. of Plant Sci.* 90(5):561-574.

Cullis B., Gogel B., Verbyla A. and Thompson R. 1998. Spatial analysis of multi-environment early generation variety trials. *Biometrics* 54:1-18.

Curnow R. 1961. The estimation of repeatability and heritability from records subject to culling. *Biometrics* 17(4):553-566.

Dardanelli J., Balzarini M., Martínez M., Cuniberti M., Resnik S., Ramunda S., Herrero R. and Baigorri H. 2006. Soybean maturity groups, environments, and their interaction define mega-environments for seed composition in Argentina. *Crop Sci.* 46(5):1939-1947.

Dash J. and Curran P. 2004. MTCI: The MERIS terrestrial chlorophyll index. *Proc. MERIS User Workshop, Frascati, Italy*, pp. 5403-5413.

de la Vega A. and Chapman S. 2006. Defining sunflower selection strategies for a highly heterogeneous target population of environments. *Crop Sci.* 46(1):136-144.

de los Campos G., Hickey J., Pong-Wong R., Daetwyler H. and Calus M. 2013. Whole-genome regression and prediction methods applied to plant and animal breeding. *Genetics* 193:327-345.

DeLacy I., Basford K., Cooper M., Bull J. and McLaren C. 1996. Analysis of multi-environment trials-an historical perspective. En: M. Cooper and G. Hammer (ed.) *Plant adaptation and crop improvement*. CAB International, Wallingford, UK, 440 pp.

Denis J., 1988. Two-way analysis using covarites1. *Statistics* 19(1):123-132.

Diggle P. and Kenward M. 1994. Informative drop-out in longitudinal data analysis. *J. Appl. Stat.* 43:49-93.

Fehr W. 1987. *Principles of cultivars development Vol. 1*. McGraw-Hill, Inc., New York, USA, 115 pp.

Ferragina A., de los Campos, G., Vazquez A., Cecchinato A. and Bittante G. 2015. Bayesian regression models outperform partial least squares methods for predicting milk components and technological properties using infrared spectral data. *J. Dairy Sci.* 98:8133-8151.

Finlay K. and Wilkinson G. 1963. The analysis of adaptation in a plant-breeding programme. *Crop and Pasture Sci.* 14(6):742-754.

Fiorani F. and Schurr U. 2013. Future scenarios for plant phenotyping. *Annu. Rev. Plant Biol.* 64:267-291.

Frensham A., Cullis B. and Verbyla A. 1997. Genotype by environment variance heterogeneity in a two-stage analysis. *Biometrics* 53:1373-1383.

Friedman J., Hastie T. and Tibshirani R. 2001. *The elements of statistical learning* Springer series in statistics Springer, Berlin, Germany, 536 pp.

Gauch H. and Zobel R. 1988. Predictive and postdictive success of statistical analyses of yield trials. *Theor. Appl. Genet.* 76(1):1-10.

Gauch H. and Zobel R. 1996. Optimal replication in selection experiments. *Crop Sci.* 36:838-843.

Gauch H. 2013. A simple protocol for AMMI analysis of yield trials. *Crop Sci.* 53(5):1860-1869.

Gamon J., Peñuelas J. and Field C. 1992. A narrow-waveband spectral index that tracks diurnal changes in photosynthetic efficiency. *Remote Sens. Environ.* 41:35-44.

Gilmour A., Thompson R. and Cullis B. 1995. Average information REML: an efficient algorithm for variance parameter estimation in linear mixed models. *Biometrics* 51(4):1440-1450.

Gueymard C. 2001. Parameterized transmittance model for direct beam and circumsolar spectral irradiance. *Solar Energy*, 71(5):325-346.

Haboudane D., Miller J., Pattey E., Zarco-Tejada P. and Strachan I. 2004. Hyperspectral vegetation indices and novel algorithms for predicting green LAI of crop canopies: Modeling and validation in the context of precision agriculture. *Remote Sens. Environ.* 90:337-352.

Hall A., Feoli C., Ingaramo J. and Balzarini M. 2013. Gaps between farmer and attainable yields across rainfed sunflower growing regions of Argentina. *Field Crops Res.* 143:119-129.

Hanway J., 1963. Growth stages of corn (*Zea mays*, L.). *Agron. J.* 55(5):487-492.

Hatfield J. and Prueger J. 2010. Value of using different vegetative indices to quantify agricultural crop characteristics at different growth stages under varying management practices. *Remote Sens.* 2:562-578.

Henderson C. 1986. Recent developments in variance and covariance estimations. *J. Anim. Sci.* 63(1):208-216.

Hernandez J., Lobos A., Matus I., del Pozo A., Silva P. and Galleguillos M. 2015. Using ridge regression models to estimate grain yield from field spectral data in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) grown under three water regimes. *Remote sens* 7(2):2109-2126.

Hoerl A. and Kennard R. 1970. Ridge regression: Biased estimation for nonorthogonal problem. *Technometrics* 12, 55-67.

Kaleita A., Steward B., Ewing R., Ashlock D., Westgate M. and Hatfield J. 2006. Novel analysis of hyperspectral reflectance data for detecting onset of pollen shed in maize. *Trans. ASABE* 49:1947-1954.

- Kang M., Balzarini M. and Guerra J. 2004. Genotype-by-Environment interaction. En: A. Saxton (ed.) Genetic Analysis of Complex Traits Using SAS. BBU Press. SAS Institute, Cary, North Carolina, USA, 312 pp.
- Kang M.S. and Gauch H.G. 1996. Genotype-by-environment interaction. CRC Press, Boca Ratón, Florida, USA, 339 pp.
- Kassa L., Smith M. and Fufa H. 2006. Stability analysis of grain yield of tef (*Eragrostis tef*) using the mixed model approach. South Afr. J. Plant Soil 23:38-42.
- Khalil I., Rahman H., Rehman N., Arif M., Khalil I., Iqbal M., Ullah H., Afridi K., Sajjad M. and Ishaq M. 2011. Evaluation of maize hybrids for grain yield stability in north-west of Pakistan. Sarhad J. Agric, 27(2):213-218.
- Kleinknecht K., Möhring J., Laidig F., Meyer U. and Piepho H. 2016. A simulation-based approach for evaluating the efficiency of multi-environment trial designs. Crop Sci. 56(5):2237-2250.
- Kramer R., 1998. Chemometric techniques for quantitative analysis. Marcel Dekker Inc., New York, USA, 216 pp.
- Laidig F., Drobek T. and Meyer U. 2008. Genotypic and environmental variability of yield for cultivars from 30 different crops in German official variety trials. Plant Breed. 127:541-547.
- Lee E. and Tollenaar M. 2007. Physiological basis of successful breeding strategies for maize grain yield. Crop Sci. 47:202-215.
- Littell R., Penderga J. and Natajan R. 2000. Modelling covariance structure in the analysis of repeated measures data. Stat. Med. 19:1793-1819.
- Little R. and Rubin D. 2002. Statistical analysis with incomplete data. 2nd ed. John Wiley & Sons, New York, USA, 408 pp.
- Lu S., Lu X., Zhao W., Liu Y., Wang Z. and Omasa K. 2015. Comparing vegetation indices for remote chlorophyll measurement of white poplar and Chinese elm leaves with different adaxial and abaxial surfaces. J. Exp. Bot. 66(18):5625-5637.
- Mackay I., Horwell A., Garner J., White J., McKee J. and Philpott H. 2011. Reanalyses of the historical series of UK variety trials to quantify the contributions of genetic and



environmental factors to trends and variability in yield over time. *Theor. Appl. Genet.* 122(1):225-238.

Malosetti M., Ribaut J. and van Eeuwijk F. 2013. The statistical analysis of multi-environment data: modeling genotype-by-environment interaction and its genetic basis. *Front. Physiol.* 12:4-44.

Meuwissen T., Hayes B. and Goddard M. 2001. Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics* 157:1819-1829.

Mevik B. and Wehrens R. 2007. The pls package: principal component and partial least squares regression in R. *J. Stat. Softw.* 18:1-24.

Meyer K., 2009. Factor-analytic models for genotype×environment type problem and structured covariance matrices. *Genet. Sel. Evol.* 41(1):21-32.

Mi X., Utz H., Technow F. and Melchinger A. 2014. Optimizing resource allocation for multistage selection in plant breeding with R package. *Crop Sci.* 54(4):1413-1418.

Mirabella N., Abbate P., Ramirez I. and Pontaroli A. 2016. Genetic variation for wheat spike fertility in cultivars and early breeding materials. *J. Agric. Sci.* 154:13-22.

Mohammadi R. and Amri A. 2009. Analysis of genotype× environment interactions for grain yield in durum wheat. *Crop Sci.* 49:1177-1186.

Monteiro P., Angulo Filho R., Xavier A. and Monteiro R. 2012. Assessing biophysical variable parameters of bean crop with hyperspectral measurements. *Sci. Agric.* 69(2):87-94.

Montes J., Melchinger A. and Reif J. 2007. Novel throughput phenotyping platforms in plant genetic studies. *Trends Plant Sci.* 12:433-436.

Montesinos-López O., Montesinos-López A., Crossa J., los Campos G., Alvarado G., Suchismita M., Rutkoski J., González-Pérez L. and Burgueño J. 2017. Predicting grain yield using canopy hyperspectral reflectance in wheat breeding data. *Plant Methods*, 13(4):4-27.

Munaro E., Eyhéabide G., D'Andrea K., Cirilo A. and Otegui M. 2011. Heterosis × environment interaction in maize: What drives heterosis for grain yield?. *Field Crops Res.* 124(3):441-449.

Neyman J. and Pearson E., 1928. On the use and interpretation of certain test criteria for purposes of statistical inference: Part I. *Biometrika* 20:175-240.

Nuvunga J., Oliveira L., Pamplona A., Silva C., Lima R. and Balestre M. 2015. Factor analysis using mixed models of multi-environment trials with different levels of unbalancing. *Genet. Mol. Res.* 14(4):14262-14278.

Ostengo S., Cuenya M., Balzarini M., García M. and Chavanne E. 2013. Tuc 95-10 productive performance analysis by a multi-environment and multi-age mixed model. In *proc. Int. Soc. Sugar cane Technol.* 28:1-8.

Patterson H. and Thompson R. 1971. Recovery of inter-block information when block sizes are unequal. *Biometrika* 58:545-554.

Pérez P. and de los Campos G. 2014. Genome-Wide Regression & Prediction with the BGLR Statistical Package. *Genetics* 198 (2):483-495.

Piepho H., Denis J. and van Eeuwijk F. 1998a. Predicting cultivar differences using covariates. *J. Agric. Biol. Environ. Stat.* 3:151-162.

Piepho H. 1998b. Empirical best linear unbiased prediction in cultivar trials using factor-analytic variance-covariance structures. *Theor. Appl. Genet.* 97:195-201.

Piepho H. and Möhring J. 2006. Selection in cultivar trials—is it ignorable?. *Crop Sci.* 46:192-201.

Piepho H., Möhring J., Melchinger A. and Büchse A. 2008. BLUP for phenotypic selection in plant breeding and variety testing. *Euphytica* 161:209-228.

Piepho H., Möhring J., Schulz-Streeck T. and Ogutu J. 2012. A stage-wise approach for the analysis of multi-environment trials. *Biom. J.* 54:844-860.

R Core Team 2017. R: A language and environment for statistical computing. R Found. Stat. Comput. Vienna, Austria. URL [www.R-Project.org](http://www.R-Project.org).

Rahman N., Macpherson A., Roseblatt K. and Appelbaum N. 1968. A course in theoretical statistics: for sixth forms, technical colleges, colleges of education, universities. Griffin, London, UK, 542 pp.

Resende M. and Thompson R. 2004. Factor analytic multiplicative mixed models in the analysis of multiple experiments. *Rev. Mat. Estat.* 22(2):31-52.

Robinson D. 1984. A study of sequential variety selection systems. *J. Agric. Sci.* 102(01):119-126.

Robinson G. 1991. That BLUP is a good thing: the estimation of random effects. *Stat. Sci.* 6:15-32.

Roozeboom K., Schapaugh W., Tuinstra M., Vanderlip R. and Milliken G. 2008. Testing wheat in variable environments: genotype, environment, interaction effects, and grouping test locations. *Crop Sci.* 48:317-330.

SAS Institute, Inc. 1999. *SAS/STAT User's Guide. Version 8.* SAS Institute, Cary, North Carolina, USA, 2436 pp.

Schwarz G. 1978. Estimating the dimension of a model. *Ann. Appl. Stat.* 6(2):461-464.

Searle S., Casella G. and McCulloch C. 1992. *Variance components.* John Wiley and Sons. New York, USA, 508 pp.

Sims D. and Gamon J. 2002. Relationships between leaf pigment content and spectral reflectance across a wide range of species, leaf structures and developmental stages. *Remote Sens. Environ.* 81:337-354.

Sinsawat V., Leipner J., Stamp P. and Fracheboud Y. 2004. Effect of heat stress on the photosynthetic apparatus in maize (*Zea mays* L.) grown at control or high temperature. *Environ. Exp. Bot.* 52:123-129.

Smith A., Cullis B. and Thompson R. 2005. The analysis of crop cultivar breeding and evaluation trials: an overview of current mixed model approaches. *J. Agric. Sci.* 143:449-462.

Strachan I., Pattey E. and Boisvert J. 2002. Impact of nitrogen and environmental conditions on corn as detected by hyperspectral reflectance. *Remote Sens. Environ.* 80:213-224.

Talbot M. 1984. Yield variability of crop varieties in the UK. *J. Agric. Sci.* 102(2):315-321.

Thorp K., Gore M., Andrade-Sanchez P., Carmo-Silva A., Welch S., White J. and French A. 2015. Proximal hyperspectral sensing and data analysis approaches for field-based plant phenomics. *Comput. Electron. Agric.* 118:225-236.

Tucker C. 1979. Red and photographic infrared linear combinations for monitoring vegetation. *Remote Sens. Environ.* 8:127-150.

Van Eeuwijk F., Cooper M., DeLacy I., Ceccarelli S. and Grando S. 2001. Some vocabulary and grammar for the analysis of multi-environment trials, as applied to the analysis of FPB and PPB trials. *Euphytica* 122(3):477-490.

Vargas M., Crossa J., van Eeuwijk F., Ramirez M. and Sayre K. 1999. Using partial least squares regression, factorial regression, and AMMI models for interpreting genotype $\times$  environment interaction. *Crop Sci.* 39(4):955-967.

Wang W., Vinocur B. and Altman A. 2003. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta* 218:1-14.

Weber V., Araus J., Cairns J., Sanchez C., Melchinger A. and Orsini E. 2012. Prediction of grain yield using reflectance spectra of canopy and leaves in maize plants grown under different water regimes. *Field Crops Res.* 128:82-90.

West T., Welch K. and Galecki A. 2007. Linear mixed models: a practical guide using statistical software. Chapman & Hall/CRC, Boca Raton, Florida, USA, 414 pp.

Winterhalter L., Mistele B., Jampatong S. and Schmidhalter U. 2011. High throughput phenotyping of canopy water mass and canopy temperature in well-watered and drought stressed tropical maize hybrids in the vegetative stage. *Eur. J. Agron.* 35:22-32.

Xu S., Martin T. and Muir W. 1995. Multistage selection for maximum economic return with an application to beef cattle breeding. *J. Anim. Sci.* 73(3):699-710.

Yan W., Hunt L., Sheng Q. and Szlavnic Z. 2000. Cultivar evaluation and mega-environment investigation based on the GGE biplot. *Crop Sci.* 40(3):597-605.

Yan W. and Tinker N. 2006. Biplot analysis of multi-environment trial data: Principles and applications. *Can. J. Plant Sci.* 86(3):623-645.

Yan W. 2013. Biplot analysis of incomplete two-way data. *Crop Sci.* 53:48-57.

Yordanov I., Velikova V., and Tsonev T. 2000. Plant responses to drought, acclimation, and stress tolerance. *Photosynthetica* 38:171-186.

Zadoks J., Chang T. and Konzak C. 1974. A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Res.* 14(6):415-421.

Zobel R., Wright, M. and Gauch H. 1988. Statistical analysis of a yield trial. *Agron. J.* 80(3):388-393.

# **ANEXO 1**

## **DATOS COMPLEMENTARIOS A LOS RESULTADOS PRESENTADOS EN EL CAPÍTULO 2**

Tabla A1.1. Rendimiento (Rto) en granos, número de localidades (L) y número de genotipos (G), porcentaje de valores faltantes (VF) y estimación de componentes de varianza (CV) para cuatro tipos de ensayos multiambientales comparativos de rendimiento de trigo.

Ensayo	Rto (kg/ha)	Período <sup>†</sup>	VF			CV (expresados como desvíos estandar)							
			L	G	(%)	L	Y	LY	G	GL	GY	GLY	Error
CFCI													
	5131	2013/14	15	51	54	409	189	1301	242	nd	216	376	628
	4868	2012/14	16	63	65	741	341	1224	231	151	231	327	676
	5191	2011/14	17	69	69	754	624	1060	245	170	226	331	592
	5287	2010/14	18	74	72	680	647	1089	262	162	215	366	624
	5117	2009/14	18	82	75	610	676	1203	260	151	192	351	602
	4986	2008/14	20	93	80	592	657	1231	252	138	183	337	582
	4906	2007/14	22	97	82	490	575	1318	255	135	177	344	562
CFLI													
	5368	2013/14	9	50	49	791	759	1306	249	252	175	492	624
	5104	2012/14	10	58	60	1203	675	919	259	358	189	339	649
	5411	2011/14	12	69	71	1067	715	913	264	309	213	354	528
	5522	2010/14	12	75	73	907	723	1029	285	261	173	343	620
	5289	2009/14	12	84	75	890	769	1102	261	250	171	327	596
	5174	2008/14	13	93	79	719	716	1176	257	213	164	327	576
	5042	2007/14	15	120	85	682	666	1260	251	190	182	344	557
SFCI													
	4244	2013/14	23	51	55	1137	Nd	1184	122	nd	339	441	507
	4096	2012/14	25	64	67	1058	114	1192	194	145	280	391	548
	4430	2011/14	26	71	72	1042	445	1086	208	151	265	376	500
	4525	2010/14	28	77	75	966	479	1079	232	141	238	385	537
	4453	2009/14	28	86	78	918	483	1111	221	139	222	374	522
	4333	2008/14	31	99	83	941	499	1145	210	140	211	359	506
	4231	2007/14	37	106	86	877	443	1185	217	148	203	354	508
SFLI													
	4409	2013/14	20	51	49	1081	Nd	1273	200	195	388	442	479
	4207	2012/14	23	61	62	1115	270	1044	205	204	346	401	529
	4487	2011/14	24	72	70	1055	482	990	213	203	313	395	476
	4603	2010/14	25	78	74	1038	561	928	229	202	288	379	518
	4521	2009/14	26	86	78	1025	541	970	230	196	269	368	505
	4404	2008/14	27	98	81	955	572	1058	219	177	252	365	491
	4317	2007/14	33	127	87	951	517	1081	216	164	256	371	492

<sup>†</sup> Valores iniciales y finales del período de ensayo.

CFCI: con fungicida, genotipos de ciclo corto-intermedio; CFLI: con fungicida, genotipos de ciclo largo-intermedio; SFCI: sin fungicida, genotipos de ciclo corto-intermedio; SFLI: sin fungicida, genotipos de ciclo largo-intermedio.

Tabla A1.2. Varianza de estabilidad de genotipos (expresada como desviación estandar) a través de localidades (SL) y años (SY) en la subregión IV. Correlación entre ambas medidas de estabilidad y proporción de genotipos comunes en el tercio superior de ambas medidas de estabilidad. Información presentada para ensayos con tratamiento de fungicidas (CF) y ensayos sin tratamiento (SF) de genotipos con 4 niveles de largo de ciclo: ciclo corto (CC), ciclo corto-intermedio (CI), ciclo largo (CL) y ciclo largo intermedio (LI).

Subregión	Ensayo	SL	SY	Correlación SL vs. SY †	Tercio superior
IIN	CFCI	50	92	0.58 [0.36 ; 0.73]	0.65
IIN	CFCL	25	54	0.47 [0.22 ; 0.66]	0.65
IIS	CFCI	39	106	0.34 [0.08 ; 0.56]	0.61
IIS	CFCL	40	106	0.09 [-0.19 ; 0.36]	0.35
IIS	CFLI	29	105	0.29 [0.02 ; 0.52]	0.44
VN	CFCI	98	61	0.47 [0.10 ; 0.72]	0.44
IIS	SFCL	22	58	0.31 [0.04 ; 0.54]	0.53
IIS	SFCI	56	141	0.27 [0.00 ; 0.51]	0.61
IIS	SFLI	29	188	0.16 [-0.12 ; 0.41]	0.39
IIN	SFCI	92	166	-0.06 [-0.32 ; 0.22]	0.35
IIN	SFCL	86	151	0.15 [-0.13 ; 0.41]	0.41
VS	SFCL	24	168	0.38 [0.13 ; 0.59]	0.5
VS	SFLI	12	166	0.29 [0.05 ; 0.50]	0.41
VS	SFCI	14	93	0.39 [0.17 ; 0.58]	0.59
VN	SFCL	80	180	0.68 [0.46 ; 0.82]	0.75
VN	SFCC	89	43	0.76 [0.54 ; 0.88]	0.44
NOA	SFCL	130	105	0.54 [0.04 ; 0.82]	0.4
NOA	SFCI	109	338	0.26 [-0.18 ; 0.62]	0.43

† Intervalos de confianza entre corchetes.



Tabla A1.3. Mérito genético (BLUP), varianzas de estabilidad genotípica (expresadas como desvíos estandar) a través de los años (SY) y a través de las localidades (SL) para genotipos de ciclo corto evaluados en ensayos multiambientales con tratamiento con fungicidas.

Genotipo	BLUP	SY	SL
SY 300	535	214	86
BUCK PLENO	498	161	73
AREX	415	81	38
BAGUETTE 501	384	23	52
BAGUETTE 9	382	140	22
KLEIN RAYO	329	84	14
KLEIN LEÓN	272	125	75
ACA 906	270	80	166
ATLAX	253	123	49
BIOINTA 1006	223	250	83
CRONOX	208	146	56
AGP FAST	196	143	144
ACA 901	196	154	89
ONIX	186	72	23
LE 2331	177	116	81
BIOINTA 1005	165	236	71
ACA 908	148	19	43
KLEIN TIGRE	139	68	34
CAMBIUM	134	10	69
KLEIN ZORRO	129	133	53
BAGUETTE PREMIUM 13	91	82	57
KLEIN TAURO	75	116	11
KLEIN NUTRIA	68	158	95
LE 2333	36	156	44
FLORIPÁN 100	28	109	19
KLEIN ROBLE	8	49	111
BUCK 75 ANIVERSARIO	-10	96	88
ACA 903 B	-14	75	32
ACA 801	-17	51	59
BUCK AMANCAY	-27	223	27
BIOINTA 1001	-33	47	43
BUCK PUELICHE	-59	42	65
QALBIS	-66	56	87
WB CRISTALLO	-79	9	40
KLEIN CHAJÁ	-81	107	22
KLEIN CASTOR	-88	69	38
BIOINTA 1002	-138	153	30
CH 12576	-140	103	29
BIOINTA 1000	-159	84	41
SIRIRÍ	-167	84	54

LE 2294	-180	140	50
BIOINTA 1004	-183	57	32
BUCK HUANCHEN	-183	94	15
CENTINELA	-196	68	19
PROINTA GAUCHO	-199	56	38
XTENSIBLE 2.0	-203	80	100
BIOINTA 1007	-209	94	145
KLEIN FLECHA	-241	139	27
BIOINTA 1003	-262	120	56
BUCK BIGUÁ	-262	105	50

---

## **ANEXO 2**

### **DATOS COMPLEMENTARIOS A LOS RESULTADOS PRESENTADOS EN EL CAPÍTULO 3**

Tabla A2.1. Efectos del número de años y porcentaje de valores faltantes (VF) en las estimaciones de las componentes de varianza relacionadas a los efectos genotípicos (G, GL, GY y GLY) y en el RMSE para el escenario dos (datos con 40 genotipos evaluados por año en 40 localidades).

# años	VF (%)	Sesgo relativo (%)				RMSE			
		G	GL	GY	GLY	G	GL	GY	GLY
2	9	-16,1	0,5	1	0,5	19962	6656	10862	8377
	33	1,5	1,5	-8,5	0,1	19170	8955	14577	10545
	47	12	14,5	-9,5	-3,1	24563	17597	21983	18434
3	17	-12,4	-0,5	0,1	0,5	17773	4397	8034	6224
	50	5,8	-0,5	-8	0,3	17767	6017	9790	7558
	64	12,8	2,4	-10,2	-0,3	20101	12404	15957	13383
4	23	-10,7	-1,9	-0,2	0,6	16900	3540	6776	5174
	60	5,1	-0,9	-7,2	0,5	14736	4766	7931	6180
	73	9,2	-2,6	-7,3	0,5	15424	10764	12539	11299
5	29	-8,9	-1	-0,2	0,3	16061	2807	5847	4141
	67	4,4	0,1	-6,2	0,2	12383	3838	7138	5004
	78	7,6	-1,9	-5,9	0,4	14274	8928	10951	9662
6	33	-8,3	-0,6	-0,3	0,2	14951	2462	5132	3781
	71	3,8	0,4	-5,2	0,1	11514	3464	6330	4445
	82	6,3	-1,3	-4,8	0	12388	8025	9731	8689
7	38	-7,4	-0,5	-0,1	0,2	14464	2208	4692	3503
	75	3,6	-0,1	-4,3	0,2	10916	3040	5953	4084
	84	5,3	0,5	-3,6	-0,4	11206	7153	8780	7902
8	41	-6,7	-0,4	-0,1	0,1	14114	2076	4230	3328
	78	3,2	-0,2	-3,6	0,2	10348	2899	5476	3781
	86	4,4	0,6	-2,5	-0,4	10312	6382	8535	7168

Tabla A2.2. Efectos del número de años y porcentaje de valores faltantes (VF) en las estimaciones de las componentes de varianza relacionadas a los efectos genotípicos (G, GL, GY y GLY) y en el RMSE para el escenario tres (datos con 80 genotipos evaluados por año en 10 localidades).

# años	VF (%)	Sesgo relativo (%)				RMSE			
		G	GL	GY	GLY	G	GL	GY	GLY
2	9	-10,9	0,9	-0,5	-1,2	16048	9536	10386	11420
	33	4	6,7	-9,8	-0,5	17646	12976	14134	14780
	47	15,2	41,9	-8,9	-8,3	22202	25078	19061	27008
3	17	-11	-1,7	0	-0,2	14117	6227	7526	8722
	50	4,1	4,5	-5,9	0,1	12840	9387	9866	10631
	64	9,4	18,6	-5,9	-4,2	15750	17608	13219	19073
4	23	-9,6	0	0	-0,5	12728	5037	6568	7339
	60	5,5	3,9	-6,8	-0,2	11187	7335	8075	8723
	73	6,3	12,4	-4,6	-2,6	12861	15331	11200	16496
5	29	-7,6	-0,4	-0,2	0	12352	4112	5598	6073
	67	5,3	3,7	-6,9	-0,2	9906	6113	7188	8109
	78	5,5	5,5	-3,7	-1,2	11423	12475	9381	13985
6	33	-7,4	0,1	-0,2	-0,2	11123	3725	4825	5077
	71	4,5	3,4	-5	-0,1	8718	5247	6386	6914
	82	4,8	2	-4	-0,4	10372	11891	8629	13264
7	38	-7,4	-0,2	-0,2	-0,1	10911	3215	4435	4703
	75	3,4	2,8	-4,1	-0,2	8197	4847	5823	6504
	84	3,7	2,8	-3,4	-0,6	9583	10926	7986	12209
8	41	-6,7	-0,4	-0,5	0,1	10554	2960	4049	4462
	78	3,5	2,3	-3,7	-0,1	7635	4350	5312	5833
	86	3,2	2,1	-3,5	-0,5	8748	9993	7370	11145

Tabla A2.3. Efectos del número de años y porcentaje de valores faltantes (VF) en las estimaciones de las componentes de varianza relacionadas a los efectos genotípicos (G, GL, GY y GLY) y en el RMSE para el escenario cuatro (datos con 80 genotipos evaluados por año en 40 localidades).

# años	VF (%)	Sesgo relativo (%)				RMSE			
		G	GL	GY	GLY	G	GL	GY	GLY
2	9	-12,8	12	-1,1	-0,3	15460	4612	8123	6196
	33	2,7	1,6	-6,6	-0,2	14740	6105	10297	6584
	47	14,3	3	-9,1	-0,4	19758	12322	15824	12964
3	17	-10,2	0,2	-0,6	0	12972	2930	6099	4503
	50	3,9	1,9	-4,9	-0,4	11503	4030	7176	4652
	64	9,9	-1,3	-5,5	0,4	14458	8561	11241	9285
4	23	-9,1	-0,5	-0,4	-0,1	12185	2202	4715	3603
	60	2,5	1,1	-3,5	-0,4	9504	3290	5881	4077
	73	5,9	-2,1	-2,6	0,5	11461	6958	9124	7374
5	29	-8,7	-0,4	0	-0,1	11602	1963	4058	3118
	67	2,9	1,1	-3,2	-0,4	8388	2870	5340	3601
	78	4,8	-2	-0,8	0,4	9683	5911	7721	6189
6	33	-8,3	-0,2	-0,2	-0,2	11012	1775	3491	2815
	71	2,4	1,3	-2,7	-0,3	7749	2594	4534	3235
	82	3,7	-0,9	0	0,1	8633	5423	7178	5716
7	38	-7,4	-0,3	-0,1	-0,1	10549	1653	3262	2548
	75	2,1	1,1	-2,1	-0,3	7331	2350	4084	2982
	84	2,9	-0,9	0,4	0,1	8014	5050	6688	5177
8	41	-6,9	-0,2	-0,2	-0,1	10445	1509	2965	2397
	78	2,1	0,7	-2	-0,3	6583	2203	3752	2675
	86	2,8	0	-0,1	-0,1	7551	4725	6085	4801

## **ANEXO 3**

### **DATOS COMPLEMENTARIOS A LOS RESULTADOS PRESENTADOS EN EL CAPÍTULO 4**

Tabla A3.1. Descripción de los ensayos evaluados.

Ensayo #	nombre	tipo †	Adaptación ‡	# de entradas	# de réplicas
1	01_14	E-3WH	TR	36	2
2	01AS-14	PC-3WH	TR	12	3
3	02_14	E-3WH	TR	21	3
4	02AS-14	PC-3WH	TR	15	3
5	AM Pop	SC	TR-ST	120	2
6	07_14	SP	TR	18	2
7	08_14	SC	TR	40	2
8	09_14	SC	TR	76	2
9	EILHYBW	E-3WH	ST	30	2
10	14ST2W114	E-3WH	ST	60	2
11	14ST2Y114	E-3WH	ST	75	2

† SC = Simple cruza; SP = Población sintética; PC-3WH = Híbrido pre-comercial 3 vías; E-3WH = Híbrido experimental 3 vías.

‡ TR = Tropical; ST = Subtropical.

Tabla A3.2. Número de variables latentes usadas (Seleccionados por validación cruzada) en la regresión por mínimos cuadrados parciales (PLS).

Datos usados †	Número máximo y mínimo de variables latentes
T1	4-10
T2	3-13
T3	11-12
T4	2-14
T5	15-15
T4:T5	21-22
T3:T5	2-26
T2:T5	3-30
T1:T5	3-27

† 62 bandas por cada  $T_i$  ( $i=1, \dots, 5$ ).



Tabla A3.3. Correlación estimada mediante validación cruzada para cada método de predicción ajustado con datos de los tiempos T1 al T4. Errores estandar (EE) y comparaciones obtenidas de 30.000 remuestreos bootstrap.

Tiempo	Modelo	Correlación promedio dentro de ensayo (EE)	Proporción de veces que el modelo en la fila tuvo mayor correlación que el modelo en la columna.								
			NDVI	CWMI	mND	PRI	MTCI	MCARI2	OLS	PLS	BayesB
T1	NDVI	-0.12 (0.035)		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	CWMI	0.12 (0.036)	1.00		0.92	0.26	0.15	0.95	0.02	0.01	0.00
	mND	0.05 (0.036)	1.00	0.08		0.02	0.01	0.58	0.00	0.00	0.00
	PRI	0.15 (0.036)	1.00	0.74	0.98			0.35	0.99	0.07	0.04
	MTCI	0.17 (0.033)	1.00	0.85	0.99	0.65		1.00	0.12	0.07	0.04
	MCARI2	0.04 (0.037)	1.00	0.05	0.42	0.01	0.00		0.00	0.00	0.00
	OLS	0.22 (0.033)	1.00	0.98	1.00	0.93	0.88	1.00		0.40	0.31
	PLS	0.24 (0.033)	1.00	0.99	1.00	0.96	0.93	1.00	0.06		0.42
	BayesB	0.25 (0.031)	1.00	1.00	1.00	0.98	0.96	1.00	0.69	0.58	
T2	NDVI	0.16 (0.039)		0.93	1.00	1.00	0.61	0.23	0.09	0.34	0.03
	CWMI	0.08 (0.037)	0.07		1.00	1.00	0.10	0.01	0.00	0.02	0.00
	mND	-0.15 (0.035)	0.00	0.00		0.62	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	PRI	-0.16 (0.033)	0.00	0.00	0.38		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	MTCI	0.15 (0.033)	0.39	0.90	1.00	1.00		0.13	0.03	0.22	0.01
	MCARI2	0.20 (0.037)	0.77	0.99	1.00	1.00	0.87		0.28	0.66	0.12
	OLS	0.23 (0.031)	0.91	1.00	1.00	1.00	0.97	0.72		0.86	0.26
	PLS	0.18 (0.031)	0.66	0.98	1.00	1.00	0.78	0.34	0.14		0.04
	BayesB	0.26 (0.032)	0.97	1.00	1.00	1.00	0.99	0.88	0.74	0.96	
T3	NDVI	0.13 (0.038)		0.23	0.02	1.00	0.01	0.68	0.01	0.00	0.00
	CWMI	0.17 (0.035)	0.77		0.08	1.00	0.04	0.89	0.07	0.00	0.00
	mND	0.24 (0.032)	0.98	0.92		1.00	0.36	1.00	0.46	0.07	0.03
	PRI	-0.18 (0.032)	0.00	0.00	0.00		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	MTCI	0.25 (0.031)	0.99	0.96	0.64	1.00		1.00	0.60	0.14	0.06
	MCARI2	0.11 (0.038)	0.32	0.11	0.00	1.00	0.00		0.00	0.00	0.00
	OLS	0.24 (0.033)	0.99	0.93	0.54	1.00	0.40	1.00		0.09	0.04
	PLS	0.30 (0.031)	1.00	1.00	0.93	1.00	0.86	1.00	0.91		0.34
	BayesB	0.32 (0.030)	1.00	1.00	0.97	1.00	0.94	1.00	0.96	0.66	
T4	NDVI	0.25 (0.038)		0.50	0.07	0.67	0.09	0.66	0.03	0.04	0.01
	CWMI	0.25 (0.035)	0.50		0.06	0.67	0.08	0.66	0.03	0.03	0.01
	mND	0.33 (0.033)	0.93	0.94		0.98	0.58	0.97	0.37	0.41	0.24
	PRI	0.23 (0.033)	0.33	0.33	0.02		0.02	0.51	0.01	0.01	0.00
	MTCI	0.32 (0.030)	0.91	0.92	0.42	0.98		0.96	0.29	0.33	0.18

MCARI2	0.23 (0.038)	0.34	0.34	0.03	0.49	0.04		0.01	0.01	0.00
OLS	0.34 (0.029)	0.97	0.97	0.63	0.99	0.71	0.99		0.54	0.35
PLS	0.34 (0.029)	0.96	0.97	0.59	0.99	0.67	0.99	0.46		0.31
BayesB	0.36 (0.030)	0.99	0.99	0.76	1.00	0.82	1.00	0.65	0.69	

Tabla A3.4. Correlación estimada mediante validación cruzada para cada método de predicción ajustado juntando datos tomados en diferentes tiempos. Errores estandar (EE) y comparaciones obtenidas de 30.000 remuestreos bootstrap.

Datos usados	Modelo	Correlación promedio dentro de ensayo (SE)	Proporción de veces que el modelo en la fila tuvo mayor correlación que el modelo en la columna									
			NDVI	CWMI	mND	PRI	MTCI	MCARI2	OLS	PLS	BayesB	
<i>T4:T5</i>	NDVI	0.30 (0.035)		0.79	0.11	0.27	0.24		0.63	0.03	0.00	0.00
	CWMI	0.26 (0.036)	0.21		0.02	0.07	0.06		0.32	0.00	0.00	0.00
	mND	0.36 (0.031)	0.89	0.98		0.75	0.71		0.94	0.28	0.06	0.08
	PRI	0.33 (0.029)	0.73	0.93	0.25		0.45		0.84	0.10	0.01	0.02
	MTCI	0.33 (0.031)	0.76	0.94	0.29	0.55			0.86	0.13	0.02	0.03
	MCARI2	0.28 (0.035)	0.37	0.68	0.06	0.16	0.14			0.01	0.00	0.00
	OLS	0.38 (0.029)	0.97	1.00	0.72	0.90	0.87		0.99		0.15	0.20
	PLS	0.42 (0.028)	1.00	1.00	0.94	0.99	0.98		1.00	0.85		0.58
	BayesB	0.41 (0.029)	1.00	1.00	0.92	0.98	0.97		1.00	0.80	0.42	
<i>T3:T5</i>	NDVI	0.30 (0.034)		0.84	0.13	0.09	0.23		0.66	0.06	0.02	0.00
	CWMI	0.25 (0.035)	0.16		0.02	0.01	0.04		0.28	0.01	0.00	0.00
	mND	0.35 (0.032)	0.87	0.98		0.43	0.67		0.94	0.36	0.15	0.06
	PRI	0.36 (0.030)	0.91	0.99	0.57		0.74		0.96	0.42	0.18	0.07
	MTCI	0.33 (0.031)	0.77	0.96	0.33	0.26			0.88	0.20	0.07	0.02
	MCARI2	0.28 (0.033)	0.34	0.72	0.06	0.04	0.12			0.02	0.01	0.00
	OLS	0.36 (0.030)	0.94	0.99	0.64	0.58	0.80		0.98		0.23	0.10
	PLS	0.40 (0.033)	0.98	1.00	0.85	0.82	0.93		0.99	0.77		0.32
	BayesB	0.42 (0.030)	1.00	1.00	0.94	0.93	0.98		1.00	0.90	0.68	
<i>T2:T5</i>	NDVI	0.45 (0.028)		1.00	0.42	0.97	0.97		0.45	0.95	0.29	0.34
	CWMI	0.31 (0.034)	0.00		0.00	0.08	0.08		0.00	0.05	0.00	0.00
	mND	0.46 (0.028)	0.58	1.00		0.98	0.98		0.53	0.97	0.36	0.41
	PRI	0.37 (0.029)	0.03	0.92	0.02		0.48		0.02	0.39	0.01	0.01
	MTCI	0.38 (0.030)	0.03	0.92	0.02	0.52			0.02	0.41	0.01	0.01
	MCARI2	0.46 (0.027)	0.55	1.00	0.47	0.98	0.98			0.97	0.33	0.38
	OLS	0.39 (0.029)	0.05	0.95	0.03	0.61	0.59		0.03		0.01	0.02

PLS	0.48 (0.028)	0.71	1.00	0.64	0.99	0.99	0.67	0.99	0.55
BayesB	0.47 (0.029)	0.66	1.00	0.59	0.99	0.99	0.62	0.98	0.45

Tabla A3.5. Proporción estimada de efectos no nulos en el modelo BayesB y región de confianza al 95% para el parámetro.

Datos usados <sup>†</sup>	Proporciones estimadas				
	T1	T2	T3	T4	T5
<i>Modelos con datos de un punto temporal</i>					
T1	.52 (.33 ; .72)				
T2		.59 (.40 ; .77)			
T3			.53 (.35 ; .71)		
T4				.55 (.37 ; .73)	
T5					.56 (.37 ; .74)
<i>Modelos con múltiples puntos temporales</i>					
T4:T5				.44 (.25 ; .66)	.52 (.32 ; .73)
T3:T5			.42 (.23 ; .66)	.42 (.22 ; .64)	.56 (.36 ; .76)
T2:T5		.46 (.27 ; .67)	.42 (.16 ; .71)	.40 (.19 ; .65)	.55 (.34 ; .75)
T1:T5	.54 (.32 ; .76)	.46 (.25 ; .69)	.42 (.16 ; .72)	.46 (.23 ; .72)	.50 (.31 ; .70)

<sup>†</sup>62 bandas para el tiempo  $T_t$  ( $t=1, \dots, 5$ ).

$T_j$  rendimiento regresionado con datos espectrales colectados al  $j$ -ésimo tiempo.

$T_j:T_k$  rendimiento regresionado con datos espectrales colectados entre el  $j$ -ésimo y el  $k$ -ésimo tiempo.