

**CRP:** Livestock

**Flagship:** FP3 – Feeds and Forages

**Cluster:** 3.2

**Activity:** P1685 – Activity/Product Line 3.2.1: Improved feed & forage germplasm and new tools and technologies for breeding

**Deliverable:** D24590 - First draft report on use of simulation tools to optimize breeding strategies in the breeding program of interspecific hybrids of *Urochloa* sp. breeding program at CIAT

**Primer borrador del informe sobre el uso de herramientas de simulación para optimizar las estrategias de mejoramiento en el programa de mejoramiento de híbridos interespecíficos de *Urochloa* sp. en el CIAT**

*First draft report on use of simulation tools to optimize breeding strategies in the breeding program of interspecific hybrids of *Urochloa* sp. breeding program at CIAT*

*Valheria Castiblanco, Daniel Ariza, Johan Aparicio, Eduardo Covarrubias*

**Abstract**

There is a plethora of new technologies available for breeding programs. Those technologies tend to become “bandwagons - a bandwagon is an idea, activity, or because that becomes increasingly fashionable as more and more people adopt it” as described by Bernardo (2016). Breeders are usually tempted to apply it all. However, as it has been proven by history not all bandwagons are successful for all breeding schemes, and at the end the goal of increasing the genetic gain is not always achieved.

Simulation approaches have proven to be an efficient tool to support decision making processes in several fields. Various software packages for breeding simulations are currently available which differ in the input information which needs to be provided to the program, the operative background calculations (e.g. population history simulation or model calculations for multivariate normal distribution) and output provided (Sun et al., 2011, Mi et al., 2014, Faux et al., 2016). Two simulation-based R packages have been widely adopted in the CGIAR and other institutions to support the decision-making process and resource allocation that breeders do in daily life named, AlphaSim (Faux et al., 2016; Gaynor et al., 2021) and SelectionGain (Mi et al., 2014). Those packages test the effect of the size of the breeding program, the

number of breeding and testing stages, and the effect of accuracy of the trials and selection intensity in the expected genetic gain (GG). In the description of the different schemes tested, new technologies can also be represented, being able to predict the effect of those technologies in the genetic gain, which in turn, can make the waves of bandwagons less acute and allocation of funding also more effective.

The *Brachiaria intespecific* breeding program at CIAT, with nearly 30 years of experience, is unique by its biology (polyploid and apomictic) and by being an example of several new technologies successfully used (induced polyploidy, Marker assisted selection (MAS), clonal propagation, Near Infrared Spectrophotometry (NIRS), drone-based image analysis within others). The program releases apomictic hybrids by applying a scheme of recurrent selection in the female parent pool while maintaining the apomictic tester fixed, also known as recurrent selection based on specific combining ability (RS-SCA; Hull 1945; Miles 2007). The apomictic male parent pool (*Brachiaria decumbens*) has been difficult to improve due to the unavailability of a *B. decumbens* sexual tetraploid individual that enables the crosses for that pool, respecting the heterotic pattern.

In this study we used simulation-based R packages to test various possible modifications to the current breeding scheme being applied at the *Urochloa* intespecific breeding program at CIAT. We explored the impact in the genetic gain given by the possible migration from RS-SCA, to reciprocal recurrent selection (RRS), considering the challenges in logistics and population size. More specifically, the refreshing of the apomictic tester in each future heterotic pool and the hybrid formation under various sizes of the diallel crossing design.

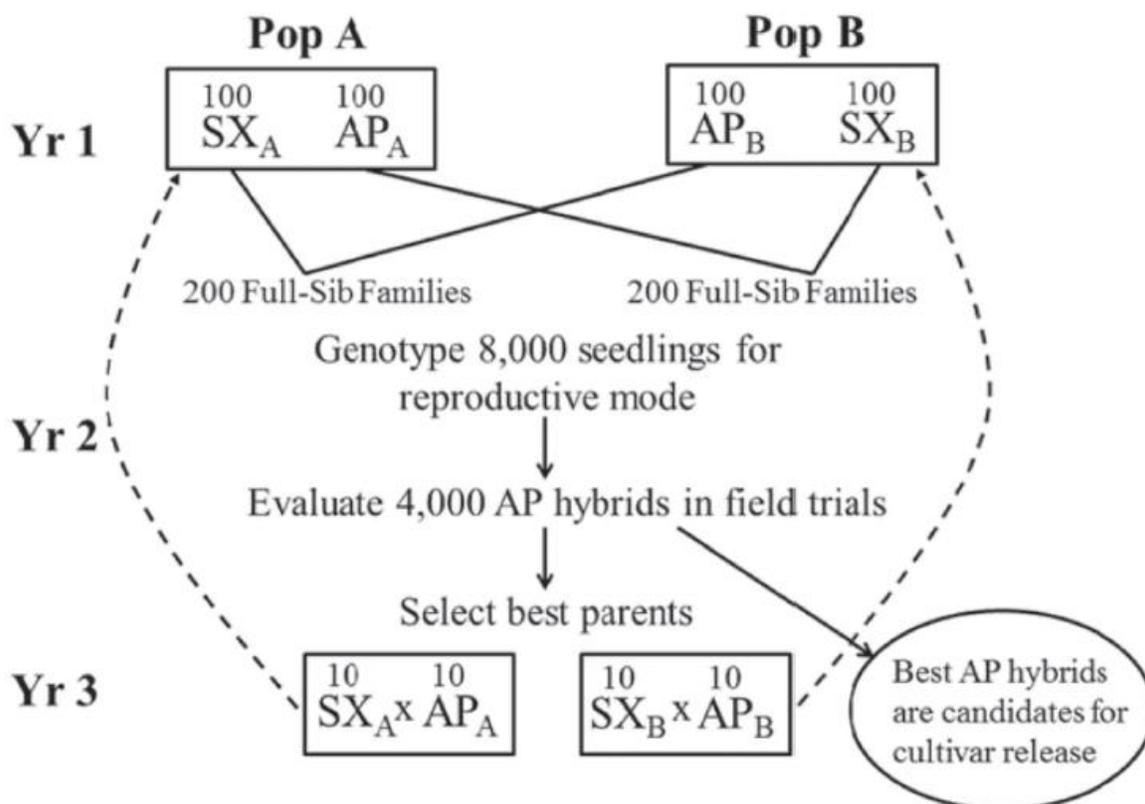
With a 20 years burn-in period used as baseline, followed by 30 year evaluation period, the simulations revealed that the first 15 years the current breeding scheme (RS-SCA) offers higher rates of GG, but after that, this scheme is surpassed by all treatments with RRS. We hypothesize, in the RS-SCA the genetic variability is exhausted during the first 15 years, while the RRS provides double genetic variability to exploit. We discuss the challenges on the application of this new approach at the light of the logistics and the lack of a sexual tetraploid individual for the crosses in the *B. decumbens* heterotic pool.

Currently the study has been finished and the document with all the details is being written, then we plan to submit for peer review before the end of 2021.

## Introducción

Existe una amplia variedad de metodologías que pueden ser aplicadas en los programas de mejoramiento. Sin embargo, no todas estas nuevas tecnologías son favorables en todos los tipos de programas. Su aplicación satisfactoria está influenciada por múltiples factores incluidos, la biología de la especie, su tipo de reproducción, la facilidad para realizar cruces dirigidos, entre otras. Dado que la aplicación de estas metodologías es costoso, es muy útil poder hacer una estimación del efecto de las mismas sobre la ganancia genética esperada en el programa, antes de hacer una costosa inversión.

Con este propósito existen en la actualidad varios paquetes de R que, basados en simulaciones, permiten estimar la ganancia genética en varios escenarios. En los escenarios que se informan al paquete, se plasman las modificaciones que cierta metodología ofrece en cuanto al tiempo, intensidad de selección, o precisión y se compara contra el ciclo actual.



**Figura 1:** Esquema de Selección recurrente recíproca propuesto por Worthington y Miles (2015).

El programa de mejoramiento de *Urochloa* interespecífico en CIAT, genera híbridos apomícticos y tetraploides como producto final. En el método de mejoramiento actual, se mejora el pool heterótico de las madres manteniendo el probador masculino constante, metodología llamada mejoramiento basado en habilidad combinatoria específica (RS-SCA). Se comparó contra la alternativa en la cual se mejoran los dos grupos heteróticos simultáneamente, la cual se conoce como selección recurrente recíproca (RRS; Figura 1). Si fuese posible manejar el mismo tamaño poblacional e intensidad de selección para los dos métodos, sería evidente que el RRS debería ofrecer el doble de la ganancia genética. Sin embargo, existen varias consideraciones prácticas que dificultan la aplicación de RRS, aumentando la complejidad logística y por tanto los costos de esta alternativa. Algunas de dichas consideraciones las mencionamos a continuación: i) en el grupo del probador apomíctico (*U. decumbens*) no se cuenta en la actualidad con un clon sexual que habilite la formación de cruces sin destruir el patrón heterótico; ii) Existe amplia variabilidad en cuanto a la biología de la reproducción entre genotipos, lo cual dificulta la sincronización de la floración para lograr la formación de híbridos a partir de diferentes parentales; y iii) aún no se cuenta con métodos de cruzamientos dirigidos, biparentales que sean eficientes y no susceptibles a contaminación. Actualmente se usan cruces al aire libre en lotes aislados, pero aumentando el número de parentales, se requeriría de métodos aislamiento entre un lote y otro y/o muchísimos pequeños lotes distribuidos en una amplia región para que tengan aislamiento por distancia. Esto implicaría una amplia complejidad en la logística del proceso de cruces, y por tanto también en los costos del programa.

En este contexto, se desconoce cuál de los esquemas de mejoramiento ofrece la mayor ganancia genética manteniendo un presupuesto constante. En este estudio se compararon dos posibles métodos de mejoramiento para ser aplicados en el programa de híbridos interespecíficos de *Urochloa* (antes *Brachiaria*) con sus respectivas implicaciones en cuanto a intensidad de la selección, eficiencia de los cruzamientos y logística.

## **Materiales y métodos**

Se usó el programa AlphaSimR para estimar las ganancias genéticas del programa de híbridos interespecíficos de *Urochloa* bajo diferentes posibles escenarios. Se usó un proceso de simulación con un periodo "burn-in" de 20 años como base, y seguido de 30 años de periodo de evaluación. Se realizaron 10 repeticiones por tratamiento y se consideró una ploidía de 4x, con 9 cromosomas y un grado de dominancia media de 0.2. Se realizó un análisis en tres etapas. En la primera etapa se evaluaron 3 tratamientos (Tabla 1), todos los tratamientos consistieron en esquemas de mejoramiento con un único

probador, pero variando el tamaño poblacional, el costo de la estrategia y el número de grupos heteróticos bajo selección.

**Tabla 1:** Descripción de los tratamientos evaluados en la primera etapa de simulaciones.

Descripción	Tamaño poblacional	Costo
RS-SCA	1x (8000 híbridos por ciclo)	1x
RRS	1x (8000 híbridos por ciclo)	1.15x
RRS	0.5x (4000 híbridos por ciclo)	1.1x

En la segunda etapa, se evaluaron 7 diferentes tratamientos en los cuales se varió entre 1 y 3 el número de probadores por cada grupo heterótico, con las respectivas implicaciones en costos. Los tratamientos evaluados se describen en la tabla 2.

**Tabla 2:** Descripción de los tratamientos evaluados en la segunda etapa de simulaciones.

Descripción	Numero de grupos heteróticos en selección	Número de Probadores	Tamaño de la población de selección	Costo Estimado	Cantidad de semillas en la F1	Cantidad de semillas en la F1 por cada probador
RS-SCA	1	1	1x (8000 híbridos por ciclo)	1x	800	800
RRS	2	1	1x (16000 híbridos por ciclo)	1.15x	1600	800
RRS	2	2	1x (16000 híbridos por ciclo)	1.45x	1600	400
RRS	2	3	1x (16000 híbridos por ciclo)	1.75x	1600	267
RRS	2	1	0.5x (8000 híbridos por ciclo)	1.1x	800	400
RRS	2	2	0.5x (8000 híbridos por ciclo)	1.3x	800	200
RRS	2	3	0.5x (8000 híbridos por ciclo)	1.5x	800	130

## Resultados y discusión

La primera ronda de simulaciones reveló que el esquema usado actualmente por el programa (RS-SCA) ofrece una ganancia genética mayor que todos los tratamientos de RRS durante los primeros 15 años de estudio, sin embargo, a partir de los 15 años los tratamientos de RRS con un solo probador ganan relevancia y muestran mejores resultados que todos los demás. Una explicación hipotética a este resultado es que al mejorar un único grupo heterótico usando un solo probador del grupo heterótico contrastante, se enfoca la evolución de toda la diversidad disponible en mejorar “un solo carácter”, entendiéndose ese carácter como la habilidad combinatoria de la población ante el probador único. Es ampliamente conocido que el mejoramiento de pocas características de herencia simple logra avances mayores, que la evolución compleja de múltiples características, por tanto, al tener que lograr que los dos grupos evolucionen en simultaneo y de manera contrastante las tasas de ganancia genética disminuyen. Aumentar la complejidad del proceso logra avances más pequeños en el corto plazo, pero en el largo plazo se cuenta también con el doble de variabilidad genética para aprovechar. Mientras la estrategia RS-SCA parece agotar la variabilidad al cabo de 15 años aproximadamente, los esquemas RRS tienen aún muchísima más diversidad para ofrecer. En conclusión, los dos esquemas muestran ventajas y desventajas, y podrían aplicarse de forma complementaria, para maximizar el avance del programa. Usando RS-SCA en el corto plazo para ofrecer producto comercial lo mas pronto posible, mientras se prepara el segundo grupo heterótico para ponerlo en funcionamiento tan pronto los genes deseables del primer grupo se hayan fijado en la población. Para la implementación de este escenario, es fundamental encontrar tan pronto como sea posible un genotipo sexual tetraploide del grupo heterótico *U. decumbens* (actualmente grupo del probador apomítico) que permita la formación de cruces sin deteriorar el patrón heterótico contrastante con el grupo de las madres.

En la implementación de un sistema de selección recurrente reciproca (RRS) el mejorador debe decidir con cuantos probadores de cada grupo heterótico va a trabajar. El principio fundamental del RRS es el de aprovechar la habilidad combinatoria general (GCA) altamente asociada con efectos de aditividad, en lugar de la habilidad combinatoria específica (SCA) asociada a efectos de dominancia y epístasis. La estimación adecuada de GCA para un parental específico se logra evaluando el desempeño de los híbridos obtenidos a partir del parental bajo estudio, contra la mayor cantidad de probadores posibles del grupo heterótico contrastante. Por lo tanto, para la implementación de RRS el mejorador está tentado a realizar la mayor cantidad de cruces posibles, en diseño factorial, de las poblaciones sexuales de cada grupo heterótico contra la mayor cantidad de probadores del grupo heterótico contrastante. Sin embargo, en el

caso específico del programa de híbridos interespecíficos de *Urochloa*, los genotipos que se usan para los cruces han sido generados en el año inmediatamente anterior, y por tanto al momento de ser usados como parentales aun no se cuenta con una caracterización detallada de su biología reproductiva, en particular se desconoce los tiempos a floración y antesis. A falta de esta información, realizar cruces pareados entre múltiples genotipos de los cruces heteróticos va a ser no solo muy dispendioso y costoso, sino también ineficiente en termino de las tasas de cruzamiento. En la segunda fase de las simulaciones se estudió el efecto del número de probadores a ser usados en el sistema de RRS. Las simulaciones revelaron que considerando las implicaciones en costos y tiempo que significa el usar múltiples probadores, la mejor ganancia genética se alcanza usando un único probador de cada grupo heterótico en los cruces de formación de híbridos.

Para futuros trabajos se debe tener en consideración dentro de la simulación, la tasa de dominancia o aditividad de los caracteres bajo selección y el tiempo de reciclaje de los probadores.

## Referencias

- Mi X, Utz HF, Technow F, Melchinger AE (2014) Optimizing resource allocation for multistage selection in plant breeding with R package selectiongain. *Crop Sci* 54:1413–1418. doi:[10.2135/cropsci2013.10.0699](https://doi.org/10.2135/cropsci2013.10.0699)
- Bernardo, R. (2016). Bandwagons I, too, have known. *Theoretical and Applied Genetics*, 129(12), 2323–2332. <https://doi.org/10.1007/s00122-016-2772-5>
- Gaynor, R. C., Gorjanc, G., & Hickey, J. M. (2021). AlphaSimR: an R package for breeding program simulations. *G3*, 11(2), jkaa017.
- Sun, X., T. Peng, and R.H. Mumm. 2011. The role and basics of computer simulation in support of critical decisions in plant breeding. *Mol. Breed.* 28:421–436. doi:[10.1007/s11032-011-9630-6](https://doi.org/10.1007/s11032-011-9630-6)
- Faux, A., Gorjanc, G., Gaynor, R. C., Battagin, M., Edwards, S. M., Wilson, D. L., Hearne, S. J., Gonen, S., & Hickey, J. M. (2016). AlphaSim: Software for Breeding Program Simulation. *The Plant Genome*, 9(3), 1–14. <https://doi.org/10.3835/plantgenome2016.02.0013>

Miles, J. W. (2007). Apomixis for cultivar development in tropical forage grasses. *Crop Science*, 47(S3), S238–S249. <https://doi.org/10.2135/cropsci2007.04.0016IPBS>

Hull, F.H. 1945. Recurrent selection for specific combining ability in corn. *J. Am. Soc. Agron.* 37:134–145