



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**POSGRADO EN CIENCIAS
BIOLÓGICAS**

INSTITUTO DE ECOLOGIA

**ADAPTACIÓN LOCAL DE *BREVICORYNE BRASSICAE*
(HOMOPTERA: APHIDIDAE) A DOS ESPECIES HUÉSPED**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE

DOCTORA EN CIENCIAS

P R E S E N T A

LORENA RUIZ MONTOYA

DIRECTOR DE TESIS: **DOCTOR JUAN SERVANDO NÚÑEZ-FARFÁN**

México, D.F.

Febrero, 2004



**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA



POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
COORDINACIÓN

UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

Ing. Leopoldo Silva Gutiérrez
Director General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Por medio de la presente me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 19 de mayo de 2003, se acordó poner a su consideración el siguiente jurado para el examen de grado del Doctorado en Ciencias del alumno(a) Lorena Ruiz Montoya, con número de cuenta 84535966 y número de expediente 3991177, con la tesis titulada: "Adaptación local de *Brevicoryne brassicae* (Homoptera: Aphididae) a dos especies huésped.", bajo la dirección del (la) Dr. Juan Núñez Farfán.

Presidente:	Dr. Martín R. Aluja Schuneman
Vocal:	Dr. Carlos Rafael Cordero Macedo
Vocal:	Dr. César Augusto Domínguez Pérez-Tejada
Vocal:	Dr. José Pablo Liedo Fernández
Secretario:	Dr. Juan Servando Núñez Farfán
Suplente:	Dr. Carlos Fabián Vargas Mendoza
Suplente:	Dr. Rodolfo Dirzo Minjarez

Sin otro particular, quedo de usted.

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 25 de noviembre de 2003


Dr. Juan J. Morrone Lupi
Coordinador del Programa

c.c.p. Expediente del interesado

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Lorena Ruiz Montoya

FECHA: 27 Enero 2004

FIRMA: Bmm

RECONOCIMIENTOS

Este trabajo fue desarrollado en el Laboratorio de Genética Ecológica y Evolución del Instituto de Ecología, UNAM, México D.F. (GEyE-IE-UNAM) y en el laboratorio de Entomología de El Colegio de la Frontera Sur, San Cristóbal de las Casas, Chiapas (ECOSUR). Este trabajo fue posible gracias al financiamiento facilitado por el Laboratorio de GEyE-IE-UNAM, por la línea de investigación *Dinámica de Poblaciones y Comunidades de Insectos* de ECOSUR, y por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) a través de una beca para la obtención del doctorado 990039-DO *Cátedra Patrimonial Nivel II* y del proyecto de investigación 31543B-*Biología y Genética de Poblaciones de Áfidos de importancia agrícola en Los Altos de Chiapas*.

La presentación de parte de los resultados en 6th International Symposium on Aphids del 1-7 de septiembre de 2001, Rennes, Francia, fue parcialmente apoyado por el programa de Posgrado de Ciencias Biológicas, UNAM.

Este trabajo estuvo supervisado por el siguiente comité tutorial:

- Dr. Juan Servando Núñez, Tutor principal
- Dr. César Domínguez Pérez-Tejada, Tutor
- Dr. Jorge Sarquís Ramírez, Tutor
- Dr. José Pablo Liedo Fernández, Tutor

AGRADECIMIENTOS

Agradezco de manera muy especial a Juan Núñez-Farfán por haber aceptado la dirección de esta tesis. Por su amistad, confianza y por la valiosa y alentadora actitud positiva que siempre tuvo ante situaciones poco favorables, que en ocasiones para mi eran casi irresolubles. Le agradezco el tiempo invertido en la lectura, análisis y discusión de la tesis. Las diversas revisiones críticas que hizo fueron fundamentales para mi formación académica, y para lograr un trabajo cada vez mejor. También le agradezco todas las facilidades logísticas otorgadas para el desarrollo del trabajo de laboratorio y experimentos.

Quiero agradecer a Cesar Domínguez, Jorge Sarquis y Pablo Liedo, mi comité tutelar, por su disposición comprometida, por su firmeza y empeño por que este trabajo y mi aprendizaje fueran de la mejor calidad académica posible.

También quiero agradecer a Zenon Cano, Mauricio Quesada, Francisco Espinosa, y a Rodolfo Dirzo quienes fueron sinodales durante la evaluación de la candidatura a doctora, sus sugerencias y observaciones fueron muy oportunas y relevantes para mejorar la tesis. A Martín Aluja, Carlos Cordero, Fabián Vargas y Rodolfo Dirzo por su aceptación para fungir como sinodales del examen de grado, y por los comentarios y sugerencias que hicieron, éstos constituyeron una valiosa oportunidad de aprendizaje.

A los integrantes del laboratorio de Genética Ecológica y Evolución del Instituto de Ecología, por haber hecho divertida mis estancias en el D.F., especialmente le agradezco a Sandra Cuartas, Jesús Vargas y a Juan Fornoni con quienes mantuve pláticas importantes sobre temas relacionados a la tesis y otros no tan relacionados. Me siento contenta de contar con su amistad.

Agradezco a Pablo Liedo, Alejandro Morón, Jorge León y Consuelo Lorenzo quienes desde su respectiva posición administrativa en ECOSUR me brindaron apoyo para dedicar tiempo completo a la realización de esta tesis. A Manuel Girón, Vianey Mendez, Julia Hernández, Karla Leal y Heidi Lieri, de ECOSUR, por haberme dado su ayuda en distintas fases del desarrollo de la tesis.

Agradezco el apoyo económico otorgado por CONACYT a través de la *Cátedra Patrimonial Nivel II 990039-DO (Apoyo para la obtención del doctorado)* y del proyecto de investigación “3543-B *Biología y genética de áfidos de importancia agrícola en Los altos de Chiapas*”. Asimismo, parte de la tesis fue financiada por el laboratorio de Genética Ecológica y Evolución del Instituto de Ecología, UNAM, y por fondos federales otorgados a ECOSUR para el proyecto de investigación “*Dinámica de Poblaciones y Comunidades de insectos*”.

Finalmente quiero expresar mi agradecimiento a la familia. A todas mis hermanas y hermanos por tener siempre una franca disposición de ayudarme y por sus palabras de ánimo para continuar hasta llegar a la meta. A mis padres, Pedro Ruiz Palomino y Emilia Montoya Medrano[‡], de quienes adquirí el amor por la biología (un ejemplo de efectos maternos).

Mi más profundo, sincero y enorme agradecimiento a Neptalí Ramírez Marcial por todo el apoyo, paciencia y amor que me ha dado, estos elementos fueron fundamentales para mantenerme firme y con buen ánimo durante esta no sencilla fase de mi formación académica. Con gran júbilo dedico mi tesis a mi hijo, Julio Adolfo, quien cada día le da a mi vida alegres sorpresas y satisfacciones.

Indice

	Página
RESUMEN GENERAL	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN GENERAL	3
CAPÍTULO 1. Host-associated genetic structure of Mexican populations of the cabbage aphid <i>Brevicoryne brassicae</i> L. (Homoptera: Aphididae)	19
CAPÍTULO 2. Changes in morphological traits of the cabbage aphid (<i>Brevicoryne brassicae</i>) associated to use of different host plants	27
CAPÍTULO 3. Natural selection and maternal effects on life histories traits of <i>Brevicoryne brassicae</i> (Homoptera: Aphididae) in two sympatric closely related hosts	51
CAPÍTULO 4. Compromisos (Trade-offs) y plasticidad fenotípica en caracteres de historia de vida de poblaciones de <i>Brevicoryne brassicae</i> (Homoptera: Aphididae) asociadas a dos especies de Brassicaceae	81
DISCUSIÓN GENERAL	116

Resumen general

Los insectos herbívoros especialistas son aquellos que se alimentan de una o pocas especies de plantas, usualmente del mismo género o familia. El fenómeno de la especialización ha atraído la atención de los ecólogos evolucionistas interesados en coevolución. Diversos estudios han demostrado la existencia de patrones de especialización, sin embargo, pocos han documentado el tipo e intensidad de selección que ocurre en las poblaciones cuando usan diferentes especies huésped. Se espera que el proceso de especialización produzca adaptación local a un huésped, y en consecuencia incapacidad para adaptarse a otros (hipótesis de la pleiotropía antagonica). La adaptación local de los insectos fitófagos a distintas plantas huésped en condiciones de simpatria es relevante para entender las condiciones genéticas y ecológicas que fomentan o limitan la especiación simpátrica. Este tipo de especiación se consideraba, hasta hace poco, rara en la naturaleza.

En esta investigación se usó el sistema del áfido *Brevicoryne brassicae* L. (Homoptera: Aphididae) y dos de sus plantas huésped más comunes en Los Altos de Chiapas (México), *Brassica campestris* L. y *Brassica oleraceae* cv *capitata* L., para estudiar el fenómeno de adaptación local en condiciones simpatria. Mediante el estudio de poblaciones naturales y a través experimentos de transferencia recíproca se determinó: (1) si existe diferenciación fenotípica y genética entre poblaciones de *B. brassicae* asociadas a las dos especies huésped; (2) si el desempeño del áfido difiere entre especies huésped y si tal diferencia es acorde con la hipótesis de adaptación local; (3) si la historia de uso de un huésped afecta el desempeño de la descendencia (efectos maternos); (4) si la intensidad y modo de la selección natural sobre caracteres de historia de vida es diferente entre huéspedes; (5) la posible existencia de varianza genética en los caracteres de historia de vida en las poblaciones de *B. brassicae* asociadas a cada huésped, y (6) si existe variación genética en la plasticidad de los caracteres de historia de vida y si ocurre selección sobre la plasticidad. La hipótesis de adaptación local predice altos niveles de diferenciación genética y fenotípica entre las poblaciones asociadas a los dos huéspedes, así como varianza genética en los caracteres de historia de vida y selección direccional intensa en ellos en cada huésped, y selección en contra de los genotipos plásticos.

Se analizó la variabilidad genética de *B. brassicae* en cuatro localidades donde concurren ambos huéspedes (para un total de ocho subpoblaciones). Se emplearon las frecuencias alélicas de 11 loci enzimáticos. Se encontró alta diferenciación entre localidades ($F_{ST} = 0.13$, $P < 0.05$). Una parte de dicha diferenciación es debida a la divergencia genética entre huéspedes dentro de cada localidad ($F_{ST} = 0.03$, $P < 0.05$) (Capítulo 1). De manera análoga, el análisis de la variación fenotípica, de estas mismas poblaciones, reveló diferencias morfológicas significativas tanto entre las poblaciones asociadas al huésped como entre localidades (Capítulo 2).

Los experimentos de transferencia recíproca revelaron la existencia de variación fenotípica en los caracteres de historia de vida de *B. brassicae*, y se detectó selección direccional sobre la edad a la primera reproducción ($\beta = 0.23$) en las dos especies huésped. Sin embargo, no se encontró un patrón de adaptación local. El desempeño de *B. brassicae* fue mayor en *Brassica campestris* que en *B. oleraceae*. Ninguno de los caracteres de historia de vida fue afectado por el huésped utilizado en las generaciones previas, es decir, no se detectaron efectos maternos. (Capítulo 3).

Se obtuvieron las normas de reacción de caracteres de historia de vida de un conjunto de genotipos de *Brevicoryne brassicae* para el estudio de la variación genética y selección en la plasticidad fenotípica, y para obtener evidencia de efectos pleiotrópicos antagonicos (correlaciones genéticas negativas entre huéspedes). Se encontró varianza genética en los caracteres de historia de vida en las dos especies huésped, sin embargo, aunque las normas de reacción revelaron plasticidad fenotípica en los caracteres, no se detectó varianza genética significativa en la plasticidad. El análisis de selección no mostró algún tipo de selección sobre la plasticidad. Asimismo, las correlaciones genéticas entre un mismo carácter expresado en los dos huéspedes no fueron significativamente distintas de cero. Estos resultados sugieren que la evolución de los caracteres de historia de vida de *B. brassicae* ocurre de manera independiente en cada huésped (Capítulo 4).

La evolución de la interacción entre *Brevicoryne brassicae* y *B. campestris* y *B. oleraceae* parece determinada por la interacción de tres procesos: selección natural que ajusta localmente, migración que reduce el progreso consistente en la adaptación local, y deriva génica determinada por las capacidades de vuelo y mortalidad estocástica de distintos genotipos de *Brevicoryne brassicae*.

Abstract

Specialist phytophagous insects usually fed upon one or few related plants species within a genus or family. The phenomenon of host specialization has attracted much attention of evolutionary ecologists interested in coevolution. Several studies have demonstrated the existence of regular patterns of host affiliation in insects. However few have documented the mode and intensity of selection on insect population inhabiting different sympatric host plants. Specialization is expected to produce local adaptation and hence an inability to use other hosts (antagonistic pleiotropy explanation). The occurrence of local adaptation in phytophagous insects is relevant to understand the ecological and genetic condition that promote or prevent sympatric speciation, a speciation mode considered until recently rare in nature.

I used the system of the aphid *Brevicoryne brassicae* L. (Homoptera: Aphididae) and their hosts species, *Brassica campestris* L. y *Brassica oleraceae* cv *capitata* L., to study the phenomenon of local adaptation in sympatric conditions. By describing the genetic and phenotypic variation of natural populations and by performing experiments of reciprocal transference of genotypes between hosts, I attempted to analyze: (1) if genetic and phenotypic differentiation between populations of *B. brassicae* associated to both host species occurs; (2) if insect performance differs between hosts and if it is consistent with a scenario of local adaptation; (3) the occurrence of maternal effects, i.e., if the present performance is affected by the host plant used in previous generations; (4) the extent and mode of natural selection in each host; (5) the existence of genetic variation in life histories traits related to host use, and (6) to survey if exist genetic variation in the phenotypic plasticity (reaction norms) and to measure selection on it. I expected, under the local adaptation hypothesis, genetic and phenotypic differentiation between populations associated to different host species, intense directional selection on life history traits and selection against plastic genotypes.

Eleven enzymatic loci were used to determine the magnitude of genetic differentiation within and among population of *B. brassicae* at four localities of the Highlands of Chiapas (Mexico). The study revealed low but significant genetic differentiation between populations associated to host species ($F_{ST} = 0.03$) within localities. The genetic differentiation was higher among localities ($F_{ST} = 0.13$) (Chapter 1). Consistently, the analysis of phenotypic variation show significant morphological differences between hosts and among localities (Chapter 2).

Phenotypic variation in the life histories traits of *B. brassicae*, and directional selection on the age at first reproduction ($\beta=0.23$) was detected in the populations associated to both host species. However, a local adaptation pattern was not revealed. The performance of *B. brassicae* was superior in *Brassica campestris* than in *B. campestris*. The performance of *B. brassicae* was not affected by the host used in previous generations, i.e. maternal effects were not detected (Chapter 3).

The reaction norms obtained for several genotypes of *B. brassicae* associated to both hosts revealed genetic variation and phenotypic plasticity in life history traits, but genetic variation in plasticity was not detected. The analysis of selection on plasticity did not reveal any type of natural selection. The genetic correlations of life history traits across host plants were not significantly distinct of zero (the antagonistic pleiotroics effect were not evidenced). These results suggest that evolution of life history traits occur independently in each host (Capitulo 4).

The evolution of the interaction between *Brevicoryne brassicae* and their host species (*Brassica campestris* y *B. oleraceae*) seems to be driven by the interaction of three processes: natural selection that adjust locally; migration that reduce the progress of local adaptation; and genetic drift, determined by fly capacity and stochastic mortality of genotypes of *B. brassicae*.

Introducción general

Cerca del 26 % de las especies de animales conocidos son insectos fitófagos (Strong et al. 1984). Estos insectos se alimentan de una a varias especies de plantas, y a su vez cada especie vegetal tiene varias especies de insecto asociadas (Koizumi 1999, Schoonhoven 1999).

Varios estudios han demostrado que la constitución química y algunas estructuras morfológicas de las plantas actúan como defensa contra los insectos, determinando en parte que los insectos se alimenten o no de ellas (Ehrlich y Raven 1964, Duffey 1986, Fritz et al. 1986, Grubb 1986, Lawton 1986, Fritz y Price 1988, Rosenthal y Berenbaum 1991, Awmack y Leather 2002). Sin embargo, la interacción planta-insecto es dinámica, esto es, mientras que en la planta se favorecen atributos que la defienden de los insectos (o patógenos), en éstos se promueven rutas metabólicas que desintegran o evitan los efectos nocivos de los compuestos químicos de las plantas (ver Rausher 2001, Cornel y Hawkins 2003). Estos cambios continuos y mutuos pudieron haber promovido la especialización de los insectos a las plantas, y posiblemente expliquen al menos en parte, la diversificación del grupo (Strong et al. 1984, Bush 1994, Mopper y Strauss 1998, Berlocher y Feder 2002).

La especialización de los insectos a las plantas significa que los insectos son capaces de alimentarse o reproducirse en una o pocas especies de plantas como resultado de la selección natural en cada huésped, limitando su alimentación en otras especies (Diehl y Bush 1984, Futuyma y Peterson 1985, Boecklen y Mopper 1998). La selección natural, sin embargo, puede conducir a la especialización de los insectos a las plantas siempre y cuando

se reúnan las siguientes condiciones: (1) presencia de variabilidad en los caracteres relacionados con el uso de la planta, (2) que la variación sea heredable, y (3) que la variación implique una sobrevivencia y/o reproducción diferencial. De esta manera, con el transcurso de las generaciones el fenotipo medio será ajustado a las condiciones que prevalecen en cada especie huésped. Aunque es ampliamente documentado que los insectos se reproducen diferencialmente en las plantas (Awamack y Leather 2002), no existen estudios que documenten el modo e intensidad de selección que ocurre en cada huésped, este conocimiento es fundamental para entender cómo la selección natural conduce la especialización, y hasta donde interviene en la diversificación de los insectos fitófago.

La adaptación de los insectos a las plantas es particularmente importante si ésta ha ocurrido en condiciones de simpatria, porque puede representar un estado incipiente de la especiación simpátrica (Bush 1994, Via 2002, Berlocher y Feder 2002). La especiación simpátrica es la formación de dos especies a partir de una sola especie sin la intervención de barreras geográficas que impidan el intercambio genético entre las poblaciones (Mayr 1963, Kondrashov y Kondrashov 1999). Teóricamente, la especiación simpátrica puede ser factible cuando existe un polimorfismo genético estable, el cual puede ocurrir si los alelos tienen un efecto positivo sobre la adecuación en una de las especies huésped, y negativo en la otra; y cuando la adecuación de los heterocigotos o híbridos sea inferior a la de los homocigotos en cualquiera de los huéspedes (Maynard Smith 1966, Dickinson y Antonovicks 1973). Finalmente, para que ocurra la especiación, es necesario que evolucione algún mecanismo de aislamiento reproductivo como producto secundario de la adaptación local (Nosil et al. 2002). Todas estas condiciones biológicas se consideran

severamente restrictivas, por lo que por muchos años se había dado por hecho que este modelo de especiación es poco factible en la naturaleza (Via 2001).

Por la evidencia de una probable especiación simpátrica en el género *Rhagoletis* obtenida por Bush (1969) despertó un renovado interés sobre la especiación simpátrica (Berlocher y Feder 2002, Via 2002). Por lo que se han realizado varios estudios con la finalidad de detectar patrones de adaptación local (fase incipiente de la especiación simpátrica) de los insectos a las plantas en condiciones de simpatria. Es interesante notar que sólo en algunas especies de insectos se ha encontrado evidencia de adaptación local en simpatria (Via 1991, Futuyma et al. 1995, Alstad 1998), en contraste resalta la frecuencia de especies en las que no hubo un patrón de adaptación local (ver Joshi y Thompson 1995 y Fry 1996; Rausher 1984, Unruh y Luck 1987, Cobb y Whitman 1993). Desde un punto de vista teórico si ocurre el fenómeno de adaptación local de los insectos a las plantas se espera que el desempeño de los insectos sea mayor en el huésped al que están adaptados que en el que no (Boecklen y Mopper 1998). Por ejemplo, considere dos poblaciones de una especie de insecto, una de ellas está adaptada a la especie de planta A, y la otra población a la especie B. Si se mide la adecuación promedio de las dos poblaciones en las dos plantas, se obtendría que la mayor adecuación ocurrirá en la especie a la cual está adaptada. Este patrón se esquematiza en la Figura 1.

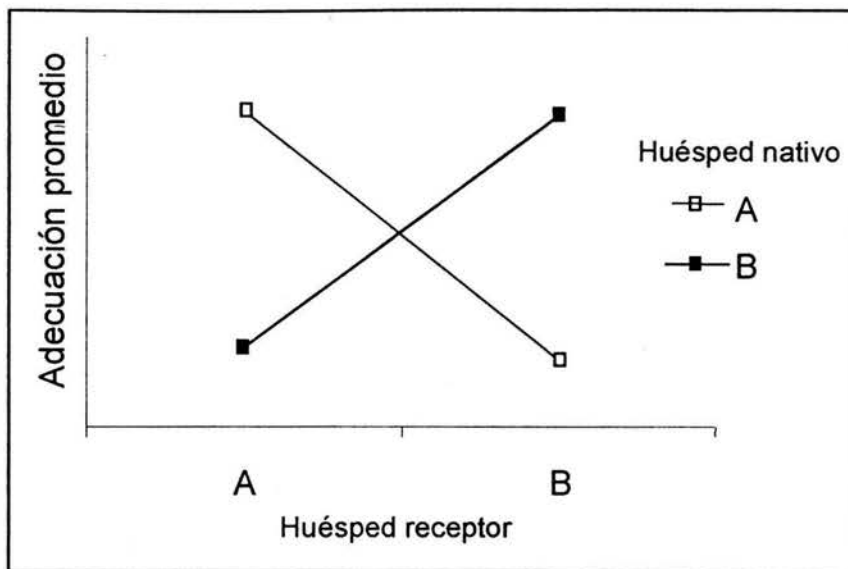


Fig. 1. Representación gráfica de la hipótesis de adaptación local de una especie de insecto fitófago a dos especies huésped

Este patrón, aunque sencillo y teóricamente factible en simpatria, parece difícil de reconocerse en las poblaciones naturales. El análisis de la estructura genética de poblaciones de insectos asociados a diferentes huésped puede ser útil para entender las condiciones genéticas y ecológicas que favorecen o impiden la adaptación en simpatria, así como una aproximación a los procesos evolutivos (la selección natural, la deriva genética y la plasticidad fenotípica) que moldean la relación planta-insecto. En este sentido, la genética cuantitativa y de poblaciones ofrecen la base teórica y las herramientas metodológicas que permiten una aproximación a la estructura genética de la adaptación local. La genética cuantitativa es la estimación de cómo las características fenotípicas se relacionan genéticamente, dentro o entre organismos emparentados (Falconer y Mackay 1996). Una forma de establecer esta relación es mediante el cálculo de la correlación

genética entre los caracteres que se considera pueden estar determinados por los mismos genes. La correlación genética entre estados de un mismo carácter expresado por un mismo genotipo en dos ambientes puede ser indicativa de adaptación local (Via 1991, Fry 1996).

Bajo el supuesto de que los genes que codifican el carácter tienen efecto positivo sobre la adecuación en uno de los huéspedes y un efecto contrario en otro huésped, y de que no es posible maximizar la adecuación en dos ambientes (en este caso especies de plantas huésped), simultáneamente, entonces es de esperarse una correlación genética negativa entre los estados de carácter (Via 1984, Falconer y Mackay 1996).

Por otro lado, el análisis de la plasticidad fenotípica puede ayudar a entender la ausencia de patrones de adaptación local. Es posible que la selección natural favorezca un fenotipo que sea igual de exitoso en dos o más huéspedes, implicando que los genotipos que sean capaces de expresar ese fenotipo en cada huésped podrían ser favorecidos sobre los que no. Esto podría implicar que gran parte de la variación observada en las poblaciones de insectos asociadas a diferentes especies huésped pueda ser plasticidad fenotípica. La plasticidad fenotípica es la capacidad de un genotipo de expresar fenotipos distintos cuando es expuesto a distintos ambientes (Stearns 1989, Schlichting y Piglucci 1998). La importancia evolutiva de la plasticidad fenotípica es que ésta puede evitar los efectos erosivos de la selección natural sobre la variabilidad genética, y promueve el mantenimiento de variación genética (Via y Lande 1985), por lo tanto previene la diferenciación genética bajo presiones ambientales locales (Sultan 2001).

La plasticidad puede ser de gran importancia en la evolución de algunos atributos relevantes en la interacción planta-insecto. Por ejemplo puede ser un mecanismo por el cual los insectos mantienen la variabilidad genética para la explotación de más de un huésped, especialmente cuando la densidad y presencia de las distintas especies huésped es altamente variable (Via y Lande 1985, Sultan 1987). En tal situación la plasticidad per se puede tener valor adaptativo y estar sujeta a selección (Schlichting y Pigliucci 1998).

El estudio de la plasticidad fenotípica puede ser a través del análisis de las normas de reacción, que es la representación gráfica de la respuesta de un genotipo a dos o más ambientes (Stearns 1989). Cuando un conjunto de normas de reacción se cruzan significa que los genotipos responden diferencialmente al ambiente (Figura 2), esto es, que existe variación genética en la plasticidad, y por lo tanto es posible su evolución por selección natural (Rossiter 1987, Via 1987, Schlichting y Pigliucci 1998).

Otro efecto ambiental sobre el fenotipo (además de la plasticidad), es aquel inducido por la herencia de factores no genéticos, como pueden ser recursos en el citoplasma, el sistema inmunológico, o simbioses (Hunt y Simmons 2000, Wolf 2000). Esta clase de herencia es conocida como herencia materna, herencia ambiental, efectos maternos o efectos parentales (Lacey 1998). Este tipo de herencia se expresa en los primeros días de vida de la descendencia y puede incrementar su supervivencia, especialmente en ambientes adversos (McAdam et al. 2002). Esta clase de herencia puede ser relevante en la evolución de la interacción de los insectos con las plantas, particularmente si las especies huéspedes se encuentran dentro del área de distribución de los insectos. Así, el desempeño de los insectos en una especie de planta, puede depender de

cuál especie usaron sus padres (Kirpatrick y Lande 1989, Fox 2000). Los efectos maternos pueden ser detectados mediante experimentos de cría de insectos por más de una generación en los huéspedes y luego estimar el desempeño de su descendencia en los mismos huéspedes (Rossiter 1996).

La genética de poblaciones, por su parte, analiza los cambios en las frecuencias genotípicas y alélicas en las poblaciones. El análisis de la estructura genética puede dar información sobre la identidad de los procesos evolutivos a lo que están sujetas las poblaciones. Es particularmente útil para estudios con poblaciones naturales. Se considera que la diferenciación genética entre poblaciones de una especie es el resultado de la interacción entre la selección natural, la deriva génica y el flujo génico (Slatkin 1994, Eguiarte et al. 1993). La diferenciación genética es la parte inicial del proceso de diversificación que culmina con la formación de las nuevas especies (Hartl y Clark 1989).

La separación de especies es frecuentemente hecha con base en diferencias morfológicas, las cuales también pueden ocurrir durante las etapas iniciales de la especiación. Algunos estudios han demostrado que la diferenciación fenotípica de poblaciones puede ser promovida por el tipo de alimento (Carroll y Boyd 1992, Nagel y Schluter 1998), por lo que es posible que durante el proceso de adaptación local de los insectos a las plantas estén involucrados cambios en el fenotipo. Estos cambios pueden ser revelados mediante análisis de la variación morfológica de las poblaciones de insectos asociadas a diferentes especies de plantas.

Utilizando el marco conceptual y metodológico de la genética cuantitativa y de poblaciones, se eligió una especie de áfido (Homoptera: Aphididae) para abordar el

fenómeno de adaptación local de los insectos fitófagos. El grupo de los áfidos tiene especies monófagas (por ejemplo, las especies de la subfamilia Eriosomatinae), oligófagas (por ejemplo *Brevicoryne brassicae*) y polífagas (por ejemplo *Myzus persicae*, *Aphis gossypi*, *A. citricola*). Además, la especialización de poblaciones o formación de razas de pulgones asociadas a las especies de plantas ha sido reconocida mediante análisis de caracteres morfológicos, de historia de vida y genéticos (Moran 1986, Tsai 1998, Haack et al. 2000). Por lo que los áfidos son un grupo idóneo para estimar la importancia de la selección natural y la plasticidad fenotípica en la evolución de la interacción planta-insecto.

En el presente estudio se analiza si el fenómeno de adaptación local ocurre en la interacción de *Brevicoryne brassicae* con sus plantas huésped, *Brassica oleraceae* y *B. campestris*, con distribución simpátrica en Los Altos de Chiapas, México. Las dos especies de plantas difieren en características químicas y morfológicas (Kjaer 1976, Rollins et al. 1976), por lo que es posible que constituyan ambientes contrastantes para *Brevicoryne brassicae*, y si existe variación en características de *Brevicoryne brassicae* que intervienen en la interacción con la planta, es de esperarse un patrón de adaptación local en esta especie de pulgón.

Mediante electroforesis horizontal de once loci enzimáticos se determinó el grado de diferenciación entre de las poblaciones de *Brevicoryne brassicae* asociadas a *B. oleracea* y *B. campestris* en cuatro localidades de Los Altos de Chiapas. Los resultados indicaron que existe poca diferenciación entre huéspedes, fue mayor la diferenciación entre localidades (Capítulo 1). El análisis morfológico de estas mismas poblaciones reveló diferencias fenotípicas entre las poblaciones asociadas a las especies huésped. Es probable

que gran parte de estas diferencias sean de origen ambiental y atribuibles a la condición nutricional de la planta hospedera (Capítulo 2).

Finalmente se hicieron tres de experimentos de transferencia recíproca para: (1) evaluar el desempeño de *Brevicoryne brassicae* en las dos especies, (2) determinar cómo afecta el huésped de la madre sobre el desempeño de la descendencia (efectos maternos), (3) reconocer cómo es la selección natural en cada huésped, (4) determinar si la adaptación local es debida a un compromiso (“trade-off”), y (5) determinar si existe selección sobre la plasticidad fenotípica. Bajo la hipótesis de adaptación local se esperaba: (a) un desempeño mayor en el huésped nativo que en el foráneo, (b) selección en contra de los genotipos procedentes de un huésped distinto al de su origen, (c) una correlación negativa entre ambientes para un mismo rasgo (reflejo de compromisos), que se origina debido a que un genotipo no puede maximizar la adecuación en dos ambientes distintos simultáneamente, (d) Si la selección ha favorecido a los genotipos más exitosos en cada especie de huésped, la norma de reacción estará limitada para evolucionar debido a que es el producto secundario de la adaptación local. Esto es, los genotipos adaptativos a una especie huésped serán maladaptativos en el especie huésped alterno. En general *Brevicoryne brassicae* tuvo un mayor desempeño en *Brassica campestris*, el cual no es afectado por el huésped que utilizaron las generaciones previas. Se obtuvo evidencia de selección dirección sobre edad a la primera reproducción en las dos plantas huésped. No se encontró plasticidad genética significativa ni selección sobre ella, tampoco se observaron las correlaciones genéticas negativas (Capítulos 3 y 4).

Referencias

- Alstad, D. 1998. Population structure and the conundrum of local adaptation. En: Mopper, S. & S.Y. Strauss. Genetic structure and local adaptation in natural insect populations. Chapman & Hall. U.S.A. Páginas 3-21.
- Awmack, C. & S.R. Leather. 2002. Host plant quality and fecundity in herbivorous insects. *Annual Review of Entomology* 47: 81-844.
- Berlocher, S.H. & J.L. Feder. 2002. Sympatric speciation in phytophagous insects: moving beyond controversy?. *Annual Review of Entomology* 47: 773-815.
- Boecklen, W.J. & S. Mopper. 1998. Local adaptation in specialist herbivores: theory and evidence. In: Mopper, S. & S.Y. Strauss (eds.). Genetic structure and local adaptation in natural insect populations. Chapman & Hall, USA, Páginas 64-90 pp.
- Bush, G.L. 1969. Sympatric host race formation and speciation in frugivorous flies of the genus *Rhagoletis* (Diptera: Tephritidae). *Evolution* 23: 237-251.
- Bush, G.L. 1994. Sympatric speciation in animals: new wine in old bottles. *Trends in Ecology and Evolution* 9: 285-288.
- Carroll, S.P. & C. Boyd. 1992. Host race radiation in the soapberry bug: natural history with the history. *Evolution* 46: 1052-1069.
- Cobb, N.S. & T. G. Whitham. 1993. Herbivore deme formation on individual trees: a test case. *Oecologia* 94: 496-502.
- Cornell, H.V. & B.A. Hawkins. 2003. Herbivore responses to plant secondary compounds: A test of phytochemical coevolution theory. *The American Naturalist* 161: 507-522.

- Dickinson, H. & J. Antonovics. 1973. Theoretical consideration of sympatric divergence. *The American Naturalist* 107: 256-274.
- Diehl, S.R. & G.L. Bush. 1984. An evolutionary and applied perspective of insect biotypes. *Annual Review of Entomology* 29: 471-504.
- Duffey, S.S. 1986. Plant glandular trichomes: their partial role in defence against insects. In: Juniper, B. & R. Southwood (eds.). *Insects and the plant surface*. Eduard Arnold. Great Britain. Páginas 152-172.
- Eguiarte, L.E., A. Búrquez, J. Rodríguez, M. Martínez-Ramos, J. Sarukhán & D. Piñero. 1993. Direct and indirect estimates of neighborhood and effective population size in a tropical palm, *Astrocaryum mexicanum*. *Evolution* 47: 75-87.
- Ehrlich, P.R. & P.H. Raven. 1964. Butterflies and plants: a study in coevolution. *Evolution* 18: 585-608.
- Falconer, D.S. & T.F.C. Mackay. 1996. *Introduction to quantitative genetics*. 4^a. Edition. Longman Group Ltd. Edimburgo.
- Fox, C.W. 2000. Maternal effects in insect-plant interactions: Lesson from desert seed beetle. *Recent Research Developments in Entomology* 3: 71-93.
- Fox, C.W., K.J. Waddel & T.A. Mousseau. 1995. Parental host plant affects offspring life histories in a seed beetle. *Ecology* 76: 402-411.
- Fritz, R.S. & P.W. Price. 1988. Genetic variation among plants and insect community structure: willow and sawflies. *Ecology* 69: 845-856.
- Fritz, R.S., C.F. Sacchi & P.W. Price. 1986. Competition versus host plant phenotype in species composition: Willow sawflies. *Ecology* 67: 1608-1618.

- Fry, J.D. 1996. The evolution of host specialization: are trade-offs overrated?. *The American Naturalist* (suplemento) 148: S84-S107
- Futuyma, D.J. & S.C. Peterson. 1985. Genetic variation in the use of resources by insects. *Annual Review of Entomology* 30: 217-238
- Futuyma, D.J., M. C. Keese & D. J. Funk. 1995. Genetic constraints on macroevolution: The evolution of host affiliation in the leaf beetle genus *Ophraella*. *Evolution* 49: 797-809.
- Grubb, P.J. 1986. Sclerophylls, pachyphylls and picnophylls: The nature and significance of hard leaf surfaces. Juniper, B. & R. Southwood (eds.). *Insects and the plant surface*. Eduard Arnold. Great Britain. Páginas 137-149.
- Haack L. J.-C. Simon, J.-P. Gauthier, M. Plantegenest & C.-A. Dedryver. 2000. Evidence for predominant clones in a cyclically parthenogenetic organism provided by combined demographic and genetic analyses. *Molecular Ecology* 9: 2055-2066
- Hartl, D. & A.G. Clark. 1997. *Principles of population genetics*. 3^a. Ed. Sinauer Associates, Inc. Canada.
- Hunt, J. & W. Simmons. 2000. Maternal and paternal effects on offspring phenotype in the dung beetle *Onthophagus taurus*. *Evolution* 54: 936-941.
- Kimberling, D.N. & P.W. Price. 1996. Variability in grape phylloxera preference and performance on canyon grape (*Vitis arizonica*). *Oecologia* 107: 553-559.
- Kirkpatrick, M. & R. Lande. 1989. The evolution of maternal characters. *Evolution* 43: 485-503.
- Kjaer, A. 1976. Glucosinolates in the cruciferae. En: Vaughan J.G., A.J. Macleod & B.M.G. Jones (eds.). *The Biology and Chemistry of the Cruciferae*, Academic Press, New York, Páginas 145-167.

- Koizumi, T., N. Fujiyama & H. Katakura. 1999. Host-plant specificity limits the geographic distribution of thistle feeding ladybird beetles. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 93: 165-171.
- Kondrashov, A.S. & F.A. Kondrashov. 1999. Interactions among quantitative traits in the course of sympatric speciation. *Nature* 400: 351-354.
- Lacey, E.P. 1998. What is an adaptive environmentally induced parental effect?. In; Mousseau, T.A & C.W. Fox (eds.). *Maternal effects as adaptations*. Oxford University Press Inc. New York.
- Lawton, J.H. 1986. Surface availability and insect community structure: the effects of architecture and fractal dimension of plants. En: Juniper, B. & R. Southwood. *Insects and the plant surface*. Eduard Arnol. Great Britain. Páginas 318-331.
- Maynard Smith, J. 1996. Sympatric speciation. *The American Naturalist* 100: 637-651.
- Mayr, E. 1963. *Animal species and evolution*. Harvard Univ. Press, Massachusetts
- McAdam, A.G., S. Boutin, D. Réale & D. Berteaus. 2002. Maternal effects and the potential for evolution in natural population of animals. *Evolution* 56: 846-851.
- Mopper, S. & S.Y. Struss (eds.). 1998. *Genetic structure and local adaptation in natural insect populations*. Chapman & Hall. USA.
- Moran, N. 1986. Morphological adaptation to host plants in *Uroleucon* (Homoptera: Aphididae). *Evolution* 40: 1044-1050.
- Nagel, L. & Schluter D. 1998. Body size, natural selection, and speciation in sticklebacks. *Evolution* 52: 209-218.

- Nosil, P., B.J. Crespi & C.P. Sandoval. 2002. Host-plant adaptation drives the parallel evolution of reproductive isolation. *Nature* 417: 440-443.
- Rausher, M.D. 1984. Tradeoffs in performance on different hosts: evidence from within- and between site variation in the beetle *Deloyala guttata*. *Evolution* 38: 582-595.
- Rausher, M.D. 2001. Co-evolution and plant resistance to natural enemies. *Nature* 411: 857-864.
- Rhoades, M. & M.R. Berenbaum 1991. Herbivores, their interactions with secondary plant metabolites. 2a. Edition. Academic Press Inc. U.S.A.
- Rollins, R.C. & U.C. Banerjee. 1976. Trichomes in studies of the cruciferae. En: (Vaughan, J.G., Macleod, A.J., Jones, B.M.G. (eds.). *The biology and chemistry of the Cruciferae*. Academic Press, New York, Páginas 145-167.
- Rossiter, M.C. 1987. Genetic and phenotypic variation in diet breadth in a generalist herbivore. *Evolutionary Ecology* 1: 272-282.
- Rossiter, M.C. 1996. Incidence and consequences of inherited environmental effects. *Annual Review of Ecology and Systematics* 27: 451-476.
- Schlichting, C.D. & M. Pigliucci. 1998. *Phenotypic evolution, a reaction norm perspective*. Sinauer Associates, Sunderland, Mass.
- Schoonhoven, L.M. 1999. Insects and plants: two worlds come together. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 91: 1-6.
- Slatkin, M. 1994. Gene flow and population structure. En: Real L. (ed.). *Ecological genetics*. Princeton University Press, Princeton, N.J. Páginas 3-17.

- Stearns, S.C. 1989. The evolutionary significance of phenotypic plasticity. *BioScience* 39: 436-445.
- Strong, D.R., J.H. Lawton & R. Southwood. 1984. *Insects on plants: Community patterns and mechanisms*. Blackwell, Oxford, UK.
- Sultan, S.E. 1987. Evolutionary implications of phenotypic plasticity in plants. *Evolutionary Biology* 21: 127-176
- Sultan, S.E. 2001. Phenotypic plasticity for fitness component in *Polygonum* species of contrasting ecological breadth. *Ecology* 82: 328-343.
- Tsai, J.H. 1998. Development, survivorship, and reproduction of *Toxoptera citricida* (Kirkaldy) (Homoptera: Aphididae) on eight host plants. *Environmental Entomology* 27: 1190-1195.
- Unruh, T.R. & R.F. Luck. 1987. Deme formation in scale insects: a test with the pinyon needle scale and a review of other evidence. *Ecological Entomology* 12: 439-449.
- Via, S. 1984. The quantitative genetics of polyphagy in an insect herbivore. II. Genetic correlations in larval performance within and across host plants. *Evolution* 38: 896-905.
- Via, S. 1987. Genetic constraints on the evolution of phenotypic plasticity. En: Loeschke V. (ed.). *Genetic constraints on adaptive evolution*. Springer Verlag, London. Páginas 47-71.
- Via, S. 1991. The genetic structure of host plant adaptation in a spatial patchwork: demographic variability among reciprocally transplanted pea aphid clones. *Evolution* 45: 827-852.

- Via, S. 2001. Sympatric speciation in animals: the ugly duckling grows up. *Trends in Ecology and Evolution* 16: 381-390.
- Via, S. 2002. The ecological genetics of speciation. *American Naturalist* 159: S1-S7.
- Via, S. & R. Lande. 1985. Genotype-environment interactions and the evolution of phenotypic plasticity. *Evolution* 39: 505-523.
- Wolf, J.B. 2000. Gene interactions from maternal effect. *Evolution* 54: 1882-1898.

Host-associated genetic structure of Mexican populations of the cabbage aphid *Brevicoryne brassicae* L. (Homoptera: Aphididae)

L Ruiz-Montoya^{1,2}, J Núñez-Farfán² and J Vargas²

¹El Colegio de la Frontera Sur, Carretera Panamericana y Periférico Sur s/n, C.P. 29290 San Cristóbal de las Casas, Chiapas, México;

²Departamento de Ecología Evolutiva, Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito Exterior s/n, Ciudad Universitaria, C.P. 04510 Coyoacán, Distrito Federal, México

Phytophagous insects can use different host plant species across their geographic distribution. Within a locality, however, their feeding can be restricted to one or two plant species. If host species constitute different selective regimes to herbivorous insects, genetic differentiation and host-associated local adaptation may occur. In this study, we describe the genetic structure of the aphid *Brevicoryne brassicae* L. associated to *Brassica campestris* L. and *B. oleraceae* var. *capitata* L., two plant species that occur sympatrically in four localities in the highlands of Chiapas, Mexico. The aim was to determine if the aphid populations are genetically structured in relation to the plant host species, and if such differentiation is consistent among localities. The genetic description of populations was made using 11 enzyme loci using cellulose acetate electrophoresis. Aphid genotypes were surveyed in two host plant species-associated populations within each of four localities at seven polymorphic loci (eight subpopulations in total). The genetic

structure was assessed at the level of subpopulations, among localities, between hosts, and pairwise comparisons of hosts within locality, using Wright F-statistics. Genetic distance among localities and between host-associated populations within each locality was also estimated. We found that overall genetic differentiation was high ($F_{ST}=0.22$), and that differentiation among localities ($F_{ST}=0.13$) was higher than differentiation between hosts ($F_{ST}=0.03$). All F_{ST} estimates were statistically significant. Pairwise comparisons of F_{ST} between hosts in each locality suggest high differentiation in two of them, and low but still significant differentiation in two other localities. Given that general environmental conditions are similar within localities, selection on each host species may produce genetic divergence within and among subpopulations of *B. brassicae*.

Heredity (2003) 91, 415–421. doi:10.1038/sj.hdy.6800338

Keywords: local adaptation; host races; genetic differentiation; *Brevicoryne brassicae*; Chiapas; Mexico; *Brassica* spp

Introduction

Phytophagous insects are often distributed in relation to the distribution of their hosts, and may feed upon a large number of host plant species throughout their geographic range (Futuyma, 1976). However, at the level of a local population, they may use a relatively restricted number of plant species. If the host plant species constitute different selective environments to herbivorous insects, adaptive genetic differentiation among populations could arise (eg Rausher, 1984; Futuyma and Peterson, 1985; Mopper and Strauss, 1998). Local genetic differentiation of insect populations in relation to different host plants has been suggested as being an incipient stage of sympatric speciation and an important phenomenon maintaining genetic diversity in insects (Bush, 1994; Berlocher and Feder, 2002; Drès and Mallet, 2002).

Aphids constitute excellent systems for assessing host-associated genetic structuring of insect populations. This is because many aphid species can often use more than one host plant species at the local scale, and thus experience different environment and selective regimes on different host plants (eg Via, 1991; Haack *et al.*, 2000).

The host plants are considered to be an important factor that affects the genetic structuring of aphid populations (Steiner *et al.*, 1985; Wöhrmann *et al.*, 1986; Eggers-Schumacher and Sander, 1988; Tomiuk, 1990). Indeed, several studies have shown evidence that the genetic structure of aphids can be related to their host plants (eg De Barro *et al.*, 1995a,b; Sunnucks *et al.*, 1997; Via, 1999; Haack *et al.*, 2000; Anstead *et al.*, 2002; Lushai *et al.*, 2002).

This study aimed to assess the genetic structure of the aphid *Brevicoryne brassicae* L. (Homoptera: Aphididae), both among and within localities from Chiapas, Mexico. *B. brassicae* uses, as host plants, *Brassica campestris* L. and *B. oleraceae* var. *capitata* L., which occur sympatrically in the Highlands of Chiapas, Mexico. Previous observations indicated differentiation in morphological and life history traits of this aphid in relation to these two hosts

Correspondence: J Núñez-Farfán, Departamento de Ecología Evolutiva, Instituto de Ecología, UNAM, Circuito Exterior s/n, Ciudad Universitaria, C.P. 04510 Coyoacán, D.F. México. E-mail: farfan@servidor.unam.mx
Received 21 April 2003

(Ruiz-Montoya and Núñez-Farfán, unpublished data). Thus, besides the genetic differentiation among populations produced by spatial isolation, genetic differentiation between subpopulations (between hosts within localities) could be promoted by selection if the hosts impose differential selective pressure. This allows the assessment of genetic differentiation as a function of a biotic factor, host plant, independently of random subdivision by other means (eg predation or abiotic factors).

Materials and methods

Biology of *B. brassicae* L.

B. brassicae L. displays both sexual and asexual phases on an individual plant (with no alternation between host species) (Blackman and Eastop, 2000). In the study area, *B. brassicae* reproduces apparently only by parthenogenesis (L Ruiz-Montoya, personal observation). *B. brassicae* has been collected carefully by both yellow traps and on the host plants during the last 4 years in the Highlands of Chiapas. So far, there is no evidence of sexual reproduction in this aphid's populations (eg oviparous females, eggs or males; L Ruiz-Montoya, personal observation).

In the study area, *B. brassicae* feeds mainly upon *B. campestris* L. and *B. oleraceae* var. *capitata* L. *B. oleraceae* is cultivated from the end of autumn (November), to the end of winter (February). *B. campestris* is an annual weed that grows near cultivated fields of *B. oleraceae*. Both hosts are available to aphids mainly in the winter. Small populations of *B. brassicae* can be found during summer on harvested plants of *B. oleraceae* left in the field, or on late-emerging plants of *B. campestris*.

Sampled localities

Four localities in the Highlands of Chiapas (Mexico), where the two host species occur sympatrically, were chosen for genetic analysis. Localities differ slightly in general environmental conditions (Figure 1), and are, on average, 12 km apart from one another. The altitude

within the region varies from 1500 to 2600 m a.s.l. The natural vegetation is a *Pinus-Quercus* forest in different successional stages (González-Espinosa et al, 1997). The mean annual temperature and rainfall are 16°C and 1500 mm, respectively. Rains occur from June to the end of September.

Sampling

Aphids were collected from plants of each host plant species selected at random in the localities of Balún, Chamula, Mitzitón and Teopisca (Figure 1). Within each locality, individuals of the two host plant species were separated from a few meters up to 200 m. In each locality, the nearest population of *B. campestris* to the cultivated field of *B. oleracea* was selected for aphid sampling. *B. campestris* grows in abandoned fields or in natural plant communities. Local farmers eliminate regularly the weeds from their cultivated fields, including *B. campestris*. Aphids were placed in vials, labelled and maintained in liquid nitrogen. In the laboratory, aphids were stored in a deep-freeze (-70°C) until electrophoretic analysis. At least 30 apterous adult aphids from different individual plants of each host species, in each locality, were screened to detect variation at the enzyme loci chosen. The total sample was: four localities (populations) and two subpopulations per locality (one for each host plant).

Electrophoresis

This was performed using horizontal cellulose acetate electrophoresis (Hebert and Beaton, 1993). Aphids were macerated in 15 µl of grinding buffer (10 mg NADP and 100 µl β-mercaptoethanol in 100 ml water) (see Fisk et al, 1992). Five buffer systems were tested: CAAPM and TGE (Hebert and Beaton, 1993), BORATE (Richardson et al, 1986), and PHOSPHATE-1 and PHOSPHATE-2 (Fisk et al, 1992). In total, 18 enzymes/isozymes were assayed following the staining protocols of Hebert and Beaton (1993). Only the CAAPM and PHOSPHATE-1 buffer systems gave good resolution for 10 enzymes

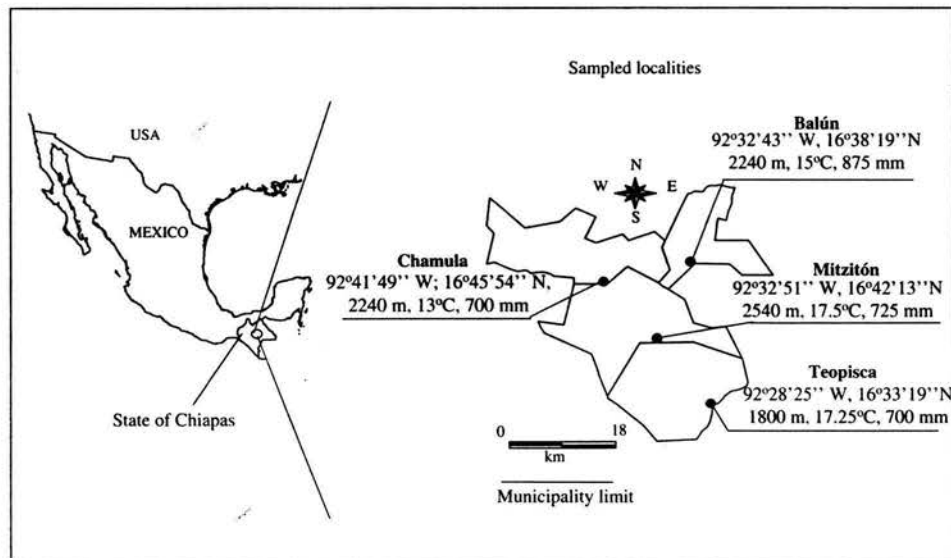


Figure 1 Geographic location and environmental characteristics of populations of *B. brassicae* in the Highlands of Chiapas, Mexico. (Geographic position, altitude above sea level, annual mean temperature and precipitation.)

Table 1 The enzymes/isoenzymes, buffers, number of loci and number of alleles resolved by electrophoresis of *B. brassicae* from Chiapas, Mexico

Enzyme (number of loci)	International nomenclature	Abbreviated name	Number of alleles	Buffer system
Malate dehydrogenase NADP ⁺ (1)	EC 1.1.1.40	ME	1	CAAPM ^a
Phosphoglucomutase (1)	EC 5.4.2.2	PGM	2	PHOSPHATE ^b
6-Phosphogluconate dehydrogenase (1)	EC 1.1.1.44	6PGDH	2	PHOSPHATE
Glucose-6-phosphate dehydrogenase (1)	EC 1.1.1.49	G6PDH	2	PHOSPHATE
Alkaline phosphatase (1)	EC 3.1.3.1	ALP	2	PHOSPHATE
Malate dehydrogenase (1)	EC 1.1.1.37	MDH	2	CAAPM
Isocitrate dehydrogenase (1)	EC 1.1.1.42	IDH	2	PHOSPHATE
Carboxyl esterase (2)	EC 3.1.1.1	EST-1	1	CAAPM
		EST-2	2	CAAPM
Aspartate aminotransferase (1)	EC 2.6.1.1	AAT	1	PHOSPHATE
Fumarate hydratase (1)	EC 4.2.1.2	FUM	1	CAAPM

^aCAAPM pH=7: 42.0 g citric acid (anhydrous), 50.0 ml 4-(3-aminopropyl) morpholine, make up to 1 l. Dilute 1: 4 CAAPM buffer:water for use.

^bPHOSPHATE pH=7.0: 4.15 g Na₂HPO₄ · 12H₂O, 1.31 g NaH₂PO₄ · 2H₂O in 1 l.

(Table 1). The electrophoresis was carried out using cellulose acetate plates of 76 mm × 76 mm (Helena Laboratories, Beaumont, TX, USA), run at ambient temperature, 95 V and 10 mA for 80 min.

Analysis

For each locality and host-associated population of *B. brassicae*, genotypic frequencies were scored and used to calculate the observed mean heterozygosity (H_o), and allelic frequencies. Allelic frequencies were used to estimate the mean number of alleles per locus (A), the average proportion of polymorphic loci using the 99% criterion (P), and expected mean heterozygosity (H_e) (Hartl and Clark, 1997). Heterogeneity of allelic frequencies among populations was evaluated by testing χ^2 (Workman and Niswander, 1970). Unbiased estimates of Nei's (1978) genetic distance (D) were obtained using the program TFGA (Miller, 1997). Average genetic distances were estimated for all populations and host-associated populations.

In order to assess population genetic structure, estimates of f , F , and θ of Weir and Cockerham (1984), the equivalent of Wright's (1965) F-statistics, F_{IS} , F_{IT} , and F_{ST} , respectively, were calculated. F-statistics were estimated in four ways: (A) among all (eight) subpopulations of *B. brassicae*; (B) among the four localities (each including the two host-associated subpopulations); (C) between hosts (pooling localities for each host); (D) pairwise comparisons of F_{ST} between host species in each locality were obtained. The estimation of genetic differentiation was performed following the procedure of Weir and Cockerham (1984), using the FSTAT program (version 2.9.3; Goudet, 2001). Jack-knife and Bootstrap methods were used to obtain standard errors and confidence intervals of F-statistics. For each locus, F_{ST} departure from zero was tested by $\chi^2 = 2NF_{ST}(k-1)$, where k is the number of alleles, N the total number of analysed organisms, and $(k-1)(s-1)$ degrees freedom, where s is the number of subpopulations (Workman and Niswander, 1970). The statistical test for F_{IS} and F_{IT} was obtained by $\chi^2 = (F)^2N(k-1)$, with $k(k-1)$ degrees of freedom (Nei, 1977).

Indirect estimates of gene flow Nm , the mean number of individuals or migrants exchanged among groups per

generation, was calculated as $Nm \approx 1/4(1/F_{ST}-1)$ since $F_{ST} \approx (1/(1+4Nm))$ (Wright, 1951).

Results

Seven out of 11 isozyme loci tested were polymorphic (Table 1), with an average of two alleles per locus (Table 1). High levels of polymorphism (45.5–63.6%) were found in all populations (Table 2). Heterogeneity in allele frequency between hosts within locality was found for five isozymes in Mitzitón, three in Balún, four in Chamula, and two in Teopisca (Figure 2). Likewise, differences in allele frequency in the same host were detected among localities (Figure 2).

High genetic diversity, expressed as expected heterozygosity (H_e), was found in all populations (range 0.262–0.42). At the locality level, the difference between the observed and expected heterozygosity (fixation index) for all loci indicates a deficiency of heterozygous individuals in three localities (ie inbreeding). However, at the level of host-associated populations within a locality, the fixation index indicated inbreeding in Mitzitón (in *B. campestris*) and Teopisca (in *B. oleraceae*). Contrary, there was an excess of heterozygous individuals in Mitzitón (*B. oleraceae*), Chamula (*B. campestris*), and Balún (*B. campestris*) (Table 2). These deviations from random mating expectations affect the magnitude of genetic differentiation (F-statistics) between hosts and among localities (see below).

Genotypic frequencies at G6PDH, EST-2, and 6PGDH loci deviated significantly from expected frequencies in all populations associated with *B. oleraceae*. In *B. campestris*, frequencies at the MDH, EST-2 and 6PGDH loci deviated from random mating expectations in three localities (Figure 3). A similar pattern was observed among populations.

All values of F_{IT} and F_{IS} obtained for each locus and average were significantly different from zero among subpopulations, localities, and between hosts. As expected for clonal populations, there is a deficiency of heterozygotes at the local (F_{IS}) and whole-population (F_{IT}) levels (Table 3a). Similarly, there is significant inbreeding among localities and between hosts (Table 3b, c).

Table 2 Average percentage of polymorphism (*P*), observed (H_o) and expected heterozygosity (H_e) and fixation index, ($F=1-(H_o/H_e)$) of host-associated populations of *B. brassicae* in Chiapas, Mexico

Locality	Host species	Host species					Locality				
		N	P (%)	H_o	H_e	F	N	P(%)	H_o	H_e	F
Mitzitón	<i>B. campestris</i>	30.1	63.63	0.268	0.422	+0.380	68.0	63.63	0.322	0.435	+0.258
	<i>B. oleracea</i>	37.8	45.45	0.373	0.338	-0.104					
Balún	<i>B. campestris</i>	42.0	63.63	0.311	0.262	-0.189					
	<i>B. oleracea</i>	36.0	63.63	0.335	0.337	+0.004					
Chamula	<i>B. campestris</i>	38.8	54.54	0.456	0.366	-0.247					
	<i>B. oleracea</i>	25.7	54.54	0.365	0.382	+0.044					
Teopisca	<i>B. campestris</i>	33.1	63.63	0.371	0.388	+0.042					
	<i>B. oleracea</i>	31.0	63.63	0.282	0.368	+0.232					
Total		274.7	63.63	0.352	0.444	+0.155					+0.207

N, average number of individuals assayed.

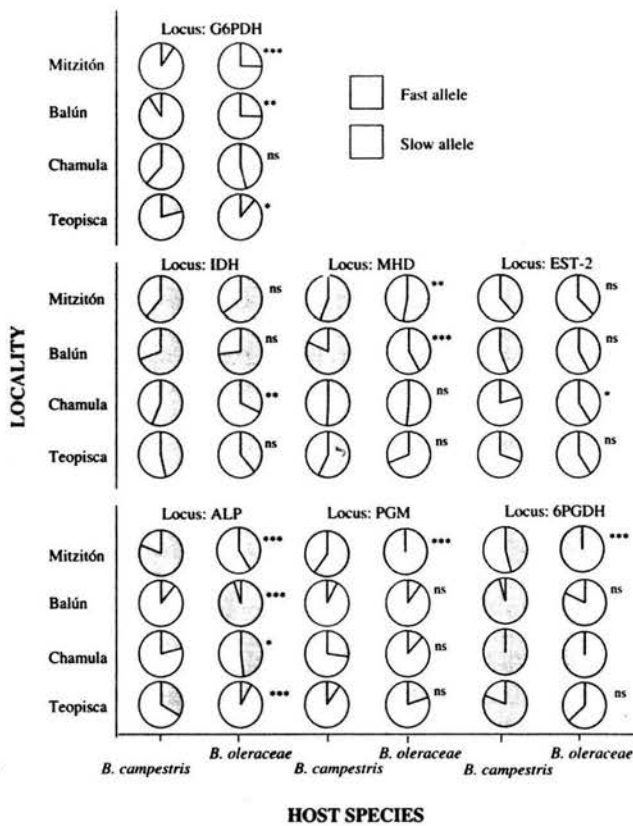


Figure 2 Heterogeneity tests for seven loci surveyed in *B. brassicae* associated to *B. campestris* and *B. oleraceae* in Chiapas, Mexico. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; ns, not significant.

The F_{ST} value estimated for the whole population was high and larger than the F_{ST} estimated among localities (Table 3a, b). Thus, the F_{ST} for the whole population includes a fraction explained by differentiation between hosts within locality. The value of F_{ST} between hosts (localities pooled within each host) indicates small but significant differentiation (Table 3c). Pairwise comparisons of F_{ST} within each locality detected high differ-

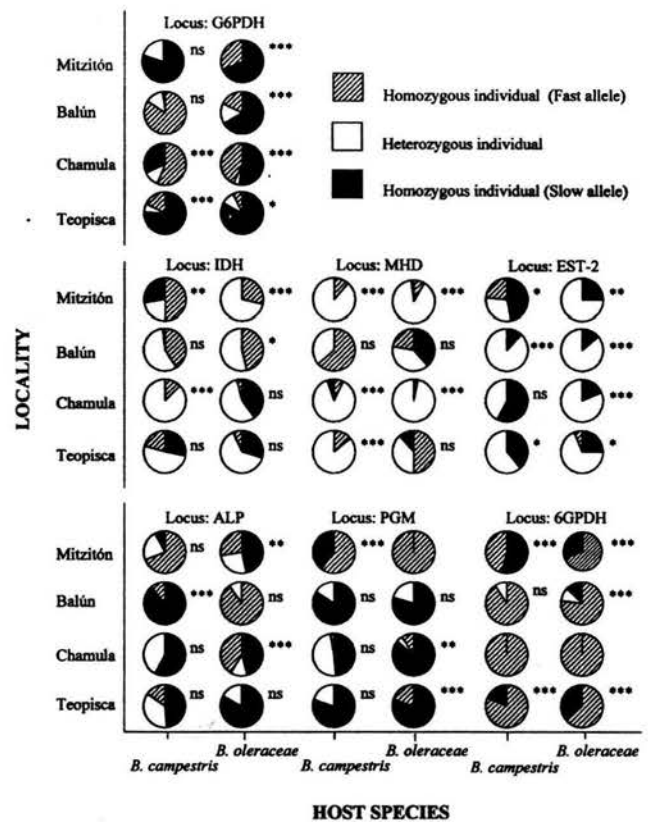


Figure 3 Observed genotypic frequencies at seven loci of *B. brassicae* on two host plants (*B. campestris* and *B. oleraceae*) in Chiapas, Mexico (Hardy-Weinberg departure test). * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; ns, not significant.

entiation between hosts in two localities (Mitzitón and Balún, Table 4). The larger differentiation was observed in the locality of Balún (Table 4).

Genetic distance between the localities of Teopisca and Chamula was small (Figure 4). Furthermore, in each of these localities, the host-associated subpopulations showed small genetic distances between them (Figure 3). Contrary to this, Balún and Mitzitón showed

Table 3 Estimation of F -statistics: (a) Among eight subpopulations of *B. brassicae*; (b) among four localities (which include the two host-associated subpopulations in each locality); (c) between hosts (pooling localities for each host)

Locus	F_{IT}	F_{ST}	F_{IS}	Nm
(a) Among subpopulations				
IDH	-0.194**	0.068**	-0.282**	3.42
MDH	-0.480**	0.046**	-0.552**	5.10
EST	-0.432**	0.019**	0.460**	12.90
ALP	0.623**	0.397**	0.374**	0.37
PGM	0.648**	0.431**	0.382**	0.33
G6PDH	0.798**	0.335**	0.696**	0.49
6PGHD	0.906**	0.256**	0.874**	0.72
Average	0.228**	0.219**	0.011**	0.89
Jack-knife	0.224	0.219	-0.010	
SD	0.229	0.070	0.216	
95% CI	-0.177	0.095	-0.316	
	0.612	0.343	0.449	
(b) Among localities				
IDH	-0.185**	0.065**	-0.267**	3.50
MDH	-0.486**	0.009*	-0.500**	27.50
EST	-0.431**	0.011*	-0.448**	22.90
ALP	0.611**	0.088**	0.574**	31.00
PGM	0.667**	0.421**	0.425**	0.34
G6PDH	0.799**	0.188**	0.752**	1.07
6PGHD	0.906**	0.128**	0.892**	1.70
Average	0.232**	0.129**	0.118**	1.68
Jack-knife	0.228	0.128	0.106	
SD	0.229	0.056	0.230	
95% CI	-0.175	0.045	-0.261	
	0.619	0.242	0.541	
(c) Between hosts				
IDH	-0.205**	0.0	-0.204**	
MDH	-0.487**	0.003ns	-0.492**	83.08
EST	-0.431**	0.005ns	-0.439**	49.75
ALP	0.615**	0.064**	0.589**	3.65
PGM	0.629**	0.004ns	0.627**	62.25
G6PDH	0.801**	0.118**	0.774**	1.86
6PGHD	0.903**	0.0	0.903**	
Average	0.218**	0.031**	0.193**	7.81
Jack-knife	0.214	0.031	0.186	
SD	0.231	0.019	0.228	
95% CI	-0.187	0.001	-0.198	
	0.622	0.067	0.601	

* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; ns, not significant. Indirect estimates of gene flow by locus and average are provided.

high genetic distances in relation to Teopisca and Chamula. Also, subpopulations of *B. brassicae* in Balún and Mitzitón showed high genetic distances between hosts (Figure 3), agreeing with the pairwise estimates of F_{ST} (cf Table 4). A small amount of gene flow ($\ll 1$; indirect estimate, Nm) among all subpopulations was detected (Table 3a). Gene flow among localities and between hosts within localities resulted in higher estimates than those for all subpopulations (> 1 ; Table 3b, c).

Discussion

A major goal of population genetics studies is to determine and quantify population substructure along with the level of gene flow among subdivided populations. In this sense, we identified genetic differentiation

Table 4 Pairwise comparisons of F_{ST} for populations of *B. brassicae* associated to the host plant species *B. campestris* and *B. oleracea*, within each locality

Locality	F_{ST}			
	Average	Jack-knife over loci \pm SD	95% CI	
			Upper	Lower
Mitzitón	0.181***	0.1831 \pm 0.084	0.337	0.038
Balún	0.381***	0.405 \pm 0.171	0.624	0.046
Chamula	0.062**	0.062 \pm 0.023	0.101	0.023
Teopisca	0.033*	0.033 \pm 0.019	0.077	0.0046

* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

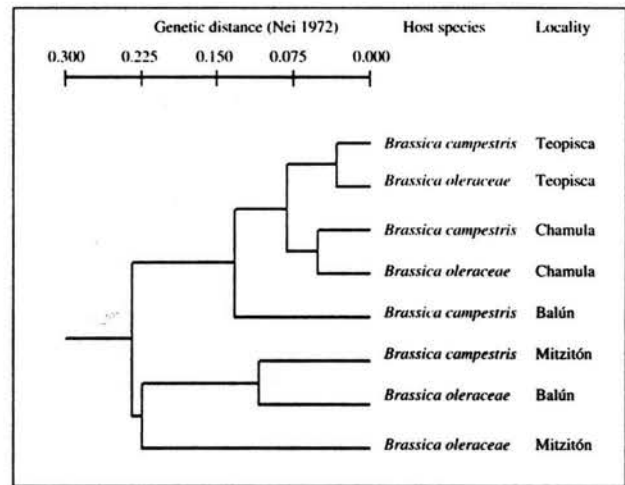


Figure 4 UPGMA phenogram of populations of *B. brassicae* from two host plants within each of the four localities in the Highlands of Chiapas.

among all populations of *B. brassicae*, between localities and also, locally, we found further population subdivision associated with the host plant species used by this aphid. The host-associated genetic structure of insect populations is important in relation to host-race formation, a process that precedes speciation. The existence of host-mediated genetic differentiation is relevant for the analysis of the ecological causes that promote differentiation (Nason *et al*, 2002).

The genetic structure of aphid species is maintained by selection adjusting populations to the local environmental conditions (Tomiuk and Wöhrmann, 1984; Eggers-Schumacher and Sander, 1988; Tomiuk *et al*, 1991), by reduced gene flow (Loxdale and Brookes, 1990; Loxdale *et al*, 1998; Johnson *et al*, 2002; Massonnet *et al*, 2002), itself a function of species-specific flight behaviour dependent on their tendency and their ability to fly (see Loxdale *et al*, 1993, for a review), and by genetic drift (De Barro *et al*, 1995a). Perhaps, as in the case of the aphid *Methopolophium dirhodum*, differentiation between hosts in the localities of Mitzitón and Balún could be better explained if founder effects or genetic drift have occurred (see De Barro *et al*, 1995a).

Further subdivision in the genetic structure of populations may occur if the local environment is

heterogeneous. The presence of different host plants in a given habitat constitutes a heterogeneous environment to insect populations. Heterogeneity in gene frequencies and high differentiation between host-associated populations of *B. brassicae* in, at least, two localities (Table 4) suggests that either drift or selection may contribute to further genetic structuring of *B. brassicae* populations in the Highlands of Chiapas. The magnitude of genetic differentiation (F_{ST}) between hosts found in this study falls within the range of estimations obtained for other host-associated populations of aphids (range from 0.012 to 0.22; Via, 1999; Delmotte et al, 2002). In addition, Cole and Lynn (1996) found differences in allele frequency of *B. brassicae* at short distances (<1 km) using the 6PGDH locus, and such differentiation might be related to different host plant species. The geographic distances separating pairs of host-associated populations in the present study were even shorter than 1 km, and heterogeneity in allele frequencies was common (Figure 2).

Genetic differentiation between subpopulations of *B. brassicae* may be associated with the different environmental conditions represented by the two host plants (Via, 1999). These differences between hosts include nutritional, physiological, or micro-environmental conditions (Loxdale et al, 1985; Steiner et al, 1985; Berlocher et al, 1993; De Barro et al, 1995a,b; Eggers-Schumacher and Sander, 1988; Via, 1999). *B. campestris* and *B. oleraceae* are known to differ in nutritional quality (nitrogen content, humidity, minerals, crude protein; L Ruiz-Montoya, unpublished data), and secondary chemistry (Kjaer, 1976). Nutritional quality affects reproduction in aphids (Dixon, 1998). However, to what extent nutritional quality selects genotypes of *B. brassicae* that use one or the other host plant remains unknown.

Genetic differentiation and restricted gene flow between host-associated populations may promote local adaptation in phytophagous insects (Berlocher and Feder, 2002). Ample evidence of host plant differentiation has recently been found in other aphids (eg De Barro et al, 1995a,b; Sunnucks et al, 1997; Via, 1999; Lushai et al, 2002), supporting the view that this phenomenon is much more widespread than previously realized. Natural selection can contribute to host-related genetic structuring in *B. brassicae* if intense selection occurs during establishment in different hosts. A reciprocal transference experiment between hosts indicated that *B. brassicae* survived better on *B. campestris* than in *B. oleracea* (Ruiz-Montoya and Núñez-Farfán, unpublished data). Thus, further analysis of local adaptation and selection will be important in understanding the patterns of morphological, life history, and genetic differentiation found in this aphids species.

Several studies have revealed greater amounts of genetic variability among aphid populations (eg RAPD-PCR, DNA-microsatellite; Vanlerbergh-Masutti and Chavigny, 1998; Wilson et al, 2002; Llewellyn et al, 2003), and hence offer the potential to further assess host-associated genetic differentiation (Lushai et al, 2002).

Acknowledgements

We thank Manuel Girón and Vianey Méndez for their field assistance, and César A. Domínguez, Jorge Sarquís, and Pablo Liedo for valuable advice to the project and suggestions to the manuscript. We acknowledge a

thorough revision and suggestions provided by an anonymous reviewer. Financial support was provided by the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), México (Projects No. 31543-B and 990039-DO granted to LR-M). This is a partial fulfilment of the doctoral dissertation of LR-M.

References

- Anstead JA, Burd JD, Shufran KA (2002). Mitochondrial DNA sequence divergence among *Schizaphis graminum* (Hemiptera: Aphididae) clones from cultivated and non-cultivated hosts: haplotype and host associations. *Bull Entomol Res* 92: 17–24.
- Berlocher SH, Feder JI (2002). Sympatric speciation in phytophagous insects: moving beyond controversy? *Annu Rev Entomol* 47: 773–815.
- Berlocher SH, McPherson BA, Feder JL, Bush GL (1993). Genetic differentiation at allozyme loci in the *Rhagoletis pomonella* (Diptera: Tephritidae) species complex. *Ann Entomol Soc Am* 86: 716–727.
- Blackman RL, Eastop VF (2000). *Aphids on the World's Crops. An Identification and Information Guide*. 2nd edn. Wiley: London.
- Bush GL (1994). Sympatric speciation in animals: new wine in old bottles. *Trends Ecol Evol* 9: 285–288.
- Cole RA, Lynn J (1996). Spatial and temporal population structure of *Brevicoryne brassicae*. *Entomol Exp Appl* 78: 121–127.
- De Barro PJ, Sherratt TN, Carvalho GR, Nicol D, Iyengar A, Maclean N (1995a). Geographic and microgeographic genetic differentiation in two aphid species over southern England using the multilocus (GATA)₄ probe. *Mol Ecol* 4: 375–382.
- De Barro PJ, Sherratt TN, David O, Maclean N (1995b). An investigation of the differential performance of clones of the aphid *S. avenae* on two hosts. *Oecologia* 104: 379–385.
- Delmotte F, Leterme N, Gauthier J-P, Rispe C, Simon J-C (2002). Genetic structure of sexual and asexual populations of the aphid *Rhopalosiphum padi* based on allozyme and microsatellite markers. *Mol Ecol* 11: 711–723.
- Dixon AFG (1998). *Aphid Ecology*. Chapman & Hall: New York.
- Drès M, Mallet J (2002). Host races in plant-feeding insects and their importance in sympatric speciation. *Phil Trans R Soc Lond B* 357: 471–492.
- Eggers-Schumacher HA, Sander E (1988). Spatial and seasonal genetic (Allozyme) variation within field populations of *Phorodon humuli* Schrank (Homoptera: Aphididae) on winter and summer hosts in southern Germany (FRG). *Entomologist* 107: 110–121.
- Fisk JH, Carver M, Eastop VF (1992). An electrophoretic study of *Eriosoma lanigerum* (Hausmann) on apple and *Eriosoma* sp. from galls on Elm in Canberra, Australia (Hemiptera: Aphididae). *J Aust Ent Soc* 31: 231–232.
- Futuyma DJ (1976). Food plant specialization and environmental predictability in lepidoptera. *Am Nat* 110: 285–292.
- Futuyma DJ, Peterson SC (1985). Genetic variation in the use of resources by insects. *Annu Rev Entomol* 30: 217–238.
- González-Espinosa M, Ochoa-Gaona S, Ramírez-Marcial N, Quintana-Ascencio PF (1997). Contexto vegetacional y florístico de la agricultura en Los Altos de Chiapas. In: Parra VR, Díaz-Hernández B (eds) *Agricultura y crisis rural. Tomo I. Recursos Naturales*, El Colegio de la Frontera Sur: Chiapas, México. pp 179–211.
- Goudet J (2001). *FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices* (version 2.9.3). Available from <http://www.unil.ch/izea/softwares/fstat.html>.
- Haack L, Simon J-C, Gauthier J-P, Plantegenest M, Dedryver C-A (2000). Evidence for predominant clones in a cyclically parthenogenetic organism provided by combined demographic and genetic analyses. *Mol Ecol* 9: 2055–2066.

- Hartl DL, Clark AG (1997). *Principles of Population Genetics*, 3rd edn. Sinauer Associates, Inc.: Canada.
- Hebert PDN, Beaton MJ (1993). *Methodologies for allozyme analysis using cellulose acetate electrophoresis*. Technical Manual of Cellulose Acetate Electrophoresis. Helena Laboratories, TX, USA.
- Johnson PCD, Whitfield JA, Foster WA, Amos W (2002). Clonal mixing in the soldier-producing aphid *Pemphigus spyrothecae* (Homoptera: Aphididae). *Mol Ecol* 11: 1525–1531.
- Kjaer A (1976) Glucosinolates in the cruciferae. In: Vaughan JG, Macleod AJ, Jones BMG (eds) *The Biology and Chemistry of the Cruciferae*, Academic Press: New York. pp 145–167.
- Llewellyn KS, Loxdale HD, Harrington R, Brokes CP, Clark SJ, Sunnucks P (2003). Migration and genetic structure of the grain aphids (*Sitobion avenae*) in Britain related to climate and clonal fluctuation as revealed using microsatellites. *Mol Ecol* 12: 21–34.
- Loxdale HD, Brookes CP (1990). Temporal genetic stability within and restricted migration (gene flow) between local populations of the blackberry-grain aphid *Sitobion fragariae* in south-east England. *J Anim Ecol* 59: 497–514.
- Loxdale HD, Brookes CP, Wynne IR, Clark SJ (1998). Genetic variability within and between English populations of the damson-hop aphid, *Phorodon humuli* (Homoptera: Aphididae), with special reference to esterases associated with insecticide resistance. *Bull Entomol Res* 88: 513–526.
- Loxdale HD, Hardie J, Halber S, Fottit R, Kidd NAC, Carter CI (1993). The relative importance of short-and long-range movement of flying aphids. *Biol Rev* 68: 291–311.
- Loxdale HD, Tarr IJ, Weber CP, Brookes CP, Digby PGN, Castañera P (1985). Electrophoretic study of enzymes from cereal aphid populations. III. Spatial and temporal genetic variation of populations of *Sitobion avenae* (F.) (Homoptera: Aphididae). *Bull Ent Res* 75: 121–141.
- Lushai G, Markovitch O, Loxdale HD (2002). Host-based genotype variation in insects revisited. *Bull Entomol Res* 92: 159–164.
- Massonnet B, Simon J-C, Weisser WW (2002). Metapopulation dynamics and small spatial scale genetic differentiation in the specialised herbivore *Macrosiphoniella tanacetaria* (Homoptera: Aphididae). *Mol Ecol* 11: 2511–2521.
- Miller MP (1997). *Tools for Population Genetic Analyses (TFPGA). Ver. 1.3. A Window program for the analysis of allozymes and molecular population genetic data*. Northern Arizona University, USA.
- Mopper S, Strauss SY (1998). *Genetic Structure and Local Adaptation in Natural Insect Populations*. Chapman & Hall: New York, USA. p xiii.
- Nason JD, Heard SB, Williams FR (2002). Host-associated genetic differentiation in the goldenrod elliptical-gall moth, *Gnorimoschema gallaesolidaginis* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Evolution* 56: 1475–1488.
- Nei M (1977). F-statistics and analysis of gene diversity in subdivided populations. *Am J Hum Genet* 41: 225–233.
- Nei M (1978). Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89: 583–590.
- Rauscher MD (1984). Trade-offs in performance on different hosts: evidence from within and between-site variation in the beetle *Deloyala guttata*. *Evolution* 38: 582–595.
- Richardson BJ, Baverstock PR, Adams N (1986). *Allozyme Electrophoresis. A Handbook for Animal Systematics and Populations Studies*. Academic Press: London.
- Steiner WWM, Voegtlin DJ, Irwin ME (1985). Genetic differentiation and its bearing on migration in north American populations of the corn leaf aphid, *Rhopalosiphum maidis* (Fitch) (Homoptera: Aphididae). *Ann Entomol Soc Am* 78: 518–525.
- Sunnucks P, De Barro PJ, Lushai G, Maclean N, Hales D (1997). Genetic structure of an aphid studied using microsatellites: cyclic parthenogenesis, differentiated lineages and host specialization. *Mol Ecol* 6: 1059–1073.
- Tomiuk J (1990). Genetic stability in aphid clones and its implication for host plant interactions. In: Campbell RK, Eikenbary RD (eds) *Aphid-Plant Genotype Interaction*, Elsevier: Amsterdam. pp 51–66.
- Tomiuk J, Hales DF, Wöhrmann K, Morris D (1991). Genotypic variation and structure in Australian populations of the aphid *Schoutedenia lutea*. *Hereditas* 115: 17–23.
- Tomiuk J, Wöhrmann K (1984). Genotypic variability in natural populations of *Macrosiphum rosae* (L.) in Europe. *Biol Zbl* 103: 113–122.
- Vanlerbergh-Masutti F, Chavigny P (1998). Host-based genetic differentiation in the aphids *Aphis gossypii* Glover, evidenced from RAPD fingerprints. *Mol Ecol* 7: 905–914.
- Via S (1991). The genetic structure of host plant adaptation in spatial patchwork: demographic variability among reciprocally transplanted aphid clones. *Evolution* 45: 827–852.
- Via S (1999). Reproductive isolation between sympatric races of pea aphids. I. Gene flow restriction and habitat choice. *Evolution* 53: 1446–1457.
- Weir BS, Cockerham CC (1984). Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38: 1358–1370.
- Wilson ACC, Sunnucks P, Blackman RL, Hales DF (2002). Microsatellite variation in cyclically parthenogenetic populations of *Myzus persicae* in south-eastern Australia. *Hereditas* 88: 258–266.
- Wöhrmann K, Tomiuk J, Weber G (1986). The search for hidden enzymatic variation in the aphid *Macrosiphum rosae* (L.). *Theor App Genet* 73: 77–81.
- Workman PL, Niswander JD (1970). Populations studies on southwestern Indian tribes II. Local genetic differentiation in the Papago. *Amer J Hum Gen* 22: 24–49.
- Wright S (1951). The genetical structure of populations. *Ann Eugenics* 15: 323–354.
- Wright S (1965). The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution* 19: 395–420.

Falta página

N° 26

1 Submitted to Acta Oecologica

2

3 Changes in morphological traits of the cabbage aphid (*Brevicoryne*
4 *brassicae*) associated to the use of different host plants

5

6

7

8 Lorena Ruiz-Montoya^{a,b} Juan Núñez-Farfán^b, César A. Domínguez^b

9

10 ^a*El Colegio de la Frontera Sur, Carretera Panamericana y Periférico Sur s/n, CP 29290, San*
11 *Cristóbal de Las Casas, Chiapas, México. E-mail lruiz@sclc.ecosur.mx*

12

13 ^b*Departamento de Ecología Evolutiva, Instituto de Ecología, Universidad Nacional*
14 *Autónoma de México. Circuito exterior s/n, Ciudad Universitaria, CP 04510 Coyoacán,*
15 *Distrito Federal, México. E-mail farfan@servidor.unam.mx, tejada@servidor.unam.mx*

16

17

18 Corresponding author: Juan Núñez-Farfán
19 *Departamento de Ecología Evolutiva, Instituto de Ecología,*
20 *Universidad Nacional Autónoma de México. Circuito exterior s/n,*
21 *Ciudad Universitaria, CP 04510 Coyoacán, Distrito Federal, Mexico*
22 *E-mail address: farfan@servidor.unam.mx*

23

24 Running headlines: Morphological changes by host use in *Brevicoryne brassicae*

25

25 **Abstract**

26 The genetic and morphological differentiation of insect populations in relation to the use of
27 different host plants is an important phenomenon that predates ecological specialisation and
28 speciation in sympatric conditions. In this study, we describe the morphological variation of
29 populations of *Brevicoryne brassicae* (Homoptera: Aphididae) associated with two host
30 species, *Brassica oleracea* and *Brassica campestris*, that occur sympatrically in the
31 Highlands of Chiapas, Mexico. The study is aimed to obtain evidence regarding phenotypic
32 differentiation induced by, or associated to, the use of distinct but closely related host species.
33 Seven morphological characters were measured in 696 wingless aphids collected from plants
34 of the two host species at four localities. Morphological variation was summarized through
35 Principal Factor Analysis. All variation (100%) was explained by the first and second
36 Factors, which were related to the size of the appendages and body length, respectively.
37 Significant differences between hosts and among localities were detected for all characters
38 and for the scores from the two Principal Factors. These results indicate that the average
39 phenotype of *Brevicoryne brassicae* individuals inhabiting different host-plant species differs
40 as consequences of the contrasting feeding environments these species provide. Moreover,
41 the finding of small but significant genetic differentiation between populations of
42 *Brevicoryne brassicae* associated to each host species suggests an incipient stage of
43 specialisation.

44

45 *Keywords:* *Brevicoryne brassicae*, host specialisation, local adaptation, phenotypic plasticity,
46 phenotypic variation, plant-insect interaction, Sympatric differentiation.

47

48 1. Introduction

49 Geographically isolated populations may differ due to founder effects and low migration rates
50 or because selection favours some genotypes over others in each environment. If ecological
51 specialisation is promoted by selection, then phenotypic and genetic differentiation among
52 populations may occur even at short distances (Schluter, 1995; Nagel and Schluter, 1998).
53 Specialisation in the use of different resources within a habitat may produce intense selective
54 pressures and promote local adaptation and sympatric speciation (Bush, 1994; Schluter, 2001;
55 Via, 2002).

56 The study of the interaction between plants and herbivorous insects has underlined the
57 importance of host specialisation as a mechanism of speciation under sympatric conditions
58 (Bush, 1994; Schluter, 2001; Berlocher and Feder, 2002; Via, 2001, 2002). Although, most
59 studies have focused on changes in life history traits, few have documented morphological
60 changes related to the specialisation process. The usage of different host plants may favour
61 the divergent evolution of traits related with feeding efficiency. It has been, for instance,
62 documented that the average beak length of the soapberry bug *Jadera haematoloma*
63 (Hemiptera), varies in accordance with the average seed size of its host (Carroll and Boyd,
64 1992).

65 Individuals of the same species that have developed in different environments, e.g.
66 localities or host plants, may differ considerably in morphological characters of ecological
67 relevance. Generally, these changes have a direct relationship to individual fitness (Roff,
68 1992; Via and Shaw, 1996; Nagel and Schluter, 1998; Pappers *et al.*, 2001), suggesting that
69 phenotypic evolution is driven by natural selection. Phenotypic differences, however, may be
70 purely environmental in origin if genotypes are plastic and their reaction norms vary due to

71 differences in their sensitivity to the environment (Via, 1987; Weisser and Stadler, 1994;
72 Schlichting and Pigliucci, 1998). Accordingly, the evolution of ecological specialisation
73 versus generalism in phytophagous insects depends on the presence of different host species
74 occurring sympatrically, the amount of gene flow, the frequency of each environment, and
75 the fitness differences between specialists and generalists in a given environment (Moran,
76 1992; Sultan and Spencer, 2002).

77 Aphids (Homoptera) are herbivorous insects with monophagous and polyphagous
78 species (i.e., feeding on few or several host plant species, respectively; Fox and Morrow,
79 1981; Blackman and Eastop, 2000). Nonetheless, even polyphagous species show some level
80 of specialisation to one particular host species in a given locality (Takada, 1979; Moran,
81 1981; Weber, 1985; Anstead *et al.*, 2002). Morphological characters of aphids are highly
82 variable (Eastop, 1985) and may be associated to the host species used and to microclimatic
83 conditions (Heie, 1987; Blackman and Paterson, 1986; Moran, 1986; Blackman, 1987;
84 Damsteegt and Voegtlin, 1990; Sokal *et al.*, 1991; Lazzari and Voegtlin, 1993; Ruiz-Montoya
85 *et al.*, 1994; Via and Shaw, 1996; Dixon, 1998). Thus, aphids constitute an excellent system
86 to study the consequences of different host usage on the patterns of morphological variation,
87 and on the evolution of sympatric specialisation.

88 In this study we describe the patterns of morphological variation of populations of
89 *Brevicoryne brassicae* L. (Homoptera: Aphididae) associated to two closely related host
90 species (*Brassica oleracea* L. and *Brassica campestris* L.) within and among localities in the
91 Highlands of Chiapas, Mexico.

92

93 **2. Material and Methods**

94 *2.1. Study Area*

95 The study area is located in the Highlands of Chiapas in southern Mexico at altitudes between
96 2000 to 2500 m a.s.l. (Fig. 1). The climate is temperate sub-humid with a mean annual
97 rainfall of 1100 mm and a mean annual temperature of 16°C. The rainy season lasts from
98 May to October. The landscape is severely fragmented with many fields of agricultural crops
99 surrounded by secondary oak forests (*Quercus* spp.) in different successional stages
100 (González Espinosa *et al.*, 1997).

101

102 2.2. *The aphid species*

103 *Brevicoryne brassicae* L. is an oligophagous herbivore that feeds upon species of
104 Brassicaceae and is distributed in temperate regions of the world (Blackman and Eastop,
105 2000). *Brevicoryne brassicae* displays both sexual and asexual phases on an individual plant
106 (Blackman and Eastop, 2000). In the Highlands of Chiapas *Brevicoryne brassicae* feeds
107 mainly upon *Brassica campestris* and *B. oleracea*, and probably has an anholocyclic life
108 cycle (only parthenogenetic reproduction), with winged and wingless morphs reaching its
109 highest density in March (L. Ruiz-Montoya, Pers. Obs.). There is no evidence of sexual
110 reproduction in the populations of this aphid in Chiapas (e.g., presence of oviparous females,
111 eggs or males; L. Ruiz-Montoya, Pers. Obs.).

112 Previous studies indicated the presence of significant genetic differentiation among
113 populations of *Brevicoryne brassicae* from different localities and between host plants within
114 localities (Ruiz-Montoya *et al.*, 2003). Also, reciprocal transference experiments indicate that
115 *Brevicoryne brassicae* reproduce earlier and produce more nymphs in *B. campestris* than in
116 *B. oleracea* (Ruiz-Montoya and Núñez-Farfán, 2003).

117

118 2.3. *Host Plants*

119 *Brassica oleracea* (green cabbage) and *Brassica campestris* (Syn. *B. rapa*, turnips; Rollins,
120 1993) were introduced in Mexico probably a hundred years ago (Rollins, 1993), and both
121 species are frequently used by *Brevicoryne brassicae* as hosts. These two species commonly
122 occur in sympatry in the Highlands of Chiapas. Green cabbage has been annually cultivated
123 in Chiapas for at least the last five decades (Montoya-Gómez, 1998). Turnip is a ruderal
124 annual plant that grows nearby cultivated fields of green cabbage or in abandoned fields.
125 Both hosts are available to aphids mainly during the winter months (from October to
126 February). Small populations of *Brevicoryne brassicae* can be found during summer on
127 harvested plants of *B. oleraceae* left in the field, or on late-emerged plants of *B. campestris*.

128 *B. campestris* has a higher content of glucosinolates, higher leaf and stem trichomes
129 density than *B. oleraceae* (Rollins and Banerjee, 1976; Rollins 1993). These two characters
130 are considered plant defences against insects (Ågren and Schemske, 1994; Louda and Mole,
131 1991; Stowe, 1998). In addition, *B. campestris* has a higher content of nitrogen and lipids
132 than *B. oleraceae* (L. Ruiz Montoya, unpublished data). Thus, *B. oleracea* and *B. campestris*
133 potentially constitute two different environments to *Brevicoryne brassicae*.

134

135 2.4. Sampling and measurements of aphids

136 *Brevicoryne brassicae* individuals were collected at four localities in the Highlands of
137 Chiapas during February and March 1999 (Fig. 1). In each locality, aphids were haphazardly
138 collected from 15-20 individual plants of each host species. Aphids from each plant were
139 kept in alcohol 70 % in separated labelled vials. From each plant, we mounted 1-2 wingless
140 adults on slides until 30 aphids per host plant per locality were completed. We focused on the
141 wingless individuals because they are almost sessile and have at least three generations in a
142 given plant. Winged forms appear when the plant is nutritionally poor and they usually left

143 the plant. Thus, winged individuals in a given plant can be a mixture of individual coming
144 from different plants or even different hosts.

145 Before measurements, specimens were placed in a 10% KOH solution for 40 minutes,
146 then rinsed every half-hour with distilled water for 8 hours and then cleared in a solution of
147 Chloral Hydrato-Phenol (1:1) for at least 24 hours (Blackman and Eastop, 2000). Finally,
148 specimens were placed in a small drop of Berlesse medium, a cover glass was applied and the
149 slide was oven-dried at 40° C for two weeks.

150 Aphids were measured using a stereomicroscope (Stemi V6, Carl Zeiss). The length
151 of seven characters was measured (mm): body (BL), antennal segment III (AIII), base of
152 antennal segment VI (BVI), terminal process of last antennal segment (TP), last rostral
153 segment (LRS), hind tibia (HTIB) and hind tarsal segment II (HTII) (Fig. 2). These
154 characters were chosen because they are involved in the recognition and use of the host plant
155 (Heie 1987). Body length is frequently associated with reproductive rate since smaller aphids
156 reproduce slower than larger ones (Dixon 1998). Hind tibia and hind tarsal are related with
157 aphid's mobility and its capacity to reach the host plant or to escape from natural enemies
158 (Shaposhnikov, 1985). Longer antennae are supposed to improve the ability of orientation
159 (Shaposhnikov, 1985), and the last rostral segment is strongly correlated with the selection of
160 leaf surfaces of host plants, such as the presence and density of trichomes (Moran, 1986;
161 Heie, 1987).

162

163 2.4. Statistical analyses

164 Variability of morphological characters of *Brevicoryne brassicae* was analysed using both
165 univariate and multivariate methods. In order to reduce the number of variables, a principal
166 factor analysis (PROC FACT; SAS, 1988) was carried out using the seven morphological

167 traits measured (see Domínguez *et al.*, 1998). Principal factors were obtained through a
168 maximum likelihood algorithm because this method gives better estimates than the plain
169 principal factor analysis (PROC FACT, SAS 1988). The number of factors to be retained was
170 determined by means of a Chi-squared test. Once the numbers of principal factors was
171 determined, factor scores were derived with the SCORE PROCEDURE in SAS (SAS 1988).
172 Because factor scores are linear combinations of the original variables, they may be used as
173 integrated descriptors of the general morphology of aphids. Scores of the first two factors
174 were analysed through analyses of variance to detect differences among localities, between
175 hosts and the interaction locality x host.

176

177 **3. Results**

178 Two factors explained 100% of the variation in the morphology of *Brevicoryne brassicae*.
179 Factor analysis based on iterative methods, as the one used here, commonly produce some
180 negative eigenvalues. When this method converges properly, the sum of the eigenvalues
181 corresponding to rejected factors should be zero (SAS, 1988). The sum of the third to seven
182 eigenvalues equalled zero. As a consequence, two factor were enough to explain the common
183 variance in body morphology ($\chi^2_8=15.88$, $P = 0.04$, for the null hypothesis that two factors
184 are sufficient). The first factor explained 88.1% of the variance and the second 11.9% (Table
185 1). All characters had positive loadings on both Factors. Most variation accounted by Factor 1
186 is associated with the length of the appendages, whereas body length had the highest loading
187 on Factor 2 (Table 1).

188 Two-factor analysis of variance performed on the scores of Factor 1 (size of the
189 appendages) revealed the existence of both geographic and host-related phenotypic variation
190 in *Brevicoryne brassicae* (Table 2). The locality of Balún showed the higher values for Factor

191 1 than other localities. Aphids feeding upon *B. campestris* showed higher values than those of
192 *B. oleracea*. This result is particularly evident in Mitzitón and Chamula (Fig. 3A). The
193 interaction locality x host was not significant for factor 1. Similarly, analysis of phenotypic
194 variability in Factor 2 (body length) was explained by differences among localities, between
195 hosts and the interaction locality x host (Table 2). The highest average value of Factor 2 was
196 observed in Mitzitón and, again, aphids from *B. campestris* had a higher mean value in body
197 length than in *B. oleracea* (Fig. 3B). A significant locality x host interaction for factor 2 was
198 detected, indicating an uneven effect of the host plant on aphid morphology across localities
199 (Table 2).

200 Analyses of variance performed on the individual values of morphological characters
201 detected a significant effect of locality and host species for all characters, and a significant
202 interaction for body length, hind tarsal segment II, and base of antennal segment VI (Fig. 4).
203 Mean values of characters also showed that aphids growing on *B. campestris* were, in
204 general, larger than on *B. oleracea* (Fig. 4).

205

206 **4. Discussion**

207 The results of this study demonstrate that the morphological variation displayed by
208 *Brevicoryne brassicae* is accounted for not only by differences among localities, but also by
209 the host plant used in each locality. This finding is consistent with a scenario of incipient
210 host-driven differentiation because a small but significant amount of genetic differentiation
211 between host-associated populations of *B. brassicae* has also been found at the same
212 localities (Ruiz-Montoya *et al.*, 2003).

213 As indicated by factor analysis most (88.1%) of the morphological variation of
214 *Brevicoryne brassicae* was related to the size of the appendages. This is an interesting result

215 because appendages from aphids collected on *B. campestris* were larger than those of aphids
216 from *B. oleraceae*. Given that *B. campestris* is more pubescent than *B. oleraceae*, the
217 difference in appendage size may be related with host usage. In fact, there is some evidence
218 showing that the size of the appendages is associated with host manipulation. For instance,
219 fine and long hind tarsal segments in aphids are frequently associated with pubescent surfaces
220 of host plants (Moran, 1986; Heie, 1987), and insects living on stems or leaves have different
221 leg shapes (Ober 2003).

222 Factor 2 explained ca. 12% of the morphological variation and was related with body
223 size. Body size is a relevant attribute in insects because of its relationship with fecundity
224 (Dixon and Kindlmann, 1994; Dixon, 1998). In accordance, aphids growing in *B. campestris*
225 were larger and produced more nymphs (Ruiz-Montoya and Núñez-Farfán 2003) than those
226 feeding on *B. oleraceae*.

227 Overall, the results from this study suggest that the two host plants species exploited
228 by *B. brassicae* in the Highlands of Chiapas constitute contrasting feeding environments that
229 favour different morphologies. *B. campestris* seems to be a better host for *Brevicoryne*
230 *brassicae*, although this resource would only be available for aphids with long appendages.
231 Under this interpretation *B. oleraceae* could be considered as a low quality resource used by
232 aphids whose access to the high quality *B. campestris* is banned by their short appendages.
233 Obviously, in order to establish if the morphological changes observed on each host are the
234 product of natural selection it is necessary to estimate the component of additive genetic
235 variance of these traits in each host.

236 In the highlands of Chiapas both host species are commonly found in sympatry
237 because the wild *B. campestris* grows at the edges or near cultivated fields of *B. oleracea*. *B.*
238 *campestris* and *B. oleraceae* differ in their nutritional quality and defensive characteristics.

239 For aphids, nutritional quality of a host plant is related with the availability of nitrogen,
240 amino acids and sucrose (Sandström, 1994; Chen *et al.*, 1997; Ashford *et al.*, 2000). Aphids
241 reared on nutritionally poor hosts (e.g., low content of nitrogen or amino acids) are smaller
242 than if reared on nutritionally rich hosts (Dixon and Kindlmann, 1994). *B. campestris* has a
243 higher content of nitrogen than *B. oleraceae* (L. Ruiz-Montoya, unpublished data). Also, there
244 is evidence that the reproductive rate of *Brevicoryne brassicae* is superior in *B. campestris*
245 than *B. oleraceae* (Ruiz-Montoya and Núñez-Farfán, 2003). In summary, the
246 nutritional/defensive differences between these two host species offer a plausible scenario for
247 phenotypic differentiation in *Brevicoryne brassicae*. These circumstances establish a
248 heterogeneous environment in terms of host quality, and suggest that colonising individuals
249 choosing high quality hosts would enjoy a selective advantage. Heterogeneous environments
250 may promote the evolution of host-specialisation by host-specific selection, or adaptive
251 phenotypic plasticity (Meyers and Bull, 2002). Previous studies have detected significant
252 genetic differentiation in enzymatic loci both among localities ($F_{st} = 0.13$) and between hosts
253 within a locality ($0.033 \leq F_{st} \leq 0.38$) for the same populations studied here (Ruiz-Montoya *et*
254 *al.*, 2003). Genetic differentiation between aphids using different hosts within a locality is not
255 expected under the hypothesis of generalist genotypes, suggesting that the observed
256 differences are the result of host specialization driven by natural selection. Nonetheless, if
257 genetic variation in Mendelian loci (isozymes) is not correlated with genes affecting the
258 morphology, we cannot conclude that the phenotypic differences detected between host-
259 associated populations of *Brevicoryne brassicae* are a direct product of specialisation.

260 Finally, it is worth to mention that gene flow between hosts using enzymatic loci is
261 relatively high ($Nm = 1.86$) (Ruiz-Montoya *et al.*, 2003), suggesting that host specialisation
262 via local adaptation could be limited. Further studies regarding the presence of genetic

263 variation among reaction norms of the aphid genotypes derived from each host and exposed
264 to both hosts, coupled with selection analyses in each environment, are needed before we
265 conclude that genetic and phenotypic differentiation found in *Brevicoryne brassicae* is the
266 product of local adaptation.

267

268 **Acknowledgments**

269 We are grateful to Manuel Girón-Intzín and Vianey Méndez-Trujillo for technical assistance.
270 We thank Martín Aluja, Rodolfo Dirzo, Carlos Cordero, Fabián Vargas and Shelly Lachys for
271 reading and commenting on the manuscript. CONACyT (31543-B and 990039-DO-LRM),
272 and ECOSUR project 7-Dinamica de Poblaciones y Comunidades de Insectos provided funds
273 for this study. This work is a partial fulfilment of the Doctoral dissertation of LRM.

274

275

276 **References**

- 277 Ågren J., Schemske D.W., 1994. Evolution of trichome number in a naturalized population of
278 *Brassica campestris*. *Am. Nat.* 143, 1-13.
- 279 Anstead J.A., Burd J.D., Shufran K.A., 2002. Mitochondrial DNA sequence divergence
280 among *Schizaphis graminum* (Hemiptera: Aphididae) clones from cultivated and non-
281 cultivated hosts: haplotype and host associations. *Bull. Entomol. Res.* 92, 17-24.
- 282 Ashford D.A., Smith W.A., Douglas A.E., 2000. Living on a high sugar diet: the fate of
283 sucrose ingested by phloem-feeding insect, the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*. *J.*
284 *Insect Phys.* 46, 335-341
- 285 Berlocher S.H., Feder J.L., 2002. Sympatric speciation in phytophagous insects: moving
286 beyond controversy?. *Ann Rev. Entomol.* 47, 773-815.

- 287 Blackman, R.L., 1987. Morphological discrimination of a tobacco-feeding form from *Myzus*
288 *persicae* (Sulzer) (Homoptera: Aphididae), an key to new world *Myzus*
289 (*Nectarosiphon*) species. Bull. Entomol. Res. 77, 713-730.
- 290 Blackman, R.L., Paterson A.J.C., 1986. Separation of *Myzus (Nectarosiphon) antirrhinii*
291 (Macchiati) from *Myzus (N.) persicae* (Sulzer) and related species in Europe
292 (Homoptera: Aphididae). Syst. Entomol. 11, 267-276.
- 293 Blackman, R.L., Eastop V.F., 2000. Aphids on the world's crops. An identification and
294 information guide. 2nd edition, Wiley, London.
- 295 Bush G.L., 1994. Sympatric speciation in animals: new wine in old bottles. Trends Ecol. and
296 Evol. 9, 285-288.
- 297 Carroll S.P., Boyd C., 1992. Host race radiation in the soapberry bug: natural history with
298 the history. Evolution 46, 1052-1069.
- 299 Chen J.Q., van Rhabé Y., Delobel B., Sauvion N., Guillaud J., Febvay G., 1997. Melon
300 resistance to the aphid *Aphis gossypii*: Behavioural analysis and chemical correlations
301 with nitrogenous compounds. Entomol. Exp. Appl. 85, 33-44.
- 302 Damsteegt V.D., Voegtlin D.J., 1990. Morphological and biological variation among
303 populations of *Aulacorthum solani* (Homoptera: Aphididae). Ann. Entomol. Soc. Am.
304 83, 949-955.
- 305 Dixon A.F.G., 1998. Aphid Ecology, Chapman & Hall, Great Britain.
- 306 Dixon A.F.G., Kindlmann P., 1994. Optimum body size in aphids. Ecol. Entomol. 19, 121-
307 126.
- 308 Domínguez C.A., Eguiarte L.E., Núñez-Farfán J., Dirzo R., 1998. Flower morphometry of
309 *Rhizophora mangle* (Rhizophoraceae): Geographical variation in Mexican
310 populations. Am. J. Bot. 85, 637-643.

- 311 Eastop, V.F., 1985. The acquisition and processing of taxonomic data. In: Szelegiewicz, H.,
312 (Ed.), Proceedings of the International Aphidological Symposium. Jablonna,
313 Ossolineum, Wroclaw, Poland, pp. 245-270.
- 314 Fox, L. R., Morrow, P. A., 1981. Specialization: Species property or local phenomenon?
315 Science 211, 887-893.
- 316 González-Espinosa, M., Ochoa-Gaona, S., Ramírez-Marcial, N., Quintana-Ascencio, P.F.,
317 1997. Contexto vegetacional y florístico de la agricultura en Los Altos de Chiapas. In:
318 (Parra-V, R., Díaz-Hernández, B. (Eds.), Agricultura y crisis rural, Tomo I. Recursos
319 Naturales El Colegio de la Frontera Sur. San Cristóbal de las Casas, Chiapas,
320 México.
- 321 Heie O.E., 1987. Morphological structures and adaptations. In: Minks, A.K. Harrewijn, P.
322 (Eds.), World crop pests, aphids their biology, natural enemies and control, Elsevier,
323 Amsterdam, The Netherlands, pp.393-400
- 324 Lazzari S.M.N., Voegtlin D.J., 1993. Morphological variation in *Rhopalosiphum padi* and *R.*
325 *insertum* (Homoptera: Aphididae) related to host plant and temperature. Ann.
326 Entomol. Soc. Am. 86, 26-36.
- 327 Louda, S., Mole, S., 1991. Glucosinolates: Chemistry and Ecology. In: Rosenthal, G.A.,
328 Barenbaum, M.R. (Eds.), Herbivores, their interactions with secondary plant
329 metabolites. 2nd ed., Academic Press, Oxford, pp. 123-164.
- 330 Meyers, L.A., Bull J.J., 2002. Fighting change with change: adaptive variation in an uncertain
331 world. Trends Ecol. Evol. 17, 551-557.
- 332 Montoya-Gómez, G., 1998. Participación de los productores campesinos en el mercado de
333 hortalizas en Los Altos de Chiapas: El caso de la papa. In: (Reyes-Ramos, M.E.
334 Moguel-Viveros, R., Van der Harr, G. (Eds), Espacios disputados: transformaciones

335 rurales en Chiapas Universidad Autónoma Metropolitana y El Colegio de la Frontera
336 Sur, México D. F. pp. 187-209.

337 Moran, N., 1981. Intra specific variability in herbivore performance and host quality: a field
338 study of *Uroleucon caligatum* (Homoptera: Aphididae) and its *Solidago* hosts
339 (Asteraceae). *Ecol. Entomol.* 6, 301-306.

340 Moran, N., 1986. Morphological adaptation to host plants in *Uroleucon* (Homoptera:
341 Aphididae). *Evolution* 40, 1044-1050.

342 Moran, N., 1992. The evolutionary maintenance of alternative phenotypes. *Am. Nat.* 139,
343 971-989.

344 Nagel L., Schluter, D., 1998. Body size, natural selection, and speciation in sticklebacks.
345 *Evolution* 52, 209-218.

346 Ober, K.A., 2003. Arboreality and morphological evolution in ground beetles (Carabidae:
347 Harpalinae): Testing the taxon pulse model. *Evolution* 57, 1343-1358.

348 Pappers, M.S., van Dommelen, H., van der Velde, G., Ouborg, N.J., 2001. Differences in
349 morphology and reproductive traits of *Galerucella nymphaeae* from four plant
350 species. *Entomol. Exp. Appl.* 99, 183-191.

351 Roff D.A., 1992. The evolution of life histories, theory and analysis. Chapman & Hall, New
352 York.

353 Rollins, C.R., 1993. The Cruciferae of Continental North America. Stanford University Press,
354 Palo Alto, California.

355 Rollins, R.C., Banerjee, U.C., 1976. Trichomes in studies of the cruciferae. In: (Vaughan,
356 J.G., Macleod, A.J., Jones, B.M.G. (Eds.), *The biology and chemistry of the*
357 *Cruciferae*. Academic Press, New York, pp. 145-167

- 358 Ruiz-Montoya, L., Zuñiga-Bermúdez, G. and Peña-Martínez, R., 1994. Morphological
359 variation of *Eriosoma lanigerum* (Homoptera: Aphididae) on *Pyracantha koidzumii* in
360 Mexico City. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 87, 108-115
- 361 Ruiz-Montoya, L., Núñez-Farfán, Vargas J., 2003. Host-associated genetic structure of
362 Mexican populations of the cabbage aphid *Brevicoryne brassicae* (Homoptera:
363 Aphididae). *Heredity* 91: 415-421.
- 364 Ruiz-Montoya, L., Núñez-Farfán, J. 2003. Local adaptation of *Brevicoryne brassicae*
365 (Homoptera: Aphididae) to host plant at Los Altos de Chiapas, Mexico. In: Simon,
366 J.C., Dedryver, C.A., Rispe C., Hullé, M. (Eds.). *Aphids in a New Millenium*
367 Institutte National de la Recherche Agronomique (INRA), Paris, (in press).
- 368 Sandström, J., 1994. Performance of Pea aphid (*Acyrtosiphon pisum*) clones on host plants
369 and synthetic diets mimicking the same plants phloem amino acid composition. *J.*
370 *Insect Physiol.* 40, 1051-1057.
- 371 SAS Institute, 1988. *SAS user's guide: Statistics.* SAS Institute Cary, North Carolina.
- 372 Schlichting, C.D., Pigliucci M., 1998. *Phenotypic evolution, a reaction norm perspective,*
373 Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA.
- 374 Schluter, D., 1995. Adaptive radiation in sticklebacks: trade-offs in feeding performance and
375 growth. *Ecology* 76, 82-90.
- 376 Schluter, D., 2001. *The ecology of adaptive radiations.* Oxford University Press, London,
377 UK.
- 378 Shaposhnikov G.C.H., 1985. The main features of the evolution of aphids. In: Szelegiewicz,
379 H.(Ed). *Proceedings of the International Aphidological Symposium Jablonna,*
380 *Ossolineum, Wroclaw, Poland, pp. 19-99.*

- 381 Sokal, R.R., Unnasch, R.S., Thomson, B.A. 1991. *Pemphigus* revisited: Changes in
382 geographic variation but constancy in variability and covariation. *Evolution* 45, 1585-
383 1605.
- 384 Stowe, K.A., 1998. Experimental evolution of resistance in *Brassica campestris*: Correlated
385 response of tolerance in lines selected for glucosinolate content. *Evolution* 52: 703-
386 712.
- 387 Sultan, S.E., Spencer, H.G., 2002. Metapopulation structure favors plasticity over local
388 adaptation. *Am. Nat.* 160, 271-283.
- 389 Takada, H., 1979. Characteristics of forms of *Myzus persicae* (Sulzer) Homoptera:
390 Aphididae) distinguished by colour and esterase differences and their occurrence in
391 populations on different host plants in Japan. *Appl. Entomol. Zool.* 14, 349-360.
- 392 Via, S., Shaw, A.K., 1996. Short-term evolution in the size and shape of pea aphids.
393 *Evolution* 50, 163-173.
- 394 Via, S., 1987. Genetic constraints on the evolution of phenotypic plasticity. In: Loeschke, V.
395 (Ed.), *Genetic constraints on adaptive evolution*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.
396 Pp. 46-71.
- 397 Via, S., 2001. Sympatric speciation in animals: the ugly duckling grows up. *Trends Ecol.*
398 *Evol.* 16, 381-390.
- 399 Via, S., 2002. The ecological genetics of speciation. *Am. Nat.* 159, S1-S7.
- 400 Weber, G., 1985. Genetic variability in host plant adaptation of the green peach aphid *Myzus*
401 *persicae*. *Entomol. Exp. App.* 38, 49-56.
- 402 Weisser, W.W., Stadler, B., 1994. Phenotypic plasticity and fitness in aphids. *Eur. J.*
403 *Entomol.* 91: 71-78.
- 404

404 Table 1

405 Factor analysis of seven morphological traits measured in individuals of *Brevicoryne*

406 *brassicae* in four localities of the Highlands of Chiapas, Mexico. Factor loadings were

407 multiplied by 100 and rounded to the nearest digit to aid in the comparison.

Character	Factor 1	Factor 2
Body length	22	78
Antennal segment III	78	31
Hind tarsal segment II	53	32
Base of antennal segment VI	59	8
Terminal process of last antennal segment	65	22
Hind tibia	75	38
Last rostral segment	37	18
Eigenvalue	6.13	2.86
Percentage of total variance	88.1	11.9

408

409

409 Table 2

410 Analysis of variance of *Brevicoryne brassicae* morphology (scores from principal factor
411 analysis) on populations associated to *Brassica oleracea* and *B. campestris* at four localities
412 of Chiapas, México.

Source variation	SS	d.f.	F	P
Factor 1				
Locality	24.00	3	10.69	<0.0001
Host	4.46	1	5.97	0.0015
Locality x Host	3.23	3	1.44	0.23
Error	515.00	688		
Total	549.76	695		
Factor 2				
Locality	38.61	3	24.26	<0.0001
Host	18.67	1	35.20	<0.0001
Locality x Host	12.36	3	7.77	<0.0001
Error	365.06	688		
Total	426.71	695		

413

414

415

416

416 **Figure legends**

417 Fig. 1. Geographic location and environmental characteristics of populations of *Brevicoryne*
418 *brassicae* in Chiapas (Mexico). (Geographic position, altitude above sea level, annual mean
419 temperature and precipitation.)

420

421 Fig. 2. Illustration of the seven morphological characters measured in *Brevicoryne brassicae*.

422

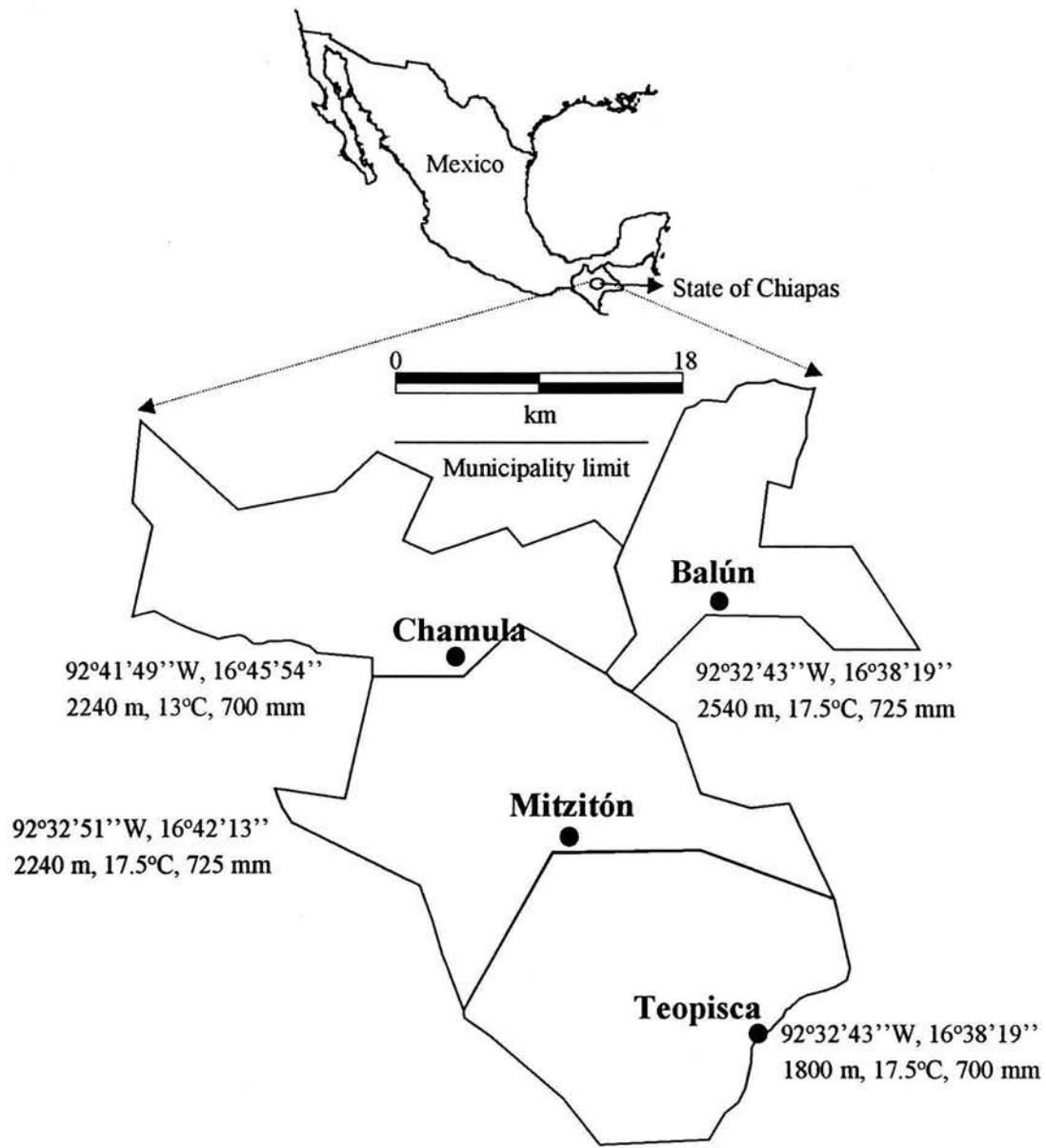
423 Fig. 3. Average values (± 1 SE) of the individual scores of the Factor 1 (A) and Factor 2 (B)
424 of *Brevicoryne brassicae* in relation to the host plant used in four localities of Chiapas
425 (Mexico). F values and probability for each factor included in the analysis of variance are
426 provided.

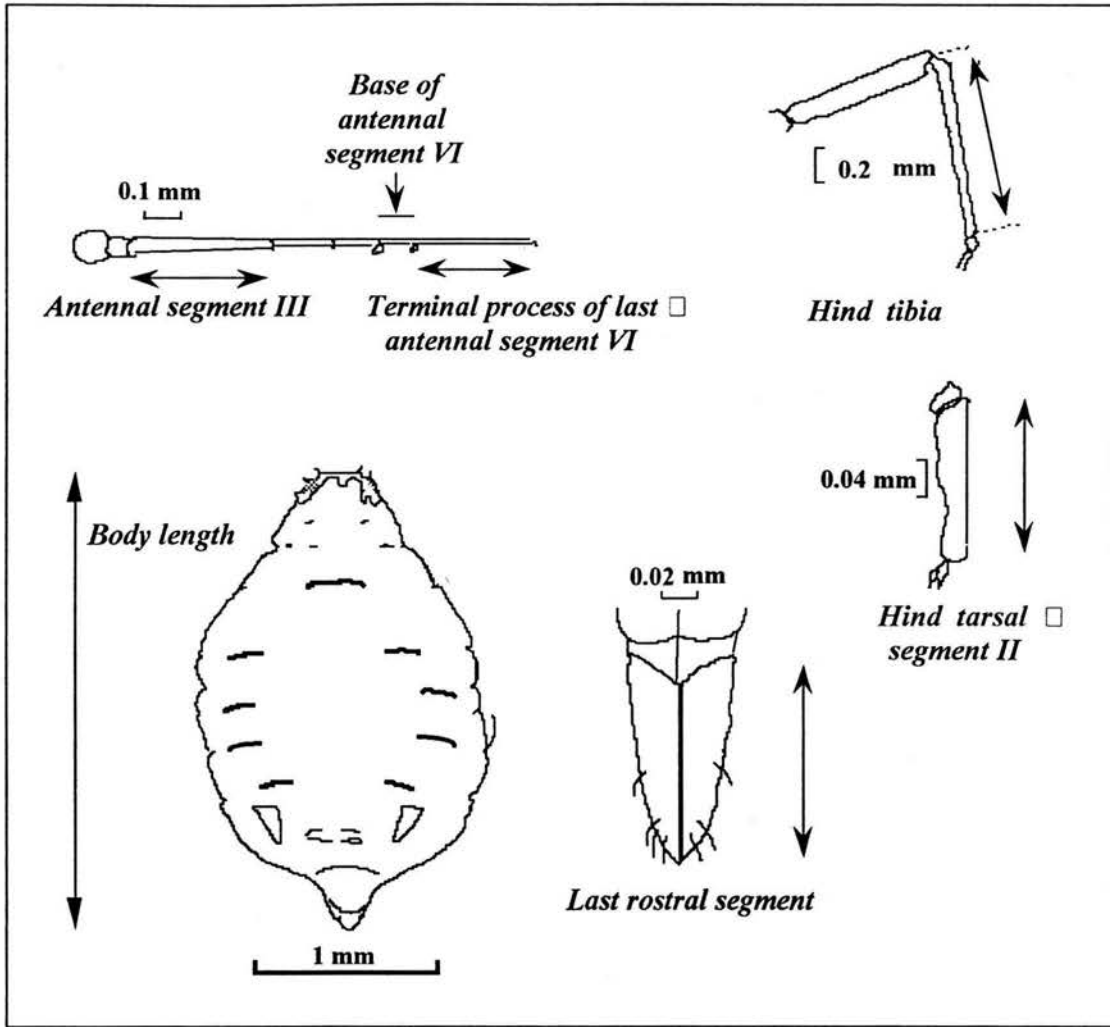
427

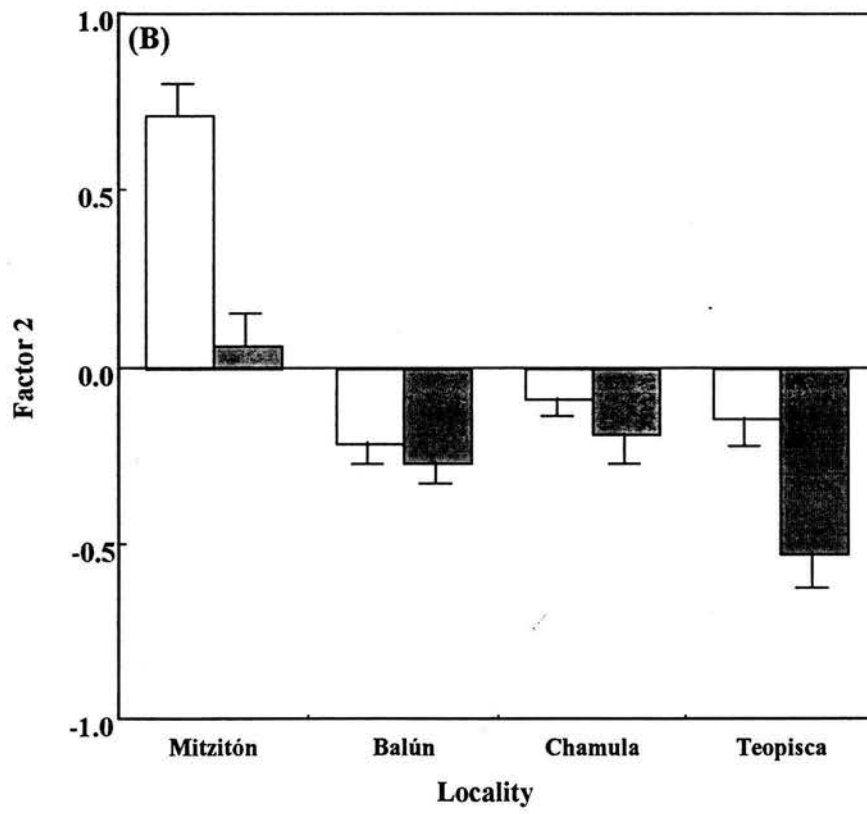
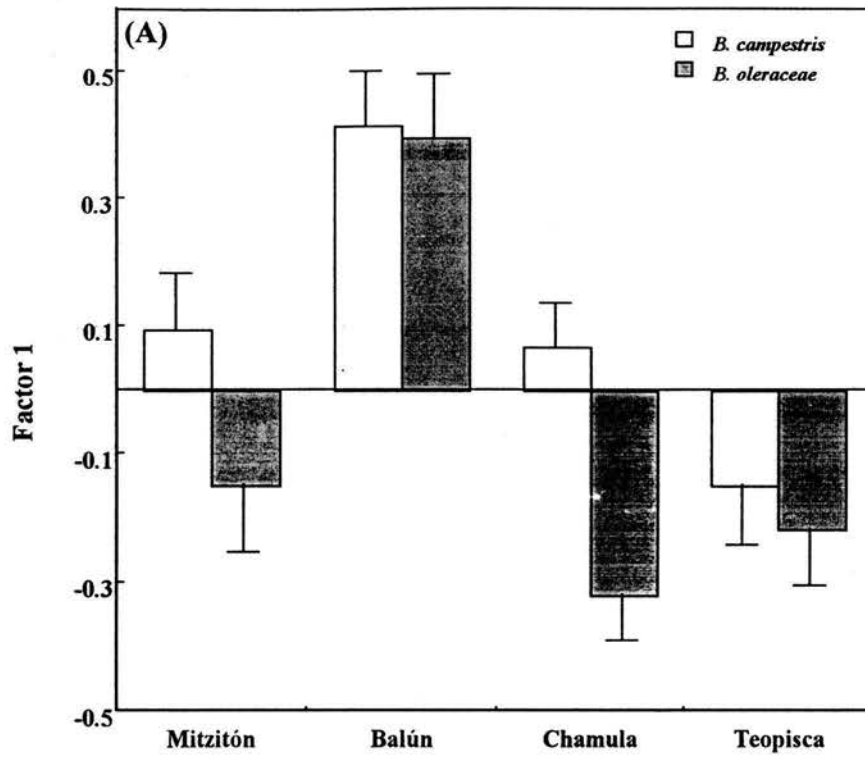
428 Fig. 4. Average values (± 1 SE) of seven morphological characters of *Brevicoryne brassicae*
429 in two host plants across four localities of Chiapas (Mexico). F values for locality, host, and
430 their interaction are provided (see text).

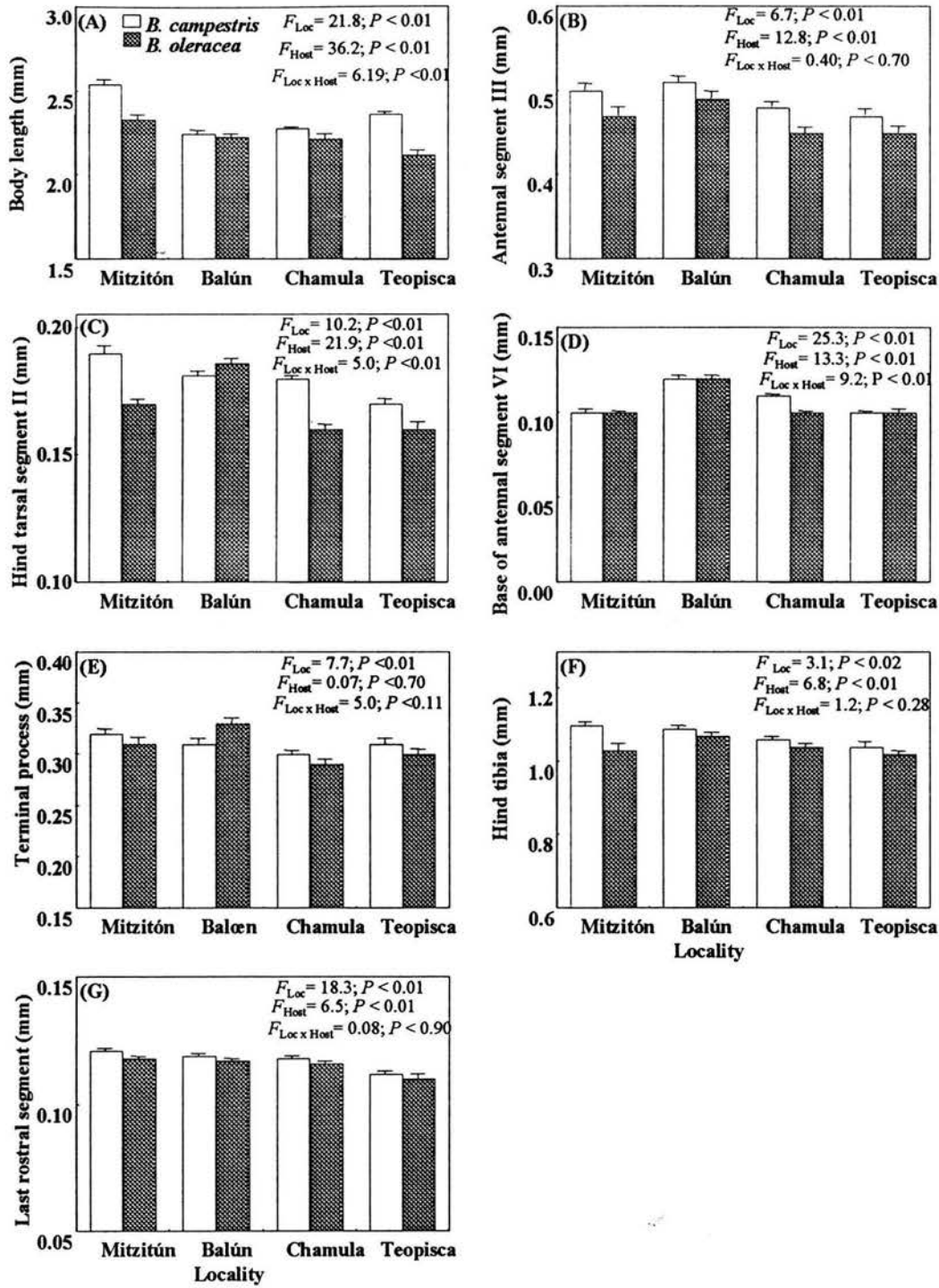
431

432









For: Bulletin Entomological Research

**Natural selection and maternal effects on life histories traits
of *Brevicoryne brassicae* (Homoptera: Aphididae) in two
sympatric closely related hosts**

Lorena Ruiz-Montoya^{1,2} and Juan Núñez-Farfán¹

¹ Departamento de Ecología Evolutiva, Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, Distrito Federal, México

² El Colegio de la Frontera Sur, San Cristóbal de las Casas, Chiapas, México

¹ Correspondence: Juan Núñez-Farfán, Departamento de Ecología Evolutiva, Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito exterior s/n, Ciudad Universitaria, C.P. 04510 Coyoacán, Distrito Federal, México

E-mail: farfan@servidor.unam.mx, Tel.: +52 55 56 22 90 05, Fax: +52 55 56 22 89 95

Abstract. If the different host plant species used by a herbivore do impose contrasting selective pressures and if there is genetic variation for host exploitation, then genetic differentiation among populations of herbivorous insects could be promoted by natural selection and ultimately result in host specialization. Two experiments of reciprocal transference were performed. The first was carried out to assess host related differentiation in life history traits, and to estimate the mode and intensity of phenotypic selection on the aphid *Brevicoryne brassicae* in two closely related sympatric host plants, *Brassica campestris* and *B. oleraceae*. The second was carried out to determine if and how the plant mother's host affects the offspring performance. In the first experiment we recorded success in establishment, age at first reproduction, reproductive span, number of nymphs produced and reproductive rate on each host. We estimated selection on each host for age at first reproduction and reproductive span. In the second experiment clones collected in a given host were reared on hosts species during three generations to determine the occurrence of maternal effects on life history traits (age at first reproduction and number of nymphs) of newborn nymphs of each clone developed *B. oleraceae* or *B. campestris*. Successful establishments was higher on the host where the mother was collected in the field (source host). Contrary, a significant effect of the recipient host was detect for most life history traits. *Brassica campestris* constituted a more suitable host than *B. oleraceae*. Positive directional selection for reproductive span was detected on both hosts but the magnitude of the selection differed significantly between hosts. Also, significant directional selection for earlier age at first reproduction was detected on *B. oleraceae* suggesting a beneficial effect of early reproduction in the unsuitable host. The maternal plant host did not significantly modify the performance of offspring.

Introduction

Host plants can represent environments with distinct selection pressures for phytophagous insects (Diehl & Bush 1984, Bush 1994). Providing the existence of genetic variation for host exploitation, long-term selection may result in host specialization or host race formation (Via 1984, Feder et al. 1998, Tilmon et al. 1998, Bush 1994, Schluter 2000). An population insect population is host specialized if the characteristics that enable it to use a particular host species, limits its ability to use other potential hosts (Diehl & Bush 1984). Host specialization is a common phenomenon in phytophagous insects and probably results from natural selection (Farrell 1998, Mitter et al. 1991, Fry 1996, Tilmon et al. 1998, Boecklen & Mopper 1998, Drès & Mallet 2002, Berlocher & Feder 2002, Via 2002).

Natural selection can occur when phenotypic variations in traits related to fitness are heritable. Yet, genotype x environment interactions play a role in determining the phenotype and hence limit selection (Scheiner 1993). In many organisms the environmental effects may be transmitted from one to the next generation, producing offspring better prepared for experimented by the parents (Kirkpatrick & Lande 1989, Mosseau & Dingle 1991, Schluter & Gustaffson 1993, Rossiter 1995, 1996; Dixon & Kundu 1998, Hunt & Simmons 2000, Wolf 2000). This kind of inheritance known as maternal effects occurs when the phenotype or environment of a mother affects the offspring phenotype via some mechanism other than the transmission of genes (Fox et al. 1999a). This type of heredity can be relevant for phytophagous insects if more than one host occur together within a habitat (Fox et al. 1999a, b; Fox 2000, Fox & Savalli, 2000, Craig et al. 2001, Rotem 2003). In general, maternal effects are expressed in

early life and may increase the survival of descendents (Rossiter 1987, Sultan 2001, McAdam et al 2002). Theoretically, maternal effects may produce an lag in the evolutionary response to selection on each host (Kirpatrick & Lande 1989, Fox 2000, Benton et al. 2001). Therefore, maternal effects may influence the evolutionary trajectories of host specialization (Fox & Savalli 2000, Rossiter 1991, MacAdam et al. 2002). Understanding the evolutionary mechanisms that influence host specialization in phytophagous insects is relevante to uncover the causes of phenotypic diversity and speciation in phytophagous insects, especially in sympatric conditions.

Throughout its geographic distribution the cabbage aphid, *Brevicoryne brassicae* L. (Homoptera, Aphididae) uses different plant species of Brassicaceae and displays variability in performance among host plants (van Emden 1966; Costello & Altieri 1995). *Brevicoryne brassicae* uses two related host plant species, which occur sympatrically in the state of Chiapas (Mexico), the wild *Brassica campestris* L. and the cultivated *B. oleraceae* L. The reproduction of *Brevicoryne* is mainly by parthenogenesis in Chiapas, and is found in both host species during the winter and part of the spring (L. Ruiz-Montoya, personal observation). *Brevicoryne brassicae* has the ability to use both hosts, thus the performance in one host could be affected by the experience in the other host in the previous generation, i.e. maternal effects may be present.

This study aimed to examine whether *Brevicoryne brassicae* exhibits differential performance on *Brassica campestris* and *B. oleraceae*, if the two host plant species impose different selective pressures on life history characteristics of the aphids, and how the performance of the offspring may be influenced by the host used by the mother. Specifically, using a reciprocal transference experimental design we performed two experiments to determine: (1) differences in age at first reproduction, longevity and reproduction of aphids on the two host species, (2) the direction and

intensity of selection on age at first reproduction and longevity in each host and (3) how offspring's age at first reproduction and number of nymphs are affected by the mother's host.

Materials and Methods

Study sites. Plants of *B. campestris* used in the experiment were obtained from seeds collected on September-1998 (for experiment one) from the locality of Balún Canal (16° 38' 19'' N latitude; 92° 32' 43'' W longitude; 2240 m a.s.l.), in the State of Chiapas (Mexico). Plants of *B. oleracea* were grown from the same seeds used by local farmers. After one month of seedling the plants were used rearing the clones and to perform the experiments.

Study system. *Brevicoryne brassicae* is an oligophagous herbivore that uses species of Brassicaceae throughout its worldwide distribution (Blackman & Eastop 2000). In our study site, *Brevicoryne brassicae* feeds upon *Brassica campestris* and *B. oleraceae*, and has a parthenogenetic life cycle with winged and wingless morphs. The host plant species, *Brassica campestris* and *B. oleraceae*, were introduced to Mexico around two hundred years ago (Rollins, 1993). *Brassica oleraceae* (green cabbage) has been cultivated annually in The Highland of Chiapas for at least the last five decades (Montoya, 1998). The weed *Brassica campestris* (Syn. *B. rapa*, turnips) is an annual herb that grows in abandoned fields and on the borders of cultivated fields of *B. oleraceae*. As annuals, both host plant species complete their life cycles in 3-4 months. Up to three generations of the aphid have been recorded in the field in a given growing season (L. Ruiz-Montoya, pers. obs.).

Performance and natural selection. Adult wingless aphids from the locality of Balún Canal, Chiapas (Mexico) were collected haphazardly from 30 individual plants of each host species in March 1999. The hosts were in the same field and the distance among plants ranged from three to ten meters, over an area of 4 ha. Since *Brevicoryne brassicae* possesses high levels of genetic variation at enzymatic loci (Ruiz-Montoya et al. 2003), the collected females are likely to represent different clones. Plants of *B. campestris* were adjacent to the cultivated field of *B. oleraceae*. In a reciprocal transplant experiment, aphids collected in the field from each host plant species (hereafter origin host), were placed singly on individual plants of both hosts (hereafter recipient host). Females collected on *B. campestris* were transferred to individual plants of *B. campestris* ($n=18$) or *B. oleraceae* ($n=25$), while aphids derived from *B. oleraceae* were placed on *B. oleraceae* ($n=22$) or *B. campestris* ($n=21$). Individual plants were randomly assigned to benches in a greenhouse and plants were individually covered with a rearing chamber made out of a fine mesh to exclude other aphids and natural enemies (see Blackman, 1974). Plants were kept at ambient temperatures and photoperiod ($16\pm 4^{\circ}\text{C}$ and 12 h daylight).

Each female collected in the field was allowed to lay a single nymph (1st generation). The life of each nymph was followed until death, recording whether or not it established successfully (i.e. was able to reproduce), its age at first reproduction (days), the total number of nymphs produced during its life (2nd generation), the reproductive span (days), and reproductive rate (number of nymphs laid per day).

The establishment of a nymph on a given host was recorded as successful (1) if it was able to reproduce or as unsuccessful (0) if it failed. These data were analyzed by a Logit loglinear analysis procedure (Crawley 1986) to detect the relationship between establishment (estb) in origin host

(oh, host species used in field) and recipient host (rh). The logarithm of the odds of establishment (established vs. not established) was expressed as a linear combination of the parameters: constant + estb + estb*oh + estb*rh. Thus, it was possible to test if the relationship of the number of established relative to number of not established was dependent on either the origin host or the recipient host. Analyses were performed using the logit GLM module of the SAS statistical package (SAS, 1995).

For the established females, the age at first reproduction, reproductive span, total number of nymphs and reproductive rate were analyzed by means of two factor (origin and recipient host) ANOVA with interactions (Sokal & Rohlf, 1995). A significant origin host by recipient host interaction would imply that population performance is better on origin host (field or provenance host) than on the experimental host (recipient host), for at least one of the populations. Significant differences between origin hosts may be indicative of genetic differences (or maternal effects) between the two populations of aphids, whereas a significant effect of recipient host may indicate differences in the general quality of the plants.

Selection analyses were performed to determine if different host species impose differential selection on life history traits. The effect of the age at first reproduction and reproductive span on individual fitness was analyzed by means of multiple linear regressions within each recipient host (Lande & Arnold, 1983, Núñez-Farfán & Dirzo, 1994). Regression analyses were performed using the standardized variables (i.e. mean = 0, standard deviation = 1) and regression coefficients are interpretable in terms of standard deviations (Lande & Arnold, 1983). Covariance analyses were used to detect differences in the regression coefficients between the source hosts of aphids. Within each recipient host (environment), relative female fitness (w_i) was estimated as the total number of

nymphs laid divided by the population mean number of nymphs; thus, $\bar{w} = 1$. Analyses were performed using the GLM module of the JMP statistical package (SAS, 1995).

Effect of maternal host on offspring performance. Eight females of *Brevicoryne brassicae* were collected in Balún Canal, four on *B. campestris* and four on *B. oleraceae*. The offspring of each female was used to develop a total of eight clones on both *B. campestris* and *B. oleraceae*. The females collected from field were placed in Petri dishes with a piece of field host leaf. Three nymphs, arbitrarily chosen from the offspring produce within the first 24 hours, were placed on each plants species, *B. oleraceae* and *B. campestris*. The nymphs were reared until the completion of three complete generations of each clone on both host species. Thus, each clone had an acclimation period on each host (maternal host). From the third generation, we arbitrarily chose three nymphs and placed them on individual plants of *B. oleraceae* and *B. campestris* (test host) (Fig. 1). We then followed their development to record establishment (as in the previous experiment), age at first reproduction and number of offspring deposited until their death.

We use logit loglinear analysis to assess the relationship between establishment of clones and maternal host. Age at first reproduction and number of nymphs on each test host species were analyzed means a two-way analysis of variance, mixed model, with maternal host as a fixed factor and clone as a random factor.

Results

Performance. Significant differences in establishment on different host plants were detected between aphids from different source hosts ($\chi^2=9.003$, $df=1$, $P=0.003$). Establishment was higher

when the recipient host was the origin host (Fig. 2A). Aphids from *B. campestris* had 26 % higher establishment on *B. campestris* than aphids from *B. oleraceae*, while aphids from *B. oleraceae* had 40 % higher establishment on *B. oleraceae* than aphids from *B. campestris*.

Analyses of variance indicated a significant effect of the recipient host on age at first reproduction, total number of nymphs and reproductive rate, whereas no effects of the field host or the interaction between origin host and test host were detected for these variables (Table 1). On average, aphids reproduced earlier and produced more nymphs on *B. campestris* than in *B. oleracea* (Fig. 2B, D and E). In contrast, no significant differences in the reproductive span between aphids derived from the different host were detected (Table 1, Fig. 2C).

Natural selection on life history traits. In *B. campestris* a positive relationship between reproductive span and fitness was detected (Table 2B), indicating that selection favoured those individuals with a longer reproductive span (Table 2A). No selection was detected upon age at first reproduction (Table 2A). A covariance analysis did not detect differences in the selection gradients (slopes) between source hosts (i.e. equal slopes) for the relationships between reproduction span and age at first reproduction and fitness ($P>0.05$). In contrast, in *B. oleracea* the relationships between age at first reproduction and reproductive span with fitness were significant (Table 2B), indicating that phenotypes that began reproduction earlier and had longer reproductive spans attained higher relative fitness (Table 2A). Again, analysis of the covariance did not detect any difference in the slopes of the relationships between fitness and age at first reproduction and reproduction span ($P>0.05$).

Effect of maternal host on offspring performance. Because of missing data one clones was eliminated from analyses. The establishment increased slightly on *B. campestris* (recipient host) when the maternal host was *B. campestris*, except in Clone 1 (Fig. 3). In average the age at first reproduction of clones in *B. campestris* was slightly earlier if the maternal host was *B. oleraceae*. The number of nymphs on *B. campestris* seems not affected by maternal host, except for clone 1 and 7, they increased their number of nymphs if maternal host was *B. oleraceae*. However, the differences between maternal hosts and clones were not statistically for any characters. On the recipient host *B. oleraceae*, the establishment was higher if the host mother was *B. oleraceae* (Fig. 3). However, the differences were not statistically significant ($\chi^2=2.07$, *d.f.* =3, $P= 0.55$). The age at first reproduction was slightly earlier if the host acclimation was *B. oleraceae*; the differences were not statically significant (Table 3). For the number of nymphs, significant differences among clones and in the interaction clone- maternal host were detected (Table 3). In general, the number of nymphs was not higher if the host mother was *B. oleraceae* (Figure 3).

Discussion

If the different host species used by an herbivore impose different selective pressures and if there is genetic variation for host exploitation, then genetic differentiation among populations of herbivorous insects can be promoted by natural selection and may result in host specialization. In this study we present evidence of variation and natural selection on life histories traits of *Brevicoryne brassicae* in two closely related host plants sympatrically distributed in the highland of Chiapas (Mexico). We did not detect maternal effects on any life histories characteristics of the

offspring, but genetic variation was detected in number of nymphs expressed in *B. oleraceae*. We discuss nutritional condition of host plant as ecological factor that influence the performance and since maternal effects were not detected we suggest that gene flow and phenotypic plasticity could limit response to natural selection, evolutionary factor, in each host.

Performance. The differences in establishment on *B. campestris* and *B. oleracea* indicated that aphids might prefer their original field host. The analysis of life history characteristics indicates that one of the host plant species, *B. campestris*, constitutes a better rearing environment, as the phenotypic expression of most characteristics was higher than in *B. oleracea*.

Differences in the quality of the two environments (host plants) may account for the differences in performance of the aphids when exposed to a native and an alien environment. The differences in aphid performance on different hosts are frequently interpreted in terms of the differences in phloem sap quality (van Emden, 1966, Moran 1981, Sandström & Pettersson 1994, Dixon 1998). Quality can be defined as those plant attributes, chemical or physical, that contribute either negatively or positively to the fitness of the insect population or individual that feeds upon the plant's tissues (Awamack & Leather 2002). In the studied system, *B. campestris* has a higher concentration of glucosinolates (Kjaer 1976) and leaf nitrogen than *B. oleracea* (L. Ruiz-Montoya, unpubl. data). This difference may explain, in part, the differences in aphid performance observed between hosts. First, glucosinolates function as cue and feeding stimulant to insects adapted to these compounds, such as *Brevicoryne brassicae* (Gabrýs & Pawluk 1999). Second, nitrogen concentration is positively correlated with reproductive rate in aphids (Dixon 1998). Thus, the higher reproductive output of *Brevicoryne brassicae* in *B. campestris* could be

associated to the differences between hosts in nitrogen content. However, further experiments of aphid performance on plants subjected to different levels of soil fertilization and hence, leaf nitrogen, is needed to support this hypothesis.

Natural Selection. The analysis of selection on life history traits offers valuable insights regarding the selective pressures imposed by the two host plant species upon differentiation of *Brevicoryne brassicae*. Selection on life history traits differed in mode or in magnitude between hosts (recipient host), but not between original field hosts of the aphids.

Although positive directional selection on the length of reproductive span was found in both hosts, the intensity of selection was higher in *B. oleracea* (Table 2A). This implies that phenotypes one standard deviation larger than the mean phenotype attained, on average, 24% more fitness in *B. oleracea* but only 10% in *B. campestris*. The average fitness of *Brevicoryne brassicae* on *B. oleracea* was lower than on *B. campestris* and longer reproductive periods and earlier reproduction were selected for in *B. oleracea*. The magnitude of directional selection (β) on life histories traits (or phenological traits) for both plants and animals is about 0.08 (Kingsolver 2001), from 1 to 3 times lower than the magnitude recorded in the present study. The natural selection on reproductive span in *B. campestris* and on age at first reproduction and reproductive span in *B. oleraceae*, could be considered strong enough to promote phenotypic differentiation and host specialization, but might exist limitation as free genetic flow and phenotypic plasticity, discussed further.

Since selection analysis did not detect differences between the source hosts in the mode and intensity of selection (i.e. same slopes) within each recipient host, this implies that the length of the

reproductive span is linked to fitness in a similar manner for aphids derived from the two different hosts. This is expected if there is a low differentiation between aphids derived from both hosts.

In the test host *B. oleraceae*, but not in *B. campestris*, selection favoured early reproduction (negative selection gradient in Table 2A) and no difference in selection gradients between the source hosts was detected (e.g. equal slopes). This may be explained by the fact that this host is less suitable for the aphids (see Flint 1985, Cole et al. 1994). Thus, to attain reproduction earlier in this host is as important as to reproduce for longer periods, once the correlation with reproductive span is removed (i.e. selection gradients were statistically the same magnitude). We now have evidence about the natural selection regime acting on *Brevicoryne* in each host.

Maternal effects. Our findings provide little evidence for maternal effects on offspring performance in *Brevicoryne brassicae*. The establishment, age at first reproduction and number of nymphs expressed by offspring on *B. campestris* were not significantly modified by the maternal host and clone, indicating that maternal effects and/or genetic variation were not detected. Maternal effects in establishment, age at first reproduction and number of nymphs on the recipient host *B. oleraceae* were also not detected. Genetic variation and a genotype by host interaction, however, were detected, since there were significant differences among clones and the interaction of clones by mother host, suggesting that genotypes can respond differentially to host plants.

The reproductive system of a parthenogenetic aphid consists of ovarioles that contain embryos at different stages of development (Blackman 1987). In the biggest embryos there are embryos in development (Dixon 1998), meaning that the three-generation have been exposed to conditions provided by the maternal host, the expected maternal effect on the life history traits of

Brevicoryne. Additionally, it is well known that there is a maternal control on the production of alate and apterous morphs (see Mosseau & Dingle 1991, Dixon 1998). However, no evidence of maternal effect was found for any life history trait. Probably the performance of *Brevicoryne brassicae* was mainly a direct response to the conditions prevailing at particular host as has been observed in willow-carrot aphid *Cavariella aegopodii* (Dixon & Kundu 1998) and *Aphis craccivora* (Traicevski & Ward 2002).

Host specialization in *Brevicoryne brassicae*. Ours result suggest that *B. oleraceae* and *B. campestris* represent two different environments for *Brevicoryne brassicae*, since its performance depended upon the host species used, but it is not affected by the mother's. These differences resulted in host-dependent natural selection regimes. This finding reveals a sympatric host-associated ecological differentiation in *Brevicoryne brassicae* in The Highland of Chiapas (Mexico). In fact, our results show that *Brevicoryne* may be specialized to *B. campestris*.

Some factors may prevent the evolution of specialization to host plant species in *Brevicoryne brassicae*. First, it is necessary that genetic variation for host use, on which natural selection can act, must exist in the population (Weber 1985, Via 1991, Futuyma & Peterson 1985). Second, the host specialization may be retarded by gene flow (Futuyma & Peterson 1985, Peterson & Denno 1998). Also, the ability to distinguish between hosts is critical for the evolution of specialization in sympatry (Ward et al. 1998). Third, the specialization to one host may be constrained by the ability to colonize alternative hosts (trade-offs; Via 1991, but see Rausher 1984). Finally, the temporal and spatial abundance of the different hosts can affect the evolution of host races in herbivorous insects: fine-grained environments are expected to favour the evolution of generalist

rather than specialists for quantitative characters like life history traits (Via & Lande 1985; Gomulkiewicz & Kirkpatrick 1992, Schlichting & Pigliucci 1998).

The differences between aphids from the two hosts were expressed only during establishment, and no further differences in life history traits were appreciated once the aphids were successfully established. Thus, only if establishment is genetically correlated with fitness a specialization to each host may be expected (Via 1991, Rausher 1984, Berlocher & Feder 2002, Drès & Mallet 2002). Such a genetic correlation is suggested by the effect of maternal host on offspring performance within a clone (Fig. 3), but a formal analysis should be done to assess genetic correlation between establishment and fitness components.

The detection of differential selection on life history traits and differences in mean values of characters between the recipient hosts may constitute the initial step of the differentiation process and further host specialization. The changes in the aphid phenotypic expression observed between these sympatric host plant species are partial consequence of the different selective pressures that hosts impose upon the aphids. Thus, the evolution of specialization depends upon the type of environmental variation (fine- vs. coarse-grained; temporal vs. spatial) and the existence of genetic constraints (Via & Lande 1985, see Schlichting & Pigliucci 1998). However, two aspects of the system *Brevicoryne brassicae*-*Brassica* warrant further study. First, at a fine scale, the analysis of genetic variation for trait values and reaction norms of genotypes of different origin (hosts) and, second, an estimate of the total amount of gene flow among aphid populations (i.e. between hosts) that hypothetically could counteract the effect of local selection.

Acknowledgements

We are grateful to Manuel Giron Intzin for his help in the field and in the greenhouse. Thanks to C. A. Domínguez, L.E. Eguiarte, J. Fornoni, C. D. Schlichting, Carlos Cordero, Martín Aluja, Jorge Sarquis, Rodolfo Dirzo, Fabián Vargas, Pablo Liedo & A.F.G. Dixon for their valuable suggestions to earlier version manuscripts, and Jesús Vargas in editing and correcting the final manuscript. The grants 31543-B and 990039-DO to L. R-M provided by the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología and the lab of Population and Community Dynamics of Insects at ECOSUR, supported this research. This is a partial fulfillment of the Doctoral dissertation of L. R-M.

References

- Benton, T.G., E. Ranta, V. Kaitala & A.P. Beckerman. 2001. Maternal effects and the stability of population dynamics in noisy environments. *Journal Animal Ecology* 70: 590-599.
- Berlocher, S.H. & J.L. Feder. 2002. Sympatric speciation in phytophagous insects: moving beyond controversy. *Annual Review of Entomology* 47: 773-815.
- Blackman, R.B. 1974. *Aphids*. Ginn & Company, London.
- Blackman, R.L. & V.F. Eastop. 2000. *Aphids on the world's crops. An identification and information guide*. 2nd ed., John Wiley & Sons., Chichester.
- Blackman, R.L. 1987. Reproduction, cytogenetics and development. Pp.163-196 *In*: Minks, A.K. & P. Harrewijn (eds.). *World crop pests, Aphids, their biology, natural enemies and control*, Elsevier, Netherlands.

- Boecklen, W.J. & S. Mopper 1998. Local adaptation in specialist herbivores: Theory and evidence, pp. 64-88. In: Mopper, S. & S.Y. Strauss (eds.). Genetic structure and local adaptation in natural insect populations. International Thomson Publishing, New York.
- Bush, G.L. 1994. Sympatric speciation in animals: new wine in old bottles. *Trends in Ecology and Evolution* 9: 285-288
- Cole, R.A. 1994. Locating a resistance mechanism to the cabbage aphid in two wild *Brassica*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 71: 23-31.
- Costello, M.J. & M.A. Altieri 1995. Abundance, growth rate and parasitism of *Brevicoryne brassicae* and *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae) on broccoli grown in living mulches. *Agriculture Ecosystems & Environment* 52: 187-196.
- Craig, T., T.D. Horner & J.K. Itami. 2001. Genetics experience, and host plant preference in *Eurosta solidaginis*: implication for host shift and speciation. *Evolution* 55: 773-782.
- Crawley, M.J. 1993. GLIM for ecologists. Blackwell Scientific Publications. London.
- Diehl, S.R. & G.L. Bush. 1984. An evolutionary and applied perspective of insect biotypes. *Annual Review of Entomology* 29: 471-504.
- Dixon, A.F.G. 1998. Aphid Ecology. Chapman & Hall, New York.
- Dixon, A.F.G. & R. Kundu. 1998. Resource tracking in aphids: programmed reproductive strategies anticipate seasonal trends in habitat quality. *Oecologia* 114:73-78.
- Drès, M. & J. Mallet. 2002. Host races in plant-feeding insects and their importance in sympatric speciation. *Philosophical Transactions of Royal Society of London (Biological Sciences)* 357: 471-492.

- Farrell, B.D. 1998. "Inordinate fondness explained": why are there so many beetles?. *Science* 281: 555-559.
- Feder J.L., S.H. Berlocher & S.B. Opp. 1998. Sympatric host-race formation and speciation in *Rhagoletis* (Diptera: Tephritidae): A tale of two species for Charles D. pp. 408-441. In: Mopper, S. & S.Y. Strauss (eds.), *Genetic structure and local adaptation in natural insect populations*. International Thomson Publishing, New York.
- Flint, M.L. 1985. *Cole crops and lettuce, Integrated pest management*. University of California Press.
- Fox, C.W. 2000. Maternal effects in insect-plant interactions: Lesson from a desert seed beetle. *Recent Research Developments in Entomology* 3: 71-93.
- Fox, C.W & U.M. Savalli. 2000. Maternal effects mediated host expansion in seed feed beetle. *Ecology* 81: 3-7.
- Fox, C.W., M.E. Czesak & U.M. Savalli. 1999a. Environmentally based maternal effects on development time in the seed beetle *Stator pruininus* (Coleoptera: Bruchidae): consequences of larval density. *Environmental Entomology* 28: 217-223.
- Fox, C.W., M.E. Czesak, T.A. Mousseau & D.A. Roff. 1999b. The evolutionary genetics of an adaptive maternal effect: egg size plasticity in a seed beetle. *Evolution* 53: 552-560.
- Fox, C.W., M.S. Thakar & T.A. Mousseau. 1997. Egg size plasticity in a seed beetle: and adaptive maternal effect. *The American Naturalist* 149:149-163.
- Fry, J.D. 1996. The evolution of host specialization, are trade-offs overrated. *The American Naturalist* 148: S84-S107

- Futuyma, D.J. & S.C. Peterson. 1985. Genetic variation in the use of resources by insects. *Annual Review of Entomology* 30: 217-238.
- Gabrýs, B. & M. Pawluk. 1999. Acceptability of different species of Brassicaceae as host for the cabbage aphid *Entomologia Experimentalis et Applicata* 91: 105-109.
- Gomulkiewicz, R. & M. Kirkpatrick. 1992. Quantitative genetics and the evolution of reaction norms. *Evolution* 46: 390-411.
- Hunt, J. & L.W. Simmons. 2000. Maternal and paternal effects on offspring phenotype in the dung beetle *Onthophagus taurus*. *Evolution* 54: 936-941.
- Kingsolver, J.G., H.E. Hoekstra, J.M. Hoekstra, D. Berrigan, S.N. Ginieri, C.E. Hill, A. Hoang, P. Giber & P. Beerli. 2001. The strength of phenotypic selection in natural populations. *The American Naturalist* 157:245-261.
- Kirkpatrick, M. & R. Lande. 1989. The evolution of maternal characters. *Evolution* 43: 485-503
- Kjaer, A. 1976. Glucosinolates in the cruciferae, Pp. 145-167. In: Vaughan, J.G., A.J. Macleod, & B.M.G. Jones. *The biology and chemistry of the Cruciferae*. Academic Press, New York.
- Lande, R. & S.J. Arnold, 1983. The measurement of selection on correlated characters. *Evolution* 37: 1210-1226.
- McAdam, A.G., S. Boutin, D. Réale & D. Berteaus. 2002. Maternal effects and the potential for evolution in natural population of animals. *Evolution* 56: 846-851.
- Mitter, C., B.D. Farrell, & D.J. Futuyma. 1991. Phylogenetic studies of insect/plant interactions: insights into the genesis of diversity. *Trends in Ecology and Evolution* 6: 290-293.
- Montoya Gómez, G. 1998. Participación de los productores campesinos en el mercado de hortalizas en Los Altos de Chiapas: el caso de la papa. Pp. 187-209. In: Reyes-Ramos,

- M.E., R. Moguel-Viveros, & G. Van der Harr (eds). Espacios disputados: transformaciones rurales en Chiapas. Universidad Autónoma Metropolitana y El Colegio de la Frontera Sur, México.
- Moran, N. 1981. Intraspecific variability in herbivore performance and host quality: a field study of *Uroleucon caligatum* (Homoptera: Aphididae) and its *Solidago* hosts (Asteraceae). *Ecological Entomology* 6: 301-306.
- Mousseau, T.A. & Dingle H. 1991. Maternal effects in insect life histories. *Annual Review of Entomology*. 36: 511-534
- Núñez-Farfán, J. & R. Dirzo. 1994. Evolutionary ecology of *Datura stramonium* L. in Central Mexico: Natural selection for resistance to herbivorous insects. *Evolution* 48: 423-436.
- Peterson, M.A. & R.F. Denno. 1998. The influence of dispersal and diet breadth on patterns of genetic isolation by distance in phytophagous insects. *The American Naturalist* 152: 428-446.
- Rausher, M.D. 1984. Tradeoffs in performance on different hosts: evidence from within- and between-site variation in the beetle *Deloyala guttata*. *Evolution* 38:582-595
- Rollins, C.R. 1993. The cruciferae of continental North America. Stanford University Press, Palo Alto.
- Rossiter, M.C. 1987. Genetic and phenotypic variation in diet breadth in a generalist herbivore. *Evolutionary Ecology* 1: 272-282.
- Rossiter, M.C. 1991. Environmentally-based maternal effects: a hidden force in insect population dynamics?. *Oecologia* 87: 288-294.

- Rossiter, M.C. 1995. Impact of life history evolution on population dynamics: predicting presence of maternal effects. Pp. 251-275. In: Cappucino, N. & P.w. Price (eds). *Population Dynamics, New Approaches and Synthesis*. Academic Press San Diego.
- Rossiter, M.C. 1996. Incidence and consequences of inherited environmental effects. *Annual Review of Ecology and Systematics* 27: 451-476.
- Rotem, K., A.A. Agrawal & L. Kott. 2003. Parental effects in *Pieris rapae* in response to variation in food quality: adaptive plasticity across generations. *Ecological Entomology* 28:211-218.
- Ruiz-Montoya, L., J. Núñez-Farfán & J. Vargas. 2003. Host-associated genetic structure of Mexican populations of the cabbage aphid *Brevicoryne brassicae* L. (Homoptera: Aphididae). *Heredity* 91:415-421
- Sandström, J. & J. Pettersson. 1994. Amino acid composition of phloem sap and the relation to intraspecific variation in pea aphid (*Acyrtosiphon pisum*) performance. *Journal of Insect Physiology* 40: 947-955.
- SAS Institute 1995. JMP. Statistics and Graphics Guide, version 3.1. SAS Institute, Cary North Carolina.
- Scheiner, S.M. 1993. Genetics and evolution of phenotypic plasticity. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 24: 35-68.
- Schlichting, C.D. & M. Pigliucci. 1998. Phenotypic evolution. A reaction norm perspective. Sinauer Associates, Sunderland, Mass.
- Schluter, D. & L. Gustafson. 1993. Maternal inheritance of condition and clutch size in the collared fly catcher. *Evolution* 47: 658-667.
- Schluter, D. 2000. The ecology of adaptive radiation. Oxford University Press, Great Britain.

- Sokal, R.R. & J.F. Rohlf. 1995. Biometrics 3rd ed. Freeman and Company, New York
- Sultan, S.E. 2001. Phenotypic plasticity for fitness component in *Polygonum* species of contrasting, ecological breadth. *Ecology* 82: 328-343.
- Tilmon, K.J., T.K. Wood & J.D. Pesek. 1998. Genetic variation in performance traits and the potential for host shifts in *Enchenopa* Treehoppers (Homoptera: Membracidae). *Annals of Entomological Society of America* 91: 397-103.
- Traicevski, V. & S.A. Ward. 2002. The effect of past and current hosts on reproductive investment by the adult cowpea aphid *Aphis craccivora*. *Ecological Entomology* 27: 601-607.
- Van Emden, H.F. 1966. Studies on the relations of insect and host plant. III. A comparison of the reproduction of *Brevicoryne brassicae* and *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) on brussels sprout plants supplied with different rates of nitrogen and potassium. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 9: 44-460.
- Via, S. & R. Lande. 1985. Genotype-environment interactions and the evolution of phenotypic plasticity. *Evolution* 39: 505-522.
- Via, S. 1984. The quantitative genetics of polyphagy in an insect herbivore. II. Genetic correlations in larval performance within and among host plants. *Evolution* 38: 896-905.
- Via, S. 1991. Genetic structure of host plant adaptation in spatial patchwork: demographic variability among reciprocally transplanted pea aphid clones. *Evolution* 45: 827-852.
- Via, S. 2002. The ecological genetics of speciation. *The American Naturalist* 159: S1-S7.

- Ward, S.A., S.R. Leather, J. Pickup & R. Harrington 1998. Mortality during dispersal and the cost of host specificity in parasites: how many aphids find host? *Journal of Animal Ecology* 67: 763-773.
- Weber, G. 1985. Genetic variability in host plant adaptation of the green peach aphid, *Myzus persicae*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 38: 49-56.
- Wolf, J.B. 2000. Gene interactions from maternal effects. *Evolution* 54: 1882-1898.

Table 1. Analysis of variance for the age at first reproduction, number of nymphs and longevity of *Brevicoryne brassicae* in two host species (*Brassica oleracea* and *B. campestris*) in a reciprocal transplant experiment.

Variable	Source of variation	MS	d.f.	F	P
Age at first reproduction	Source host (SH)	0.0002	1	0.057	0.81
	Recipient host (RH)	0.021	1	4.671	0.035
	SH*RH	0.0027	1	0.59	0.44
	Error	0.0046	49		
Number of nymphs	Source host (SH)	0.002	1	0.467	0.497
	Recipient host (RH)	0.320	1	6.675	0.013
	SH*RH	0.051	1	1.07	0.306
	Error	0.048	49		
Reproductive span	Source host (SH)	0.022	1	0.827	0.367
	Recipient host (RH)	0.0181	1	0.674	0.415
	SH*RH	0.0021	1	0.079	0.779
	Error	1.321	49		
Reproductive rate	Source host (SH)	0.051	1	0.044	0.837
	Recipient host (RH)	22.765	1	19.464	<0.0001
	SH*RH	0.692	1	0.591	0.445
	Error	57.311	49		

Table 2. Analysis of selection on the age at first reproduction and reproductive life of *Brevicoryne brassicae* in two host species. **A.** Standardized coefficients (β) from linear regression represent the directional selection gradients. **B.** Analysis of variance and adjusted r^2 for the multiple regression model

-A-				
Recipient host	Character	Coefficient $\beta \pm SE$	<i>t</i>	<i>P</i>
<i>B. campestris</i>	Intercept	1.00 \pm 0.0358	27.93	<0.0001
	Age first reproduction	-0.0046 \pm 0.035	0.13	0.8259
	Reproductive span	0.1086 \pm 0.036	2.97	0.0066
<i>B. oleracea</i>	Intercept	1.00 \pm 0.077	12.10	<0.0001
	Age first reproduction	-0.219 \pm 0.080	-2.58	0.011
	Reproductive span	0.245 \pm 0.080	2.87	0.0055

-B-							
Recipient host	Source	SS	MS	<i>df</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	r^2 adj.
<i>B. campestris</i>	Model	0.306	0.153	2	4.42	0.023	0.208
	Error	0.830	0.034	24			
	Total	1.137					
<i>B. oleracea</i>	Model	3.148	1.574	2	10.12	<0.001	0.420
	Error	3.578	0.156	23			
	Total	6.726					

Table 3. Analysis of variance for effect of maternal host on life histories traits of *Brevicoryne brassicae* in two host species (*Brassica oleracea* and *B. campestris*)

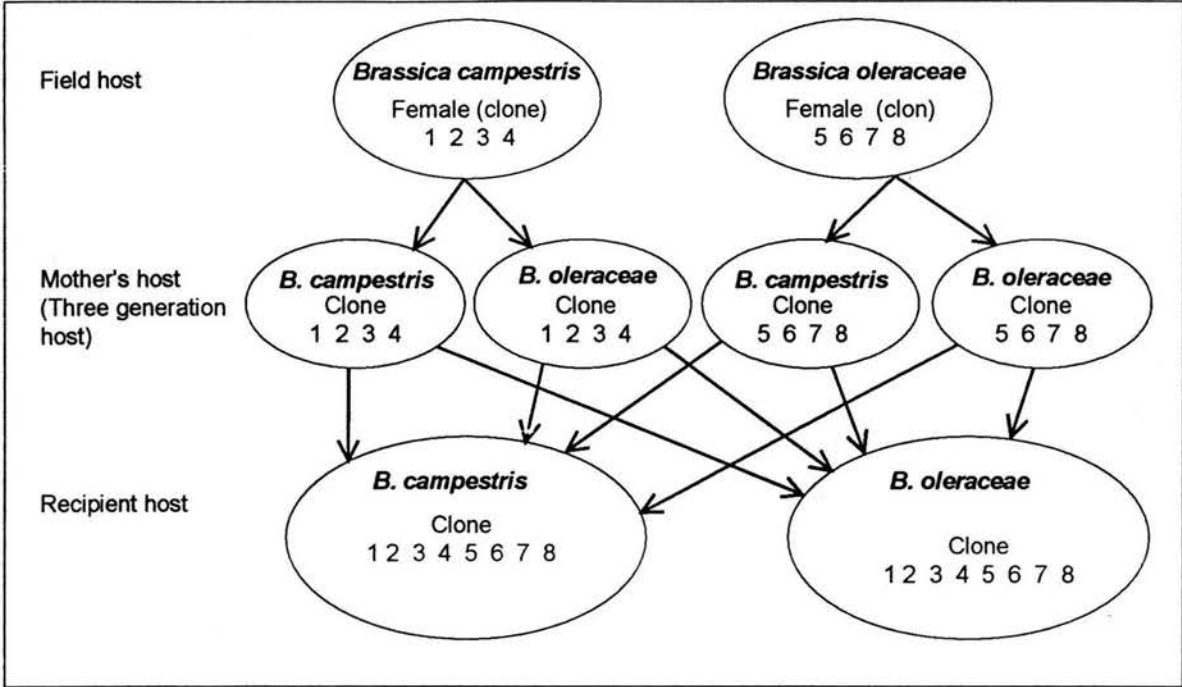
Life history traits	Source of variation	MS	d.f.	F	P
A. Recipient host: <i>Brassica campestris</i>					
Age at first reproduction	Clone (C)	20.849	4	0.767	0.55
	Maternal host (MH)	3.921	1	0.144	0.70
	MH*C	12.006	4	0.442	0.77
	Error	597.466			
Number of nymphs	Clone (C)	635.402	4	0.970	0.44
	Maternal host (MH)	462.268	1	0.706	0.41
	MH*C	262.923	4	0.401	0.81
	Error	654.487	22		
B. Recipient host: <i>Brassica oleracea</i>					
Age at first reproduction	Clone (C)	25.881	3	0.545	0.66
	Maternal host (MH)	0.124	1	0.002	0.96
	MH*C	69.529	3	1.464	0.277
	Error		11		
Number of nymphs	Clone (C)	446.270	3	5.098	0.02
	Maternal host (MH)	0.854	1	0.009	0.90
	MH*C	510.225	3	5.830	0.01
	Error	962.750	11		

Fig. 1. Design of the reciprocal transfer experiment to estimate the maternal host effect on performance of clones of *Brevicoryne brassicae* on *Brassica oleraceae* and *Brassica campestris*.

Fig. 2. Success in establishment (+ 1 confidence interval 95%) (A), mean values (+1SE) for the age at first reproduction (B), reproductive span (C), and total number of nymphs (D), of *Brevicoryne brassicae* measured in a reciprocal transplant experiment.

Fig. 3. Effect of maternal host on performance of seven clones of *Brevicoryne brassicae*. Success in establishment (+ 1 confidence interval 95%), mean values (+1SE) for the age at first reproduction and total number of nymphs (C) on recipient host *Brassica campestris* and *Brassica oleraceae*

Fig. 1



Ruiz-Montoya and Núñez-Farfán Figure 2

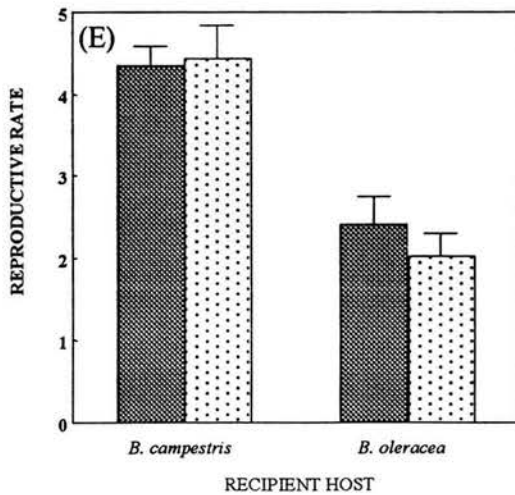
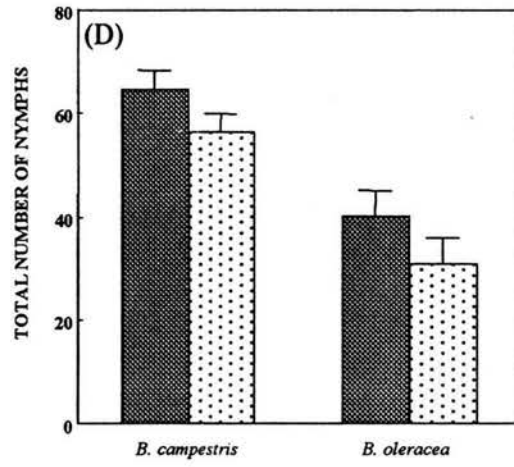
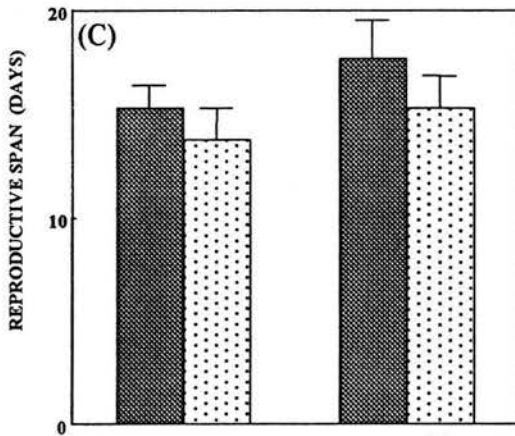
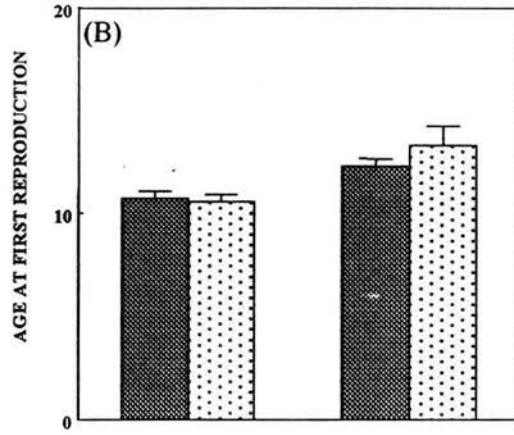
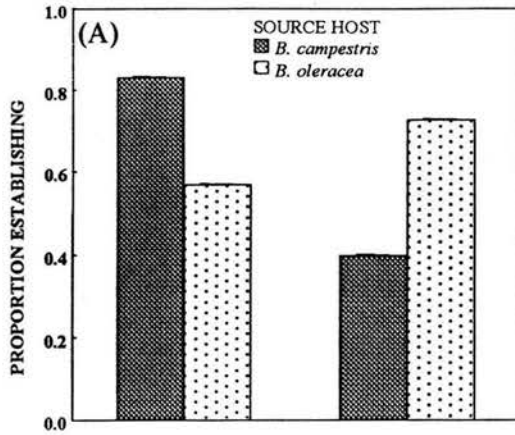
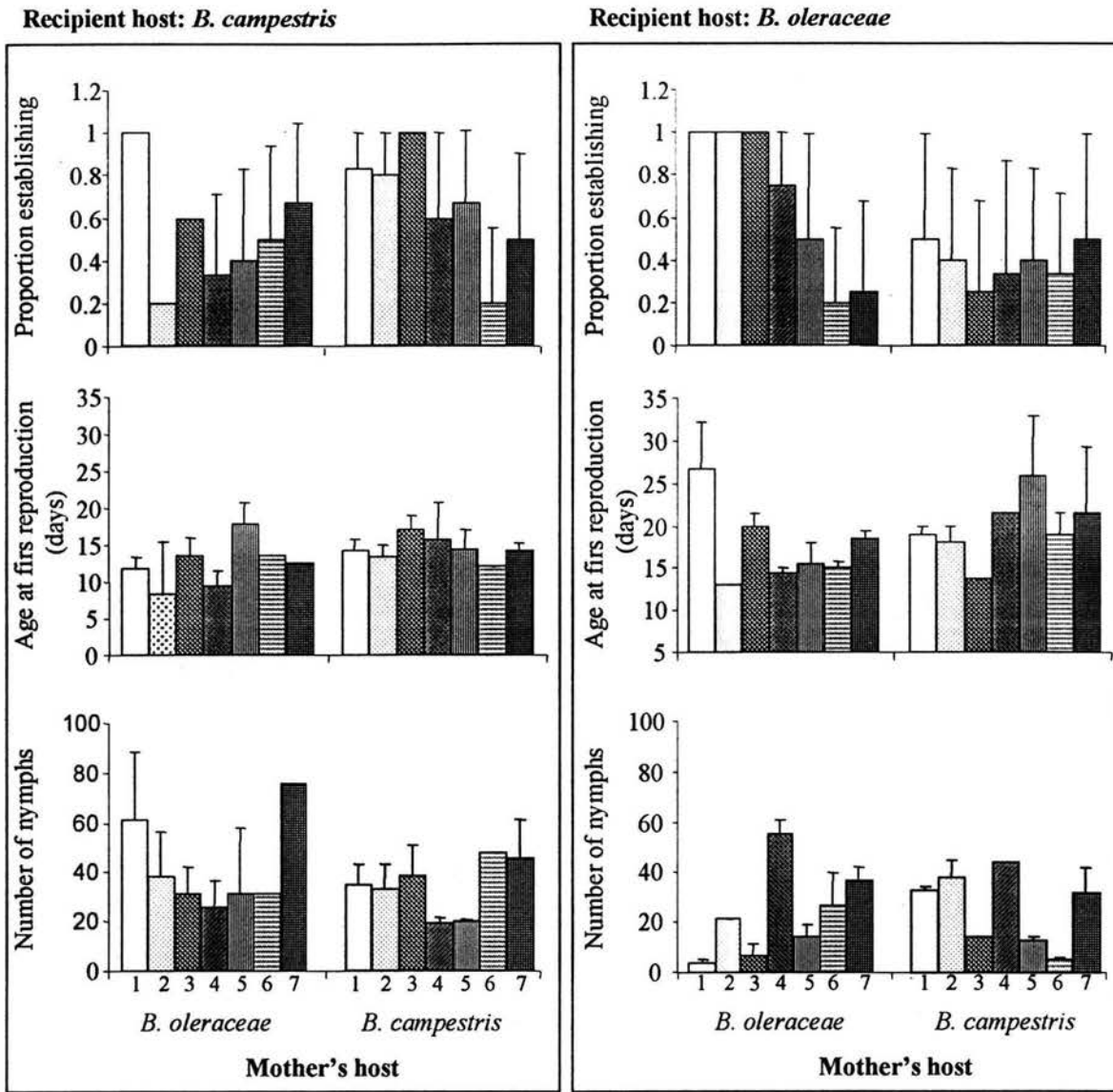


Fig.3



**Compromisos (trade-offs) y plasticidad fenotípica en
caracteres de historia de vida de poblaciones de *Brevicoryne
brassicae* (Homoptera: Aphididae) asociadas a dos especies de
Brassicaceae**

Lorena Ruiz-Montoya^{1,2}

¹ Posgrado en Ciencias Biológicas, Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, Distrito Federal, México

²El Colegio de la Frontera Sur, San Cristóbal de las Casas, Chiapas, México Carretera Panamericana y Periférico Sur s/n, C.P. 29290 San Cristóbal de las Casas, Chiapas, México.

E-mail: lruiz@sclc.ecosur.mx.

Resumen

En este trabajo se aborda el fenómeno de adaptación local en condiciones de simpatria, utilizando como sistema a *Brevicoryne brassicae* L. (Homoptera: Aphididae) y dos de su plantas hospederas con distribución simpátrica en Los Altos de Chiapas, *Brassica campestris* y *Brassica oleracea*. La adaptación local de los insectos fitófagos a las plantas es posible si existe variación genética sobre la cual pueda actuar la selección natural, si ésta favorece fenotipos distintos en cada huésped, entonces se espera la presencia de compromisos (trade-offs) entre caracteres expresados en dos huéspedes. Sin embargo, si ocurre plasticidad fenotípica, tal que los genotipos expresan el fenotipo más ajustado a cada huésped, entonces la plasticidad fenotípica puede ser una limitación al proceso de adaptación local de los insectos a las plantas. Mediante un experimento de transferencia recíproca de clones de *Brevicoryne brassicae* se determinó: (1) la existencia de variación genética en edad a la primera reproducción, número de ninfas y establecimiento en las poblaciones de *Brevicoryne brassicae* asociadas a las dos plantas huésped, (2) el tipo e intensidad de selección sobre la edad a la primera reproducción en las dos especies huésped, (3) las correlaciones genéticas de los caracteres de historia a través de los huéspedes, y (4) se estimó el tipo e intensidad de selección sobre la plasticidad fenotípica. Los resultados indicaron la presencia de variación genética en los caracteres de historia de vida en las dos plantas huésped. Se encontró selección fuerte sobre edad a la primera reproducción en *B. campestris* ($\beta=-0.232$). Se obtuvieron correlaciones genéticas positivas pero no fueron significativamente distintas de cero. El análisis de selección sobre los estimadores de la plasticidad mostró que la selección favorece a un fenotipo que se ajuste a las dos especies. En general los resultados indican que existe variación genética en los caracteres de historia de vida y selección direccional sobre la edad a la primera reproducción, lo cual implica que es probable la ocurrencia de un proceso de especialización de *Brevicoryne brassicae*. Sin embargo, las correlaciones no evidenciaron dicha especialización. La plasticidad fenotípica observada probablemente es producto de la selección en cada huésped, y podría ser una limitación al proceso de especialización de *Brevicoryne brassicae*.

Palabras clave. Adaptación local, interacción planta-insecto, selección natural, correlaciones genéticas, trade-off, *Brevicoryne brassicae*,

Introducción

Es frecuente que algunas poblaciones de insectos se especialicen a determinadas especies de plantas (Jaeneke 1990, Mitter et al. 1991, Fry 1996, Mopper y Strauss 1998, Tilmon et al. 1998, Schoonhoven 1999). Por especialización se entiende que los insectos reúnen características (morfológicas, fisiológicas, conductuales) que impactan positivamente la adecuación en una especie de planta pero no en otra. En otras palabras, la especialización implica que la selección natural ha estado promoviendo la adaptación de los organismos a las condiciones ambientales que las plantas les imponen (Diehl y Bush 1984).

En la última década se ha puesto gran interés en la adaptación local de los insectos a las plantas en condiciones de simpatria, debido a que se considera una fase incipiente de la especiación simpátrica (Bush 1994, Via 2002, Berlocher y Feder 2002). La especiación simpátrica ocurre cuando se forman dos o más especies a partir de la divergencia genética y fenotípica de una sola población, cuyo aislamiento reproductivo (de las poblaciones producidas) se da sin la intervención de barreras físicas que impidan el libre flujo génico (Kondrashov y Kondrashov 1999). Este modelo de especiación, sin embargo, se ha considerado infrecuente en la naturaleza (ver Berlocher y Feder 2002, Via 2002), debido principalmente a que las condiciones genéticas necesarias para ello parecen difíciles de cumplirse (Mayr 1976, Maynard Smith 1966). Teóricamente la especiación simpátrica puede ser activada si existe polimorfismo estable y posteriormente se promueve un aislamiento reproductivo (Maynard Smith 1966, Dickinson y Antonovics 1973). El polimorfismo puede presentarse si la selección favorece fenotipos distintos en cada huésped (selección disruptiva), mientras que el aislamiento reproductivo puede promoverse por un desequilibrio de ligamiento entre preferencia y desempeño (Mayr 1976, Berlocher y Feder 2002, Drès y Mallet 2002) o como producto secundario de la adaptación local

(Nosil et al. 2002).

Si la selección natural favorece fenotipos distintos en cada huésped entonces cabría esperar la existencia de compromisos (trade-offs) o restricciones genéticas (Via 1991). Esto es porque los genes que codifican un carácter tienen un efecto positivo sobre la adecuación en un huésped pero tendrán un efecto negativo en otro (Rahusher 1984, Via 1991). Sorprendentemente, pese a que la especialización de los insectos es frecuentemente documentada, muy pocos estudios han detectado las correlaciones genéticas esperadas (ver Joshi y Thompson 1995, Fry 1990, 1996; excepto Vía 1991). Sin embargo, la ausencia de correlaciones genéticas no implica que no ocurra la adaptación local en simpatria (Fry 1996), y en todo caso los estudios dejan ver que aún no se tiene claridad sobre cuáles son las condiciones ecológicas que favorecen o limitan la adaptación local en simpatria en la naturaleza.

La plasticidad fenotípica puede ser una limitación al proceso de adaptación local a los huéspedes en simpatria (Fry 1996). Esta limitación es porque varios genotipos pueden expresar el mismo fenotipo o disminuir las diferencias fenotípicas entre ellos y de esta manera no son percibidos por la selección natural (Via y Lande 1985, Bazzas y Sultan 1987). Al evitar la acción de la selección natural los genotipos permanecen en la población y en consecuencia la variación genética para el uso de más de un huésped puede ser mantenida. Si la plasticidad es el mecanismo por el cual es posible el uso de más de un huésped disponible, entonces la plasticidad puede ser adaptativa y estar bajo la influencia de la selección natural (Via y Lande 1985, Kondrashov & Kondrashov 1999, Shlichting y Piglucci 1998).

En este trabajo se explora el fenómeno de adaptación local de *Brevicoryne brassicae* (Homoptera: Aphididae) a dos de sus plantas más comunes en Los Altos de Chiapas, *Brassica oleraceae* y *B. campestris*. Las especies difieren en contenido de glucosinolatos (Kjaer 1976) y

nitrógeno (L. Ruiz-Montoya, datos no publicados), así como en características morfológicas (Rollin 1993). Estas diferencias podrían implicar que cada huésped impone diferente régimen selectivo sobre *Brevicoryne brassicae*, y si existe variación genética, podría estar ocurriendo adaptación local. Se cuenta con evidencia de que las poblaciones asociadas a cada huésped difieren morfológicamente (Capítulo 2) y genéticamente (Ruiz-Montoya et al. 2003). Asimismo, se sabe que las poblaciones experimentan selección fuerte durante la fase de colonización consistente con un patrón de adaptación local (Ruiz-Montoya y Núñez Farfán 2003). Sin embargo estudios sobre el desempeño indican que *Brevicoryne brassicae* en Los Altos podría estar especializado a *B. campestris* (Ruiz-Montoya y Núñez Farfán 2003). Por otra parte, en la región de estudio *Brevicoryne brassicae* se reproduce preferentemente por partenogénesis. Esta forma de reproducción podría también implicar una situación en la que la plasticidad fenotípica puede ser fundamental para el mantenimiento de la variabilidad genética de *Brevicoryne brassicae*, necesaria para el uso de las dos especies huéspedes. En este trabajo se desarrollaron clones de *Brevicoryne brassicae* colectados en ambas especies huésped y se hizo un experimento de transferencia recíproca de organismos de los clones con propósito de determinar: (1) si existe diferenciación genética en el desempeño entre áfidos que usan diferentes especies huéspedes y si tal diferenciación involucra adaptación local, (2) si la intensidad y dirección de la selección sobre caracteres de historia de vida difiere entre huéspedes, (3) si ocurren compromisos en los caracteres de historia de vida expresados los dos huéspedes, y (4) si existe selección sobre la plasticidad fenotípica.

Materiales y métodos

Especies hospederas. *Brassica campestris* y *B. oleraceae* fueron introducidas a México hace aproximadamente 450 años (Rollins 1993). En las últimas cinco décadas *B. oleraceae* ha sido cultivada en Los Altos de Chiapas durante el invierno y primavera (diciembre-marzo) (Trujillo-Vázquez y García-Barrios 2001). *B. campestris* no es propiamente cultivada, es ruderal cuyo crecimiento es tolerado dentro o en los bordes de los campos de cultivo de *B. oleracea*, maíz, papa o calabaza y en los campos abandonados.

Las plantas de estas especies hospederas que se usaron para el desarrollo de clones o genotipos, y para el experimento de transferencia recíproca, se obtuvieron de semillas colectadas en campo en junio del 2000 en la localidad de Teopisca (92°28'25" Este; 16°38'19" Norte; 1800 m snm; 17.25°C temperatura media anual; 700 mm precipitación media anual). Las semillas de *B. campestris* se recolectaron sobre diez plantas crecidas en campos abandonados, y las semillas de *B. oleraceae* fueron proporcionadas por un productor. Las semillas fueron directamente sembradas en macetas (de 20 cm diámetro y 30 cm de profundidad) con suelo procedente de bosques de pino-encino, sin fertilización y regadas cada cuatro días. Cada maceta fue cubierta con tela de organza y colocadas en un invernadero a temperatura y fotoperiodo ambiental (12 horas luz, y a una temperatura media diaria de 16°C). Cuando las plantas tuvieron un mes de haberse sembrado fueron utilizadas para el desarrollo de las clones y para el experimento de transferencia recíproca.

Biología y desarrollo de clones de *Brevicoryne brassicae* L. El pulgón cenizo de la col, *Brevicoryne brassicae*, se distribuye en las regiones templadas del mundo y se alimenta exclusivamente de especies de Cruciferae (Blackman y Eastop 2000). *Brevicoryne brassicae*

completa su ciclo de vida (fase sexual y asexual) en una sola especie de planta, no presenta alternancia de hospederas como ocurre en otras especies de pulgones o áfidos (Blackman y Eastop 2000). En Los Altos de Chiapas, *Brevicoryne brassicae* se alimenta de malezas y plantas cultivadas de Cruciferae. Se le encuentra con mayor frecuencia en *Brassica campestris* y *B. oleracea* cultivar capitata. La evidencia de campo sugiere que en esta región las poblaciones se mantienen principalmente por partenogénesis (L. Ruiz-Montoya, observación personal).

En mayo del 2001 se colectaron 20 hembras adultas sobre 20 plantas de cada especie huésped (total 40 hembras) en Teopisca. Las plantas estuvieron separadas por una distancia mínima de 10 m. Cada hembra fue transferida a una nueva planta de invernadero de la misma especie en la que se encontraba en campo (huésped nativo). Se permitió su reproducción y la de la descendencia durante tres generaciones. Cada hembra y su descendencia representaron un genotipo en el experimento de transferencia recíproca.

Experimento de transferencia recíproca. Seis ninfas de cada genotipo de cada huésped nativo se transfirieron a plantas individuales de *B. oleraceae* y otras seis a *B. campestris* (huésped receptor). Cada ninfa fue revisada diariamente para registrar la edad a la primera reproducción y el número de ninfas depositadas durante los primeros trece días de su vida reproductiva. Cuando una ninfa no se estableció se colocaba una nueva, hasta un máximo de tres intentos por planta. El establecimiento por genotipo fue estimado como la proporción de ninfas establecidas.

Análisis

El establecimiento fue analizado para cada población asociada a cada huésped nativo separadamente. La frecuencia de establecimiento fue analizada mediante un análisis de tablas de

contingencia log-lineal, donde las fuentes de variación fueron genotipos, huésped receptor y la interacción (Crawley 1986). El análisis fue ejecutado en el módulo de CATMOD del programa SAS. La edad a la primera reproducción y número de ninfas fue analizada mediante análisis de varianzas mixtos (Ayres y Thomas 1990, Fry 1992, Sokal y Rohlf 1995) cuyas fuentes de variación fueron huésped nativo (HN), genotipos anidados en huésped nativo (G(HN)), huésped receptor (HR), y las interacciones G(HN)xHR y HNxHR. El factor HN puede ser indicativo de que las poblaciones asociadas a cada especie huésped difieren significativamente en su desempeño general. El factor HR fue útil para conocer si la especie en la que se desarrollan modifica significativamente los caracteres de historia de vida. La interacción HNxHR puede ser interpretada como el efecto del ambiente de la madre sobre el desempeño de su descendencia (Rossiter 1998). El factor G(HN) fue probado sobre la varianza de la interacción G(HN)xHR como una estimación de la respuesta diferencial de los genotipos al huésped receptor; de ser significativa puede ser considerada como evidencia de adaptación local de las poblaciones a las plantas huésped, siempre y cuando los cambios del promedio sean en la dirección esperada (Ayres y Thomas 1990, Fry 1992, Windig 1997).

Correlaciones genéticas. La correlación genética negativa entre un carácter expresado en dos o más especies huésped puede ser un indicador de la adaptación local de las poblaciones a cada especie huésped. Esto parte del supuesto de que los alelos que determinan el rasgo pueden incrementar la adecuación en uno de las especies, pero no en dos o más huéspedes simultáneamente, esto es, existe un compromiso (trade-off) en el desempeño en más de un huésped (Rausher 1984, Vía 1991, Windig 1997, Roff 1992). Generalmente las correlaciones genéticas son estimadas entre dos caracteres expresados en un mismo individuo (Falconer y

Mackay 1996). Debido a que no es posible tener un valor de edad a la primera reproducción y número de ninfas en las dos especies para un mismo individuo, la correlación genética fue estimada mediante una correlación de Pearson de los promedios de cada genotipo en cada uno de los ambientes (Falconer y Mackay 1996, Roff 1992, Vía 1984, 1991). La correlación fue obtenida

mediante la siguiente relación: $r_g = \frac{COV(X,Y)}{\sqrt{VAR(X)VAR(Y)}}$ donde el subíndice g indica la varianza o

covarianza de la media de los genotipos; X y Y se refieren al estado promedio de un carácter en las dos especies huésped probadas. Por ejemplo, X se refiere a la edad de la primera reproducción registrada en *B. campestris* y Y se refiere al mismo carácter pero observado en *B. oleraceae*. Para normalizar los datos la edad a la primera reproducción y número de ninfas los datos fueron transformados a su logaritmo. Para los valores de establecimiento se usó una transformación de arcoseno $\sqrt{p_i}$, donde p_i es la proporción de establecimiento por genotipo.

Análisis de selección natural. El análisis de selección fue realizado conforme al método de Lande y Arnold (1983), el cual consiste en una regresión múltiple lineal y cuadrática de uno o más caracteres de los individuos contra la adecuación relativa de los mismos. Los coeficientes de la regresión lineal son estimadores de la magnitud y dirección de la selección direccional. Los coeficientes de los términos cuadráticos son estimadores de la selección disruptiva o estabilizadora, y las interacciones indican una selección correlativa de los caracteres (Lande y Arnold 1983).

El análisis de selección se hizo para cada especie huésped receptor y como covariable el huésped nativo. Este permitió saber si la selección actúa de manera diferencial sobre las poblaciones de acuerdo a su origen. En este sentido es de esperarse que la selección sea de mayor

intensidad sobre las poblaciones que proceden de un huésped alterno o foráneo. Se estimó la selección sobre edad a la primera reproducción y el componente de adecuación fue el número de ninfas. Los datos de edad a la primera reproducción fueron estandarizados de acuerdo al huésped receptor, asimismo el número de ninfas de cada individuo fue hecho relativo al promedio de la población.

Selección sobre la plasticidad fenotípica. Para saber cómo podría actuar la selección sobre la plasticidad se realizó un análisis de selección sobre dos atributos de la plasticidad: el valor medio del carácter y la diferencia de las medias (de Jong 1990, Gavrilets y Scheiner 1993a). La diferencia de las medias de cada ambiente por genotipos representa la plasticidad fenotípica del carácter, la cual es equivalente a la pendiente las normas de reacción (representación gráfica de la plasticidad) cuando éstas siguen una función lineal (de Jong 1990, Gavrilets y Scheiner 1993a). La media de los promedios obtenidos en cada ambiente representa el carácter promedio, interpretado como el valor central u óptimo que puede tener un carácter (Via y Lande 1985, de Jong 1990, Gavrilets y Scheiner 1993b). Se realizó un análisis de selección por el método de regresión múltiple (Lande y Arnold 1983) sobre estos parámetros para reconocer si la selección favorece a la plasticidad o el valor medio de un carácter. Como la respuesta de la plasticidad a la selección puede estar correlacionada con la respuesta del carácter medio, el análisis de selección se realizó mediante una regresión múltiple de la plasticidad (diferencia de las medias de los huéspedes), y carácter promedio (promedio de las medias en los huéspedes), contra la adecuación relativa. La estimación de la adecuación se realizó obteniendo para cada genotipo el promedio de las medias del número de ninfas en cada huésped. Este valor representó la adecuación absoluta de un

genotipo con una plasticidad (diferencia de las medias) y un carácter medio (promedio de las medias).

Resultados

Desempeño. El desempeño de *Brevicoryne brassicae* fue en general mayor en *B. campestris* que en *B. oleraceae*. El establecimiento fue 10% más alto en *B. campestris* que en *B. oleraceae*. *Brevicoryne brassicae* se reprodujo más temprano (cinco días antes) y mayormente (10% más) en *B. campestris* que en *B. oleraceae* (Figura 1). El análisis de varianza, considerando las poblaciones asociadas a los dos huéspedes nativos simultáneamente, detectó diferencias significativas entre genotipos (G(HN)) para la edad a la primera reproducción y número de ninfas, lo que indica presencia de variación genética en estos caracteres. Asimismo, se observó un efecto significativo del huésped receptor sólo en número de ninfas, y ninguna de las interacciones fue significativa para cualquiera de las características (Cuadro 1). En el establecimiento fue significativo el efecto del huésped para las dos poblaciones asociadas a cada huésped nativo (Cuadro 2).

Cuando el análisis de varianza fue ejecutado separadamente en cualquiera de las plantas huéspedes nativas se encontraron diferencias significativas entre genotipos en la edad a la primera reproducción, un efecto significativo del huésped receptor y de la interacción G (HN)xHR en el número de ninfas en la población asociada a *B. campestris* (Cuadro 3). En cambio en el huésped nativo *B. oleraceae* ninguno de los factores tuvo efecto sobre edad a la primera reproducción, y se detectaron efectos significativos de HR y G (HN) sobre el número de ninfas (Cuadro 3).

Correlaciones genéticas. Los genotipos expresaron diferentes valores promedio tanto en la edad a la primera reproducción como en el número de ninfas en las dos especies huéspedes (Figura 2). Algunos genotipos mostraron un desempeño más alto en la especie huésped distinto a la nativa. La correlaciones genéticas a través de los huéspedes, tanto de edad a la primera reproducción como número de ninfas, fueron positiva pero no diferentes de cero (Figura 3). Para establecimiento se detectó una correlación genética negativa muy baja ($r=-0.019$), que tampoco fue significativamente diferente de cero (Figura 2).

Selección natural en cada huésped receptor. En el huésped receptor *B. campestris* se detectó selección direccional sobre edad a la primera reproducción. El análisis reveló una relación negativa entre edad a la primera reproducción y la adecuación (Cuadro 3B), indicando que la selección favorece a aquellos individuos que se reproducen tempranamente (Cuadro 4A). El análisis de covarianza no detectó diferencias en los gradientes de selección entre huéspedes nativos. En el huésped de prueba *B. oleraceae* no fue detectado algún tipo de selección (Cuadro 4A).

Selección sobre la plasticidad fenotípica. La plasticidad fenotípica en todos los caracteres estudiados fue evidente en la representación gráfica de las normas de reacción, así como variación genética en la plasticidad (Figura 2). Sin embargo, la interacción $G(HN) \times HR$, indicativa de plasticidad y de variación genética de la plasticidad, fue significativa sólo para el número de ninfas en los genotipos procedentes de *B. campestris* (Cuadro 3). El análisis de selección mostró una baja pero significativa selección direccional sobre la expresión media (promedio de las medias) de edad a la primera reproducción, y no se detectó selección sobre la plasticidad de este carácter

(diferencia de medias), ni selección sobre los caracteres correlacionadas (Cuadro 4A). La relación entre el valor medio de la edad a la primera reproducción y la adecuación fue negativa, indicando que los valores fenotípicos medios bajos presentan la mayor adecuación.

Discusión

Se registró variación genética y selección direccional sobre la edad a la primera reproducción de *Brevicoryne brassicae* en la población asociada a *B. campestris*, y hubo variación genética en el número de ninfas en la población asociada a *B. oleraceae*. Las normas de reacción sugieren que los genotipos respondieron diferencialmente a las plantas sin embargo el análisis de varianza no reveló plasticidad fenotípica significativa. Consistentemente, no fue reconocido algún tipo de selección sobre el estimador de plasticidad (diferencia de las medias en cada huésped), pero sí sobre la media del carácter. Asimismo, no se encontraron correlaciones genéticas negativas de la expresión de los caracteres en los dos huéspedes, lo que significa que no se revelaron los compromisos esperados e indican que los genes que codifican las características en cada especie huésped son probablemente diferentes. La selección natural incrementa la adecuación en cada huésped, y al mismo tiempo ocurre selección a favor de genotipos generalistas, es decir genotipos que puedan alimentarse de las dos plantas, probablemente con el costo de subutilizar una de las dos plantas. No obstante que no fue posible obtener evidencia estadística de la ocurrencia de plasticidad, esta no se descarta como un mecanismo para mantener la variabilidad genética que permite la alimentación de las dos especies huésped.

El análisis de varianza, tomando separadamente las especies receptoras reveló que la población de *Brevicoryne brassicae* en Teopisca puede estar estructurada genéticamente en

función del huésped que usan. Se encontraron diferencias significativas entre genotipos en edad a la primera reproducción en la población asociada a *B. campestris* pero no en la población asociada a *B. oleraceae*, lo que indica que se expresa variación genética en ese carácter en *B. campestris* y la selección puede actuar libremente, lo cual parece que no es probable en *B. oleraceae*. Para el número de ninfas no hubo diferencias significativas entre los genotipos en la población asociada a *B. campestris*, sin embargo no se descarta la presencia de variación genética, ya que la interacción G(HN)xHR fue significativa. En contraste, se expresó variación genética en la población de *B. oleraceae*. Este hallazgo de que las poblaciones estén genéticamente estructuradas por el huésped es consistente con los resultados del análisis de la estructura genética mediante marcadores enzimáticos, donde se reveló una diferenciación genética de las poblaciones asociadas a estas especies de plantas en varias localidades de Los Altos de Chiapas, incluyendo la población de Teopisca (Ruiz-Montoya et al. 2003).

Un resultado interesante surgió del análisis del éxito en el establecimiento el cual es dependiente del genotipo, de la especie nativa y de la especie receptora y de las interacciones de estos factores. Esta fase de la interacción de *Brevicoryne brassicae* con sus plantas hospederas en Teopisca parece ser altamente crítica, al igual que se observó en la población de la localidad de Balún, ubicada en la misma región de Los Altos de Chiapas (Ruiz-Montoya y Núñez-Farfán 2003). El éxito en el establecimiento puede ser interpretado como preferencia por un huésped y su relación genética con los componentes de la adecuación puede ser importante en el eventual proceso de aislamiento reproductivo de las poblaciones asociadas a *B. campestris* y *B. oleraceae* (Mayr 1976, Calliaud y Vía 2000, Berlocher y Feder 2002). Con el propósito de conocer la relación genética del establecimiento con edad a la primera reproducción y número de ninfas calculé las correlaciones genéticas entre estos caracteres. Ninguna de las correlaciones fueron

significativamente distintas de cero, lo que indica que el establecimiento no se relaciona genéticamente con los caracteres de historia de vida. Por lo que es posible que los genotipos con la mayor probabilidad de establecimiento en cualquiera de las especies huésped, no necesariamente presentan el mayor desempeño. La falta de asociación podría implicar un obstáculo para la divergencia genética entre las poblaciones (Calliaud y Via 2000).

Selección natural. El análisis de selección detectó selección direccional sobre la edad a la primera reproducción en ambas plantas huésped, en la misma dirección pero en intensidad distinta. No hubo selección en contra de los organismos procedente del huésped distinto al del receptor. Estos resultados son consistentes con los encontrados en trabajos previos con esta especie con poblaciones ubicadas en la misma región de estudio (Ruiz-Montoya y Núñez-Farfán 2003). Hasta el momento no se tiene conocimiento de trabajos que hayan estimado la intensidad de selección en cada especie huésped en insectos fitófagos contra los cuales se puedan comparar los resultados.

La acción de la selección divergente sobre los insectos ha sido inferida a partir de la evaluación del desempeño de los insectos en diferentes huéspedes (Via 1991). La selección del tipo disruptiva ha sido considerada como la forma de selección que podría promover la divergencia adaptativa de las poblaciones simpátricas (Mayr 1976, Maynard Smith 1966). Los resultados del presente trabajo muestran la presencia de selección direccional en *B. campestris*, pero estudios previos han detectado esta forma de selección en *B. oleraceae*. Estos cambios en la intensidad o presencia de selección pueden llegar a promover una diferenciación genética entre las poblaciones (Weis et al. 1992). De hecho, es posible que la diferenciación genética observada en caracteres de historia de vida de *Brevicoryne brassicae*, se deba en parte a la diferencia en intensidad de selección en cada huésped, tanto en la población de Teopisca estudiada en el

presente trabajo, como en la población de Balún Canal de los estudios previos (Ruiz-Montoya y Núñez-Farfán 2003).

Correlaciones genéticas. El análisis de correlación entre estados de carácter expresados en las dos especies huésped reveló correlaciones genéticas positivas las cuales, sin embargo, no fueron estadísticamente distintas de cero. La ausencia de correlaciones genética en los caracteres de historia de vida de *Brevicoryne brassicae* expresados en las dos plantas huésped sugiere que los genes que codifican los atributos son diferentes en cada huésped (Via 1984, 1991, Falconer y Mackay 1996).

Este resultado incrementa la frecuencia de trabajos donde la correlación genética negativa no es detectada (Via 1984, Rausher 1984, Weber 1985, Jaenike 1989, ver Joshi y Thompson 1995, Futuyma et al. 1994, Fry 1996). Sin embargo, la ausencia de correlaciones genéticas negativas en la adecuación o sus componentes no es suficiente para descartar la presencia de compromisos (Fry 1996), y no se descarta la posibilidad de que no sean reconocidas las correlaciones esperadas debido a fallas en el diseño experimental. Por ejemplo, la alta variación observada dentro de un mismo genotipo de *Brevicoryne brassicae* revela que es necesario considerar un mayor número de organismos por genotipo en estudios futuros.

Las correlaciones genéticas observadas podrían indicar que las poblaciones de *Brevicoryne brassicae* no están localmente adaptadas a los huéspedes probados (Via 2001). Sin embargo la ausencia de correlaciones genética negativas no representan evidencia de que la divergencia genética entre las poblaciones no pueda ser activada y que con el transcurso de las generaciones resulte en especiación simpátrica (Fry 1996, Kawecki 1997). En las poblaciones de *Brevicoryne brassicae* se cuenta con evidencia de baja pero significativa diferenciación genética (Ruiz-

Montoya et al. 2003). Para derivar en una eventual especiación simpátrica sería necesario incrementar la diferenciación genética y la promoción de un aislamiento reproductivo. Ambos eventos parecen difíciles de ocurrir en estas poblaciones. La diferenciación podría surgir de una selección de mayor intensidad en cada huésped y/o por deriva genética, pero el efecto de ambos procesos puede ser disminuido por un flujo genético libre, el cual es altamente probable entre las poblaciones estudiadas. Algunos autores han señalado que el aislamiento reproductivo podría resultar de la correlación genética entre preferencia y el desempeño (referencias), pero no se encontró una correlación positiva entre estos caracteres.

Selección sobre la plasticidad fenotípica. La representación gráfica de las normas de reacción revelan que los genotipos expresan diferente fenotipo en cada huésped, sin embargo esta respuesta ambiental fue estadísticamente significativa sólo para el número de ninfas en la población asociada a *B. campestris* (G(HN)xHR). Es posible que debido a la alta variación fenotípica que ocurrió dentro de cada genotipo el análisis de varianza tuvo poco poder para detectar una G(HN)xHR significativa.

La plasticidad fenotípica y variación genética en la plasticidad, fue observada en el número de ninfas en la población asociada a *B. campestris* (Figura 1, Cuadro 3). La importancia evolutiva de la plasticidad fenotípica es que en un huésped dado varios genotipos pueden expresar el mismo fenotipo o disminuir las diferencias fenotípicas entre genotipos y de esta manera no son percibidos por la selección natural (Via y Lande 1985, Bazzas y Sultan 1987). Al evitarse la acción de la selección natural los genotipos permanecen en la población, y en consecuencia la variación genética puede ser mantenida. En este sentido la plasticidad puede tener importancia dual en

Brevicoryne brassicae, por un lado mantiene la variación genética y por otro limita la formación de poblaciones especializadas (Levins y MacArthur 1966, Windig 1994, Spitze y Sadler 1996).

Schlichting y Pigliuchi (1995) establecen la hipótesis de que la plasticidad fenotípica puede ser un carácter que está bajo la acción directa de la selección natural en ambientes heterogéneo. Otra visión es que la plasticidad es el resultado de la selección en dos ambientes (Via y Lande 1985, Via 1984). En este trabajo no se encontró selección sobre la plasticidad, y una selección moderada sobre el valor medio. Este resultado podrían indicar que la selección favorece un fenotipo que pueda ser igualmente exitoso en ambos ambientes (Rossiter 1987, Via y Lande 1985).

Adaptación local de *Brevicoryne brassicae* y especiación simpátrica. En general, los resultados sugieren que *Brevicoryne brassicae* se encuentra localmente adaptada a *B. campestris* en Teopisca, al igual que la población de Balún Canal (Ruiz-Montoya y Núñez Farfán 2003). Los resultados indican que existe variación genética sobre la cual la selección natural puede actuar y promover la adaptación local. Sin embargo, es posible que la plasticidad y el flujo génico imponen limitaciones a la selección natural en cada huésped, lo cual retrasa o impide la adaptación local.

Maynard Smith (1966) señala que una divergencia genética en poblaciones simpátricas es posible satisfaciendo primero un polimorfismo estable y que posteriormente se promueva un aislamiento a través de (1) que se favorezca el apareamiento entre organismos genéticamente similares cuya adecuación es mayor sólo en uno de los ambientes, (2) que exista preferencia por una de las especies, esto es que las hembras depositen su descendencia en la especie donde crecieron. Estudios recientes sugieren, adicionalmente, que el aislamiento reproductivo en

simpatria puede ser altamente favorecido si existe un desequilibrio de ligamiento entre preferencia y sobrevivencia (Rausher 1984, Kagata y Ohgushi 2001).

En especies de áfidos donde existe la fase de reproducción sexual y asexual y con alternancia de huésped, se ha visto especificidad sólo en la fase sexual y se debe a que los migrantes (formas sexuales o sexúparas¹) muestran preferencia por la especie huésped donde nació (Hardie et al. 1995, Sandström y Pettersson 2000). Las observaciones hechas sobre el ciclo de vida de *Brevicoryne brassicae* indican que su ciclo es preferentemente partenogenético, constituido de las formas áptera y aladas (L. Ruiz-Montoya, observación personal). Algunos estudios sobre los patrones de reconocimiento del huésped indican que *Brevicoryne brassicae* muestra preferencia por algunas especies de plantas (Gabrýs y Pawluk 1999). Los resultados de establecimiento podrían indicar que las formas ápteras de *Brevicoryne brassicae* tienen preferencia por uno de los huéspedes, pero sólo estudios realizados para este propósito podrían soportar esta hipótesis.

Sin embargo, se sabe que la dispersión de las formas partenogenéticas, ápteras y aladas, es esencialmente aleatoria (Wool et al. 1997, Dixon 1998, Ward et al. 1998). La distinción del huésped por parte de los áfidos es hecha una vez que el áfido está sobre la planta (Hardie et al. 1995). Si la planta es preliminarmente aceptada, entonces introduce los estiletes y dependiendo de razones aún no claras, puede permanecer sobre la planta alimentarse y reproducirse, o bien después de un determinado tiempo deja la planta (Hardie et al. 1995, Caillaud 1999, Powell et al. 1999, Bernays y Funk 2000, Caillaud y Via 2000, Ponder et al. 2000). En este escenario la densidad y distribución las plantas puede jugar un papel muy importante en la interacción de *Brevicoryne brassicae* con sus plantas huéspedes (Holdren y Ehrlich 1982, Ward et al. 1998).

Otros factores que pueden ser relevantes en promover o disminuir la divergencia de las poblaciones son la presencia, densidad y eficiencia de los depredadores y parasitoides (Bernays 1989, Hacker & Bertness 1995, Mopper et al. 1995). Estudios que consideren dichos factores podrían ayudar a explicar el patrón de la variación genética y fenotípica observada en *Brevicoryne brassicae*.

Agradecimientos

Agradezco a Manuel Girón Intzín su asistencia durante la colecta de los organismos y en el desarrollo del experimento. A Juan Núñez-Farfán, César Domínguez, Jorge Sarquís, Pablo Liedo, Martín Aluja, Carlos Cordero, Fabián Vargas y Rodolfo Dirzo les agradezco las sugerencias para mejorar este manuscrito. Este trabajo fue posible gracias al apoyo del CONACYT a través del financiamiento del proyecto 31543-B y de la beca 990039-DO para obtención del doctorado de LRM. Este trabajo es un requisito parcial de la tesis de doctorado de LRM.

Referencias

- Ayres, M.P. & D.L. Thomas. 1990. Alternative formulations of the mixed-model anova applied to quantitative genetics. *Evolution* 44: 221-226.
- Bazzaz, F.A. & S.E. Sultan. 1987. Ecological variation and the maintenance of plant diversity. En: Urbanska K. (ed.). *Differentiation Patterns in Higher Plants*. Academic Press, Orlando. Páginas 69-93

¹ Morfotipo alado cuya descendencia son el macho y la hembra ovípara y son depositados en la hospedera primera (planta donde se lleva a cabo la reproducción sexual)

- Bernays, E.A. & D.J. Funk. 2000. Electrical penetration graph analysis reveals population differentiation of host-plant probing behaviors within the aphids species *Uroleucon ambrosiae*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 97: 183-191.
- Bernays, E.A. 1989. Host range in phytophagous insects: the potential role of generalist predators. *Evolutionary Ecology* 3: 299-311.
- Blackman, R.L. & V.F. Eastop. 2000. Aphids on the world's crops. An identification and information guide. 2nd Edit. Wiley, London.
- Bush, G.L. 1994. Sympatric speciation in animals: new wine in old bottles. *Trends in Ecology and Evolution* 9:285-288.
- Caillaud, M.C. & S. Via. 2000. Specialized feeding behaviour influences both ecological specialization and assortative mating in sympatric host races of pea aphids. *The American Naturalist* 156: 606-621.
- Caillaud, M.C. 1999. Behavioural correlates of genetic divergence due to host specialization in the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 91: 227-232.
- de Jong, G. 1990. Quantitative genetics of reaction norms. *Journal of Evolutionary Biology*. 3: 447-468.
- Dickinson, H. & J Antonovics. 1973. Theoretical considerations of sympatric divergence. *The American Naturalist* 107: 256-274.
- Diehl, S.R. & G.L. Bush. 1984. An evolutionary and applied perspective of insect biotypes. *Annual Review of Entomology* 29: 471-504.
- Dixon, A.F.G. 1998. *Aphid Ecology*. Chapman & Hall, Gran Bretaña.

- Drès, M. & J. Mallet. 2002. Host races in plant-feeding insects and their importance in sympatric speciation. *Philosophical Transactions of Royal Society of London (Biological Sciences)* 357: 471-492.
- Ehrlich, P.R. & P.R. Raven. 1964. Butterflies and plants: a study in coevolution. *Evolution* 18: 586-608.
- Falconer, D.S. & T.F.C. Mackay. 1996. *Introduction to quantitative genetics*. 4a edición. Prentice Hall, Malaysia.
- Feder, J.L., S.H. Berlocher & S.B. Opp. 1998. Sympatric host-race formation and speciation in *Rhagoletis* (Diptera: Tephritidae): A tale of two species for Charles D. En: Mopper, S. & S.Y. Strauss (eds.). *Genetic structure and local adaptation in natural insect populations*. International Thomson Publishing, Nueva York. Páginas 408-441
- Fry, J.D. 1990. Trade-offs in fitness on different hosts: Evidence from a selection experiment with a phytophagous mite. *The American Naturalist* 136:569-580.
- Fry, J.D. 1992. The mixed model analysis of variance applied to quantitative genetics: Biological meaning of the parameters. *Evolution* 46: 540-550.
- Fry, J.D. 1996. The evolution of host specialization: are trade-offs overrated. *The American Naturalist* 148: S84-S107
- Futuyma, D.J. & T.E. Philippi. 1987. Genetic variation and covariation in responses to host plants by *Alsophila pometaria* (Lepidoptera: Geometridae). *Evolution* 41: 269-279.
- Futuyma, D.J., J.S. Walsh Jr., T. Morton, D.J. Funk & M.C. Keese. 1994. Genetic variation in a phylogenetic context: Responses of two specialized leaf beetles (Coleoptera: Chrysomelidae) to host plants of their congeners. *Journal Evolutionary Biology* 7: 127-146.

- Gabrýs, B. & M. Pawluk. 1999. Acceptability of different species of Brassicaceae as hosts for cabbage aphid. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 91: 105-109.
- Gavrilets, S. & S.M. Scheiner. 1993a. The genetics of phenotypic plasticity. V. Evolution of reaction norm shape. *Journal of Evolutionary Biology* 6: 31-48.
- Gavrilets, S. & S.M. Scheiner. 1993b. The genetic for phenotypic plasticity. VI. Theoretical predictions for directional selection. *Journal of Evolutionary Biology* 6: 49-48.
- Hacker, S.D. & M.D. Bertness. 1995. A herbivore paradox: Why salt marsh aphids live on poor-quality plants. *The American Naturalist* 145:192-210.
- Hardie, J. J., H. Visser & P.G.M. Piron. 1995. Peripheral odour perception by adult aphid forms with the same genotype but different host plant preference. *Journal of Insect Physiology* 41: 91-97.
- Holdren, C.E. & P.R. Ehrlich. 1982. Ecological determinants of food plant choice in the checkerspot butterfly *Euphydryas editha* in Colorado. *Oecologia* 52:417-423.
- Jaenike, J. 1989. Genetic population structure of *Drosophila tripunctata*: Patterns of variation and covariation of traits affecting resource use. *Evolution* 43: 1467-1482.
- Jaenike, J. 1990. Host specialisation in phytophagous insects. *Annual Review of Ecology and Systematics* 21: 243-273
- Joshi, A. & J.N. Thompson. 1995. Trade-offs and the evolution of host specialization. *Evolutionary Ecology* 9: 82-92.
- Kagata, H. & T. Ohgushi. 2001. Preference and performance linkage of a leaf-mining moth on different Salicaceae specie. *Population Ecology* 43: 141-147.
- Kawecki, T.J. 1997. Sympatric speciation via habitat specialization driven by deleterious mutations. *Evolution* 51: 1751-1763.

- Kjaer, A. 1976. Glucosinolates in the cruciferae. En: Vaughan, J.G., A.J. Macleod, & B.M.G. Jones. The biology and Chemistry of the Cruciferae. Academic Press, New York. Páginas 145-167
- Kondrashov, A.S. & F.A. Kondrashov. 1999. Interactions among quantitative traits in the course of sympatric speciation. *Nature* 400: 351-354.
- Lande, R. & S.J. Arnold, 1983. The measurement of selection on correlated characters. *Evolution* 37: 1210-1226.
- Levins, R. & R. MacArthur. 1966. The maintenance of genetic polymorphism in a spatially heterogeneous environment: Variation on a theme by Howar Leven. *The American Naturalist* 100: 585-589.
- Maynard Smith, J. 1966. Sympatric speciation. *The American Naturalist* 100: 637-651.
- Mayr, E. 1966. *Evolution and the diversity of life, selected essays*. Harvard Univ. Press, Cambridge, MA
- Mitter, C., B.D. Farrell, & D.J. Futuyma. 1991. Phylogenetic studies of insect/plant interactions: insights into the genesis of diversity. *Trends in Ecology and Evolution*, 6: 290-293.
- Mopper, M. Beck, D. Simberloff & P. Stiling. 1995. Local adaptation and agents of selection in a mobile insec. *Evolution* 49: 810-815.
- Mopper, S. & S.Y. Struss (eds.). 1998. *Genetic structure and local adaptation in natural insect populations*. Chapman & Hall. USA
- Nosil, P., B.J. Crespi & C.P. Sandoval. 2002. Host-plant adaptation drives the parallel evolution of reproductive isolation. *Nature* 417: 440-443.
- Ponder, K.L, J. Prichard, R. Harrington & J.S. Bale. 2000. Difficulties in location and acceptance of phloem sap combined with reduced concentration of phloem amino acids explain

- lowered performance of the aphid *Rhopalosiphum padi* on nitrogen deficient barley (*Hordeum vulgare*) seedlings. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 97: 203-210.
- Powell, G., S.P. Maniar, J.A. Pickett & J. Hardie. 1999. Aphid responses to non-host epicuticular lipids. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 91: 115-123.
- Rausher, M.D. 1984. Trade-offs in performance on different hosts: Evidence from within-and between site variation in the beetle *Deloyala guttata*. *Evolution* 38: 582-595.
- Roff, D.A. 1992. The evolution of life histories, theory and analysis. Chapman and Hall, Nueva York.
- Rollins, C.R. 1993. The cruciferae of continental North America. Stanford University Press, Palo Alto.
- Rossiter, M.C. 1987. Genetic and phenotypic variation in diet breadth in a generalist herbivore. *Evolutionary Ecology*. 1: 272-282.
- Rossiter, M.C. 1987. Genetic phenotypic variation in diet breadth in a generalist herbivore. *Evolutionary Ecology* 1: 272-282.
- Rossiter, M.C. 1998. Assessment of genetic variation in the presence of maternal or paternal effects in herbivorous insects. En: Mopper, S. & S.Y Strauss (eds.). Genetic structure and local adaptation in natural insect population. Chapman & Hall, New York. Páginas 113-138
- Ruiz-Montoya, L. & J. Núñez-Farfán. 2003. Local adaptation of *Brevicoryne brassicae* (Homoptera: Aphididae) to host species at Los Altos de Chiapas, México. En: Simon, MM. J.C., C.A. Dedryver, C. Rispe and M. Hüllé, (eds). Aphids in a New Millennium. Proceedings of 6th International Symposium on Aphids, 3-7 september 2001, INRA, Rennes, Francia. (en prensa)

- Ruiz-Montoya, L., J. Núñez-Farfán & J. Vargas. 2003. Host-associated genetic structure of Mexican populations of the cabbage aphid *Brevicoryne brassicae* L. (Homoptera: Aphididae). *Heredity* 91:415-421
- Sandström, J.P. & J. Pettersson. 2000. Winter host plant specialization in a host-alternating aphid. *Journal of Insect Behavior* 13: 815-825
- Schlichting, C.D. & M. Pigliucci. 1995. Gene regulation, quantitative genetics and evolution of reaction norms. *Evolutionary Ecology* 9: 154-168.
- Schlichting, C.D. & M. Pigliucci. 1998. Phenotypic evolution, a reaction norm perspective. Sinauer Associates, Sunderland, Mass.
- Schoonhoven, L.M. 1999. Insects and plants: two worlds come together. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 91: 1-6
- Sokal, R.R. & J.F. Rohlf. 1995. *Biometrics* 3rd ed. Freeman and Company, New York.
- Spitze, K. & T.D. Sadler. 1996. Evolution of generalist genotype: multivariate analysis of the adaptiveness of phenotypic plasticity. *The American Naturalist* 148: S108-S123.
- Tilmon, K.J., T.K. Wood & J.D. Pesek. 1998. Genetic variation in performance traits and the potential for host shifts in *Enchenopa* Treehoppers (Homoptera: Membracidae). *Annals of Entomological Society of America* 91: 397-103.
- Trujillo-Vázquez, R.J. & L.E. García-Barrios. 2001. Conocimiento indígena del efecto de plantas medicinales locales sobre las plagas agrícolas en Los Altos de Chiapas, México. *Agrociencia* 35: 685-692.
- Via, S. 1984. The quantitative genetics of polyphagy in an insect herbivore. II. Genetic correlations in larval performance within and across host plants. *Evolution* 38:896-905.

- Via, S. 1991. The genetic structure of host plant adaptation in a spatial patchwork: demographic variability among reciprocally transplanted pea aphid clones. *Evolution* 45: 827-852.
- Via, S. 2001. Sympatric speciation in animals: the ugly duckling grows up. *Trends in Ecology and Evolution* 16: 381-390
- Via, S. 2002. The ecological genetics of speciation. *The American Naturalist* 159: S1-S7
- Via, S., y R. Lande. 1985. Genotype-environment interactions and the evolution of phenotypic plasticity. *Evolution* 39: 505-523.
- Ward, S.A., S.R. Leather, J. Pickup & R. Harrington. 1998. Mortality during dispersal and the cost of host-specificity in parasites: how many aphids find hosts. *Journal of Animal Ecology* 67: 763-773.
- Weber, G. 1985. Genetic variability in host plant adaptation of the green peach aphid *Myzus persicae*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 38: 49-56.
- Weis, A.E., W.G. Abrahamson y M.C. Andersen. 1992. Variable selection on *Eurosta*'s gall size, I: The extent and nature of variation in phenotypic selection. *Evolution* 46: 1674-1697.
- Windig, J.J. 1994. Reaction norms and the genetic basis of phenotypic plasticity in the wing pattern of the butterfly *Bicyclus anynana*. *Journal Evolutionary Biology* 7: 665-695.
- Windig, J.J. 1997. The calculation and significance testing of genetic correlations across environments. *Journal Evolutionary Biology* 10: 853-874.
- Wool, D., O. Manheim y M. Inbar. 1997. Return flight of sexuparae of galling aphids to their primary host trees: Implications for differential herbivory and gall (Aphidoidea: Pemphigidae: Fordinae) abundance. *Annals of Entomological Society of America* 90: 341-350.

Cuadro 1. Análisis de varianza mixto sobre caracteres de historia de vida de *Brevicoryne brassicae* colectado en dos especies huésped, *B. campestris* y *B. oleraceae* y recíprocamente transferidos.

Carácter	Fuente de Variación	g.l.	CM	F	P
Número de ninfas	Huésped nativo (HN)	1	0.0009	0.0081	0.928
	Huésped receptor (HR)	1	0.8094	13.043	<0.001
	Genotipos (G(HN))	33	0.1149	1.7816	0.004
	HNxHR	1	0.0101	0.0206	0.686
	G(HN)xHR	33	0.0745	0.9089	0.216
	Error	259	0.00620		
	Total	328			
Edad a la primera reproducción	Huésped nativo (HN)	1	0.0105	0.7220	0.401
	Huésped receptor (HR)	1	0.0219	2.2727	0.132
	Genotipos (G(HN))	33	0.0148	1.5363	0.036
	HNxHR	1	2.0x10 ⁻⁵	0.0021	0.9631
	G(HN)xHR	33	0.0084	0.8716	0.672
	Error	259	.0096		
	Total	328			

Cuadro 2. Análisis de frecuencia log lineal para establecimiento de genotipos de *Brevicoryne brassicae* asociados a dos plantas huésped: *B. campestris* y *B. oleraceae*.

Huésped Nativo	Fuentes de Variación	<i>g.l.</i>	χ^2	<i>P</i>
<i>Brassica campestris</i>	Genotipos (G)	15*	.	.
	Huésped receptor (HR)	1	3.95	0.046
<i>Brassica oleraceae</i>	Genotipos (G)	16	17.91	0.96
	Huésped receptor (HR)	1	5.19	0.02

Cuadro 3. Análisis de varianza mixto de caracteres de historia de vida de *Brevicoryne brassicae* en cada población asociadas a *B. campestris* y *B. oleraceae*.

Huésped nativo	Carácter	Fuentes de variación	<i>g.l</i>	MS	<i>F</i>	<i>P</i>
<i>Brassica campestris</i>	Edad a la primera reproducción	Genotipos (G)	17	0.017	1.756	.04
		Huésped receptor (HR)	1	0.011	1.204	0.27
		GxHR	17	0.937	0.937	0.53
		Error	134	0.0097		
	Número de ninfas	Genotipos (G)	17	0.045	0.716	0.781
		Huésped receptor (HR)	1	0.502	7.949	0.005
		GxHR	17	0.112	1.774	0.037
		Error	133			
<i>Brassica oleraceae</i>	Edad a la primera reproducción	Genotipos (G)	16	0.012	1.299	0.20
		Huésped receptor (HR)	1	0.010	1.071	0.30
		GxHR	16	0.007	0.801	0.68
		Error		0.009		
	Número de ninfas	Genotipos (G)		0.188	3.101	<0.001
		Huésped receptor (HR)		0.318	5.224	0.02
		GxHR		0.034	0.571	0.90
		Error		0.061	0.061	

Cuadro 4. Análisis de selección sobre edad a la primera reproducción de *Brevicoryne brassicae* dos especies huésped. **A.** Los coeficientes de regresión lineal representan gradientes de selección direccional, y los cuadráticos son indicativos de selección disruptiva. **B.** Análisis de varianza y r^2 ajustada para la regresión lineal y cuadrática.

-A-						
Huésped receptor	Coeficiente lineal		Coeficiente cuadrático			
	β			γ		
<i>B. campestris</i>	-0.232 ±0.054*			0.051 ^{NS}		
<i>B. oleracea</i>	-0.072±0.042 ^{NS}			0.018 ^{NS}		
-B-						
Huesped receptor	Modelo	Fuente	MS	df	F	r^2 adj
		de				
		variación				
<i>B. campestris</i>	Lineal	Modelo	8.574	1	17.846**	0.095
		Error	0.48	158		
	Cuadrático	Modelo	4.605	2	9.605**	0.097
		Error	0.479	157		
<i>B. oleracea</i>	Lineal	Modelo	0.877	1	2.90 ^{NS}	0.01
		Error	0.302	168		
	Cuadrático	Modelo	0.519	2	1.711 ^{NS}	0.008
		Error	0.303	167		

NS, no significativo; * $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

Cuadro 5. (A) Gradientes de selección direccional (β), normalizadora o disruptiva (antiva) (γ_i) y correlacionada ($\gamma_{\#}$) del valor promedio y plasticidad de la edad a la primera reproducción de *Brevicoryne brassicae*, expresado en dos especies huésped. (B) Análisis de varianza de la regresión lineal y cuadrática.

-A-					
Huésped receptor	β	γ_i		$\gamma_{\#}$	
Valor medio	-0.089±0.039 *	-0.071 ^{NS}			
Plasticidad	-0.013±0.039 ^{NS}	-0.036 ^{NS}			
Valor medio	x			-0.029 ^{NS}	
Plasticidad					
-B-					
Regresión	Source	SM	df	F	r ² ajustada.
Lineal	Modelo	0.135	2	2.62 ^{NS}	0.087
	Error	0.051	32		
Cuadrático	Modelo	0.090	5	1.787 ^{NS}	0.104
	Error	1.464	29		

NS, no significativo; * $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

FE DE ERRATAS

En la página 113 se presenta una figura sin leyenda. La leyenda que debe llevar es:

Figura 1. Caracteres de historia de vida de *Brevicoryne brassicae* estimados en experimentos de transferencia recíproca entre dos especies huésped. A, Proporción de establecimiento (+1 intervalo de confianza del 95%). B, media para la edad a la primera reproducción (+1 EE). C, media de número de ninfas (+1 EE).

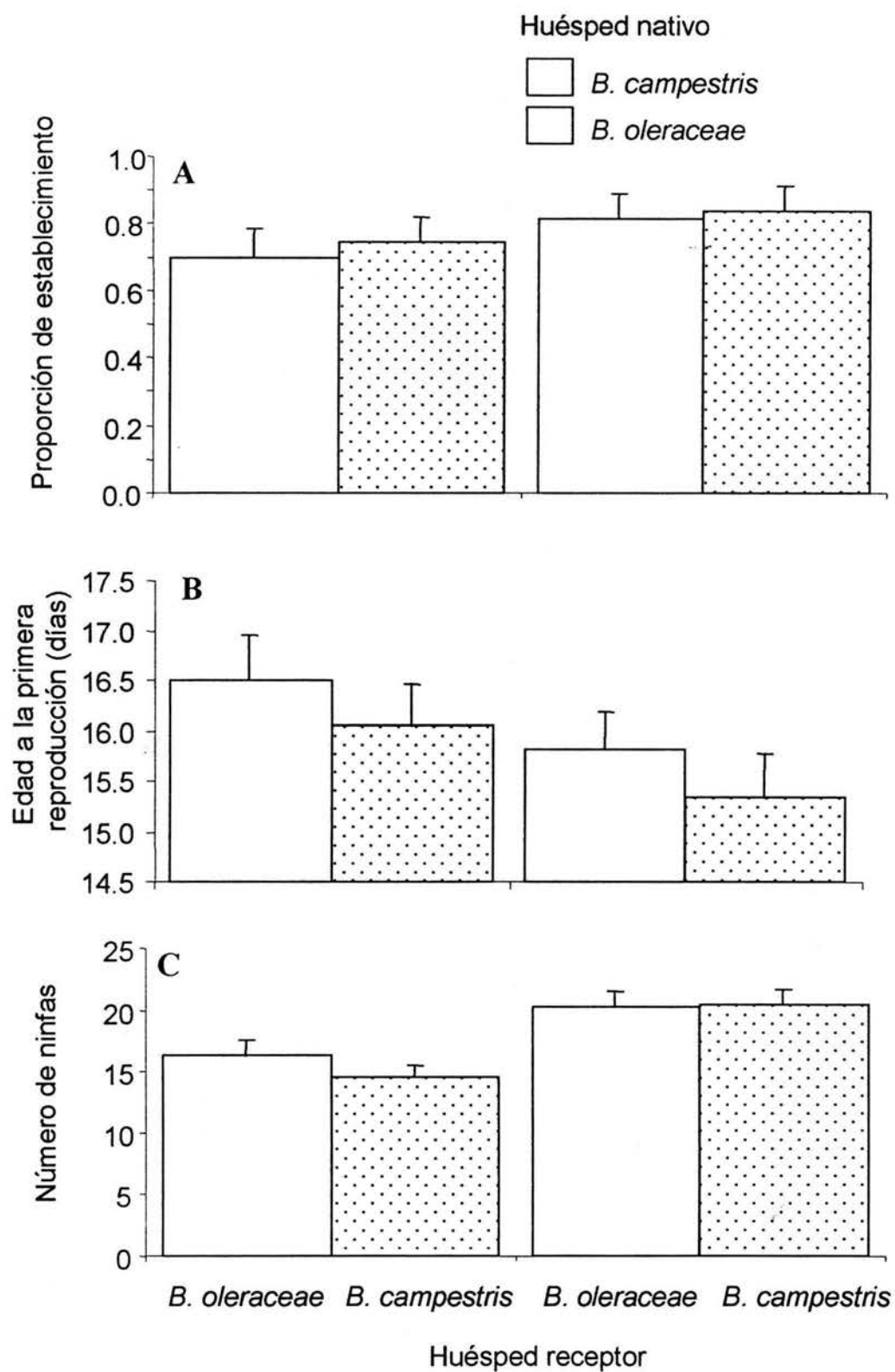


Figura 1. Caracteres de historia de vida de *Brevicoryne brassicae* estimados en experimentos de transferencia recíproca entre dos especies huésped. A, proporción de establecimiento (+1 intervalo de confianza del 95 %). B, media para la edad a la primera reproducción (+1EE). C, media de número de ninfas (+EE).

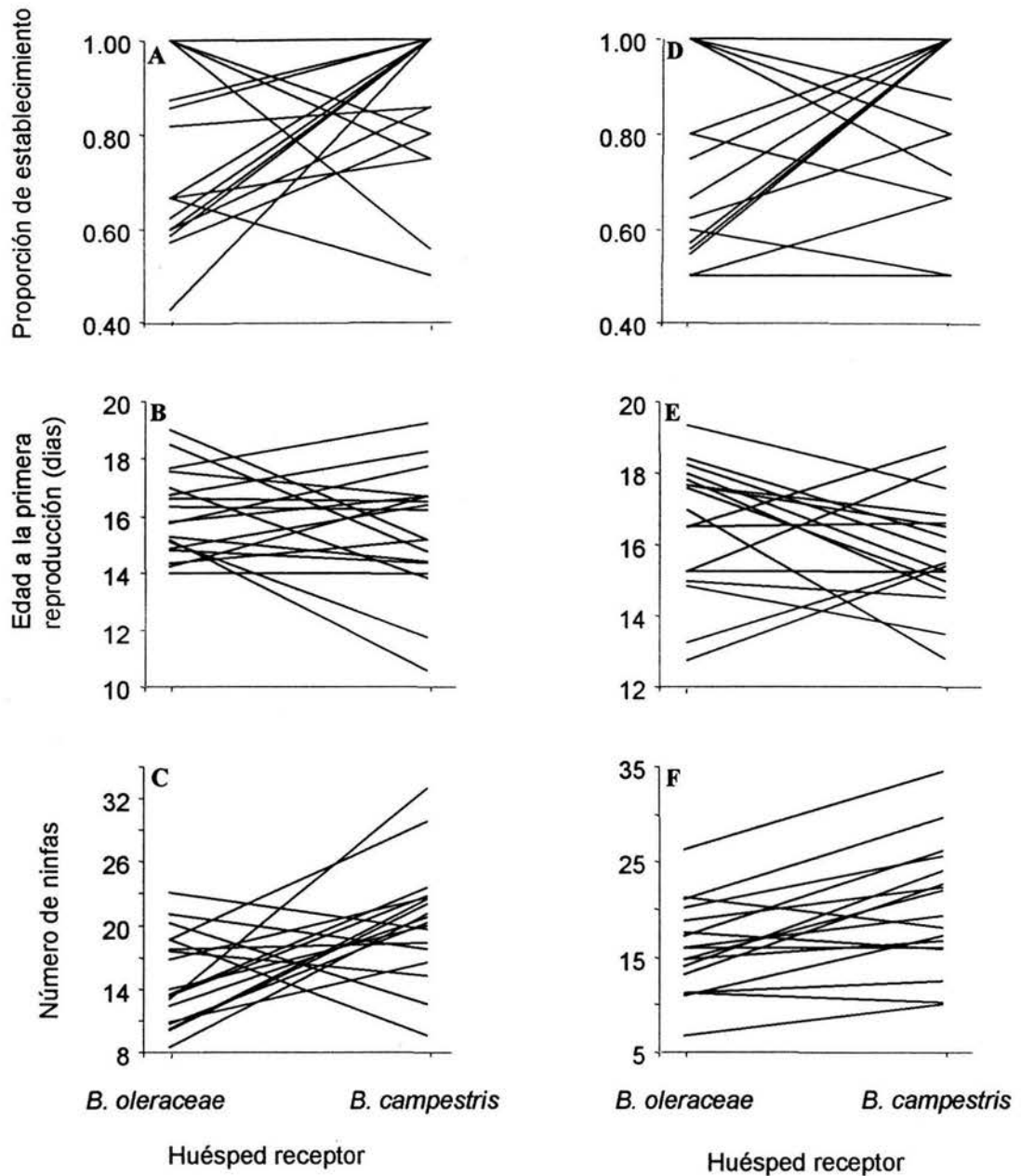


Figura 2. Normas de reacción de caracteres de historia de vida de genotipos de *Brevicoryne brassicae* asociados a dos huéspedes, *Brassica oleracea* y *Brassica campestris*. A, B, C, son caracteres de historia de vida de genotipos colectados en *B. campestris*. D, E, F corresponde a los genotipos asociados a *B. oleracea*

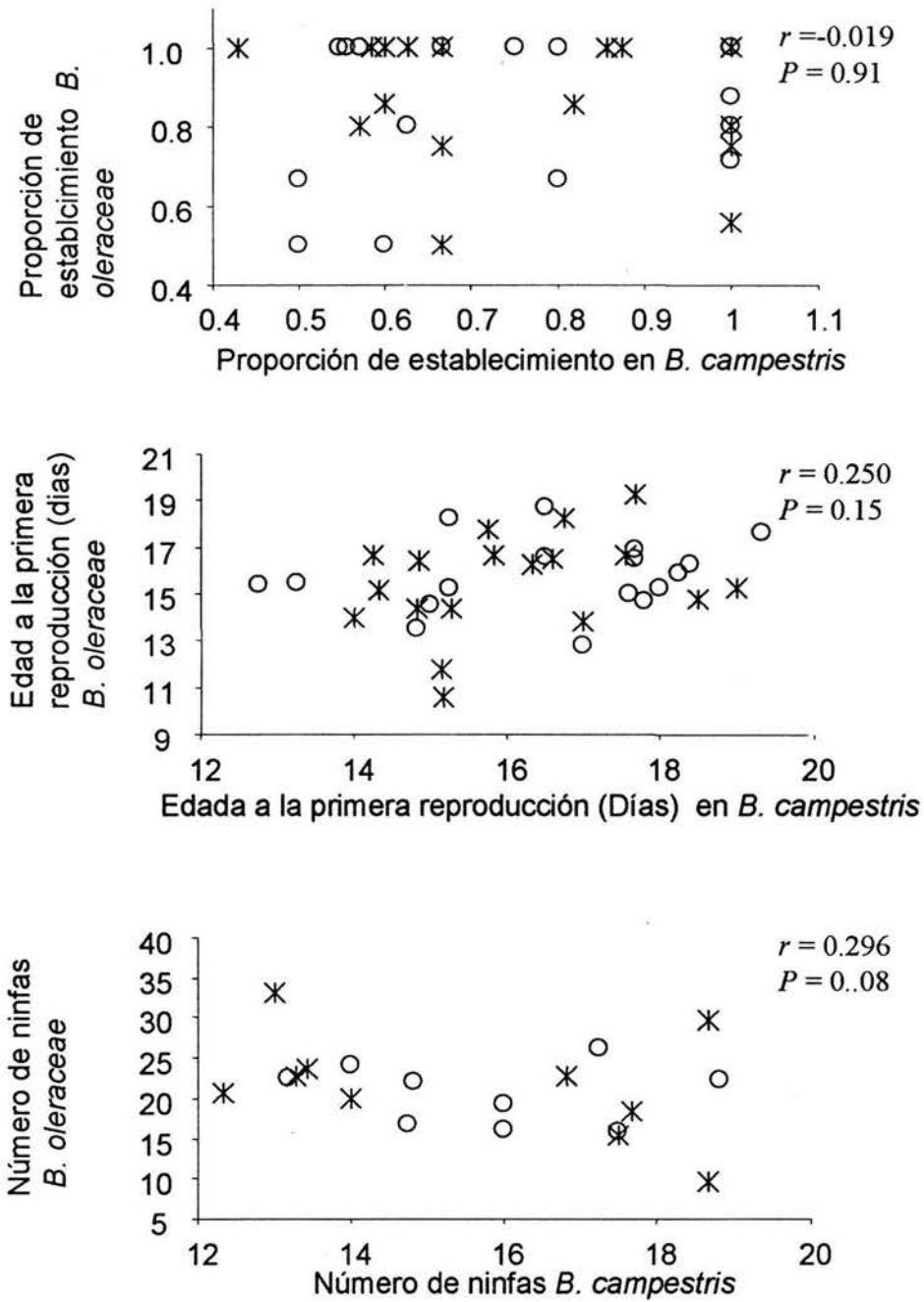


Figura 3. Análisis de correlación de caracteres de historia de vida de genotipos de *Brevicoryne brassicae* asociados en campo a *B. campestris* y *B. oleracea* y desarrollados en estas mismas especies en condiciones de laboratorio. Los círculos corresponden a los genotipos colectados en *B. campestris* y los asteriscos a los genotípicos colectados en *B. oleracea*.

Discusión general

Este trabajo se realizó con el objetivo de reconocer si en la interacción de *Brevicoryne brassicae* con sus plantas huésped, *Brassica oleraceae* y *B. campestris* en Los Altos de Chiapas, se presenta el fenómeno de adaptación local. No se encontró un patrón de adaptación local del desempeño de *Brevicoryne brassicae* en las especies huésped elegidas. Los resultados indican que probablemente *Brevicoryne brassicae* está especializada a *B. campestris* en la región de estudio. Asimismo, se observó que sus poblaciones presentan una estructura genética y morfológica relacionada a la identidad del huésped que usan localmente. Una fracción considerable de la variación fenotípica observada es de origen ambiental, lo cual podría ser una limitación importante al proceso de adaptación local de *Brevicoryne brassicae* a las dos especies probadas. La influencia del ambiente materno es considerada parte de la variación de origen ambiental, sin embargo, en este trabajo no se encontró evidencia de que el ambiente de la madre influyera en el desempeño de su descendencia.

Del análisis genético (enzimas) (Capítulo 1) y morfológico (Capítulo 2) en poblaciones naturales se desprende que la especie huésped contribuye altamente a la conformación de la estructura poblacional de *Brevicoryne brassicae* en Los Altos de Chiapas. No es nuevo que poblaciones de áfidos separadas geográficamente muestren algún grado de diferenciación (ver Tomiuk y Wöhrmann 1980). En contraste, relacionar la diferenciación genética como producto de la asociación con las especies de plantas huésped es un trabajo que se está desarrollando recientemente (por ejemplo Anstead 2002, Lushai 2002). La diferenciación genética y fenotípica de las poblaciones de *Brevicoryne brassicae* asociadas a *B. campestris* y *B. oleraceae* cobra mayor relevancia en el contexto de la

hipótesis de especiación simpátrica. En los últimos años ha habido mucho interés por reunir evidencia empírica que apoye la idea de que la formación de especies puede ser tan probable como la especiación alopátrica en la naturaleza (Johannesson 2001, Via 2002). La diferencia más importante entre los dos modelos de especiación es que en la especiación alopátrica es perfectamente reconocida una barrera física que impide el libre flujo genético entre las poblaciones, mientras que en condición simpátrica no se reconoce tal barrera (Kondrashov y Kondrashov 1999). El aislamiento reproductivo puede surgir de la evolución por selección natural de caracteres que afectan directamente a la reproducción y sobrevivencia de los organismos (Johannesson 2001). La diferenciación de las poblaciones simpátricamente distribuidas y especializadas a condiciones micro-ambientales puede ser una etapa incipiente de la especiación simpátrica. Las poblaciones de *Brevicoryne brassicae* asociadas a las dos especies podrían ser un ejemplo de esta fase.

Sin embargo, aunque los estudios sobre diferenciación genética y morfológica, son básicos y necesarios, no permiten una valoración precisa del potencial de especiación simpátrica, ya que es esencial mostrar un desempeño diferencial en los ambientes (especies huésped) simpátricamente distribuidos, así como la estructura genética subyacente. La diferenciación genética de iso/allo-enzimas aporta indicios de los procesos evolutivos a los que están sometidos las poblaciones, pero no permite una valoración de cual es el fenotipo que se favorece en cada huésped. La variación fenotípica, por su parte, sugiere el fenotipo que prevalece en cada huésped pero se carece de cuánto contribuye el ambiente y cuánto el componente genético a esta variación. Ninguna de las dos aproximaciones permite una estimación del desempeño. En este sentido, los experimentos de transferencias recíprocas son una herramienta muy valiosa (Boecklen y Mopper 1998). Este tipo de experimentos

permiten: (1) hacer una estimación de la intensidad y dirección de la selección natural sobre caracteres de los insectos que afectan el desempeño en cada huésped, (2) valorar la adaptación mediante la estimación del desempeño en el huésped nativo y el foráneo, (3) y al mismo tiempo es posible estimar cuanto de la variación puede ser ambiental y cuanto genético.

En este trabajo se hicieron tres experimentos de transferencia recíproca (Capítulos 3 y 4). Todos mostraron que *Brevicoryne brassicae* tiene un mejor desempeño (en términos número de ninfas depositadas) en *B. campestris* que en *B. oleraceae*. Lo cual sugiere que *Brevicoryne brassicae* está especializada a *B. campestris* en la región de estudio. La selección sobre edad a la primera reproducción fue en el mismo sentido en ambas especies (selección direccional) pero con intensidad mayor en *B. campestris*, lo cual podría indicar que la especialización es producto de la selección natural, y también la selección natural podría estar relacionado a los hallazgos de diferenciación genética y morfológica de las poblaciones en campo. Sin embargo, ninguno de los experimentos arrojó un patrón de adaptación local de las características evaluadas, excepto el establecimiento. Debido a que se trabajó con organismos partenogenéticos surge la posibilidad de que el ambiente de la madre influyera en la respuesta de la descendencia. Sin embargo, el experimento diseñado para valorar el efecto del ambiente de la madre sobre el desempeño de la progenie no detectó efecto alguno (Capítulo 3), por lo que es poco probable que el ambiente de la madre no influya determinadamente en la respuesta de los organismos. Via (1991) tampoco encontró un efecto del ambiente materno en su estudio de adaptación local con *Acyrtosiphon pisum* (el pulgón de la alfalfa). La influencia del ambiente de la madre (efectos maternos) se ha observado en distintos caracteres de historia de vida de los

insectos. Por ejemplo, en *Stator limbatus* (Coleoptera) se encontraron efectos maternos en el tamaño del huevo (Fox & Savalli 2000); en *Lymantria dispar* (Lepidoptera) la experiencia de la madre influyó en el crecimiento y potencial reproductivo de la descendencia (Rossiter 1991). Sin embargo, en otras especies no ha sido el caso. Por ejemplo en *Eurosta soladignis* (Diptera) no hubo efectos maternos para la preferencia del huésped (Craig et al. 2001) y en *Ophraella notulata*, no se registraron efectos maternos en la tasa de consumo y sobrevivencia (Futuyma et al. 1993). Es probable que el efecto del ambiente materno no es necesariamente un atributo general a las especies de insectos, ni de pulgones.

La interacción genotipo x ambiente es una fuente de variación ponderada en el análisis de varianza que resulta particularmente útil como indicadora de plasticidad y adaptación local en los experimentos de transferencia recíproca. En ninguno de los experimentos la interacción genotipo x ambiente fue significativa. Reconozco tres razones biológicamente importantes que pudieron evitar la significancia estadística: (1) la alta susceptibilidad de los pulgones a los cambios ambientales, (2) el efecto de un flujo génico alto entre las poblaciones naturales asociadas a cada huésped, y (3) a que es posible que la preferencia del huésped y los componentes de la adecuación no se encuentren genéticamente ligados.

La susceptibilidad de los genotipos al ambiente fue reconocida en el análisis de las normas de reacción (Capítulo 4), las cuales reflejan la plasticidad fenotípica de los genotipos. La plasticidad fenotípica puede representar una limitación a la selección natural ya que no permite que ocurra una respuesta a la selección; esto es, impide que ocurran cambios en la genética de la población (Via y Lande 1985). Por lo tanto, la adaptación local

de *Brevicoryne brassicae* a las plantas puede verse retrasada debido a la presencia de plasticidad fenotípica.

Sin embargo, en ambientes heterogéneos la plasticidad fenotípica puede ser de gran importancia para el mantenimiento de las poblaciones de *Brevicoryne brassicae*, ya que es un mecanismo que podría permitir conservación de la variabilidad genética para la explotación de las dos especies huéspedes. El cambio en escala espacial o temporal de la presencia y densidad de las plantas, en el tipo y densidad de enemigos naturales en cada huésped, puede constituir un ambiente heterogéneo para los insectos, donde la plasticidad puede claramente ser importante para responder a los cambios ambientales (Levins 1968, Meyers & Bull 2002).

El conjunto de genotipos de *Brevicoryne brassicae* analizados fueron en menor o mayor proporción capaces de colonizar a *Brevicoryne brassicae* y *B. oleraceae*. Algunos genotipos mostraron un desempeño más alto en el huésped nativo, pero para otros el desempeño fue mayor en el huésped alternativo. Esto me permite sugerir que las poblaciones de *Brevicoryne brassicae* asociadas a *B. oleracea* y *B. campestris* en el campo pueden estar compuestas por genotipos tanto óptimos como subóptimos, producto de un libre flujo genético y facilitado por la capacidad plástica de los mismos. Esta situación hace difícil el proceso de adaptación local de *Brevicoryne brassicae* a los dos especies huéspedes en condiciones de simpatria.

Recientemente se presentó un debate sobre si la plasticidad es un carácter en sí mismo bajo evolución o si es el resultado de selección en dos ambientes (ver Via et al. 1995). El primer enfoque considera que las normas, reflejo de plasticidad, están sujetas a la selección, y el análisis ha consistido en demostrar que la interacción genotipo x ambiente

resulte estadísticamente significativa o evidencia de selección sobre parámetros de la plasticidad como son la magnitud del cambio y el patrón (lineal o curva) (Gavrilets & Scheiner. 1993a, b, Schlichting y Pigliucci 1995). La segunda aproximación de la plasticidad se basa en que los genes que codifican un carácter tienen un efecto positivo en la adecuación en un ambiente y negativo en otro, lo cual puede ser demostrado mediante correlaciones genéticas de un carácter expresado en dos ambientes por un mismo genotipo (Via y Lande 1985). En este estudio se usaron ambas aproximaciones. En la primera forma de análisis, la interacción genotipo ambiente no fue significativa, y no se detectó selección sobre la plasticidad de edad a la primera reproducción. En la aproximación mediante correlaciones genética indicaron que los genes que codifican las características en cada huésped son independientes. Los resultados de las dos aproximaciones son congruentes. Por lo que es posible que la plasticidad observada en las características de *Brevicoryne brassicae* son el resultado de selección en cada huésped, y puede ser una limitación importante al proceso de adaptación local de *Brevicoryne brassicae*.

La diferenciación genética de las poblaciones de *B. asociadas* a *B. campestris* y *B. oleraceae* cada especie podría incrementarse si la selección en cada planta es de tal intensidad que disminuya el efecto homogeneizador del flujo génico (Calliaudi y Via 2001), si los organismos muestran preferencia por algún huésped y ésta se correlaciona genéticamente con el desempeño (Maynard Smith 1966, Mayr 1976, Rausher 1984, Jaenike y Holt. 1991, Calliaud 1999, Caillaud y Via. 2000, Kagata y Ohgushi 2001),. Los análisis de selección mostraron que ocurre selección direccional dentro de cada especies huésped, sin embargo posiblemente no es lo suficientemente fuerte para disminuir el flujo génico, el cual es mayor entre huéspedes que entre localidades (Capítulo 3).

Los resultados de establecimiento podrían indicar que las formas ápteras de *Brevicoryne brassicae* pueden tener preferencia por un huésped (Capítulos 3 y 4). Asimismo, existen estudios que documentan variación en la preferencia de *Brevicoryne brassicae* por especies de Brassicas (Cole 1997, Gabrys y Pawluk 1999). Contar con evidencia del grado preferencia de *Brevicoryne brassicae* por *B. campestris* y *B. oleraceae* y la variación genética en el carácter puede ser de gran importancia para ayudar a explicar los patrones de variación fenotípica y desempeños observados en este estudio. Los estudios de preferencia podrían ser interesantes llevarlos a cabo con las formas aladas, ya que son las que hacen la dispersión de los clones (Dixon 1998).

El análisis de correlación genética entre establecimiento y el resto de los caracteres de historia de vida indican que la preferencia y el desempeño podrían no estar ligados genéticamente, y por lo tanto un incremento en la diferenciación o aislamiento reproductivo podría no favorecerse en *Brevicoryne brassicae*. Sin embargo, la relación entre preferencia y desempeño es parte de la interacción de *Brevicoryne brassicae* con sus especies huésped que debiera ser establecido en estudios futuros.

Otros factores que pueden ser relevantes en promover o disminuir la divergencia de las poblaciones son la presencia, densidad y eficiencia de los depredadores y parasitoides en cada huésped (Hacker & Bertness 1995, Mopper et al. 1995). Estudios que consideren dichos factores podrían ayudar a explicar el patrón de la variación genética y fenotípica de *Brevicoryne brassicae*.

El estudio de la adaptación local de *Brevicoryne brassicae* y de los insectos en general requiere de mayor evidencia sobre la variación en las presiones selectivas entre

especies huésped, del análisis detallado del flujo génico, y de experimentos de selección donde se evalúe el desempeño de más de una generación en los ambientes de prueba.

En conclusión, la evolución de la interacción entre *B. brassicae* y *B. campestris* y *B. oleraceae* parece determinada por la interacción de tres procesos: selección natural que ajusta localmente, migración que reduce el progreso consistente en la adaptación local, y deriva génica determinada por las capacidades de vuelo y mortalidad estocástica de distintos genotipos de *B. brassicae*.

Referencias

- Anstead, J.A., J.D. Burd y K.A. Shufran. 2002. Mitochondrial DNA sequence divergence among *Schizaphis graminum* (Hemiptera: Aphididae) clones from cultivated and non-cultivated hosts: haplotype and host associations. *Bulletin of Entomological Research* 92: 17-24
- Boecklen, W.J. & S. Mopper. 1998. Local adaptation in specialist herbivores: theory and evidence . En: Mopper, S. & S.Y. Strauss (eds.). *Genetic Structure and local adaptation in natural insect population*. Chapman & Hall. USA. Páginas 64-90.
- Caillaud, M.C. & S. Via. 2000. Specialized feeding behaviour influences both ecological specialization and assortative mating in sympatric host races of pea aphids. *The American Naturalist* 156: 606-621.
- Caillaud, M.C. 1999. Behavioural correlates of genetic divergence due to host specialization in the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 91: 227-232.

- Cole, R.A. 1997. The relative importance of glucosinolates and amino acids to the development of two aphid pests *Brevicoryne brassicae* and *Myzus persicae* on wild and cultivated brassica species. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 85: 121-133.
- Craig, T., T.D. Horner & J.K. Itami. 2001. Genetics experience, and host plant preference in *Eurosta solidaginis*: implication for host shift and speciation. *Evolution* 55: 773-782.
- Dixon, A.F.G. 1998. *Aphid Ecology*. Chapman & Hall, 131, 181, pp.
- Fox, C.M. & U.M. Savalli. 2000. Maternal effects mediated host expansion in seed feed beetle. *Ecology* 81: 3-7.
- Futuyma, D.J., C. Herrmann, S. Milstein & M.C. Keese. 1993. Apparent transgenerational effects of host plant in the leaf beetle *Ophraella notulata* (Coleopta: Chrysomelidae). *Oecologia* 96: 365-372.
- Gabrýs, B. & M. Pawluk. 1999. Acceptability of different species of Brassicaceae as hosts for cabbage aphid. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 91: 105-109.
- Gavrilets, S. & S.M. Scheiner. 1993a. The genetics of phenotypic plasticity. V. Evolution of reaction norm shape. *Journal Evolutionary Biology* 6: 31-48.
- Gavrilets, S. & S.M. Scheiner. 1993b. The genetics for phenotypic plasticity. VI. Theoretical predictions for directional selection. *Journal of Evolutionary Biology*. 6: 49-48.
- Hacker, S.D. & M. Bertness. 1995. A herbivore paradox: Why salt marsh aphids live on poor quality plants. *The American Naturalist* 145: 192-210.

- Jaenike, J. & R.D. Holt. 1991. Genetic variation for habitat preference: evidence and explanations. *The American Naturalist* (Suplemento) 137: S67-S90
- Johannesson, K. 2001. Parallel speciation: a key to sympatric divergence. *Trends in Ecology and Evolution* 16: 148-152.
- Kagata, H. & T. Ohgushi. 2001. Preference and performance linkage of a leaf-mining moth on different Salicaceae species. *Population Ecology* 43: 141-147.
- Kondrashov, A. & F.A. Kondrashov. 1999. Interactions among quantitative traits in the course of sympatric speciation. *Nature* 400: 351-354
- Levins, R. 1968. *Evolution in changing environments*. Princeton University Press. New Jersey.
- Lushai, G., O. Markovitch y H.D. Loxdale. 2002. Host-based genotype variation in insects revisited. *Bulletin of Entomological Research* 92: 159-164.
- Maynard Smith, J. 1966. Sympatric speciation. *The American Naturalist* 100: 637-651.
- Mayr, E. 1976. *Evolution and the diversity of life, selected essays*. Harvard Univ. Press, Massachusetts.
- Meyers, L.A. & J.J. Bull. 2002. Fighting change with change: adaptive variation in an uncertain world. *Trends in Ecology and Evolution* 17: 551-557.
- Mopper, S., M. Beck, D. Simberloff & P. Stiling. 1995. Local adaptation and agents of selection in a mobile insect. *Evolution* 49:810-815.
- Rossiter, M.C. 1991. Environmentally-based maternal effects: a hidden force in insect population dynamics?. *Oecologia* 87: 288-294.
- Rausher, M.D. 1984. Tradeoffs in performance on different hosts: evidence from within- and between site variation in the beetle *Deloyala guttata*. *Evolution* 38:582-595.

- Schlichting, C.D. & M. Pigliucci. 1995. Gene regulation, quantitative genetics and evolution of reaction norms. *Evolutionary Ecology* 9: 154-168.
- Tomiuk, J. & K. Wöhrmann. 1980. Enzyme variability in populations of aphids. *Theoretical and Applied Genetics* 57: 125-127.
- Via, S. 1991. The genetic structure of host plant adaptation in a spatial patchwork: demographic variability among reciprocally transplanted pea aphid clones. *Evolution* 45: 827-852.
- Via, S., S. Gomulkiewicz, G. De Jong, S.M. Scheiner, C. Schlichting & P.H.V. Teienderen. 1995. Adaptive phenotypic plasticity, consensus and controversy. *Trends in Ecology and Evolution* 10: 212-217.
- Via, S., & R. Lande. 1985. Genotype-environment interactions and the evolution of phenotypic plasticity. *Evolution* 39: 505-523.
- Via, S. 2002. The ecological genetics of speciation. *American Naturalist* 159: S1-S7.