

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE MEDICINA
ESCUELA DE POSTGRADO



“BASES GENÉTICAS DEL PAISAJE DE TOLERANCIA TÉRMICA EN DROSOPHILA MELANOGASTER”

Juan Andrés Soto Hernández

TESIS PARA OPTAR AL GRADO DE
MAGISTER EN GENÉTICA

Director de Tesis: Prof. Dr. Luis Castañeda Sepúlveda

2022

ÍNDICE DE CONTENIDOS

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
1. INTRODUCCIÓN	3
1.1. Calentamiento global y su efecto en las poblaciones naturales de ectotermos.....	3
1.2. Mecanismos de respuesta a cambios térmicos a nivel poblacional	3
1.3. Correlaciones genéticas y su efecto en la adaptación	6
1.4. Genes asociados a la tolerancia térmica.....	7
2. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN.....	9
3. OBJETIVOS	9
4. MATERIALES Y MÉTODOS	10
4.1. Stocks de Drosophila	10
4.2. Determinación de curvas TDT.....	10
4.3. Análisis genéticos cuantitativos.....	11
4.3.1. Análisis sobre el tiempo de colapso.....	11
4.3.1. Análisis sobre CT_{max} y Z	14
4.4. Análisis de variantes y genes.....	14
4.4.1. Análisis de asociación a lo ancho del genoma (GWAS).....	14
4.4.2. Análisis de Ontología génica (GO)	15
4.4.3. Análisis de variantes sexualmente antagonistas	16
5. RESULTADOS.....	17
5.1. Ensayos térmicos y cuervas de tiempo-muerte térmica	17
5.2. Análisis genéticos cuantitativos.....	20
5.2.1. Efecto del sexo en tiempo de colapso	21
5.2.2. Efecto de la temperatura en tiempo de colapso	23

5.3.	Análisis de variantes y genes.....	25
5.3.1.	Ontología génica de genes candidatos.....	27
5.3.2.	Tamaño del efecto y frecuencia de las variantes.....	29
5.3.3.	Variante sexualmente antagónicas.....	32
6.	DISCUSIÓN.....	37
6.1.	Potencial evolutivo del paisaje de tolerancia térmico.....	37
6.2.	Variante y genes asociados al paisaje de tolerancia térmica.....	39
6.3.	Dimorfismo y antagonismo sexual del paisaje de tolerancia térmica.....	42
7.	CONCLUSIONES.....	44
8.	BIBLIOGRAFÍA.....	45
9.	ANEXOS.....	56

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Tiempo de colapso de 100 líneas del DGRP en las distintas temperaturas experimentales.	18
Figura 2. Curvas de tiempo-muerte térmica (TDT) para hembras (A) y machos (B) de 100 líneas del DGRP.....	19
Figura 3. Norma de reacción del tiempo de colapso en función del sexo de 100 líneas del DGRP en las distintas temperaturas experimentales.	22
Figura 4. Norma de reacción del tiempo de colapso en función de las temperaturas experimentales para hembras (A) y machos (B) de 100 líneas del DGRP.....	24
Figura 5. Gráfico de Manhattan para la asociación de todas las variantes genéticas con CT_{max} para 100 líneas del DGRP.....	26
Figura 6. Gráfico de Manhattan para la asociación de todas las variantes genéticas con z (sensibilidad térmica) para 100 líneas del DGRP.	27
Figura 7. Frecuencia del alelo menor contra el tamaño del efecto de las variantes significativamente asociadas con CT_{max} y z	30
Figura 8. Efecto de algunas variantes significativamente asociadas con el fenotipo de CT_{max}	31
Figura 9. Efecto de algunas variantes significativamente asociadas con el fenotipo de Z	32
Figura 10. Efecto las variantes significativamente asociadas con el índice de antagonismo sexual de CT_{max} en ambos.....	34
Figura 11. Efecto las variantes significativamente asociadas con el índice de antagonismo sexual de CT_{max} en ambos sexos.	35
Figura 12. Efecto las variantes significativamente asociadas con el índice de antagonismo sexual de z en ambos sexos.....	36

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Parámetros genéticos cuantitativos para el tiempo de colapso en las distintas temperaturas experimentales.	20
Tabla 2. Resultados de los modelos lineales mixtos realizados sobre los parámetros de CT_{max} y z	21
Tabla 3. Interacción genotipo-sexo para el tiempo de colapso en las distintas temperaturas experimentales.	22
Tabla 4. Interacción genotipo-temperatura para el tiempo de colapso en ambos sexos.	25
Tabla 5. Resultado de análisis de enriquecimiento de ontología génica de los genes candidatos (PANTHER Overrepresentation Test).	28
Tabla 6. Genes correspondientes a cada categoría de ontología génica significativamente sobrerrepresentada.	28

ABREVIATURAS

DGRP: *Drosophila* Genetic Reference Panel

TDT: Curva de tiempo-muerte térmica

CT_{max} : Temperatura crítica máxima

z: sensibilidad térmica

HSP: Heat Shock Protein (proteína de choque térmico)

QTL: Locus de rasgo cuantitativo

GWAS: Estudio de asociación a lo ancho del genoma

MAF: Frecuencia del alelo menor

GO: Ontología Génica

FDR: False Discovery Rate

ANOVA: Análisis de varianza

GxE: Interacción genotipo-ambiente

GxS: Interacción genotipo-sexo

RESUMEN

El incremento de las temperaturas ambientales asociadas al calentamiento global ha impuesto importantes presiones selectivas sobre las poblaciones naturales de animales ectotermos, por lo que es necesario entender las bases genéticas y el potencial evolutivo del paisaje de tolerancia térmica para predecir si las poblaciones podrán o no adaptarse al calentamiento global en el largo plazo. Para esto se realizaron ensayos térmicos a diferentes temperaturas utilizando 100 líneas del DGRP. Mediante análisis genéticos cuantitativos se observó que el paisaje de tolerancia térmica presenta una alta heredabilidad, además de interacciones genotipo-sexo y genotipo-ambiente significativa. Adicionalmente, mediante análisis GWAS se identificaron múltiples variantes que se asocian de forma positiva con el paisaje de tolerancia térmica, las que mapean a genes relacionados a funciones de señalización y desarrollo. Se encontró un marcado dimorfismo sexual, lo que les permitiría a las poblaciones responder a las diferentes presiones selectivas provocadas por el calentamiento global. En conclusión, el paisaje de tolerancia térmica tendría la capacidad de evolucionar frente las presiones selectivas generadas por el calentamiento global, además de presentar variación genética en la plasticidad fenotípica, lo que facilita procesos adaptativos, y dimorfismo sexual por pleiotropía antagonista que permite mantener la diversidad genética en las poblaciones.

ABSTRACT

The increase in environmental temperature associated with global warming has imposed important selective pressures on the natural populations of ectothermic animals, so it is necessary to understand the genetic bases and the evolutionary potential of the thermal tolerance landscape to predict whether or not populations will be able to adapt to global warming in the long term. For this, thermal assays were carried out at different temperatures using 100 lines of the DGRP. Through quantitative genetic analyzes it was observed that the landscape of thermal tolerance has a high heritability, in addition to significant genotype-sex and genotype-environment interactions. GWAS analysis identified multiple variants that are positively associated with the thermal tolerance landscape, which map to genes related to signaling and developmental functions. A marked sexual dimorphism was found, which will allow populations to respond to the different selective pressures caused by global warming. In conclusion, the thermal tolerance landscape should have the capacity to evolve in the face of the selective pressures generated by global warming, in addition to presenting genetic variation in phenotypic plasticity, which facilitates adaptive processes, and sexual dimorphism due to antagonistic pleiotropy that maintain the genetic diversity in populations.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. *Calentamiento global y su efecto en las poblaciones naturales de ectotermos*

Desde fines del siglo XIX, la temperatura global promedio ha aumentado aproximadamente 1°C, tendencia que se ha intensificado desde el año 1970 (Hartmann *et al.*, 2013; NASA, 2021). Este escenario es acompañado por un aumento en la intensidad y periodicidad de eventos climáticos extremos a nivel local, como heladas y olas de calor (Meehl & Tebaldi, 2004). Estos cambios imponen importantes presiones selectivas sobre las poblaciones naturales (Pacifci *et al.*, 2015), produciendo cambios en su distribución (Lenoir *et al.*, 2020) y potencialmente afectando su persistencia en el tiempo (Thomas *et al.* 2004).

Los organismos ectotermos son especialmente susceptibles a la variación térmica ambiental, ya que su temperatura corporal depende de la temperatura ambiental, lo cual afecta funciones como la locomoción, el crecimiento y la reproducción (Angilletta, 2009). Por esto, se predice que el calentamiento global generará cambios en los patrones distribución de los organismos ectotermos dependiendo de la tolerancia térmica que posean las especies, las que en su mayoría ya mantienen una temperatura corporal cercanas a sus límites térmicos (Deutsch *et al.* 2008).

1.2. *Mecanismos de respuesta a cambios térmicos a nivel poblacional*

La capacidad de respuesta de las poblaciones al calentamiento global depende de diversos mecanismos como cambios conductuales, dispersión a nuevos hábitats, plasticidad fenotípica, y evolución adaptativa, los cuales pueden actuar independientemente o en conjunto (Chirgwin *et al.* 2015). Los cambios conductuales sólo permiten una adaptación a condiciones locales (Castañeda *et al.* 2019), mientras que la dispersión a nuevos hábitats es difícil para poblaciones terrestres debido al alto grado de fragmentación de los hábitats (Lenoir *et al.* 2020). Por ello, procesos adaptativos mediados por la plasticidad fenotípica y cambios evolutivos tendrían mayor importancia en respuesta al calentamiento global.

La plasticidad fenotípica es la capacidad de un mismo genotipo para expresar múltiples fenotipos dependiendo del ambiente, amortiguando el efecto de condiciones adversas en el corto plazo (Auld *et al.*, 2010; Bonamour *et al.*, 2019; Sgrò *et al.*, 2016). Esta plasticidad favorece la adaptación a nuevas condiciones ambientales si acerca a las poblaciones al nuevo óptimo fenotípico, permitiendo la acción de selección direccional (Ghalambor *et al.* 2007). De hecho, varios estudios han demostrado la presencia de plasticidad fenotípica en la tolerancia térmica en reptiles, anfibios y artrópodos, lo que puede reducir los efectos negativos que experimentan durante eventos de altas temperaturas que podrían experimentar en la naturaleza (Angilletta, 2009). Sin embargo, esta plasticidad no podría compensar totalmente los cambios ambientales generados por el cambio climático, debido a que aun considerando estimaciones optimistas de plasticidad fenotípica, se espera que las poblaciones experimenten crecientes eventos de sobrecalentamiento a medida que las temperaturas globales aumenten (Gunderson *et al.* 2017; van Heerwaarden *et al.* 2016).

Por otra parte, a largo plazo, la adaptación a estos cambios ambientales dependerá de la capacidad evolutiva de la tolerancia térmica, es decir, de que en la población aumente la frecuencia de alelos que confieran una mayor adecuación biológica (fitness) en el nuevo ambiente (Visser, 2008). Esta evolución adaptativa ocurre en respuesta a la selección natural, proceso en el cual algunos individuos de una población presentan rasgos que les confiere una mayor supervivencia o éxito reproductivo (Jon & Freeman, 2014). Como para todo rasgo, para que ocurra evolución por selección natural el rasgo debe exhibir variación fenotípica entre los individuos de una población, el rasgo debe poseer relación con el fitness del individuo, y finalmente la variación existente en el rasgo debe poseer un componente genético (Fox *et al.*, 2001; Logan *et al.*, 2014; Santos *et al.*, 2012). Esta última condición corresponde a la heredabilidad de un rasgo, definida como la proporción de la variación fenotípica que se debe a la variación genética en una población; un rasgo con alta heredabilidad tiene una mayor probabilidad de responder a la selección natural, permitiendo a la población perdurar en el tiempo (Lynch & Walsh, 1998).

Numerosos estudios han abordado la heredabilidad de la tolerancia térmica, observando que la metodología utilizada en el laboratorio afectan las estimaciones de los parámetros de tolerancia térmica y su heredabilidad, dificultando la comparación entre estudios (Castañeda *et al.* 2019; Chown *et al.* 2009; Santos *et al.* 2012; Sgrò *et al.* 2010; Terblanche *et al.* 2007). En general, dos metodologías son utilizadas para determinar la tolerancia térmica: (1) los ensayos estáticos, donde se somete al organismo a una temperatura constante y luego se registra su tiempo de colapso; y (2) ensayos dinámicos, donde se somete al organismo a una temperatura ascendente y luego se registra la temperatura de colapso (Beitinger & Lutterschmidt, 2011). Los ensayos dinámicos suelen ser más largos que los estáticos, lo que aumenta el efecto de otras variables como la disponibilidad de nutrientes, agua, y estocasticidad (Mitchell & Hoffmann, 2010; Overgaard *et al.*, 2011). Estas variables contribuyen a aumentar la variabilidad residual o ambiental en los ensayos, y por ende disminuyen la proporción explicada por la variabilidad genética de la población en estudio, disminuyendo las estimaciones de heredabilidad (Castañeda *et al.*, 2019). Por esta razón, ensayos cortos son mejores para estudiar las bases genéticas de la tolerancia térmica, mientras que ensayos largos tienen una mejor aplicación ecológica, ya que recrean mejor las condiciones térmicas que los animales experimentan en el ambiente (Rezende *et al.*, 2011; Santos *et al.*, 2011).

Con el objetivo de unificar metodologías en la determinación de la tolerancia térmica, Rezende y colaboradores (2014) plantearon un nuevo modelo denominado "paisaje de tolerancia térmica", el cual incorpora tanto la magnitud como el tiempo de exposición al estrés térmico. Este modelo consiste en realizar ensayos estáticos a múltiples temperaturas y registrar los tiempos de colapso, los que se ajustan a una regresión lineal para obtener la "curva de tiempo-muerte térmica". A partir de esta curva se obtiene la temperatura en donde se registra un tiempo de colapso al minuto de exposición (temperatura crítica máxima o CT_{max}), y la pendiente de la curva, que indica que tan rápido disminuye la resistencia durante el desafío térmico (sensibilidad térmica o z). Estos dos parámetros logran predecir los resultados de

un ensayo térmico independiente de la metodología usada, aportando un marco de trabajo unificado para estudiar la tolerancia térmica (Rezende *et al.* 2020).

1.3. Correlaciones genéticas y su efecto en la adaptación

La evolución adaptativa de rasgos complejos puede ser afectada por diversos tipos de correlaciones genéticas que pueden restringir la evolución de rasgos de forma independiente (Connallon & Hall, 2018). Si la selección actúa en la misma dirección sobre dos rasgos distintos, entonces la presencia de correlación genética positiva entre ellos facilitará la respuesta evolutiva de ambos rasgos, mientras que una correlación negativa restringirá esta respuesta (Via & Hawthorne, 2005). Esto también se aplica a la expresión de un mismo rasgo en diferentes ambientes, lo que permite estudiar la existencia de interacciones entre el genotipo y el contexto ambiental en la expresión del rasgo (Lynch & Walsh, 1998). Cuando la correlación entre la respuesta de dos contextos diferentes es significativamente inferior a 1, existe interacción del genotipo con ese contexto (Via 1987), tales como la interacción genotipo-ambiente (GxE) y la interacción genotipo-sexo (GxS) (Via & Hawthorne, 2005).

La interacción genotipo-ambiente se define como la influencia del ambiente en la variación de la respuesta de diferentes genotipos, indicando que diferentes genotipos responden de manera diferente a la variación ambiental (Lynch & Walsh, 1998). En este caso, es de esperar que a nivel genómico los loci que determinan el rasgo dependan del contexto ambiental, lo que posibilita la evolución de diferentes valores fenotípicos en diferentes ambientes a nivel local (Gillespie & Turelli 1989; van Rheenen *et al.* 2019). Se ha descrito que la temperatura ambiental afecta la tolerancia térmica (Castañeda *et al.* 2015; Sgrò *et al.* 2010) y sus bases genéticas (Ørsted *et al.* 2019), por lo que esta interacción es importante para evaluar el potencial adaptativo de la tolerancia térmica en la naturaleza (Sgrò & Hoffmann, 2004).

Por otro lado, la presencia de interacción genotipo-sexo indica que los genotipos responden de manera diferente dependiendo de su sexo, y que por lo tanto existe

variación en el dimorfismo sexual (Connallon & Matthews 2019; Lasne *et al.* 2018). Esta variación es de interés ya que diferencias selectivas entre los sexos tiene importantes implicancias en la evolución y mantención de la diversidad genética en las poblaciones naturales, así como el uso de recursos y hábitats en la naturaleza (Connallon & Clark 2013; Lynch & Walsh 1998; Pennell *et al.* 2016; Ruzicka *et al.* 2020). Cuando estas diferencias selectivas son extremas se habla de antagonismo sexual o pleiotropía antagonista entre sexos, siendo una de las principales causas del dimorfismo sexual (Connallon & Hall, 2018). Por lo general, rasgos fisiológicos tienden a tener una mayor interacción genotipo-sexo que los morfológicos (Poissant *et al.* 2010). De hecho, se ha descrito que la tolerancia térmica posee valores intermedios de interacción genotipo-sexo (Lasne *et al.* 2018; Morgan & Mackay 2006). Por esta razón, es importante considerar interacciones con el sexo al estudiar la arquitectura genética de la tolerancia térmica y su potencial adaptativo en las poblaciones naturales.

1.4. Genes asociados a la tolerancia térmica

Múltiples trabajos han estudiado los genes asociados a la tolerancia térmica en organismos ectotermos (Hoffmann & Willi, 2008). Los primeros genes identificados fueron los codificantes de proteínas de choque térmico (Heat shock proteins o HSPs) (Anderson *et al.* 2003; Dahlggaard *et al.* 1998; Lerman & Feder 2001; McColl & McKechnie 1999). Estas proteínas actúan en respuesta al estrés térmico amortiguando los daños producidos por la temperatura, protegiendo a otras proteínas de ser desnaturalizadas y facilitando su plegamiento (Richter *et al.* 2010). Distintos estudios enfocados directamente a evaluar la función y frecuencias alélicas de estos genes en poblaciones naturales han corroborado su participación en la tolerancia térmica (Anderson *et al.* 2003; Dahlggaard *et al.* 1998; McColl & McKechnie 1999); mientras que también han resultado relevantes al estudiar regiones del DNA relacionadas a la variación de rasgo, estando presentes en muchos de los QTL (locus de rasgo cuantitativo) identificados para la tolerancia térmica (Morgan & Mackay 2006; Norry *et al.* 2004, 2007, 2009).

Adicionalmente, otros genes no pertenecientes a la familia de las HSPs también cumplen un rol en la tolerancia térmica. Entre ellos destacan los genes relacionados a longevidad y respuesta a estrés como *methusalah* (*mth*), codificante de receptores participantes en la transducción de señales (Araújo *et al.* 2013; Lin *et al.* 1998; Morgan & Mackay 2006), y el de factor de transcripción *foxo* (Giannakou *et al.* 2004; Morgan & Mackay 2006). También se han destacado genes relacionados con la vía de las hormonas y neurotransmisores de la familia de las catecolaminas como *Catsup* y *Ddc* (Norry *et al.* 2007, 2009). El rol estos genes en la tolerancia térmica se ha validado con ensayos en terreno de liberación y recaptura (Loeschcke *et al.* 2011) y mutagénesis de los genes (Hoffmann & Willi, 2008).

En los últimos años, el desarrollo de herramientas genómicas ha facilitado el estudio de variantes genéticas relacionadas a la tolerancia térmica, siendo una de ellas el Panel de Referencia Genética de *Drosophila* o DGRP (MacKay *et al.* 2012). El DGRP es un conjunto de líneas isogénicas totalmente secuenciadas que facilitan el desarrollo de análisis genéticos cuantitativos y los análisis de asociación a lo ancho del genoma o GWAS, los cuales consisten en probar la asociación de variantes genéticas en el genoma de múltiples individuos para identificar asociaciones genotípicas con un determinado fenotipo (Tam *et al.* 2019). Los GWAS además han resultado útiles para identificar asociaciones genotipo-fenotipo en un contexto determinado, como el sexo (Ruzicka *et al.* 2019, 2020). Hasta la fecha, dos trabajos han utilizado el DGRP para estudiar la tolerancia térmica. Primero, Rolandi *et al.* (2018) describió variantes en genes relacionados a la organización celular, transporte celular, y actividad neurotransmisora; mientras que Lecheta *et al.* (2020) clasificó los genes determinantes de la tolerancia térmica en tres grupos: (1) genes que participan activamente protegiendo al organismo, (2) genes que participan en la regulación génica de la respuesta térmica, y (3) genes que alteran el grado de preparación del organismo para soportar el estrés térmico.

El DGRP es una potente herramienta para estudiar las bases genéticas del paisaje de tolerancia térmica, ya que permitiría identificar de variantes y genes específicos que determinan su variabilidad fenotípica, permitiendo conocer su arquitectura genética, la cual es desconocida hasta la fecha, y aportando a entender los

mecanismos genéticos que permiten la adaptación de organismos ectotermos al calentamiento global.

2. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

Dadas las brechas existentes del conocimiento sobre las bases genéticas de la tolerancia térmica bajo el enfoque de paisaje de tolerancia térmica, se plantean las siguientes preguntas de investigación: ¿Cuáles son las bases genéticas que subyacen el paisaje de tolerancia térmica en *D. melanogaster*? ¿La interacción genotipo-sexo y genotipo-ambiente contribuyen a la varianza observada en la tolerancia térmica? ¿Cuáles son las variantes y genes asociados al paisaje de tolerancia térmica?

3. OBJETIVOS

El objetivo general de este proyecto es describir la arquitectura genética del paisaje de tolerancia térmica en *D. melanogaster* en diferentes ambientes térmicos y en ambos sexos para entender el potencial y restricciones evolutivas de la tolerancia térmica frente al calentamiento global. Para esto se plantearon tres objetivos específicos:

- **Objetivo específico 1:** Estimar la variación genética, heredabilidad, interacciones genotipo-sexo e interacciones genotipo-ambiente de la tolerancia térmica mediante análisis genéticos cuantitativos.
- **Objetivo específico 2:** Identificar variantes y genes candidatos asociados al paisaje de tolerancia térmica (CT_{max} y z) de *D. melanogaster* utilizando el Drosophila Genetic Reference Panel (DGRP).

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Stocks de *Drosophila*

Se utilizaron 100 líneas isogénicas del Panel Genético de Referencia de *Drosophila* (DGRP) para realizar los ensayos térmicos. Las líneas originales del DGRP se generaron mediante 20 generaciones de endogamia de cada una de las líneas, las cuales se construyeron a partir de hembras muestreadas de una población de Carolina del Norte, Estados Unidos (MacKay *et al.* 2012). En nuestro laboratorio, las moscas fueron mantenidas a una temperatura de 25°C con un fotoperiodo de 12 horas luz y 12 horas oscuridad. Para la mantención de las moscas se utilizó comida estándar, compuesta de 100 g/L de levadura fresca, 80/L g de glucosa, 50 g/L de harina, 11 g/L de agar agar, 12 mL/L de nipagin, 6 mL/L de ácido propiónico. A partir de las primeras eclosiones se fueron separando moscas a viales nuevos cada dos días y se esperó a que tuvieran entre 4-6 días de vida para realizar los ensayos térmicos.

4.2. Determinación de curvas TDT

Para cada ensayo se utilizaron 5 machos y 5 hembras de cada línea del DGRP. El número de moscas a utilizar se determinó a partir de análisis previos sobre 40 líneas del DGRP, en donde 5 individuos por sexo mostró niveles de potencia sobre 0,8. Debido a la gran cantidad de líneas utilizadas, los ensayos se fueron realizados en 12 bloques de 8-9 líneas del DGRP entre julio y septiembre del 2021. Las moscas se colocaron aleatoriamente en placas de 96 pocillos y se colocaron dentro de una cámara climática, conectada a un controlador térmico PELT-5 (Sable Systems International). Estos ensayos se realizaron en cuatro temperaturas estáticas a 37°C, 38°C, 39°C y 40°C ($\pm 0,2^\circ\text{C}$). Los ensayos se grabaron con una cámara de video (Logitech) y los videos resultantes fueron posteriormente visualizados para registrar el tiempo de colapso de cada mosca, definido como el tiempo al cual cada mosca deja de moverse (Castañeda *et al.* 2015, 2019). Para facilitar y agilizar el análisis de los videos se utilizó un script desarrollado en Python que mide cambios en la

densidad de píxeles en cada pocillo y determina el cuadro en donde se produce el último cambio en la densidad (cuadro en donde la mosca deja de moverse) (Awde *et al.*, 2020). Esta metodología permite la determinación rápida del tiempo de colapso.

Posteriormente, utilizando el promedio de tiempo de colapso de cada ensayo térmico para cada línea y sexo se modeló la curva de tiempo-muerte térmica usando la siguiente ecuación:

$$\log_{10}t = \frac{(CT_{max}-T)}{z} \quad \text{ecuación 1}$$

donde T es la temperatura de ensayo ($^{\circ}\text{C}$), CT_{max} la temperatura crítica máxima ($^{\circ}\text{C}$), t el tiempo de colapso (min), y z la sensibilidad térmica (Rezende *et al.* 2014). Estas curvas permiten la estimación de CT_{max} al extrapolar la temperatura teórica en donde se obtenga un tiempo de colapso de 1 min ($\log_{10} = 0$), y también la estimación de z a partir de la pendiente de cada línea TDT ($z = -1/\text{pendiente}$).

4.3. Análisis genéticos cuantitativos

4.3.1. Análisis sobre el tiempo de colapso

Se analizó la variación del tiempo de colapso ajustando modelos lineales mixtos utilizando la función *lmer* del paquete *lme4* de R (Bates *et al.* 2015) con el siguiente modelo completo:

$$Y = \mu + \text{sexo} + \text{temperatura} + \text{bloque} + \text{línea} + \text{sexo} \times \text{temperatura} + \text{sexo} \times \text{línea} + \text{temperatura} \times \text{línea} + \text{sexo} \times \text{temperatura} \times \text{línea} + \varepsilon$$

ecuación 2

Donde Y corresponde al tiempo de colapso, μ corresponde al promedio general, sexo corresponde al efecto fijo del sexo, temperatura corresponde al efecto fijo de

la temperatura de ensayo, *bloque* corresponde al efecto fijo de los bloques experimentales, *línea* corresponde al efecto aleatorio de las 100 líneas del DGRP utilizadas, y ϵ corresponde al error residual. A partir de este modelo se estimaron los componentes de varianza para el efecto líneas (σ^2_L), interacción sexo-línea (σ^2_{SL}), interacción temperatura-línea (σ^2_{TL}), e interacción sexo-temperatura-línea (σ^2_{STL}). Usando estos componentes de varianza, se estimó la varianza genética (σ^2_G) según la ecuación 3 (MacKay *et al.*, 2012), y la variación fenotípica (σ^2_F) como la suma de la variación genética (σ^2_G) y la variación residual (σ^2_ϵ) (Falconer & Mackay, 1996). Finalmente, se estimó la heredabilidad en sentido amplio (H^2) del tiempo de colapso como $H^2 = \sigma^2_G / \sigma^2_F$ (Roff 1997 ecuación 2.7) y se calculó su intervalo de confianza al 95% con la ecuación 4:

$$\sigma_G^2 = \sigma_L^2 + \sigma_{SL}^2 + \sigma_{TL}^2 + \sigma_{STL}^2 \quad \text{ecuación 3}$$

$$H^2 IC 95\% = \pm z_{0,95} \times ES \quad \text{ecuación 4}$$

Donde $z_{0,95}$ corresponde al valor crítico de la distribución normal, equivalente a 1,96, y ES corresponde al error estándar de la heredabilidad (Zar, 2010), que se determina de la siguiente forma:

$$ES(H^2) = 2(1 - H^2)(1 + (K - 1)H^2) \left(\frac{2}{K(K-1)(N-1)} \right)^{1/2} \quad \text{ecuación 5}$$

Donde k es el número de individuos por líneas, y N el número de líneas (Roff 1997 ecuación 2.28).

Además del modelo completo, también se ajustaron modelos reducidos en donde se eliminó el efecto fijo del sexo (y sus interacciones) o el efecto fijo de la temperatura (y sus interacciones) para obtener modelos que expliquen la varianza sólo dentro de alguno de los sexos dentro de alguna de las temperaturas. Las estimaciones de varianza de estos modelos reducidos fueron utilizadas para estimar

la correlación genotipo-sexo (r_{GS}) en cada temperatura y la correlación genotipo-temperatura (r_{GT}) en cada temperatura para cada sexo (ecuación 6):

$$r_{G(S \circ T_{i,j})} = \sigma_L^2 / (\sigma_L^2 + \sigma_{(S \circ T_{i,j})L}^2) \quad \text{ecuación 6}$$

En donde σ_L^2 corresponde a la varianza entre líneas, σ_{SL}^2 corresponde a la varianza de la interacción *sexo X línea*, y σ_{TijL}^2 corresponde a la varianza de la interacción *temperatura X línea* para cada par de temperatura (37-38 °C, 37-39 °C, 37-40 °C, 38-39 °C, 38-40 °C, y 39-40 °C) (National Research Council, 1963).

Luego se estimó en detalle el componente de varianza de la interacción *sexo X línea* en cada temperatura y la interacción *temperatura X línea* para cada par de temperatura, para determinar si la varianza se debe a efectos pleiotrópicos antagonistas o a efectos de magnitud de los determinantes genéticos. La varianza por pleiotropía antagonista (PA) se cuantificó en base a la varianza en la interacción causada por cambios en el ranking de las líneas entre ambos sexos (ecuación 7):

$$\text{Varianza por PA} = \sigma_{LH \circ LT_1} \sigma_{LM \circ LT_2} (1 - r_{GS \circ GT_{1,2}}) \quad \text{ecuación 7}$$

En donde σ_{LH} y σ_{LM} corresponden a la raíz cuadrada de la varianza entre líneas para las hembras y machos a una temperatura dada, respectivamente; y donde σ_{LT_1} y σ_{LT_2} corresponden a la raíz cuadrada de la varianza entre líneas para la temperatura T_1 y la temperatura T_2 , respectivamente (National Research Council, 1963).

La segunda fuente de varianza se analizó cuantificando la varianza en la interacción causada por la diferencia de magnitud (DM) de la varianza entre líneas de cada sexo y entre cada par de temperaturas (ecuación 8) (National Research Council, 1963):

$$\text{Varianza por DM} = (\sigma_{LH \text{ o } LT_1} - \sigma_{LM \text{ o } LT_2})^2 / 2 \quad \text{ecuación 8}$$

Considerando que ambas fuentes de variación explican la totalidad de la variación por la interacción sexo X línea y temperatura X línea, se calculó el porcentaje de variación explicado por efectos pleiotrópicos antagonistas (% por PA).

4.3.1. Análisis sobre CT_{max} y z

Los análisis genéticos cuantitativos sobre los parámetros de CT_{max} y z sólo consideraron el efecto fijo del sexo, el efecto aleatorio de las líneas y el error residual (ecuación 9). En este caso no existe el efecto de la temperatura, ya que ambos parámetros se calculan a partir de los tiempos de colapso a las distintas temperaturas. Tampoco se incluye el efecto de la interacción con el sexo debido a que el modelo experimental no considero replicas experimentales, por lo que sólo existe una única estimación de CT_{max} y z por sexo y genotipo.

$$Y = \mu + \text{sexo} + \text{línea} + \varepsilon \quad \text{ecuación 9}$$

Para este modelo la varianza genética es igual a la varianza entre líneas ($\sigma^2_G = \sigma^2_L$); la varianza fenotípica (σ^2_F) y la heredabilidad en sentido amplio (H^2) se calcularon igual a lo descrito en los modelos sobre los tiempos de colapso.

4.4. Análisis de variantes y genes

4.4.1. Análisis de asociación a lo ancho del genoma (GWAS)

Para determinar variantes y genes asociados al paisaje de tolerancia térmica se realizaron análisis GWAS con los valores de CT_{max} y z, utilizando la plataforma web DGRP2 (<http://dgrp2.gnets.ncsu.edu/>) (MacKay *et al.* 2012). Este análisis asocia la variación fenotípica con variantes bialélicas presentes en las líneas del DGRP. En

primer lugar, la plataforma DGRP2 se realiza un filtrado estándar de las variantes bialélicas, dejando sólo las variantes con una frecuencia de alelo menor (MAF) mayor o igual a 0,05. Posteriormente, se corrigen los valores fenotípicos con dos criterios: (a) se corrige según el estado de infección de *Wolbachia*, una bacteria endosimbiótica de transmisión materna que infecta alrededor del 20% de las moscas y que puede alterar la biología de su hospedero, y (b) se corrige según el efecto de regiones de inversión, debido a que en estas regiones no ocurre recombinación homóloga (Huang *et al.* 2014). Finalmente, con los valores fenotípicos corregidos, se realizará un análisis de asociación con cada marcador bialélico, mediante ANOVAs con la forma:

$$Y = \mu + \text{marcador} + \text{línea} + \varepsilon \quad \text{ecuación 10}$$

Donde Y es el valor corregido del fenotipo, *marcador* el efecto fijo del marcador (diferencia del valor del rasgo entre alelo mayor y menor), *línea* el efecto aleatorio de las líneas, y ε el error residual. Las variantes significativamente asociadas fueron anotadas contra la versión de anotación de variantes FB5.57 (<http://dgrp2.gnets.ncsu.edu/data.html>).

Con los resultados de asociación entregados por el GWAS se realizaron gráficos de Manhattan utilizando el paquete qqman de R (Turner, 2014). Este gráfico ilustra en el eje x la ubicación cromosómica de las variantes, versus el valor del estadístico de asociación $-\log_{10}$ (valor *P*) de cada variante en el eje y, representando de manera gráfica las variantes y regiones cromosómicas más asociadas a los rasgos.

4.4.2. Análisis de Ontología génica (GO)

Para analizar la función biológica de los genes candidatos y si existe algún proceso en común entre ellos, se realizó un análisis de ontología génica con la totalidad de genes candidatos que contienen variantes asociadas a los parámetros de CT_{max} y z. La GO asigna la función del producto génico según las categorías de proceso

biológico, componente celular, y función molecular. Previo a este proceso se realizó un filtrado de los genes que no contienen ninguna GO descrita en la plataforma FlyBase (<https://flybase.org/>) y que por lo tanto, no contribuyen a ninguna categoría funcional conocida y dificultan encontrar categorías significativamente sobrerrepresentadas. La lista de genes candidatos filtrados se subió a la plataforma PANTHER versión 16.0 (<http://pantherdb.org/>) y se realizó un análisis de sobrerrepresentación (PANTHER Overrepresentation Test). Este análisis realiza una prueba exacta de Fisher sobre las frecuencias esperadas (frecuencia de genes por categoría en el genoma de referencia) versus las frecuencias observadas para cada una de las categorías de GO, para luego realizar una corrección por False Discovery Rate y seleccionando sólo los términos con un FDR $\leq 0,05$.

4.4.3. Análisis de variantes sexualmente antagonistas

Para complementar los análisis genéticos cuantitativos realizados para estudiar la interacción genotipo-sexo, se realizó un análisis de las variantes que explican la diferencia en los parámetros del paisaje de tolerancia térmica entre los sexos, en particular de las variantes que presenten antagonismo sexual. Para esto se calculó un índice de antagonismo sexual, correspondiente a la posición de cada línea del DGRP en un eje que varía desde extremos favorables para los machos y desfavorables para las hembras, a extremos favorables para las hembras y desfavorables para los machos (Ruzicka *et al.*, 2019). Específicamente, se posiciona en un espacio de coordenadas bidimensional la respuesta estandarizada de los machos (eje Y) contra la respuesta estandarizada de las hembras (eje X) de cada uno de los genotipos. Posteriormente, se obtienen las coordenadas del eje que cruza en 45° este espacio bidimensional, correspondiente al eje sexualmente antagonista (Berger *et al.*, 2014; Grieshop & Arnqvist, 2018; Ruzicka *et al.*, 2020) (Figura 3S, Figura 4S, anexos).

Con los valores del índice de antagonismo sexual para CT_{max} y z se realizaron nuevos análisis GWAS para identificar variantes sexualmente antagonistas. Se utilizó esta aproximación en lugar de recurrir a los resultados GWAS de las

diferencias entre machos y hembras para CT_{max} y z , ya que las diferencias entre sexos pueden tener diversos orígenes, incluyendo variantes que afecten la respuesta térmica en la misma dirección, pero en diferente magnitud entre los sexos, las que no corresponderían a variantes sexualmente antagónicas.

5. RESULTADOS

5.1. Ensayos térmicos y curvas de tiempo-muerte térmica

La resistencia térmica de las líneas del DGRP disminuyó al aumentar la temperatura de ensayo, con un tiempo de colapso promedio de $94,69 \pm 26,30$ min a los 37°C , de $52,06 \pm 16,01$ min a los 38°C , de $30,65 \pm 7,84$ min a los 39°C , y de $21,60 \pm 4,36$ min a los 40°C (Figura 1).

Las curvas TDT mostraron diferencias en la respuesta térmica entre las líneas del DGRP, tanto en su CT_{max} como en z (Figura 2). Para las hembras, el promedio de CT_{max} fue $45,58 \pm 1,15^{\circ}\text{C}$, con un rango entre $43,40^{\circ}\text{C}$ y $50,61^{\circ}\text{C}$, mientras que el promedio de z fue de $4,38 \pm 0,76$ $^{\circ}\text{C}/\text{min}$, con un rango entre $3,17$ $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ y $8,06$ $^{\circ}\text{C}/\text{min}$. Para los machos, el promedio de CT_{max} fue $46,88 \pm 1,25^{\circ}\text{C}$, con un rango entre $44,63^{\circ}\text{C}$ y $53,34^{\circ}\text{C}$, mientras que el promedio de z fue de $5,45 \pm 0,76$ $^{\circ}\text{C}/\text{min}$, con un rango entre $3,73$ $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ y $9,97$ $^{\circ}\text{C}/\text{min}$.

Las curvas TDT muestran diferencias entre los sexos Figura 2. Las hembras tienden a presentar curvas con una mayor pendiente y por lo tanto son más sensibles al aumento térmico, pero son capaces de soportar temperaturas estresantes intermedias (37°C) durante más tiempo que los machos. En cambio, los machos presentan pendientes menos pronunciadas y por lo tanto, son menos sensibles al aumento de la temperatura, lo que les permite soportar más tiempo temperaturas extremas (CT_{max} más altos), pero tienen un menor tiempo de resistencia a temperaturas intermedias. Este mismo patrón se puede observar entre algunos de los genotipos, evidenciado por el entrecruzamiento de algunas de las curvas TDT. Aquellos genotipos con mayor resistencia a estrés térmico agudo (temperaturas extremas) son menos tolerantes a estrés térmico crónico (temperaturas

intermedias), pero al mismo tiempo, son líneas menos sensibles al cambio térmico (pendientes menos pronunciadas). Esto indica que existe un compromiso entre la tolerancia a estrés térmico agudo y crónico en las líneas del DGRP. La estimación de CT_{max} y z para cada línea se muestra en la Tabla 1S (Anexos).

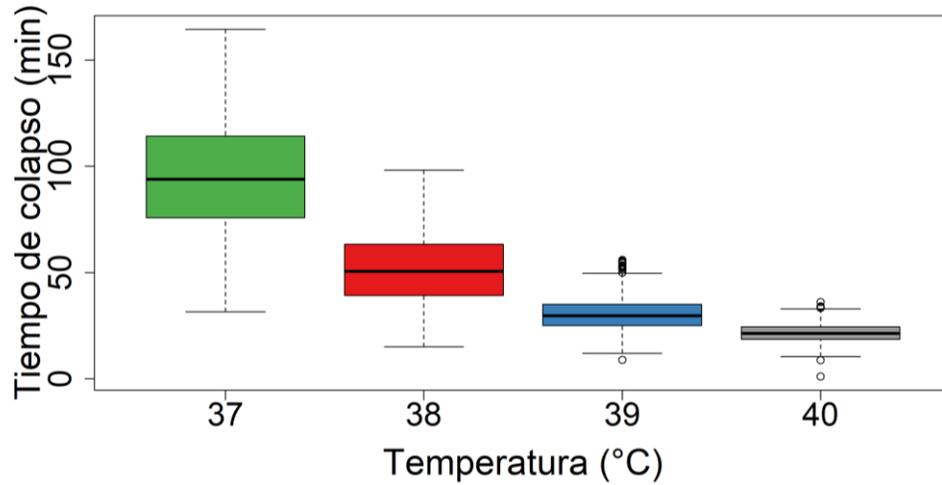


Figura 1. Tiempo de colapso de 100 líneas del DGRP en las distintas temperaturas experimentales. Las cajas coloreadas corresponden al rango intercuartíl y la línea negra corresponde a la mediana. Las barras superior e inferior corresponden a los valores máximos y mínimos, respectivamente, y los círculos corresponden a valores atípicos.

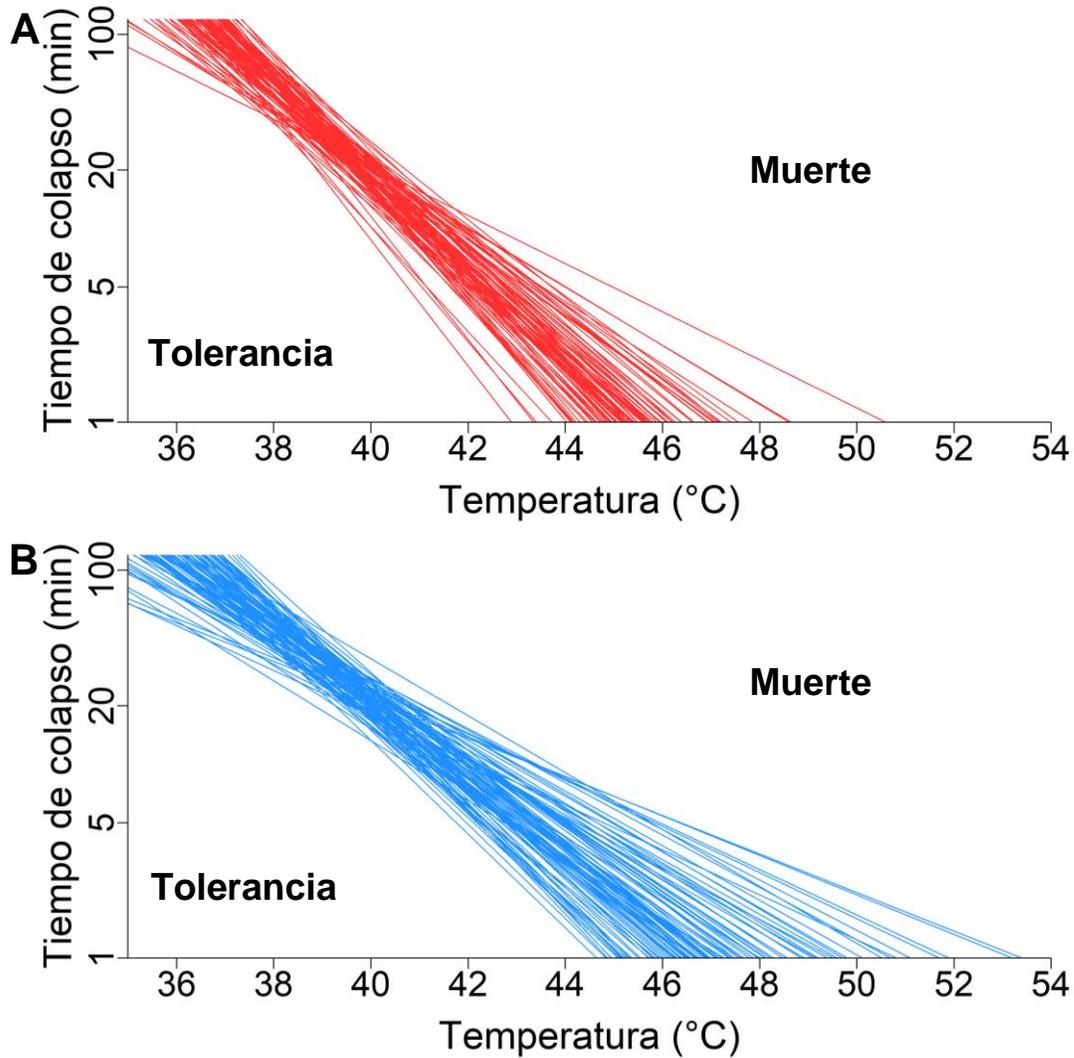


Figura 2. Curvas de tiempo-muerte térmica (TDT) para hembras (A) y machos (B) de 100 líneas del DGRP. Cada línea corresponde a la curva TDT de una línea del DGRP, la cual describe el paisaje de tolerancia térmico de la línea. Intercepto con eje X muestra la estimación de CT_{max} y la pendiente muestra la estimación de z o la sensibilidad térmica. Si individuos de una línea del DGRP se exponen a una temperatura cualquiera por un tiempo superior al descrito por su curva TDT, entonces los individuos morirán (zona de muerte). Líneas con una mayor pendiente son más sensibles al cambio térmico, mientras que las que tienen un mayor CT_{max} resisten más tiempo a temperaturas extremas. El entrecruzamiento de las curvas TDT muestra que un mayor tiempo de resistencia a temperaturas leves compromete la resistencia a temperaturas más extremas.

5.2. Análisis genéticos cuantitativos

La variación genética del tiempo de colapso fue significativamente diferente de 0 en todos los ensayos térmicos, mientras que el efecto del bloque no fue significativo en el modelo completo (Tabla 2S, Anexos). El coeficiente de variación genética fue mayor al coeficiente de variación ambiental en todas las temperaturas, destacando la temperatura de 38°C por poseer un coeficiente de variación genética muy superior por el ambiental (Tabla 1). Los valores de heredabilidad del tiempo de colapso fueron similares entre las temperaturas ensayadas, presentando valores altos desde 0,55 (IC 95% = 0,39-0,70) a los 40°C, a 0,65 (IC 95% = 0,51-0,79) a los 38°C. Los parámetros del paisaje de tolerancia térmica presentaron variabilidad genética significativa, con valores de heredabilidad alta de 0,57 (0,42-0,73) para CT_{max} y de 0,60 (0,45-0,75) para z , siendo el efecto del sexo significativo en ambos (Tabla 2).

Tabla 1. Parámetros genéticos cuantitativos para el tiempo de colapso en las distintas temperaturas experimentales.

Parámetro	Temperatura			
	37°C	38°C	39°C	40°C
\bar{X} (hembras)	103,15	53,16	29,36	20,59
\bar{X} (machos)	86,23	50,95	31,94	22,61
σ^2_L	268,38	134,56	22,20	7,45
σ^2_{SL}	82,97	23,90	8,87	2,31
σ^2_G	351,35	158,46	31,07	9,76
σ^2_ε	243,97	85,64	24,73	8,13
σ^2_P	595,32	244,10	55,80	17,89
CV_G	19,79	24,18	18,19	14,46
CV_ε	16,49	17,78	16,22	13,20
H^2 (IC 95%)	0,59(0,44-0,74)	0,65(0,51-0,79)	0,56(0,40-0,71)	0,55(0,39-0,70)

σ^2_L = varianza entre líneas, σ^2_{SL} = varianza por interacción sexo X líneas, σ^2_G = varianza genética ($\sigma^2_L + \sigma^2_{SL}$), σ^2_ε = varianza ambiental, σ^2_P = varianza fenotípica ($\sigma^2_G + \sigma^2_\varepsilon$), CV_G = Coeficiente de variación genética ($(\sigma_G/\bar{X})100$), CV_ε = Coeficiente de variación ambiental ($(\sigma_\varepsilon/\bar{X})100$), H^2 = heredabilidad, IC= intervalo de confianza al 95%.

Tabla 2. Resultados de los modelos lineales mixtos realizados sobre los parámetros de CT_{max} y z .

Análisis	Fuente	df	Estadístico*	P	Varianza	H ² (IC 95%)
CT_{max}	S	1	142,29	< 2,2e-16	Fijo	0,57
	L	1	38,999	4,24E-10	1,323	(0,42-0,73)
	Error	-	-	-	0,9956	
z	S	1	136,63	< 2,2e-16	Fijo	0,60
	L	1	44,324	2,78E-11	0,6373	(0,45-0,75)
	Error	-	-	-	0,4235	

S = sexo, L = línea.

* El estadístico razón de F se utilizó para evaluar los efectos fijos (sexo), y la razón de verosimilitud se utilizó para evaluar los efectos aleatorios (líneas del DGRP).

5.2.1. Efecto del sexo en tiempo de colapso

En todas las temperaturas de ensayo se encontró una interacción genotipo-sexo significativa (Tabla 2S, Anexos), además de correlaciones genéticas entre los sexos (r_{GS}) inferiores a 1, lo que indica que los sexos no responden de igual forma a los ensayos térmicos y que existe variación genética para el dimorfismo sexual en el DGRP (Tabla 3). Esta interacción también se observa gráficamente en el entrecruzamiento de líneas en la norma de reacción en función del sexo (Figura 3). Al descomponer la varianza asociada a la interacción genotipo-sexo se observa que en todas las temperaturas la mayoría de la variación se debe a la presencia de efectos pleiotrópicos antagonistas (Tabla 3).

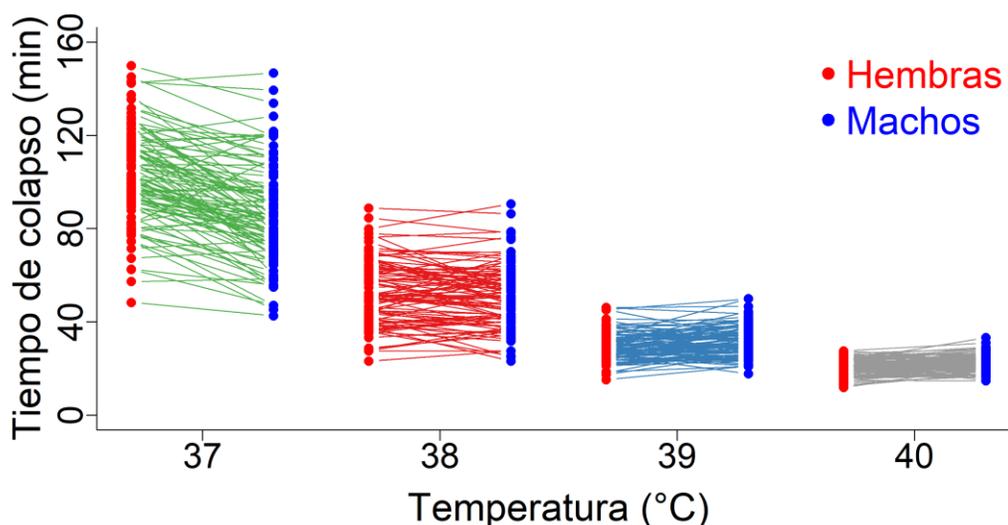


Figura 3. Norma de reacción del tiempo de colapso en función del sexo de 100 líneas del DGRP en las distintas temperaturas experimentales. Cada línea corresponde a una línea del DGRP, su unión con un punto rojo muestra el tiempo de colapso promedio para hembras, mientras que su unión con un punto azul corresponde al de los machos. Líneas horizontales muestran que ambos sexos presentan tiempo de tolerancia similar, mientras que líneas con mayor pendiente muestran diferencias en la tolerancia entre ambos sexos. Para todas las temperaturas de ensayo se observa un gran entrecruzamiento de líneas, mostrando que las líneas responden de forma sexo-dependiente.

Tabla 3. Interacción genotipo-sexo para el tiempo de colapso en las distintas temperaturas experimentales.

Parámetro	Temperatura			
	37°C	38°C	39°C	40°C
r_{GS}	0,76	0,85	0,71	0,76
σ_{LH}	17,30	12,57	5,34	3,04
σ_{LM}	20,28	12,71	5,87	3,23
Varianza por P.A.	82,84	24,08	8,96	2,32
Varianza por D.M	4,45	0,01	0,14	0,02
% por P.A.	94,90	99,96	98,46	99,20

r_{GS} = correlación genotipo-sexo, σ_{LH} = raíz cuadrada de la varianza entre líneas en hembras, σ_{LM} = raíz cuadrada de la varianza entre líneas en machos, P.A. = pleotropía antagonista, D.M. = diferencia de magnitud.

5.2.2. Efecto de la temperatura en tiempo de colapso

Al analizar todas las temperaturas de forma pareada y separando por sexo, en todos los casos la tolerancia térmica muestra varianza significativa en la plasticidad fenotípica, con valores de una interacción genotipo-temperatura significativos (Tabla 2S, Anexos). Esto es corroborado por valores de correlación genotipo-temperatura (r_{GT}) inferiores a 1 (Tabla 4) y la norma de reacción en función de la temperatura, existiendo entrecruzamiento de líneas entre todas las temperaturas experimentales en ambos sexos (Figura 4). Al descomponer la varianza debido a la interacción genotipo-temperatura en todos los pares analizados no se observaron patrones claros, con un porcentaje explicado por diferencia de magnitud entre las temperaturas y otro por efectos pleiotrópicos antagonistas (Tabla 4).

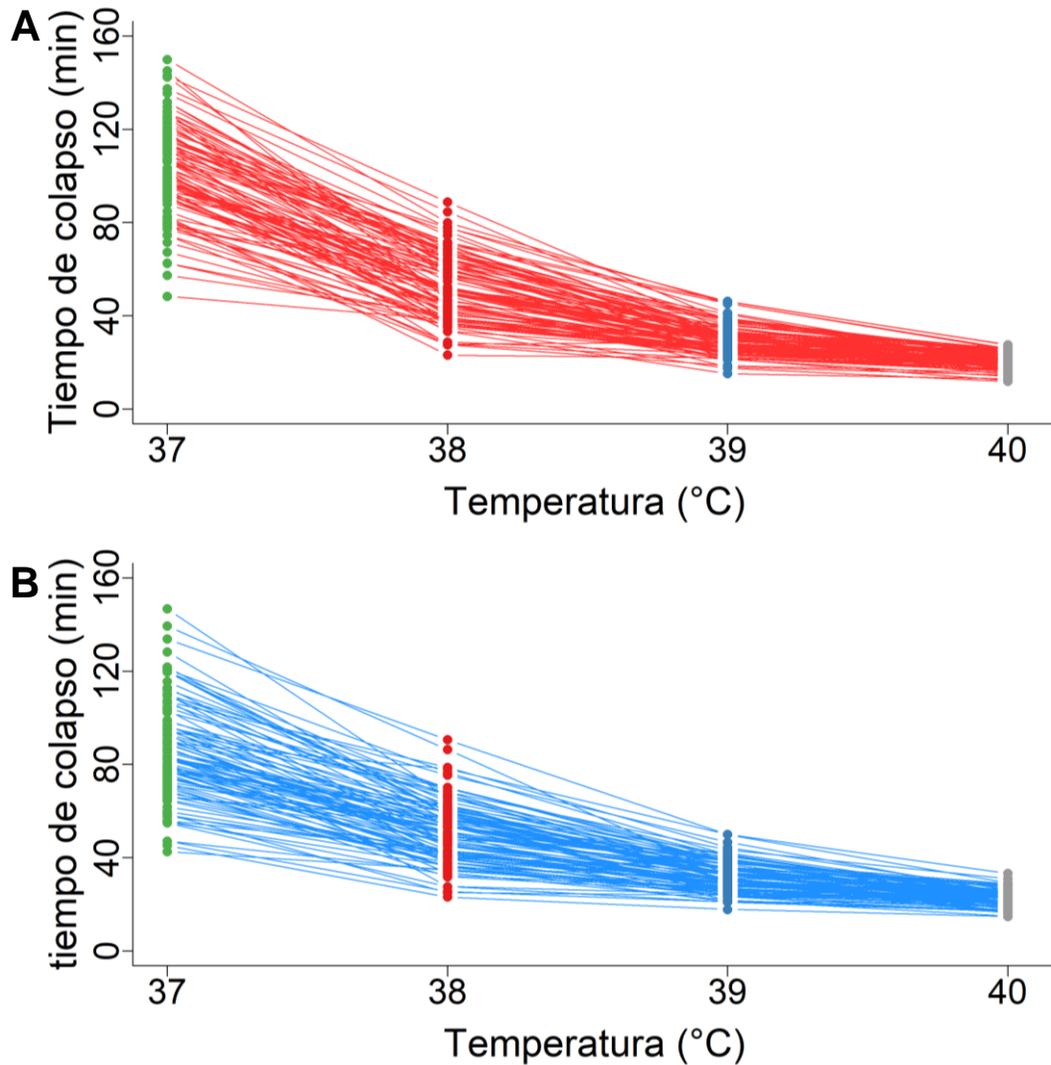


Figura 4. Norma de reacción del tiempo de colapso en función de las temperaturas experimentales para hembras (A) y machos (B) de 100 líneas del DGRP. Cada línea corresponde a una línea del DGRP y los puntos de colores corresponden a la resistencia promedio de la línea en cada temperatura. Líneas del DGRP que se entrecruzan muestran que la tolerancia depende de la temperatura del ensayo, mientras que líneas del DGRP que no se entrecruzan mantienen su tolerancia entre las temperaturas de ensayo (mantienen su posición de ser las menos o más tolerantes).

Tabla 4. Interacción genotipo-temperatura para el tiempo de colapso en ambos sexos.

Sexo	Parámetro	Temperaturas (°C)					
		37-38	37-39	37-40	38-39	38-40	39-40
Hembras	r_{GT}	0,63	0,21	0,02	0,53	0,18	0,64
	σ_{LT1}	17,30	17,30	17,30	12,57	12,57	5,34
	σ_{LT2}	12,57	5,34	3,04	5,34	3,04	3,04
	Varianza por P.A.	79,63	72,99	51,36	31,48	31,24	5,92
	Varianza por D.M	11,19	71,44	101,65	26,08	45,39	2,66
	% por PA	87,68	50,54	33,57	54,69	40,77	69,04
Machos	r_{GT}	0,73	0,30	0,10	0,65	0,29	0,65
	σ_{LT1}	20,28	20,28	20,28	12,71	12,71	5,87
	σ_{LT2}	12,71	5,87	3,23	5,87	3,23	3,23
	Varianza por P.A.	70,03	83,25	58,75	25,80	29,18	6,57
	Varianza por D.M	28,68	103,78	145,32	23,34	44,88	3,49
	% por PA	70,94	44,51	28,79	52,50	39,40	65,34

r_{GT} = correlación genotipo-temperatura, σ_{LT1} = raíz cuadrada de la varianza entre líneas en temperatura T₁, σ_{LT2} = raíz cuadrada de la varianza entre líneas en temperatura T₂, P.A. = pleotropía antagonista, D.M. = diferencia de magnitud.

5.3. Análisis de variantes y genes

Para ambas variables de tolerancia térmica se determinó un valor de $P \leq 10^{-5}$ en base a los gráficos cuantil-cuantil obtenidos (Figuras 1S y 2S, Anexos). Así, de un total de 1.939.762 variantes con un MAF > 0,05, se obtuvieron 76 variantes candidatas asociadas significativamente a CT_{max} (Tabla 3S, Anexos), las que se distribuyeron a lo largo de todo el genoma, con excepción del cromosoma 4, y con una mayor concentración en los brazos cromosómicos 3L y 3R (Figura 5). El 56,4% de las variantes se ubicaron en regiones intrónicas, el 1,3% en la región 5'UTR, el 5,1% en la región 3'UTR, el 12,8% río arriba del cuerpo del gen, el 15,4% río abajo del cuerpo del gen, el 5,1% de variantes sinónimas, el 2,6% de variantes sinónimas, y el 1,3% deleciones de codón. El mapeo de estas variantes resultó en 61 genes candidatos.

Para z se obtuvieron 140 variantes candidatas (Tabla 4S, Anexos), las que se distribuyeron a lo largo del genoma, con excepción del cromosoma 4 y con una

mayor concentración en el brazo cromosómico 3L y 3R (Figura 6). El 56,6% de las variantes se ubicaron en regiones intrónicas, el 0,7% en la región 5'UTR, el 3,3% en la región 3'UTR, el 12,5% río arriba del cuerpo del gen y el 18,4% río abajo del cuerpo del gen, el 5,3% de variantes sinónimas, el 2,6% de variantes sinónimas, y el 0,7% cambios en el marco de lectura. El mapeo de estas variantes resultó en 94 genes candidatos. Entre ambos parámetros de tolerancia térmica se compartieron 51 variantes, los que mapearon a 45 genes candidatos (Tablas 3S y 4S, anexos).

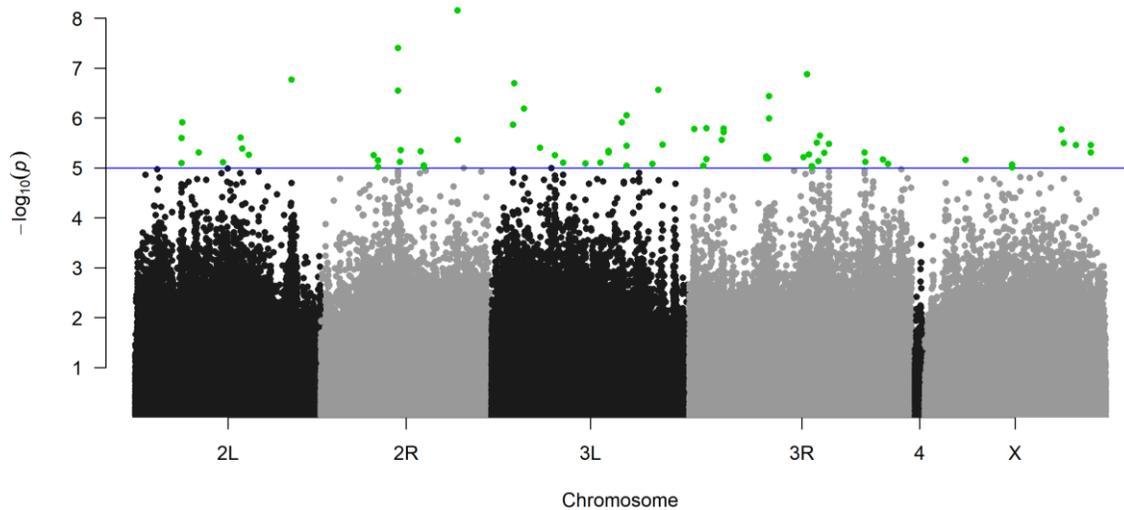


Figura 5. Gráfico de Manhattan para la asociación de todas las variantes genéticas con CT_{max} para 100 líneas del DGRP. Cada punto corresponde a una variante genética del genoma de *D. melanogaster*, ordenadas según su posición cromosómica. El valor en el eje Y de la variante indica su significancia de la asociación con CT_{max} . La línea azul marca el punto de corte de significancia de $P = 10^{-5}$ y los puntos verdes indican variantes con asociación significativa con CT_{max} .

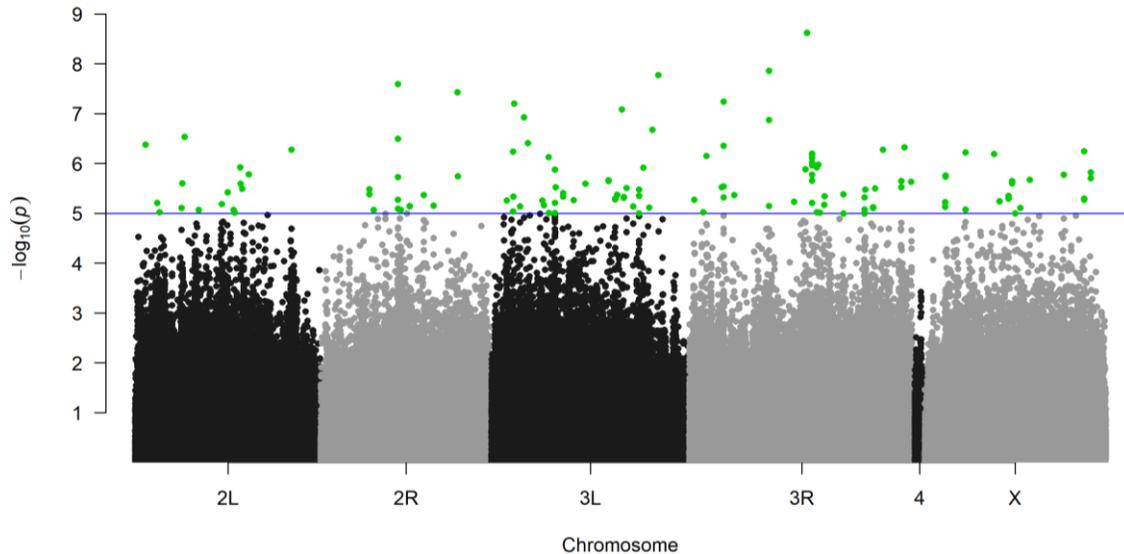


Figura 6. Gráfico de Manhattan para la asociación de todas las variantes genéticas con z (sensibilidad térmica) para 100 líneas del DGRP. Cada punto corresponde a una variante genética del genoma de *D. melanogaster*, ordenadas según su posición cromosómica. El valor en el eje Y de la variante indica su significancia de la asociación con z. La línea azul marca el punto de corte de significancia de $P = 10^{-5}$ y los puntos verdes indican variantes con asociación significativa con z.

5.3.1. Ontología génica de genes candidatos

Mediante el análisis de ontología génica de los genes candidatos se encontraron dos procesos biológicos significativamente sobrerrepresentados, relacionados a procesos de desarrollo y señalización entre células. En cuanto a componente celular dos categorías resultaron significativas, relacionadas a membrana plasmática y unión entre células (Tabla 5 y Tabla 6).

Tabla 5. Resultado de análisis de enriquecimiento de ontología génica de los genes candidatos (PANTHER Overrepresentation Test).

ID	Ontología Génica	N° Genes	Esperado	FDR
PROCESOS BIOLÓGICOS				
GO:0008587	morfogénesis del margen del ala derivada del disco imaginal	5	0,32	6,79E-02
GO:0007267	Señalización célula-célula	10	1,83	6,62E-02
COMPONENTE CELULAR				
GO:0030054	Unión celular	12	2,7	7,88E-03
GO:0005886	Membrana plasmática	25	8,64	5,08E-04

Tabla 6. Genes correspondientes a cada categoría de ontología génica significativamente sobrerrepresentada.

Ontología génica (ID)			
GO:0008587	GO:0007267	GO:0030054	GO:0005886
sfl	Fife	Fife	Tmhs
mam	nAChRalpha5	nAChRalpha5	Fife
sgg	cac	cac	nAChRalpha5
Hs6st	Syx6	stan	cac
DI	Grik	kek6	stan
-	sfl	Syx6	mgl
-	CDase	Grik	kek6
-	mam	CG42286	Syx6
-	Shal	bbg	Grik
-	DI	sgg	CG32638
-	-	shot	CG42286
-	-	DmelCG17716	kmr
-	-	-	Shal
-	-	-	KCNQ
-	-	-	Osi16
-	-	-	Tsp3A
-	-	-	pbl
-	-	-	sgg
-	-	-	Eip63E
-	-	-	DI
-	-	-	Ac76E
-	-	-	robo3
-	-	-	Indy
-	-	-	CG17716
-	-	-	Tsp66E

5.3.2. *Tamaño del efecto y frecuencia de las variantes*

El tamaño del efecto de las variantes encontradas se grafica en la Figura 7, valores positivos del tamaño del efecto indican que el alelo menor disminuye el CT_{max} y aumenta la sensibilidad (ya que se calcula a partir de la diferencia fenotípica del alelo mayor menos el alelo menor), mientras que valores negativos indican que el alelo menor aumenta CT_{max} y disminuye la sensibilidad térmica. Se observa que para CT_{max} la mayoría de las variantes presentaron un tamaño del efecto negativo (moscas homocigotas para el alelo menor presentan mayor CT_{max} que las moscas homocigotas para el alelo mayor), mientras que para z todas las variantes tuvieron un efecto negativo (moscas homocigotas para el alelo menor presentan un mayor z que las moscas homocigotas para el alelo mayor, por lo tanto, son menos sensibles al aumento térmico). Sólo dos variantes tuvieron un efecto negativo sobre el paisaje de tolerancia térmica (menor CT_{max} y mayor sensibilidad), un SNP ubicado en el brazo 3R que mapea al gen *rdx* y un SNP ubicado en el cromosoma X que no mapea a ningún gen conocido. El efecto fenotípico de estas variantes sobre CT_{max} y z se puede observar en la Figura 8 y Figura 9, respectivamente. En la Figura 7 además se muestra la frecuencia del alelo menor (MAF), mostrando que el efecto de las variantes fue inversamente proporcional a la MAF, en consecuencia, alelos con un gran efecto sobre los parámetros de tolerancia térmica presentan una baja frecuencia en las líneas del DGRP estudiadas.

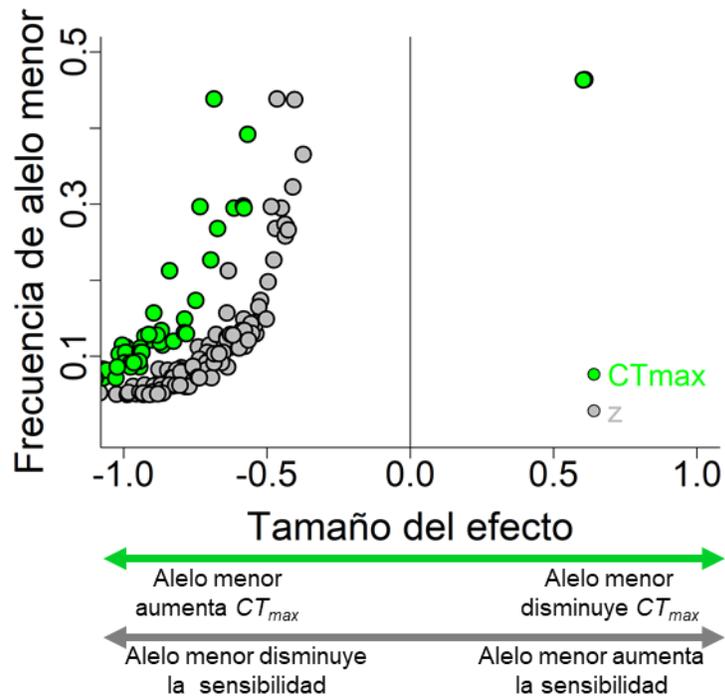


Figura 7. Frecuencia del alelo menor contra el tamaño del efecto de las variantes significativamente asociadas con CT_{max} y z . El eje X muestra el tamaño del efecto. Para CT_{max} , valores negativos indican que el alelo menor aumenta la tolerancia térmica, mientras que para z valores negativos indican que el alelo menor disminuye la sensibilidad. El eje Y muestra la frecuencia del alelo menor de las variantes.

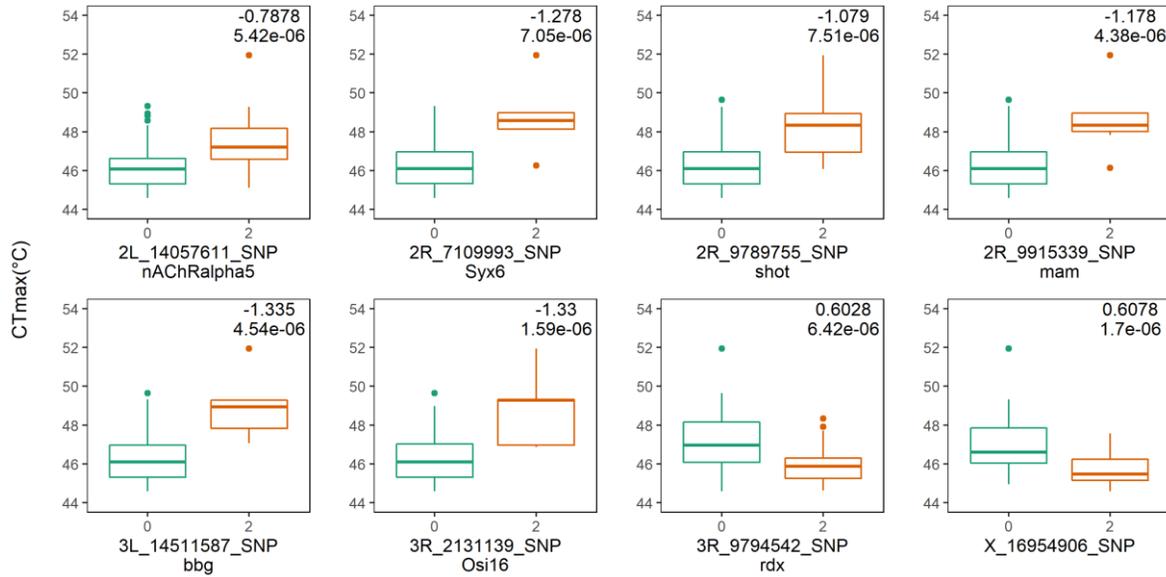


Figura 8. Efecto de algunas variantes significativamente asociadas con el fenotipo de CT_{max} . Cada grafico muestra la distribución de CT_{max} de moscas homocigotas para el alelo mayor (0) y de moscas homocigotas para el alelo menor (2) para algunas de las variantes con un mayor tamaño del efecto, identificadas en los análisis GWAS. Título del eje X muestra el nombre de la variante y el gen al que mapea. Números de las esquinas superior derecha muestran el tamaño del efecto (superior) y el valor de significancia de la variante (inferior).

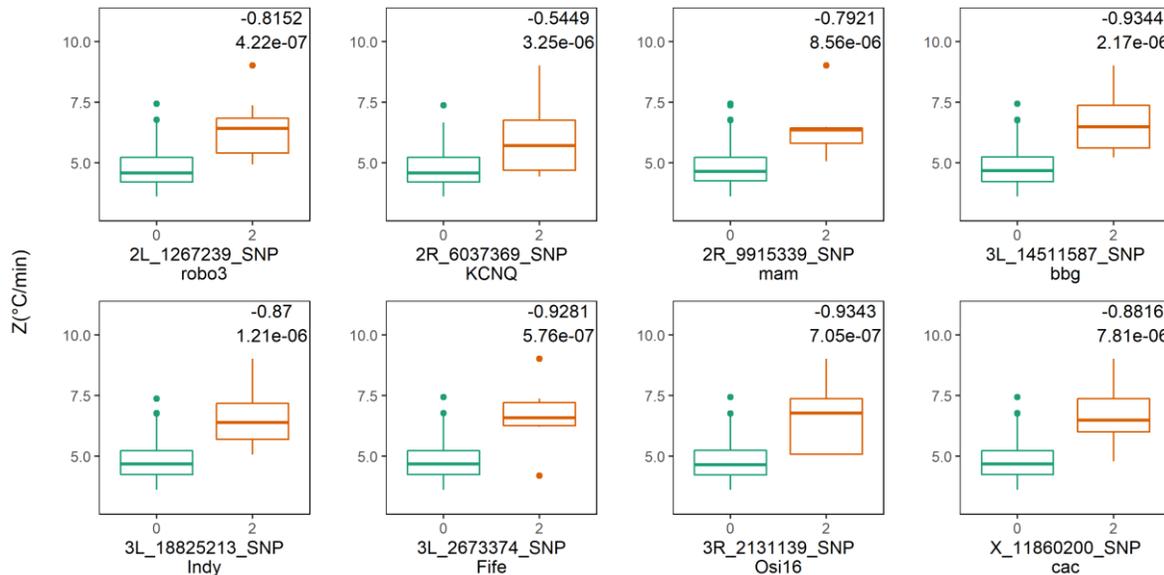


Figura 9. Efecto de algunas variantes significativamente asociadas con el fenotipo de Z. Cada grafico muestra la distribución de Z de moscas homocigotas para el alelo mayor (0) y de moscas homocigotas para el alelo menor (2) para algunas de las variantes con un mayor tamaño del efecto, identificadas en los análisis GWAS. Título del eje X muestra el nombre de la variante y el gen al que mapea. Números de las esquinas superior derecha muestran el tamaño del efecto (superior) y el valor de significancia de la variante (inferior).

5.3.3. Variantes sexualmente antagónicas

Tanto para CT_{max} como z , las líneas del DGRP presentaron poca dispersión en el eje del índice de antagonismo sexual comparado con la dispersión presente en el eje del índice de concordancia sexual, indicando que los sexos suelen responder más de forma concordante que antagonista (la tolerancia térmica disminuye o aumenta para ambos sexos) (Figura 3S y 4S, Anexos). De todas formas, al realizar análisis GWAS sobre los índices de antagonismo sexual de CT_{max} y z se encontraron variantes significativamente asociadas. Para CT_{max} se obtuvieron 16 variantes significativamente asociadas, con una mayor concentración en los brazos cromosómicos 3L y 3R (Figura 5S, Anexos). El 76,5% de las variantes se ubicaron en regiones intrónicas, el 11,8% en regiones exónicas, el 5,9% de variantes

sinónimas y el 5,9% de variantes sinónimas. El mapeo de estas variantes resultó en 15 genes candidatos.

Para *z* se obtuvieron 9 variantes candidatas, la mayoría ubicada en el brazo cromosómico 3R (Figura 5S, Anexos). El 58,3% de las variantes se ubicaron en regiones intrónicas, el 8,3% en regiones exónicas, al igual que las variantes sinónimas y no sinónimas, y el 16,7% ubicadas río arriba del cuerpo del gen. Estas variantes mapearon a 12 genes candidatos, debido a que algunas variantes mapearon a más de un gen. Entre los índices de antagonismo sexual para CT_{max} y *z* se compartieron 7, las que mapearon a 8 genes candidatos en común.

La mayoría de las variantes significativamente asociadas con el índice de antagonismo sexual de CT_{max} y *z* presentaron un tamaño de efecto positivo, lo que indica que los genotipos homocigotos para alelo menor aumentan la tolerancia térmica en machos (aumentan CT_{max} y disminuyen la sensibilidad) y la disminuyen en las hembras, mientras que sólo algunas variantes presentaron un efecto contrario (Figura 10). El efecto de las variantes fue inversamente proporcional a la frecuencia del alelo menor, con tamaños del efecto que no superaron la magnitud de 0,57, independiente de la dirección del efecto. El efecto fenotípico de las variantes sexualmente antagónicas sobre CT_{max} y *z* se muestra en la Figura 11 y Figura 12, respectivamente. En estas figuras se observa que variantes con un efecto positivo aumentan CT_{max} y *z* en machos y lo disminuyen en hembras, mientras que variantes con un efecto negativo aumentan CT_{max} y *z* en hembras y lo disminuyen en machos.

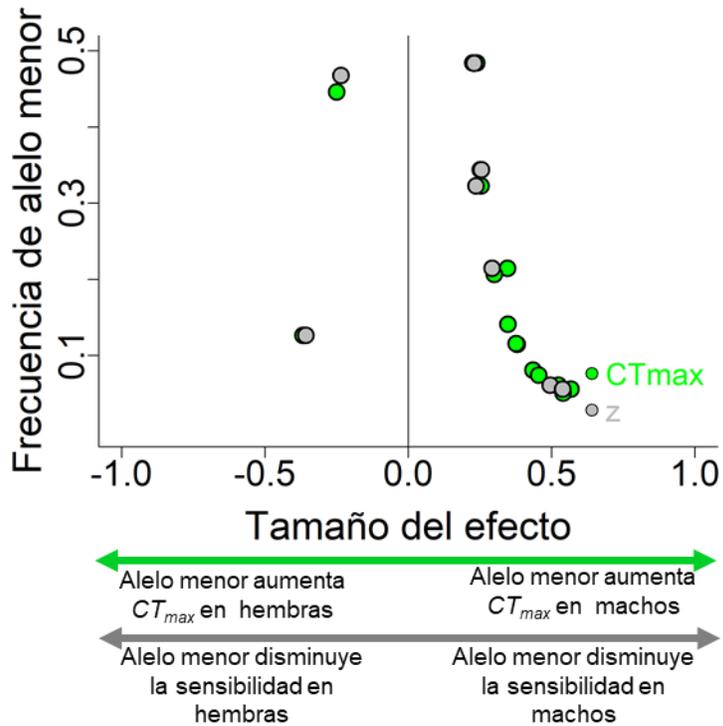


Figura 10. Efecto las variantes significativamente asociadas con el índice de antagonismo sexual de CT_{max} en ambos. El eje X muestra el tamaño del efecto. Para CT_{max} , valores negativos indican que el alelo menor aumenta CT_{max} en las hembras pero lo disminuye en machos, y positivos que lo contrario. Para z, valores negativos indican que el alelo menor disminuye la sensibilidad en las hembras (z más grandes) pero la aumenta en los machos (z más pequeños) y positivos lo contrario. El eje Y muestra la frecuencia del alelo menor de las variantes.

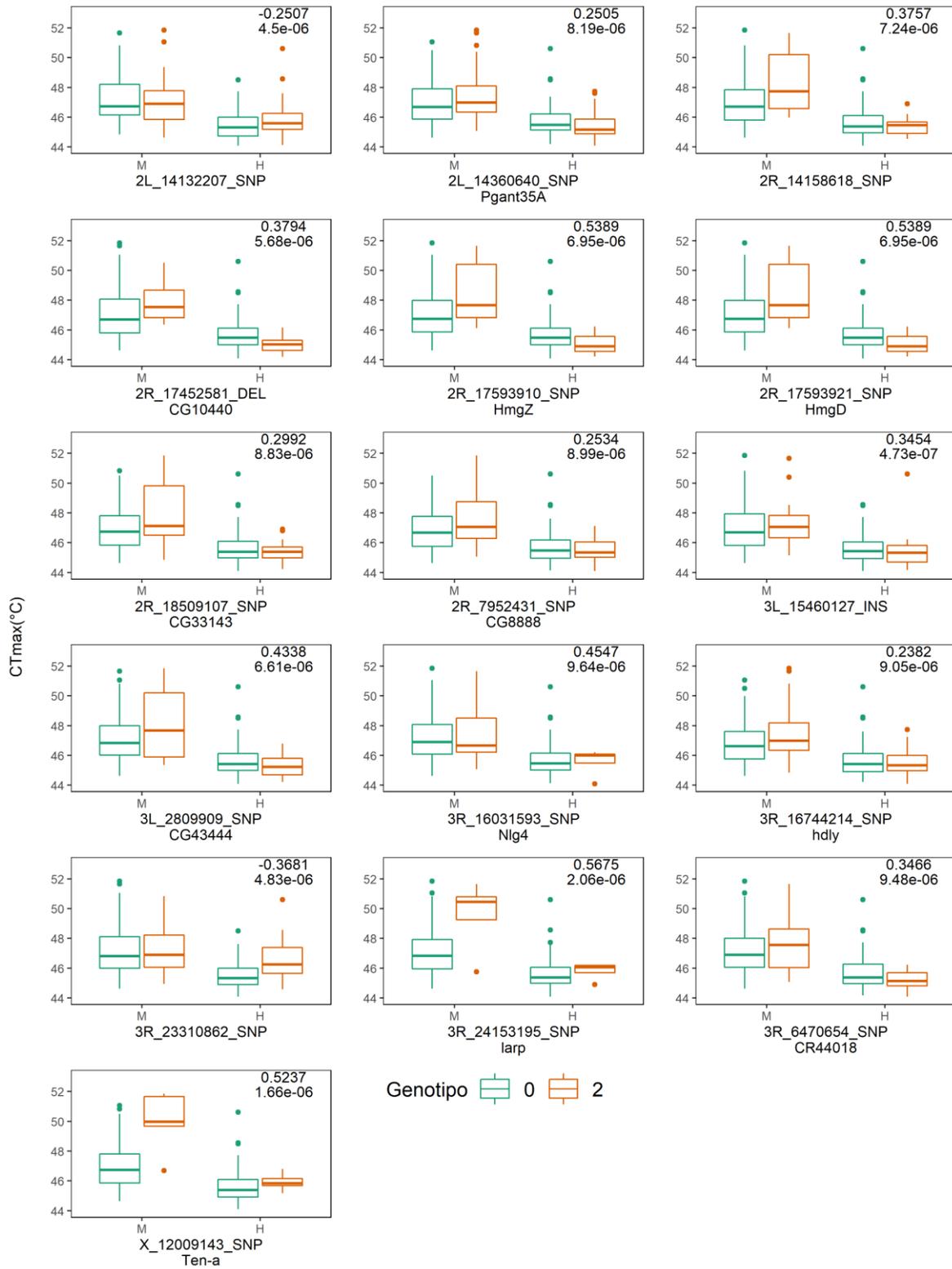


Figura 11. Efecto las variantes significativamente asociadas con el índice de antagonismo sexual de CT_{max} en ambos sexos. Cada grafico muestra la

distribución del índice de antagonismo sexual de CT_{max} para machos (M) y hembras (H) de moscas homocigotas para el alelo mayor (0) y de moscas homocigotas para el alelo menor (2) en las variantes identificadas en los análisis GWAS. Título del eje X muestra el nombre de la variante y el gen al que mapea. Números de las esquinas superior derecha muestran el tamaño del efecto (superior) y el valor de significancia de la variante (inferior).

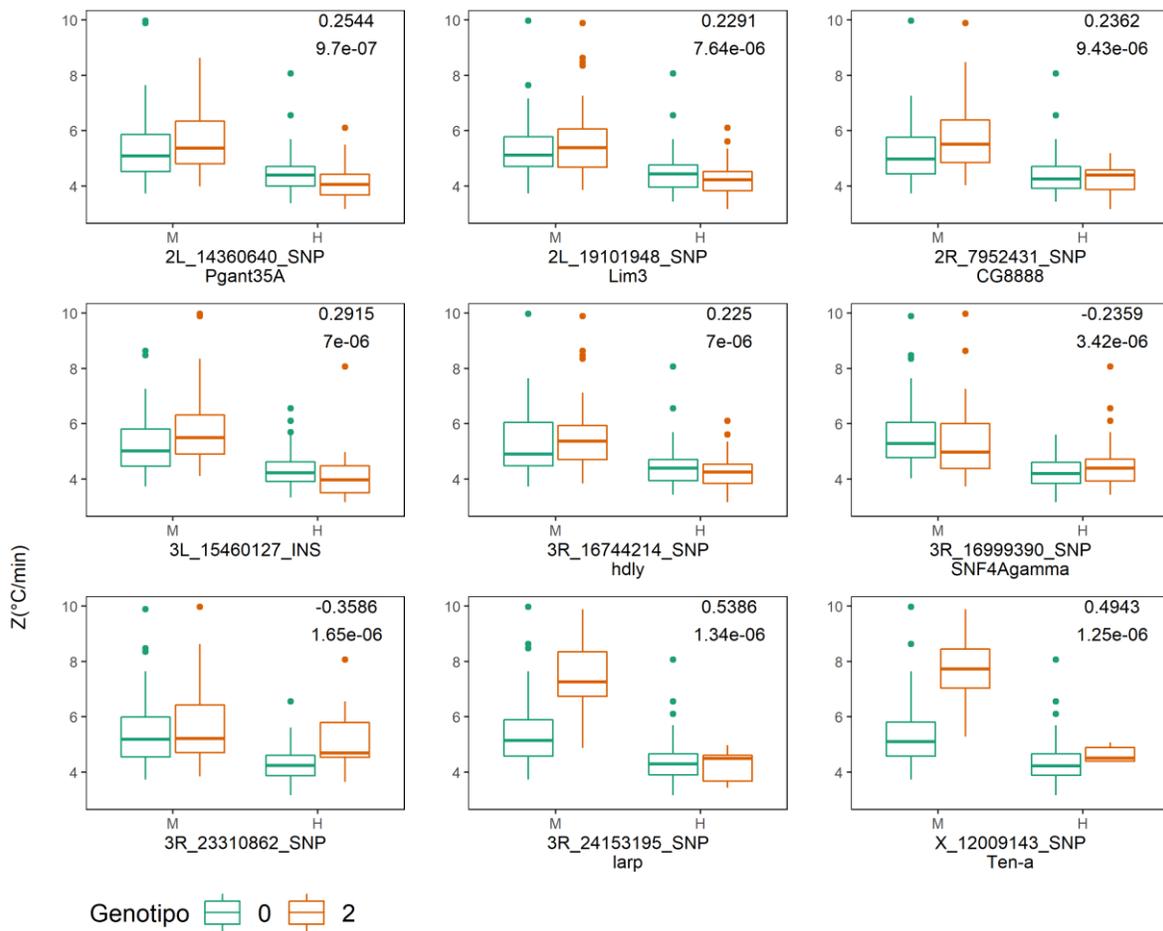


Figura 12. Efecto las variantes significativamente asociadas con el índice de antagonismo sexual de z en ambos sexos. Cada grafico muestra la distribución del índice de antagonismo sexual de z para machos (M) y hembras (H) de moscas homocigotas para el alelo mayor (0) y de moscas homocigotas para el alelo menor (2) en las variantes identificadas en los análisis GWAS. Título del eje X muestra el nombre de la variante y el gen al que mapea. Números de las esquinas superior

derecha muestran el tamaño del efecto (superior) y el valor de significancia de la variante (inferior).

6. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en este trabajo muestran que el paisaje de tolerancia térmica presenta varianza fenotípica en *D. melanogaster*, la cual posee un componente genético que puede ser cuantificado e identificado mediante análisis genéticos cuantitativos y genómicos. Además, existen importantes interacciones que afectan la tolerancia térmica exhibida por los organismos, en las que se incluyen interacciones con el ambiente, como la temperatura de exposición, e interacciones con el contexto biológico del organismo, como su sexo. Todos estos componentes lograron ser estudiados utilizando la herramienta del DGRP, por lo que es un recurso importante para identificar los mecanismos genéticos asociados al potencial evolutivo de poblaciones ectotermos a los cambios provocados por el cambio climático.

6.1. Potencial evolutivo del paisaje de tolerancia térmico

Las estimaciones de heredabilidad en sentido amplio, tanto del tiempo de colapso como de los parámetros de temperatura crítica máxima y sensibilidad térmica, fueron mayores a 0,5 en todos los casos, lo que indica que estos rasgos podrían evolucionar frente a procesos selectivos térmicos, teniendo en consideración que corresponden a una sobreestimación de los valores de heredabilidad en sentido estricto. Estas estimaciones resultan ser particularmente altas si se comparan con las descritas en estudios anteriores que utilizan el DGRP ($H^2=0,14$ (Rolandi *et al.*, 2018); $H^2=0,29$ (Lecheta *et al.*, 2020)), diferencias que se puede deber a que ambos estudios utilizaron ensayos dinámicos. Recientemente, Logan & Cox (2020) realizaron una revisión bibliográfica de estudios que reportan la heredabilidad de los rasgos térmicos en animales ectotermos, encontrando gran variación en las estimaciones, con un promedio de $H^2 = 0,33 \pm 0,19$ considerando estudios en *D.*

melanogaster y la hormiga *Temnothorax curvispinosus*. Esta variación también se observó en las estimaciones de heredabilidad en sentido estricto, con promedio de $h^2 = 0,21 \pm 0,14$, considerando numerosos artrópodos, peces y réptiles. Tomando en cuenta que diferentes especies habitan ambientes con diferentes niveles de variación térmica, y también que existen diferencias metodológicas entre estudios, es esperable la gran variación observada en las estimaciones de heredabilidad en la literatura. De igual forma, algunos estudios indican que la tolerancia térmica tiene una limitada capacidad evolutiva (Kellermann *et al.*, 2012; Kelly *et al.*, 2012), mientras que otros respaldan lo contrario (Folk *et al.*, 2006; Geerts *et al.*, 2015; Logan & Cox, 2020). Los resultados de este trabajo indican que los parámetros del paisaje de tolerancia térmica presentan alta heredabilidad, por lo tanto, apoyan la idea de que las poblaciones de ectotermos tendrían el potencial de evolucionar frente a cambios térmicos en su ambiente. Esto es respaldado por experimentos evolutivos en laboratorio en donde organismos expuestos a selección térmica sufren cambios evolutivos rápidos de sus límites térmicos (Hangartner & Hoffmann, 2016; Mesas *et al.*, 2021; Sambucetti *et al.*, 2010).

La heredabilidad, los coeficientes de variación genética y los coeficientes de variación ambiental fueron similares en las 4 temperaturas de ensayo, aun cuando el ensayo más largo (37°C) fue en promedio 4-5 veces más largo que los ensayos más cortos (40°C). Esto pareciera contradecir lo descrito en trabajos anteriores que plantean que en ensayos más largos tienden a incrementar el efecto de variables experimentales confundentes que aumentan la variabilidad ambiental, obteniéndose menores estimaciones de heredabilidad (Mitchell & Hoffmann 2010; Overgaard *et al.* 2011). Sin embargo, Rezende *et al.* (2011) describe que el efecto de la desecación e inanición tiene un efecto importante sobre la tolerancia térmica cuando los ensayos sobrepasan los 140 minutos, por lo que todos los ensayos realizados en este trabajo podrían ser considerados como de corta duración (los ensayos más largos duraron en promedio 95 minutos), existiendo una baja influencia de estas variables confundentes. El tiempo de colapso presentó interacción genotipo-ambiente (GxE) significativa, por ende, los genotipos responden de diferente forma al desafío térmico dependiendo de la temperatura de exposición. Esta variación en

la plasticidad fenotípica podría contribuir a la adaptación de las poblaciones a los cambios térmicos del ambiente, ya que diferentes genotipos presentarán un mejor desempeño según condiciones térmicas locales, aportando a la mantención la diversidad genética en las poblaciones naturales.

En cuanto a las estimaciones de CT_{max} es importante mencionar que se obtuvieron valores superiores a lo descrito en trabajos previos, en especial en los machos donde algunas líneas superaron los 50°C. Trabajos que estimaron CT_{max} en el DGRP mediante ensayos dinámicos indican valores menores a 41,5°C (Lecheta *et al.*, 2020; Rolandi *et al.*, 2018), mientras que en *D. subobscura* se reportan valores menores a 41°C (Castañeda *et al.*, 2015). Estas diferencias se pueden deber en el primer caso a que se determinó CT_{max} mediante otro tipo de ensayos, y en el segundo a que la especie estudiada fue diferente. Los resultados de este trabajo tienen más concordancia con lo reportado por Jørgensen *et al.* 2021, con tiempos de colapso similares a las temperaturas de 38°C y 40°C. Estos mismos autores advierten que la estimación por extrapolación de CT_{max} al punto en donde las moscas colapsan al minuto de exposición podría no ser del todo correcta, debido a que esta estimación depende de que se mantenga la relación lineal entre el tiempo de colapso y la temperatura de exposición más allá de los rangos térmicos ensayados. Considerando que los ensayos a 40°C duraron en promedio 21,6 minutos, aún queda un amplio rango de temperaturas que no fueron ensayadas para alcanzar el CT_{max} (colapso a 1 minuto). Por lo tanto, es probable que si se extiende el rango de temperaturas se puedan obtener mejores estimaciones de CT_{max} , lo cual debería ser considerado en futuros estudios del paisaje de tolerancia térmica.

6.2. Variantes y genes asociados al paisaje de tolerancia térmica

Se identificó una gran cantidad de variantes que estarían afectando los parámetros del paisaje de tolerancia térmica, observándose que el mayor porcentaje de las variantes candidatas se ubican en regiones no codificantes, como intrones y regiones UTR. Estas variantes podrían afectar procesos regulatorios de la expresión

génica y procesos de splicing alternativo, lo que podría estar afectando de diversas maneras la tolerancia térmica de las moscas. Las categorías que más estuvieron sobrerrepresentadas en los análisis de ontología génica se relacionan a procesos que se desarrollan en la periferia celular, como la comunicación entre células, en donde destacan algunos genes que participan en procesos sinápticos, como el gen *nAChRalpha5* que codifica subunidades de receptores nicotínicos de acetilcolina (Lansdell *et al.*, 2012), *Fife* que promueve la liberación de neurotransmisores (Bruckner *et al.*, 2012), *Syx6* que se cree es un componente integral de vesículas sinápticas (Gaudet *et al.*, 2011), y *cac* que codifica parte de los canales de calcio activados por voltaje de zonas presinápticas (Chang *et al.*, 2014). El mapeo de estos genes podría indicar que la capacidad motora de las moscas incide en la variación observada en los parámetros de CT_{max} y z , y que las variantes observadas en estos genes podrían afectar cómo las moscas responden al estímulo térmico del ambiente. También se destacó una categoría relacionada al desarrollo de las moscas, entre los que destacan los genes *mam*, que codifica a un activador transcripcional de la vía de señalización Notch (Gomez-Lamarca *et al.*, 2018), *DI* que también participa de la vía Notch (Ahimou *et al.*, 2004), y *sgg* que participa en la vía de señalización canónica de Wnt (Miech *et al.*, 2008). De los genes candidatos encontrados, sólo el gen *fid* posee antecedentes de afectar directamente la tolerancia térmica, el cual codifica una proteína que participa en la resistencia térmica durante la etapa larval de *Drosophila* (Honjo *et al.*, 2016). Por lo tanto, es posible que variantes en genes que participan durante el desarrollo de las moscas puedan condicionar la capacidad térmica de los adultos. Si bien ninguno de los genes encontrados concuerdan con trabajos anteriores que estudiaron la tolerancia térmica con ensayos dinámicos en el DGRP (Lecheta *et al.*, 2020; Rolandi *et al.*, 2018), las categorías funcionales son las mismas (desarrollo, señalización), apoyando la idea de que las variantes que explican la varianza en procesos de tolerancia térmica actuarían durante el desarrollo, afectando la capacidad fisiológica para soportar estresores térmicos en etapas posteriores del ciclo de vida.

La mayoría de las variantes se asociaron de manera positiva con el paisaje de tolerancia térmica, aumentando la temperatura crítica máxima y disminuyendo la

sensibilidad térmica, además de existir una relación inversamente proporcional entre el tamaño del efecto y la frecuencia del alelo menor. Este patrón en los polimorfismos fue descrita por Lecheta *et al.* (2020) para CT_{max} determinado con ensayos estáticos, además de coincidir con otros fenotipos descritos para el DGRP (MacKay *et al.*, 2012; Weber *et al.*, 2012). Esto sugiere que estos alelos están bajo selección en las poblaciones naturales, ya que las variantes que afectan negativamente el paisaje de tolerancia térmica estarían siendo eliminadas rápidamente de la población mediante selección purificadora, debido a que se relacionan negativamente con la tolerancia y la adecuación biológica de los individuos de la población original. Por otra parte, los alelos que tienen un gran efecto positivo están presentes en baja frecuencia, lo que puede indicar que estos alelos aumentan rápidamente su frecuencia en la población pasando a ser el alelo mayor mediante selección positiva, o que están bajo selección purificadora al relacionarse negativamente con otro rasgo de la adecuación biológica (Barton & Keightley, 2002). Tomando en cuenta que ambos parámetros del paisaje de tolerancia térmica se encuentran correlacionados, y que por lo tanto comparten muchas de las variantes y genes candidatos, es esperable que tanto la temperatura crítica máxima y la sensibilidad térmica evolucionen de manera conjunta en las poblaciones.

De forma similar a trabajos anteriores (Lecheta *et al.*, 2020; Rolandi *et al.*, 2018), no se encontraron genes relacionados a las HSP para explicar la variabilidad genética presente en el paisaje de tolerancia térmica de las líneas del DGRP. Las proteínas de la familia de las HSP poseen una secuencia y estructura muy conservada en la naturaleza (Desai *et al.*, 2010), siendo probable que la población del DGRP presente baja variabilidad genética en los genes codificantes de estas proteínas. Por ello, aunque estos genes sean sobrepresados durante los desafíos térmicos, variantes en estos genes no estarían explicando la variabilidad observada en el paisaje de tolerancia térmico.

6.3. Dimorfismo y antagonismo sexual del paisaje de tolerancia térmica

Numerosos trabajos han estudiado la tolerancia térmica del género *Drosophila* mediante ensayos estáticos, llegando a diferentes resultados sobre si existe una diferencia en la tolerancia entre hembras y machos. Algunos autores no encontraron diferencias significativas entre los sexos (Van Heerwaarden, Malmberg, et al., 2016), mientras que otros indican mayores tiempos de colapso para las hembras (Mitchell & Hoffmann, 2010), y otros una mayor tolerancia en machos mediante ensayos dinámicos (Lecheta *et al.*, 2020) y estáticos a múltiples temperaturas (Castañeda *et al.*, 2015). Los resultados de estos estudios cobran sentido si se considera que muchos de ellos sólo realizaron ensayos a una temperatura estática, y como se pudo observar en el trazado de curvas TDT y en los modelos lineales, los resultados dependerán directamente de la temperatura utilizada para realizar los ensayos, ya que el paisaje de tolerancia térmica de los sexos difiere. Si se realizan ensayos estáticos a temperaturas estresantes leves ($<37^{\circ}\text{C}$) las hembras presentarán un mayor tiempo de resistencia que los machos, mientras que si se utilizan temperaturas extremas ($>40^{\circ}\text{C}$) los machos tendrán un mejor desempeño. Incluso en algunas temperaturas puede que no se encuentren diferencias si el tamaño de líneas analizadas es pequeño, como a los 38°C en donde el efecto del sexo tuvo el menor nivel de significancia, que es además una de las temperaturas más utilizada para realizar los ensayos estáticos (Blackburn *et al.*, 2014; Castañeda *et al.*, 2019; Mitchell & Hoffmann, 2010; Van Heerwaarden, Malmberg, et al., 2016). Por lo tanto, es importante considerar la temperatura de ensayo si se quiere estudiar el dimorfismo sexual de la tolerancia térmica.

Las diferencias que existen en el paisaje de tolerancia térmica entre los sexos podrían tener importantes repercusiones en las poblaciones naturales. El cambio climático genera cambios térmicos asociados a dos ejes principales que ejercen presiones selectivas diferentes, por un lado genera un incremento de la temperatura promedio global, y por otro genera un aumento en la variabilidad térmica mediante eventos extremos más frecuentes (Angilletta, 2009). Considerando este contexto, las hembras tendrían una mejor capacidad adaptativa al primer componente, dado su mayor capacidad de resistencia a temperaturas estresantes leves. En cambio,

los machos se podrían adaptar mejor a condiciones térmicas más variables dada su menor sensibilidad térmica y mejor resistencia a temperaturas extremas. Por lo tanto, el dimorfismo sexual observado en el paisaje de tolerancia térmica puede ser producto de la forma en que las diferentes presiones selectivas térmicas actúan sobre los sexos.

Los análisis genéticos cuantitativos mostraron que la variación en la interacción GxS se debe casi en su totalidad a efectos pleiotrópicos antagonistas, lo cual resulta importante ya que se ha descrito que la presencia de alelos sexualmente antagónicos contribuye a la mantención de la diversidad genética en diversas poblaciones animales (Berger *et al.*, 2014; Chippindale *et al.*, 2001; Svensson *et al.*, 2009). Esto se corroboró mediante los análisis GWAS sobre los índices de antagonismo sexual, los que indicaron que el dimorfismo sexual del paisaje de tolerancia térmica posee variantes sexualmente antagónicas. Es importante mencionar que los análisis GWAS realizados sobre los índices de antagonismo sexual no necesariamente detectan sólo variantes sexualmente antagónicas, sino que también pueden haber detectado variantes limitadas al sexo (variantes en genes autosómicos que tienen efecto en sólo uno de los sexos, sin penetrancia en el otro) (Ruzicka *et al.*, 2019). Sin embargo, al analizar el valor fenotipo de cada sexo para cada una de las variantes en la mayoría de los casos al cambiar el alelo aumenta el promedio fenotípico en un sexo y en el otro disminuye, evidenciando su efecto antagonista.

Las variantes asociadas al índice de antagonismo sexual mapearon a genes que en su mayoría participan en procesos similares a los encontrados en los GWAS de CT_{max} y z , incluidos procesos de señalización y desarrollo, en su mayoría cumpliendo funciones en la periferia celular. Entre ellos destacan *Ten-a*, codificante de una proteína transmembranal que participa en la sinapsis del sistema neuromuscular (Mosca *et al.*, 2012), y *Pgant35A*, enzima que participa en diversos procesos de modificaciones proteicas que son esenciales durante el desarrollo (Ten Hagen & Tran, 2002). Algunos de los genes candidatos cumplen funciones específicas para uno de los sexos, como *larp* que codifica una proteína involucrada en la regulación de la expresión génica al interactuar con colas poly(A) y que en

machos participa en la meiosis (Ichihara *et al.*, 2007), y *hdly* que participa en hembras disminuyendo su susceptibilidad al cortejo post apareamiento (Findlay *et al.*, 2014). El proceso mediante el cual las variantes en estos genes son sexualmente antagónicas al paisaje de tolerancia térmico resulta complejo de comprender sin experimentos diseñados específicamente para ello, pero es probable que afecten rasgos sexo-específicos que estén correlacionados a la temperatura crítica máxima y tolerancia térmica. Resulta interesante que la mayoría de las variantes sexualmente antagonistas aumenten el CT_{max} y disminuyan la sensibilidad en machos, mientras que tienen un efecto contrario en hembras. Esto ayuda a entender el marcado dimorfismo sexual en el paisaje de tolerancia térmica de las moscas, donde estas variantes antagonistas estarían contribuyendo a que los machos presenten mayores CT_{max} y una menor sensibilidad térmica que las hembras.

7. CONCLUSIONES

El DGRP es una herramienta efectiva para estudiar las bases genéticas del paisaje de tolerancia térmica por medio de análisis genéticos cuantitativos y análisis de asociación a lo ancho del genoma.

La resistencia térmica, medida como el tiempo de colapso, y los parámetros del paisaje de tolerancia térmica presentan heredabilidades altas y significativas, por lo que son rasgos que podrían evolucionar frente al calentamiento global.

El tiempo de colapso presenta plasticidad fenotípica en diferentes temperaturas de ensayo, además de interacción genotipo-ambiente significativa, lo que debería contribuir a la capacidad adaptativa de las poblaciones de *D. melanogaster* al calentamiento global.

La variabilidad existente en el paisaje de tolerancia térmica está asociada a variantes que en su mayoría se encuentran en regiones no codificantes de los genes, afectando procesos de expresión génica.

Los genes que explican la variabilidad del paisaje de tolerancia térmica estarían participando en el desarrollo y fisiología de las moscas, lo que estaría condicionando su capacidad para soportar el estrés térmico.

La mayoría de las variantes se asocian de manera positiva con el paisaje de tolerancia térmica, evidenciando selección purificadora sobre variantes que afectan negativamente a la tolerancia, y procesos de selección sobre variantes que la favorecen.

El paisaje de tolerancia térmica presenta dimorfismo sexual, donde las hembras son capaces de soportar más tiempo temperaturas estresantes leves, mientras que los machos soportan mejor las temperaturas extremas. Esto les permitiría a las hembras adaptarse mejor al aumento de las temperaturas promedio, mientras que le permitiría a los machos adaptarse mejor a un aumento en la variación térmica.

La presencia de variantes sexualmente antagonistas estaría explicando en parte el dimorfismo sexual del paisaje de tolerancia térmica, por lo que la variabilidad genética de la tolerancia térmica se podría mantener en las poblaciones por medio de la reproducción sexual.

8. BIBLIOGRAFÍA

Ahimou, F., Mok, L., Bardot, B., and Wesley, C. "The adhesion force of Notch with Delta and the rate of Notch signaling". *Journal of Cell Biology*. 167(6): 1217–1229. 2004.

Anderson, A., Collinge, J., Hoffmann, A., Kellett, M., and McKechnie, S. "Thermal tolerance trade-offs associated with the right arm of chromosome 3 and marked by the *hsr-omega* gene in *Drosophila melanogaster*". *Heredity*. 90(2): 195–202. 2003.

Angilletta, M. "Thermal Adaptation: A Theoretical and Empirical Synthesis". In *Thermal Adaptation: A Theoretical and Empirical Synthesis*. Oxford University Press. 2009.

Araújo, A., Reis, M., Rocha, H., Aguiar, B., ... Vieira, J. "The *Drosophila*

melanogaster methuselah Gene: A Novel Gene with Ancient Functions". PLoS ONE. 8(5): 63747. 2013.

Auld, J., Agrawal, A., and Relyea, R. A. "Re-evaluating the costs and limits of adaptive phenotypic plasticity". Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences. 277(1681): 503–511. 2010.

Awde, D., Fowler, T., Pérez-Gálvez, F., Mark, G., and Teets, N. "High-Throughput Assays of Critical Thermal Limits in Insects". Journal of Visualized Experiments. 2020.

Barton, N., and Keightley, P. "Understanding quantitative genetic variation". Nature Reviews Genetics 2001 3:1. 3(1): 11–21. 2002.

Bates, D., Mächler, M., Bolker, B., and Walker, S. "Fitting linear mixed-effects models using lme4". Journal of Statistical Software. 67(1): 1–48. 2015.

Beitinger, T., and Lutterschmidt, W. "Temperature | Measures of Thermal Tolerance". In *Encyclopedia of Fish Physiology* (Vol. 3, pp. 1695–1702). Elsevier Inc. 2011.

Berger, D., Grieshop, K., Lind, M. I., Goenaga, J., ... Arnqvist, G. "Intralocus sexual conflict and environmental stress". Evolution; International Journal of Organic Evolution. 68(8): 2184–2196. 2014.

Blackburn, S., Van Heerwaarden, B., Kellermann, V., and Sgro, C. "Evolutionary capacity of upper thermal limits: Beyond single trait assessments". Journal of Experimental Biology. 217(11): 1918–1924. 2014.

Bonamour, S., Chevin, L. M., Charmantier, A., and Teplitsky, C. "Phenotypic plasticity in response to climate change: The importance of cue variation". Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences. 374(1768):. 2019.

Bruckner, J., Gratz, S., Slind, J., Geske, R., ... O'Connor-Giles, K. "Fife, a Drosophila Piccolo-RIM Homolog, Promotes Active Zone Organization and Neurotransmitter Release". Journal of Neuroscience. 32(48): 17048–17058. 2012.

Castañeda, L., Rezende, E., and Santos, M. "Heat tolerance in *Drosophila subobscura* along a latitudinal gradient: Contrasting patterns between plastic and genetic responses". *Evolution*. 69(10): 2721–2734. 2015.

Castañeda, L., Romero-Soriano, V., Mesas, A., Roff, D., and Santos, M. "Evolutionary potential of thermal preference and heat tolerance in *Drosophila subobscura*". *Journal of Evolutionary Biology*. 32(8): 818–824. 2019.

Chang, J., Hazelett, D., Stewart, J., and Morton, D. "Motor neuron expression of the voltage-gated calcium channel cacophony restores locomotion defects in a *Drosophila*, TDP-43 loss of function model of ALS". *Brain Research*. 1584: 39–51. 2014.

Chippindale, A., Gibson, J., and Rice, W. "Negative genetic correlation for adult fitness between sexes reveals ontogenetic conflict in *Drosophila*". *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 98(4): 1671–1675. 2001.

Chirgwin, E., Monroe, K., Sgro, C., and Marshall, D. "Revealing hidden evolutionary capacity to cope with global change". *Global Change Biology*. 21(9): 3356–3366. 2015.

Chown, S., Jumbam, K., Sørensen, J., and Terblanche, J. "Phenotypic variance, plasticity and heritability estimates of critical thermal limits depend on methodological context". *Functional Ecology*. 23(1): 133–140. 2009.

Connallon, T., and Clark, A. "Evolutionary inevitability of sexual antagonism". *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 281(1776):. 2013.

Connallon, T., and Hall, M. "Genetic constraints on adaptation: a theoretical primer for the genomics era". *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1422(1): 65–87. 2018.

Connallon, T., and Matthews, G. "Cross-sex genetic correlations for fitness and fitness components: Connecting theoretical predictions to empirical patterns". *Evolution Letters*. 3(3): 254–262. 2019.

Dahlgaard, J., Loeschcke, V., Michalak, P., and Justesen, J. "Induced thermotolerance and associated expression of the heat-shock protein Hsp70 in adult

- Drosophila melanogaster*". *Functional Ecology*. 12(5): 786–793. 1998.
- Desai, N., Agarwal, A., and Uplap, S. "HSP: Evolved and conserved proteins, structure and sequence studies". *International Journal of Bioinformatics Research*. 2(2): 67–87. 2010.
- Deutsch, C., Tewksbury, J., Huey, R., Sheldon, K., ... Martin, P. "Impacts of climate warming on terrestrial ectotherms across latitude". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 105(18): 6668–6672. 2008.
- Falconer, D., and Mackay, T. "Introduction to Quantitative Genetics" (4th editio). Prentice Hall. 1996.
- Findlay, G., Sitnik, J., Wang, W., Aquadro, C., ... Wolfner, M. "Evolutionary Rate Covariation Identifies New Members of a Protein Network Required for *Drosophila melanogaster* Female Post-Mating Responses". *PLOS Genetics*. 10(1): e1004108. 2014.
- Folk, D., Zwollo, P., Rand, D., and Gilchrist, G. "Selection on knockdown performance in *Drosophila melanogaster* impacts thermotolerance and heat-shock response differently in females and males". *Journal of Experimental Biology*. 209(20): 3964–3973. 2006.
- Fox, C., Roff, D., and Fairbairn, D. "Evolutionary Ecology". Oxford University Press. 2001.
- Gaudet, P., Livstone, M., Lewis, S., and Thomas, P. "Phylogenetic-based propagation of functional annotations within the Gene Ontology consortium". *Briefings in Bioinformatics*. 12(5): 449–462. 2011.
- Geerts, A., Vanoverbeke, J., Vanschoenwinkel, B., Van Doorslaer, W., ... De Meester, L. "Rapid evolution of thermal tolerance in the water flea *Daphnia*". *Nature Climate Change* 2015 5:7. 5(7): 665–668. 2015.
- Ghalambor, C., McKay, J., Carroll, S., and Reznick, D. "Adaptive versus non-adaptive phenotypic plasticity and the potential for contemporary adaptation in new environments". *Functional Ecology*. 21(3): 394–407. 2007.

Giannakou, M., Goss, M., Jünger, M., Hafen, E., ... Partridge, L. "Long-lived *Drosophila* with over-expressed dFOXO in adult fat body". *Science*. 305(5682): 361. 2004.

Gillespie, J., and Turelli, M. "Genotype-environment interactions and the maintenance of polygenic variation". *Genetics*. 121(1): 129–138. 1989.

Gomez-Lamarca, M., Falo-Sanjuan, J., Stojnic, R., Abdul Rehman, S., ... Bray, S. "Activation of the Notch Signaling Pathway In Vivo Elicits Changes in CSL Nuclear Dynamics". *Developmental Cell*. 44(5): 611-623.e7. 2018.

Grieshop, K., and Arnqvist, G. "Sex-specific dominance reversal of genetic variation for fitness". *PLOS Biology*. 16(12): e2006810. 2018.

Gunderson, A., Dillon, M., and Stillman, J. "Estimating the benefits of plasticity in ectotherm heat tolerance under natural thermal variability". *Functional Ecology*. 31(8): 1529–1539. 2017.

Hangartner, S., and Hoffmann, A. "Evolutionary potential of multiple measures of upper thermal tolerance in *Drosophila melanogaster*". *Functional Ecology*. 30(3): 442–452. 2016.

Hartmann, D., Klein Tank, A., Rusticucci, M., Alexander, L., ... Zhai, P. "Observations: Atmosphere and surface". In T. Stocker, D. Qin, G. Plattner, M. Tignor, S. Allen, J. Boschung, A. Nauels, Y. Xia, V. Bex, & P. Midgley (Eds.), *Climate Change 2013 the Physical Science Basis: Working Group I Contribution to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* (pp. 159–254). Cambridge University Press. 2013.

Hoffmann, A., and Willi, Y. "Detecting genetic responses to environmental change". *Nature Reviews Genetics*. 9(6): 421–432. 2008.

Honjo, K., Mauthner, S., Wang, Y., Skene, J., and Tracey, W. "Nociceptor-Enriched Genes Required for Normal Thermal Nociception". *Cell Reports*. 16(2): 295–303. 2016.

Huang, W., Massouras, A., Inoue, Y., Peiffer, J., ... Mackay, T. "Natural variation in genome architecture among 205 *Drosophila melanogaster* Genetic Reference Panel

lines". *Genome Research*. 24(7): 1193–1208. 2014.

Ichihara, K., Shimizu, H., Taguchi, O., Yamaguchi, M., and Inoue, Y. "A *Drosophila* Orthologue of Larp Protein Family Is Required for Multiple Processes in Male Meiosis". *Cell Structure and Function*. 32(2): 89–100. 2007.

Jon, H., and Freeman, S. "Evolutionary Analysis" (Fifth Edit). Pearson. 2014.

Jørgensen, L., Malte, H., Ørsted, M., Klahn, N., and Overgaard, J. "A unifying model to estimate thermal tolerance limits in ectotherms across static, dynamic and fluctuating exposures to thermal stress". *Scientific Reports* 2021 11:1. 11(1): 1–14. 2021.

Kellermann, V., Overgaard, J., Hoffmann, A., Fljøgaaard, C., ... Loeschcke, V. "Upper thermal limits of *Drosophila* are linked to species distributions and strongly constrained phylogenetically". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 109(40): 16228–16233. 2012.

Kelly, M., Sanford, E., and Grosberg, R. "Limited potential for adaptation to climate change in a broadly distributed marine crustacean". *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 279(1727): 349–356. 2012.

Lansdell, S., Collins, T., Goodchild, J., and Millar, N. "The *Drosophila* nicotinic acetylcholine receptor subunits D α 5 and D α 7 form functional homomeric and heteromeric ion channels". *BMC Neuroscience*. 13(1): 1–11. 2012.

Lasne, C., Hangartner, S., Connallon, T., and Sgrò, C. "Cross-sex genetic correlations and the evolution of sex-specific local adaptation: Insights from classical trait clines in *Drosophila melanogaster*". *Evolution*. 72(6): 1317–1327. 2018.

Lecheta, M., Awde, D., O'Leary, T., Unfried, L., ... Cahan, S. "Integrating GWAS and Transcriptomics to Identify the Molecular Underpinnings of Thermal Stress Responses in *Drosophila melanogaster*". *Frontiers in Genetics*. 11: 658. 2020.

Lenoir, J., Bertrand, R., Comte, L., Bourgeaud, L., ... Grenouillet, G. "Species better track climate warming in the oceans than on land". *Nature Ecology and Evolution*. 4(8): 1044–1059. 2020.

Lerman, D., and Feder, M. "Laboratory selection at different temperatures modifies heat-shock transcription factor (HSF) activation in *Drosophila melanogaster*". *Journal of Experimental Biology*. 204(2): 315–323. 2001.

Lin, Y. J., Seroude, L., and Benzer, S. "Extended life-span and stress resistance in the *Drosophila* mutant *methuselah*". *Science*. 282(5390): 943–946. 1998.

Loeschcke, V., Kristensen, T., and Norry, F. "Consistent effects of a major QTL for thermal resistance in field-released *Drosophila melanogaster*". *Journal of Insect Physiology*. 57(9): 1227–1231. 2011.

Logan, M., and Cox, C. "Genetic Constraints, Transcriptome Plasticity, and the Evolutionary Response to Climate Change". *Frontiers in Genetics*. 11: 1088. 2020.

Logan, M., Cox, R., and Calsbeek, R. "Natural selection on thermal performance in a novel thermal environment". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 111(39): 14165–14169. 2014.

Lynch, M., and Walsh, B. "Genetics and analysis of quantitative traits". Sinauer Associates, Inc. 1998.

MacKay, T., Richards, S., Stone, E., Barbadilla, A., ... Gibbs, R. "The *Drosophila melanogaster* Genetic Reference Panel". *Nature*. 482(7384): 173–178. 2012.

McColl, G., and McKechnie, S. "The *Drosophila* heat shock *hsr-omega* gene: An allele frequency cline detected by quantitative PCR". *Molecular Biology and Evolution*. 16(11): 1568–1574. 1999.

Meehl, G., and Tebaldi, C. "More intense, more frequent, and longer lasting heat waves in the 21st century". *Science*. 305(5686): 994–997. 2004.

Mesas, A., Jaramillo, A., and Castañeda, L. "Experimental evolution on heat tolerance and thermal performance curves under contrasting thermal selection in *Drosophila subobscura*". *Journal of Evolutionary Biology*. 34(5): 767–778. 2021.

Miech, C., Pauer, H., He, X., and Schwarz, T. "Presynaptic local signaling by a canonical wingless pathway regulates development of the *Drosophila* neuromuscular junction". *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the*

- Society for Neuroscience. 28(43): 10875–10884. 2008.
- Mitchell, K., and Hoffmann, A. "Thermal ramping rate influences evolutionary potential and species differences for upper thermal limits in *Drosophila*". *Functional Ecology*. 24(3): 694–700. 2010.
- Morgan, T., and Mackay, T. "Quantitative trait loci for thermotolerance phenotypes in *Drosophila melanogaster*". *Heredity*. 96(3): 232–242. 2006.
- Mosca, T., Hong, W., Dani, V., Favaloro, V., and Luo, L. "Trans-synaptic Teneurin signalling in neuromuscular synapse organization and target choice". *Nature* 2012 484:7393. 484(7393): 237–241. 2012.
- NASA. *SVS: Global Temperature Anomalies from 1880 to 2020*. 2021.
- National Research Council. "Statistical genetics and plant breeding". The National Academies Press. 1963.
- Norry, F., Dahlgard, J., and Loeschcke, V. "Quantitative trait loci affecting knockdown resistance to high temperature in *Drosophila melanogaster*". *Molecular Ecology*. 13(11): 3585–3594. 2004.
- Norry, F., Gomez, F., and Loeschcke, V. "Knockdown resistance to heat stress and slow recovery from chill coma are genetically associated in a quantitative trait locus region of chromosome 2 in *Drosophila melanogaster*". *Molecular Ecology*. 16(15): 3274–3284. 2007.
- Norry, F., Larsen, P., Liu, Y., and Loeschcke, V. "Combined expression patterns of QTL-linked candidate genes best predict thermotolerance in *Drosophila melanogaster*". *Journal of Insect Physiology*. 55(11): 1050–1057. 2009.
- Ørsted, M., Hoffmann, A. A., Rohde, P., Sørensen, P., and Kristensen, T. "Strong impact of thermal environment on the quantitative genetic basis of a key stress tolerance trait". *Heredity*. 122(3): 315–325. 2019.
- Overgaard, J., Hoffmann, A., and Kristensen, T. "Assessing population and environmental effects on thermal resistance in *Drosophila melanogaster* using ecologically relevant assays". *Journal of Thermal Biology*. 36(7): 409–416. 2011.

Pacifici, M., Foden, W., Visconti, P., Watson, J., ... Rondinini, C. "Assessing species vulnerability to climate change". *Nature Climate Change*. 5(3): 215–225. 2015.

Pennell, T., De Haas, F., Morrow, E., and Van Doorn, G. "Contrasting effects of intralocus sexual conflict on sexually antagonistic coevolution". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 113(8): E978–E986. 2016.

Poissant, J., Wilson, A., and Coltman, D. "Sex-specific genetic variance and the evolution of sexual dimorphism: a systematic review of cross-sex genetic correlations". *Evolution*. 64(1): 97–107. 2010.

Rezende, E., Bozinovic, F., Szilágyi, A., and Santos, M. "Predicting temperature mortality and selection in natural *Drosophila* populations". *Science*. 369(6508): 1242–1245. 2020.

Rezende, E., Castañeda, L., and Santos, M. "Tolerance landscapes in thermal ecology". *Functional Ecology*. 28(4): 799–809. 2014.

Rezende, E., Tejedo, M., and Santos, M. "Estimating the adaptive potential of critical thermal limits: methodological problems and evolutionary implications". *Functional Ecology*. 25(1): 111–121. 2011.

Richter, K., Haslbeck, M., and Buchner, J. "The Heat Shock Response: Life on the Verge of Death". *Molecular Cell*. 40(2): 253–266. 2010.

Roff, D. "Evolutionary Quantitative Genetics" (Springer U). 1997.

Rolandi, C., Lighton, J., de la Vega, G., Schilman, P., and Mensch, J. "Genetic variation for tolerance to high temperatures in a population of *Drosophila melanogaster*". *Ecology and Evolution*. 8(21): 10374–10383. 2018.

Ruzicka, F., Dutoit, L., Czuppon, P., Jordan, C., ... Connallon, T. "The search for sexually antagonistic genes: Practical insights from studies of local adaptation and statistical genomics". *Evolution Letters*. 4(5): 398–415. 2020.

Ruzicka, F., Hill, M., Pennell, T., Flis, I., ... Reuter, M. "Genome-wide sexually antagonistic variants reveal long-standing constraints on sexual dimorphism in fruit

flies". *PLoS Biology*. 17(4): e3000244. 2019.

Sambucetti, P., Scannapieco, A., and Norry, F. "Direct and correlated responses to artificial selection for high and low knockdown resistance to high temperature in *Drosophila buzzatii*". *Journal of Thermal Biology*. 35(5): 232–238. 2010.

Santos, M., Castañeda, L., and Rezende, E. "Making sense of heat tolerance estimates in ectotherms: lessons from *Drosophila*". *Functional Ecology*. 25(6): 1169–1180. 2011.

Santos, M., Castañeda, L., and Rezende, E. "Keeping pace with climate change: what is wrong with the evolutionary potential of upper thermal limits?". *Ecology and Evolution*. 2(11): 2866–2880. 2012.

Sgrò, C., and Hoffmann, A. "Genetic correlations, tradeoffs and environmental variation". In *Heredity* (Vol. 93, Issue 3, pp. 241–248). *Heredity* (Edinb). 2004.

Sgrò, C., Overgaard, J., Kristensen, T., Mitchell, K., ... Hoffmann, A. "A comprehensive assessment of geographic variation in heat tolerance and hardening capacity in populations of *Drosophila melanogaster* from Eastern Australia". *Journal of Evolutionary Biology*. 23(11): 2484–2493. 2010.

Sgrò, C., Terblanche, J., and Hoffmann, A. "What Can Plasticity Contribute to Insect Responses to Climate Change?". *Annual Review of Entomology*. 61(1): 433–451. 2016.

Svensson, E., McAdam, A., and Sinervo, B. "Intralocus sexual conflict over immune defense, gender load, and sex-specific signaling in a natural lizard population". *Evolution*. 63(12): 3124–3135. 2009.

Tam, V., Patel, N., Turcotte, M., Bossé, Y., ... Meyre, D. "Benefits and limitations of genome-wide association studies". *Nature Reviews Genetics*. 20(8): 467–484. 2019.

Ten Hagen, K., and Tran, D. "A UDP-GalNAc:Polypeptide-N-Acetylgalactosaminyltransferase Is Essential for Viability in *Drosophila melanogaster*". *Journal of Biological Chemistry*. 277(25): 22616–22622. 2002.

Terblanche, J., Deere, J., Clusella-Trullas, S., Janion, C., and Chown, S. "Critical

thermal limits depend on methodological context". *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 274(1628): 2935–2942. 2007.

Thomas, C., Cameron, A., Green, R., Bakkenes, M., ... Williams, S. "Extinction risk from climate change". *Nature*. 427(6970): 145–148. 2004.

Turner, S. "qqman: an R package for visualizing GWAS results using Q-Q and manhattan plots". *BioRxiv*. 005165: 2014.

Van Heerwaarden, B., Kellermann, V., and Sgrò, C. "Limited scope for plasticity to increase upper thermal limits". *Functional Ecology*. 30(12): 1947–1956. 2016.

Van Heerwaarden, B., Malmberg, M., and Sgrò, C. "Increases in the evolutionary potential of upper thermal limits under warmer temperatures in two rainforest *Drosophila* species". *Evolution*. 70(2): 456–464. 2016.

Van Rheenen, W., Peyrot, W., Schork, A., Lee, S. H., and Wray, N. "Genetic correlations of polygenic disease traits: from theory to practice". *Nature Reviews Genetics*. 20(10): 567–581. 2019.

Via, S. "Genetic Constraints on the Evolution of Phenotypic Plasticity". In *Genetic Constraints on Adaptive Evolution* (pp. 47–71). Springer Berlin Heidelberg. 1987.

Via, S., and Hawthorne, D. "Back to the future: Genetic correlations, adaptation and speciation". *Genetica*. 123(1–2): 147–156. 2005.

Visser, M. "Keeping up with a warming world; assessing the rate of adaptation to climate change". *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 275(1635): 649–659. 2008.

Weber, A., Khan, G., Magwire, M., Tabor, C., ... Anholt, R. "Genome-wide association analysis of oxidative stress resistance in *Drosophila melanogaster*". *PloS One*. 7(4):. 2012.

Zar, J. "Biostatistical Analysis" (5th ed.). Prentice Hall. 2010.

9. ANEXOS

Tabla 1S. Estimaciones de CT_{max} y z para las 100 líneas del DGRP estudiadas, separadas por sexo.

Línea DGRP	CT_{max}			z		
	Machos	Hembras	Promedio	Machos	Hembras	Promedio
28	45,3	45,3	45,3	4,3	4,2	4,3
40	45,4	44,1	44,8	4,1	3,4	3,8
41	47,2	45,1	46,1	6,1	4,6	5,3
45	45,4	44,5	44,9	4,5	3,9	4,2
59	47,9	46,0	47,0	5,8	4,4	5,1
69	49,0	47,6	48,3	6,9	5,5	6,2
75	45,0	44,6	44,8	3,9	3,6	3,7
83	47,1	45,2	46,2	6,4	4,4	5,4
85	46,0	44,8	45,4	4,7	3,9	4,3
91	45,8	45,2	45,5	4,2	4,0	4,1
93	47,3	47,0	47,2	5,8	5,6	5,7
101	46,2	44,7	45,5	4,6	3,8	4,2
105	47,1	45,4	46,3	5,5	4,4	4,9
109	45,6	44,9	45,2	4,2	3,8	4,0
136	45,9	45,5	45,7	4,4	4,4	4,4
142	48,8	46,8	47,8	6,2	5,0	5,6
149	48,2	46,0	47,1	5,9	4,5	5,2
153	48,6	48,6	48,6	6,8	6,6	6,7
161	44,8	44,4	44,6	4,1	4,0	4,0
181	47,9	46,1	47,0	5,8	4,7	5,2
189	48,5	46,0	47,2	5,9	4,5	5,2
195	48,3	45,7	47,0	6,2	4,5	5,3
208	47,5	47,2	47,3	5,1	5,0	5,0
217	47,4	45,1	46,3	5,8	4,3	5,0
228	46,9	46,4	46,6	5,1	4,8	4,9
239	46,7	45,4	46,0	5,4	4,4	4,9
303	46,8	43,6	45,2	5,4	3,5	4,5
304	45,1	44,1	44,6	4,1	3,3	3,7
306	46,1	43,4	44,8	4,8	3,2	4,0
307	53,3	50,6	52,0	10,0	8,1	9,0
313	48,4	46,4	47,4	6,1	4,8	5,5
315	48,1	45,1	46,6	5,9	4,0	5,0
318	48,5	45,9	47,2	6,4	4,6	5,5
319	50,8	47,7	49,3	8,6	6,1	7,4
321	47,0	45,8	46,4	5,3	4,6	5,0
324	47,0	46,8	46,9	5,2	4,9	5,1
335	49,7	45,7	47,7	7,1	4,4	5,7

Línea DGRP	CT _{max}			z		
	Machos	Hembras	Promedio	Machos	Hembras	Promedio
336	53,3	46,0	49,7	9,9	5,0	7,4
338	49,7	47,1	48,4	6,9	5,2	6,0
350	46,7	47,2	47,0	5,2	5,4	5,3
357	45,5	45,1	45,3	4,4	4,2	4,3
362	51,7	46,2	48,9	8,4	4,6	6,5
365	48,0	44,9	46,4	5,8	3,9	4,8
375	45,2	44,9	45,1	4,2	4,0	4,1
379	50,0	45,7	47,8	7,0	4,4	5,7
380	47,6	44,8	46,2	5,4	3,8	4,6
383	46,7	45,8	46,2	4,8	4,2	4,5
385	46,6	45,7	46,1	5,4	4,8	5,1
386	46,2	44,2	45,2	4,6	3,5	4,0
392	49,0	47,4	48,2	7,2	5,6	6,4
399	51,1	46,9	49,0	7,7	5,2	6,4
426	48,6	47,3	47,9	6,3	5,7	6,0
427	45,0	45,2	45,1	4,2	4,2	4,2
437	47,1	45,8	46,4	5,0	4,3	4,7
443	51,9	46,8	49,3	8,5	5,1	6,8
486	47,7	45,5	46,6	5,5	4,1	4,8
491	46,7	45,0	45,9	4,8	3,8	4,3
492	46,5	45,3	45,9	4,9	4,1	4,5
509	49,3	46,3	47,8	6,5	4,7	5,6
513	46,5	43,4	44,9	5,1	3,4	4,2
517	46,5	45,7	46,1	5,0	4,6	4,8
535	45,2	44,3	44,7	4,0	3,5	3,7
555	45,3	45,0	45,1	4,0	3,9	3,9
563	46,7	46,2	46,5	4,7	4,3	4,5
584	44,9	44,3	44,6	3,7	3,5	3,6
589	46,2	44,8	45,5	4,9	4,0	4,4
703	47,7	44,2	45,9	5,5	3,5	4,5
707	49,1	48,5	48,8	7,0	6,6	6,8
712	46,7	45,2	45,9	5,3	4,4	4,8
714	46,4	45,3	45,8	4,7	4,3	4,5
716	46,9	45,7	46,3	4,9	4,2	4,5
721	44,9	45,0	44,9	3,8	4,0	3,9
732	45,7	45,0	45,4	4,2	3,9	4,1
737	46,9	46,1	46,5	5,3	4,7	5,0
738	48,1	46,7	47,4	5,8	4,7	5,3
757	46,3	44,2	45,3	4,9	3,5	4,2
765	49,1	46,1	47,6	6,4	4,4	5,4
774	50,4	44,9	47,7	6,7	3,7	5,2
776	45,8	43,5	44,6	4,9	3,4	4,2
787	45,3	44,6	44,9	3,9	3,5	3,7

Línea DGRP	CT_{max}			z		
	Machos	Hembras	Promedio	Machos	Hembras	Promedio
799	45,7	45,3	45,5	4,7	4,7	4,7
801	50,5	46,2	48,3	7,3	4,5	5,9
802	46,6	45,5	46,0	4,5	3,9	4,2
810	47,0	45,3	46,1	5,0	4,0	4,5
812	45,2	44,6	44,9	4,1	3,9	4,0
820	44,6	46,0	45,3	4,1	4,7	4,4
822	47,6	44,9	46,2	5,8	3,8	4,8
843	46,6	45,6	46,1	5,3	4,6	4,9
850	47,5	44,6	46,0	5,7	3,8	4,7
852	49,4	46,9	48,1	7,0	5,3	6,1
857	46,9	45,4	46,2	5,1	4,1	4,6
859	46,3	46,3	46,3	4,8	4,7	4,7
861	46,0	45,2	45,6	4,6	4,2	4,4
882	46,7	44,2	45,4	5,4	3,6	4,5
884	46,9	46,1	46,5	5,2	4,6	4,9
890	45,9	45,4	45,6	4,6	4,1	4,4
897	45,8	44,7	45,3	4,3	3,8	4,1
900	46,6	45,2	45,9	4,8	4,1	4,5
907	46,7	45,5	46,1	4,9	4,2	4,6
913	46,9	45,2	46,1	4,8	3,9	4,4

Tabla 2S. Resultados de los modelos lineales mixtos realizados sobre los datos de tiempo de colapso.

Análisis	Fuente	df	Estadístico*	P	Varianza	H²
Modelo completo	S	1	41,27	4,66E-09	Fijo	0,61
	T	3	1275,30	< 2,2e-16	Fijo	
	B	11	1,71	0,08493	Fijo	
	SxT	3	98,41	< 2,2e-16	Fijo	
	L	1	53,07	3,22E-13	51,55	
	SxL	1	6,88	0,00874	5,45	
	TxL	1	139,04	< 2,2e-16	62,09	
	SxTxL	1	122,69	< 2,2e-16	24,06	
Error	-	-	-	90,62		
Hembras	T	3	1318,10	< 2,2e-16	Fijo	0,57
	B	11	2,27	0,01725	Fijo	
	L	1	42,40	7,42E-11	47,13	
	TxL	1	480,75	< 2,2e-16	84,44	
	Error	-	-	-	98,27	
Machos	T	3	757,34	< 2,2e-16	Fijo	0,65
	B	11	1,06	0,4061	Fijo	
	L	1	66,68	3,19E-16	67,75	
	TxL	1	598,95	< 2,2e-16	87,86	
	Error	-	-	-	82,96	
37°	S	1	108,65	< 2e-16	Fijo	0,59
	B	11	1,77	0,07187	Fijo	
	L	1	57,28	3,78E-14	268,38	
	SxL	1	55,96	7,41E-14	82,97	
	Error	-	-	-	243,97	
Hembras (37°)	B	11	2,27	0,01707	Fijo	0,53
	L	1	175,22	2,20E-16	299,20	
	Error	-	-	-	266,20	
Machos (37°)	B	11	0,99	0,4654	Fijo	0,65
	L	1	274,67	< 2,2e-16	411,30	
	Error	-	-	-	221,80	
38°	S	1	5,95	0,01652	Fijo	0,65
	B	11	1,73	0,08054	Fijo	
	L	1	85,24	< 2,2e-16	134,56	
	SxL	1	42,03	8,99E-11	23,90	
	Error	-	-	-	85,64	
Hembras (38°)	B	11	1,92	0,04694	Fijo	0,63
	L	1	254,14	< 2,2e-16	157,93	

Análisis	Fuente	df	Estadístico*	P	Varianza	H²
	<i>Error</i>	-	-	-	93,44	
Machos (38°)	<i>B</i>	1	1,23	0,281	Fijo	0,67
	<i>L</i>	1	300,57	< 2,2e-16	161,45	
	<i>Error</i>	-	-	-	77,85	
39°	<i>S</i>	1	24,08	3,64E-06	Fijo	0,56
	<i>B</i>	11	2,33	0,01454	Fijo	
	<i>L</i>	1	45,71	1,37E-11	22,20	
	<i>SxL</i>	1	60,31	8,09E-15	8,87	
	<i>Error</i>	-	-	-	24,73	
Hembras (39°)	<i>B</i>	11	2,16	0,02361	Fijo	0,52
	<i>L</i>	1	170,23	< 2,2e-16	28,56	
	<i>Error</i>	-	-	-	26,17	
Machos (39°)	<i>B</i>	11	1,76	0,07306	Fijo	0,60
	<i>L</i>	1	226,61	< 2,2e-16	34,50	
	<i>Error</i>	-	-	-	23,29	
40°	<i>S</i>	1	51,68	1,25E-10	Fijo	0,55
	<i>B</i>	11	1,22	0,2884	Fijo	
	<i>L</i>	1	53,59	2,47E-13	7,45	
	<i>SxL</i>	1	43,07	5,28E-11	2,31	
	<i>Error</i>	-	-	-	8,13	
Hembras (40°)	<i>B</i>	11	1,26	0,2638	Fijo	0,56
	<i>L</i>	1	196,06	< 2,2e-16	9,24	
	<i>Error</i>	-	-	-	7,31	
Machos (40°)	<i>B</i>	11	0,98	0,4665	Fijo	0,54
	<i>L</i>	1	181,78	< 2,2e-16	10,45	
	<i>Error</i>	-	-	-	8,95	
Hembras (37°, 38°)	<i>T</i>	1	1027,19	< 2e-16	Fijo	0,57
	<i>B</i>	11	2,24	0,01914	Fijo	
	<i>L</i>	1	34,22	4,93E-09	148,20	
	<i>TxL</i>	1	88,83	< 2,2e-16	85,68	
	<i>Error</i>	-	-	-	179,80	
Machos (37°, 38°)	<i>T</i>	1	574,90	<2e-16	Fijo	0,66
	<i>B</i>	11	1,01	0,4475	Fijo	
	<i>L</i>	1	54,71	1,39E-13	209,79	
	<i>TxL</i>	1	100,18	< 2,2e-16	78,29	
	<i>Error</i>	-	-	-	149,81	
Hembras (37°, 39°)	<i>T</i>	1	1651,81	< 2,2e-16	Fijo	0,54
	<i>B</i>	11	2,46	0,00978	Fijo	
	<i>L</i>	1	3,08	0,07907	36,13	
	<i>TxL</i>	1	199,75	< 2e-16	135,61	
	<i>Error</i>	-	-	-	146,17	

Análisis	Fuente	df	Estadístico*	P	Varianza	H²
Machos (37°, 39°)	<i>T</i>	1	815,14	<2e-16	Fijo	0,65
	<i>B</i>	11	1,03	0,4273	Fijo	
	<i>L</i>	1	7,21	0,00727	67,36	
	<i>TxL</i>	1	280,48	< 2,2e-16	156,33	
	<i>Error</i>	-	-	-	122,53	
Hembras (37°, 40°)	<i>T</i>	1	1796,98	< 2e-16	Fijo	0,55
	<i>B</i>	11	2,20	0,02108	Fijo	
	<i>L</i>	1	0,04	0,8479	3,84	
	<i>TxL</i>	1	260,43	<2e-16	162,31	
	<i>Error</i>	-	-	-	136,74	
Machos (37°, 40°)	<i>T</i>	1	955,55	<2e-16	Fijo	0,65
	<i>B</i>	11	0,99	0,459	Fijo	
	<i>L</i>	1	0,82	0,3643	21,87	
	<i>TxL</i>	1	357,95	<2e-16	188,74	
	<i>Error</i>	-	-	-	115,36	
Hembras (38°, 39°)	<i>T</i>	1	499,86	< 2e-16	Fijo	0,61
	<i>B</i>	11	2,03	0,03419	Fijo	
	<i>L</i>	1	23,94	9,93E-07	50,68	
	<i>TxL</i>	1	155,98	< 2,2e-16	44,72	
	<i>Error</i>	-	-	-	59,80	
Machos (38°, 39°)	<i>T</i>	1	407,03	<2e-16	Fijo	0,66
	<i>B</i>	11	1,27	0,2553	Fijo	
	<i>L</i>	1	41,52	1,17E-10	64,94	
	<i>TxL</i>	1	138,86	< 2,2e-16	34,31	
	<i>Error</i>	-	-	-	50,57	
Hembras (38°, 40°)	<i>T</i>	1	652,39	< 2e-16	Fijo	0,63
	<i>B</i>	11	1,91	0,04871	Fijo	
	<i>L</i>	1	2,53	0,1117	15,85	
	<i>TxL</i>	1	310,92	<2e-16	71,23	
	<i>Error</i>	-	-	-	50,37	
Machos (38°, 40°)	<i>T</i>	1	572,55	<2e-16	Fijo	0,67
	<i>B</i>	11	1,24	0,2717	Fijo	
	<i>L</i>	1	6,76	0,00932	25,07	
	<i>TxL</i>	1	311,51	< 2e-16	61,48	
	<i>Error</i>	-	-	-	43,40	
Hembras (39°, 40°)	<i>T</i>	1	367,23	<2e-16	Fijo	0,54
	<i>B</i>	11	1,88	0,0527	Fijo	
	<i>L</i>	1	33,19	8,37E-09	12,40	
	<i>TxL</i>	1	76,24	< 2,2e-16	7,11	
	<i>Error</i>	-	-	-	16,74	
Machos (39°, 40°)	<i>T</i>		387,31	<2e-16	Fijo	0,59
	<i>B</i>		1,43	0,1747	Fijo	

Análisis	Fuente	df	Estadístico*	P	Varianza	H ²
	L	1	38,11	6,70E-10	15,12	
	TxL	1	93,84	< 2,2e-16	8,01	
	Error	-	-	-	16,12	
CT _{max}	S	1	142,29	< 2,2e-16	Fijo	0,57
	L	1	39,00	4,24E-10	1,32	
	Error	-	-	-	1,00	
z	S	1	136,63	< 2,2e-16	Fijo	0,60
	L	1	44,32	2,78E-11	0,64	
	Error	-	-	-	0,42	

L = líneas, S = sexo, T = temperatura, B = Bloque.

* El estadístico razón de *F* se utilizó para evaluar los efectos fijos (temperatura, sexo, interacción temperatura-sexo), y la razón de verosimilitud se utilizó para evaluar los efectos aleatorios (líneas del DGRP, interacción línea-sexo, interacción temperatura-línea, interacción línea-temperatura-sexo).

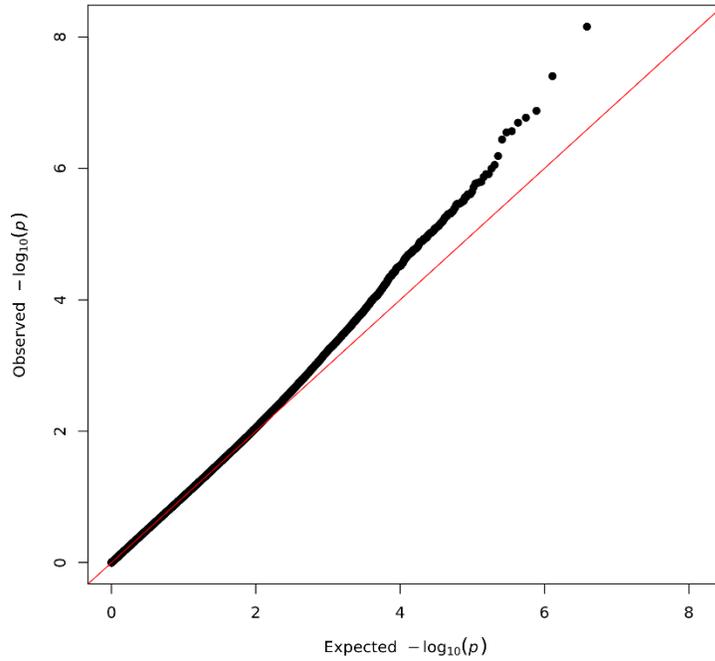


Figura 1S. Gráfico cuartil-cuartil de los valores observados de asociación de las variantes con CT_{max} , versus la distribución esperada (línea roja).

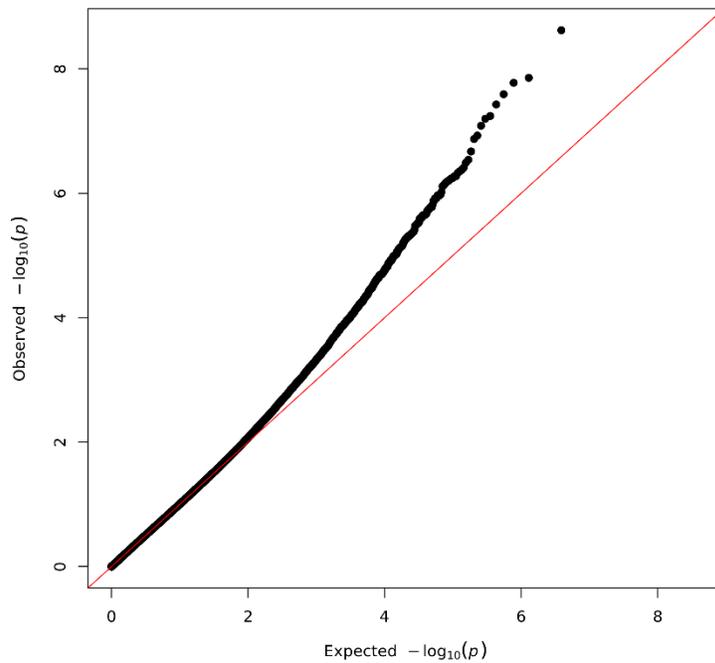


Figura 2S. Gráfico cuartil-cuartil de los valores observados de asociación de as variantes con z, versus la distribución esperada (línea roja).

Tabla 3S. Variantes candidatas asociadas a CT_{max} , genes a los que mapean y la localización de la variante.

Variante	Gen	Ubicación
2L_10868795_SNP	-	-
2L_13045534_INS	CG9932	INTRON
2L_13248395_SNP	CG16820	INTRON
2L_14057611_SNP	nAChRalpha5	INTRON
2L_19380702_SNP	CG17350	UPSTREAM
2L_5711227_SNP	CG7236	INTRON
2L_5711391_SNP	CG7236	INTRON
2L_5711587_SNP	CG7236	INTRON
2L_5814836_SNP	-	-
2L_7847781_SNP	CG14535	INTRON
2R_12362142_SNP	-	-
2R_12779619_SNP	CG8910	INTRON
2R_12783567_SNP	CG8910	UPSTREAM
2R_12783567_SNP	mir-990	UPSTREAM
2R_16933004_SNP	-	-
2R_16995034_SNP	ktub	INTRON
2R_6584128_SNP	stan	INTRON
2R_7108863_SNP	Syx6	SYNONYMOUS_CODING
2R_7109993_SNP	Syx6	DOWNSTREAM
2R_7109993_SNP	CG7737	UPSTREAM
2R_9558456_SNP	CG18368	NON_SYNONYMOUS_CODING
2R_9558456_SNP	fas	INTRON
2R_9558456_SNP	CR45031	DOWNSTREAM
2R_9558599_SNP	CG18368	SYNONYMOUS_CODING
2R_9558599_SNP	fas	INTRON
2R_9558599_SNP	CR45031	DOWNSTREAM
2R_9789755_SNP	shot	SYNONYMOUS_CODING
2R_9915339_SNP	mam	INTRON
2R_9915339_SNP	CG18371	UPSTREAM
3L_11679933_SNP	Sug	SYNONYMOUS_CODING
3L_13511529_DEL	CG10710	CODON_DELETION
3L_14511587_SNP	bbg	INTRON
3L_14511587_SNP	CG9592	DOWNSTREAM
3L_14511616_SNP	bbg	INTRON
3L_14511616_SNP	CG9592	DOWNSTREAM
3L_16175647_SNP	-	-
3L_16729193_SNP	CG9701	INTRON
3L_16729206_SNP	CG9701	INTRON
3L_16729221_SNP	CG9701	INTRON
3L_19963175_SNP	Ac76E	INTRON
3L_20678417_SNP	-	-

Variante	Gen	Ubicación
3L_21219928_SNP	Eip78C	INTRON
3L_2673374_SNP	Fife	INTRON
3L_2849735_SNP	CG43444	INTRON
3L_4053830_SNP	CG1136	INTRON
3L_6038462_SNP	-	-
3L_7863462_SNP	CG32365	INTRON
3L_8909707_SNP	Tsp66E	INTRON
3L_8909707_SNP	CR43970	DOWNSTREAM
3R_14123954_SNP	I_3_05822	UTR_5_PRIME
3R_14123954_SNP	Dlc90F	UPSTREAM
3R_14602906_SNP	CG7720	INTRON
3R_14804661_SNP	Smu1	DOWNSTREAM
3R_14804661_SNP	CG12269	UPSTREAM
3R_14804661_SNP	CG42613	DOWNSTREAM
3R_15138731_DEL	DI	INTRON
3R_15194652_INS	Ino80	DOWNSTREAM
3R_15195230_SNP	Ino80	INTRON
3R_15774979_SNP	Hs6st	INTRON
3R_15774979_SNP	CG4783	DOWNSTREAM
3R_16006114_SNP	-	-
3R_16198263_SNP	-	-
3R_16727543_SNP	CG5621	UPSTREAM
3R_1710820_SNP	CG34113	INTRON
3R_17288306_SNP	-	-
3R_2122686_SNP	-	-
3R_2131139_SNP	Osi16	NON_SYNONYMOUS_CODING
3R_21725881_SNP	CG31091	UPSTREAM
3R_21725881_SNP	MCO3	DOWNSTREAM
3R_21800252_SNP	CG42261	INTRON
3R_23997133_SNP	CG34354	INTRON
3R_24632128_SNP	CheB98a	UPSTREAM
3R_4022486_SNP	CR43302	DOWNSTREAM
3R_4251685_SNP	CG45263	INTRON
3R_4260554_SNP	CG45263	INTRON
3R_595936_SNP	CG44098	INTRON
3R_595936_SNP	atms	INTRON
3R_9548931_SNP	CG34383	INTRON
3R_9548936_SNP	CG34383	INTRON
3R_9794542_SNP	rdx	UTR_3_PRIME
3R_9871771_SNP	-	-
3R_9871933_SNP	-	-
X_10814926_SNP	CG43901	UTR_3_PRIME
X_10814930_SNP	CG43901	UTR_3_PRIME
X_10814947_SNP	CG43901	UTR_3_PRIME

Variante	Gen	Ubicación
X_16954906_SNP	CG45002	INTRON
X_17212170_SNP	B-H2	INTRON
X_18709166_SNP	CG42450	INTRON
X_18709168_SNP	CG42450	INTRON
X_20570492_SNP	-	-
X_20570620_SNP	-	-
X_5049842_SNP	CG15465	INTRON
X_5049842_SNP	rg	INTRON

Variantes en negrita también estuvieron asociadas a z.

Tabla 4S. Variantes candidatas asociadas a z, genes a los que mapean y la localización de la variante.

Variante	Gen	Ubicación
2L_10720488_SNP	-	-
2L_11467934_SNP	-	-
2L_12157911_SNP	CG31760	INTRON
2L_12339385_SNP	CG31862	SYNONYMOUS_CODING
2L_1267239_SNP	robo3	INTRON
2L_13030458_SNP	CG9932	SYNONYMOUS_CODING
2L_13045534_INS	CG9932	INTRON
2L_13248395_SNP	CG16820	INTRON
2L_14057611_SNP	nAChRalpha5	INTRON
2L_19380702_SNP	CG17350	UPSTREAM
2L_2745034_SNP	Cwc25	UPSTREAM
2L_2745034_SNP	CG9961	UPSTREAM
2L_3012162_SNP	CG17265	INTRON
2L_5711227_SNP	CG7236	INTRON
2L_5711391_SNP	CG7236	INTRON
2L_5814836_SNP	-	-
2L_6137756_SNP	-	-
2L_7847781_SNP	CG14535	INTRON
2R_11041589_SNP	-	-
2R_11041756_SNP	-	-
2R_11041861_SNP	-	-
2R_12783567_SNP	CG8910	UPSTREAM
2R_12783567_SNP	mir-990	UPSTREAM
2R_13980921_SNP	CG34386	SYNONYMOUS_CODING
2R_13980921_SNP	CG5757	DOWNSTREAM
2R_16933004_SNP	-	-
2R_16995034_SNP	ktub	INTRON

Variante	Gen	Ubicación
2R_6037369_SNP	KCNQ	INTRON
2R_6037397_SNP	KCNQ	INTRON
2R_6584128_SNP	stan	INTRON
2R_9558456_SNP	CG18368	NON_SYNONYMOUS_CODING
2R_9558456_SNP	fas	INTRON
2R_9558456_SNP	CR45031	DOWNSTREAM
2R_9558509_SNP	fas	INTRON
2R_9558509_SNP	CG18368	NON_SYNONYMOUS_CODING
2R_9558509_SNP	CR45031	DOWNSTREAM
2R_9558599_SNP	CG18368	SYNONYMOUS_CODING
2R_9558599_SNP	fas	INTRON
2R_9558599_SNP	CR45031	DOWNSTREAM
2R_9558794_SNP	CG18368	SYNONYMOUS_CODING
2R_9558794_SNP	fas	INTRON
2R_9558794_SNP	CR45031	DOWNSTREAM
2R_9558795_DEL	CG18368	FRAME_SHIFT
2R_9558795_DEL	fas	INTRON
2R_9558795_DEL	CR45031	DOWNSTREAM
2R_9915339_SNP	mam	INTRON
2R_9915339_SNP	CG18371	UPSTREAM
3L_10224599_SNP	-	-
3L_11679933_SNP	Sug	SYNONYMOUS_CODING
3L_14511587_SNP	bbg	INTRON
3L_14511587_SNP	CG9592	DOWNSTREAM
3L_14511616_SNP	bbg	INTRON
3L_14511616_SNP	CG9592	DOWNSTREAM
3L_15328763_SNP	CR43992	INTRON
3L_15329961_SNP	Toll-6	UTR_5_PRIME
3L_15329961_SNP	CR43992	DOWNSTREAM
3L_15570978_SNP	CG16979	NON_SYNONYMOUS_CODING
3L_15570978_SNP	mrn	DOWNSTREAM
3L_16175647_SNP	-	-
3L_16411257_SNP	Aats-tyr	INTRON
3L_16411257_SNP	CG4573	UPSTREAM
3L_16411264_DEL	Aats-tyr	INTRON
3L_16411264_DEL	CG4573	UPSTREAM
3L_16411267_SNP	Aats-tyr	INTRON
3L_16411267_SNP	CG4573	UPSTREAM
3L_16411268_SNP	Aats-tyr	INTRON
3L_16411268_SNP	CG4573	UPSTREAM
3L_16729206_SNP	CG9701	INTRON
3L_17584012_SNP	Eip74EF	INTRON
3L_18304696_SNP	-	-
3L_18305220_SNP	-	-

Variante	Gen	Ubicación
3L_18305267_SNP	-	-
3L_18825213_SNP	Indy	INTRON
3L_1889364_SNP	Tmhs	INTRON
3L_19575216_SNP	Shal	INTRON
3L_19963175_SNP	Ac76E	INTRON
3L_20678417_SNP	-	-
3L_2673374_SNP	Fife	INTRON
3L_2673383_SNP	Fife	INTRON
3L_2732059_SNP	Mrtf	INTRON
3L_2849735_SNP	CG43444	INTRON
3L_3558280_SNP	Eip63E	INTRON
3L_4053830_SNP	CG1136	INTRON
3L_4546816_SNP	CG11357	INTRON
3L_6303039_SNP	-	-
3L_6521019_SNP	sfl	INTRON
3L_7123272_DEL	CG15829	DOWNSTREAM
3L_7123272_DEL	CG8628	UPSTREAM
3L_7137376_SNP	corn	DOWNSTREAM
3L_7864826_DEL	CG32365	INTRON
3L_7898524_SNP	pbl	INTRON
3L_7898540_SNP	pbl	INTRON
3L_7958828_SNP	-	-
3L_8909707_SNP	Tsp66E	INTRON
3L_8909707_SNP	CR43970	DOWNSTREAM
3L_8909709_SNP	Tsp66E	INTRON
3L_8909709_SNP	CR43970	DOWNSTREAM
3R_12993245_SNP	Mur89F	INTRON
3R_14379195_SNP	-	-
3R_14602906_SNP	CG7720	INTRON
3R_15194105_SNP	Ino80	DOWNSTREAM
3R_15194178_SNP	Ino80	DOWNSTREAM
3R_15194652_INS	Ino80	DOWNSTREAM
3R_15195153_INS	Ino80	INTRON
3R_15195158_MNP	Ino80	INTRON
3R_15195162_INS	Ino80	INTRON
3R_15195200_SNP	Ino80	INTRON
3R_15195219_SNP	Ino80	INTRON
3R_15195230_SNP	Ino80	INTRON
3R_15206390_SNP	Ino80	INTRON
3R_15774979_SNP	Hs6st	INTRON
3R_15774979_SNP	CG4783	DOWNSTREAM
3R_15775057_SNP	Hs6st	INTRON
3R_15775057_SNP	CG4783	DOWNSTREAM
3R_16006114_SNP	-	-

Variante	Gen	Ubicación
3R_16198263_SNP	-	-
3R_16727543_SNP	CG5621	UPSTREAM
3R_16751319_DEL	CG31191	INTRON
3R_16751319_DEL	hdly	INTRON
3R_1710820_SNP	CG34113	INTRON
3R_19077130_SNP	CG4449	UPSTREAM
3R_19077130_SNP	EloA	UPSTREAM
3R_19077150_SNP	CG4449	UPSTREAM
3R_19077150_SNP	EloA	UPSTREAM
3R_2131139_SNP	Osi16	NON_SYNONYMOUS_CODING
3R_21725864_SNP	MCO3	DOWNSTREAM
3R_21725864_SNP	CG31091	UPSTREAM
3R_21725881_SNP	CG31091	UPSTREAM
3R_21725881_SNP	MCO3	DOWNSTREAM
3R_21730825_SNP	CR43259	DOWNSTREAM
3R_21730825_SNP	CG31089	DOWNSTREAM
3R_21800252_SNP	CG42261	INTRON
3R_22756257_SNP	sda	INTRON
3R_22756326_DEL	sda	INTRON
3R_23041388_SNP	CR34006	DOWNSTREAM
3R_23997133_SNP	CG34354	INTRON
3R_26283413_SNP	CG2224	SYNONYMOUS_CODING
3R_26285841_SNP	CDase	INTRON
3R_26285841_SNP	CG2224	UPSTREAM
3R_26288044_SNP	CDase	INTRON
3R_26672102_SNP	-	-
3R_27474567_SNP	kek6	INTRON
3R_4022486_SNP	CR43302	DOWNSTREAM
3R_4251685_SNP	CG45263	INTRON
3R_4255493_SNP	CG45263	INTRON
3R_4256091_SNP	CG45263	INTRON
3R_4260554_SNP	CG45263	INTRON
3R_5558397_SNP	alphaTub85E	SYNONYMOUS_CODING
3R_595936_SNP	CG44098	INTRON
3R_595936_SNP	atms	INTRON
3R_9871771_SNP	-	-
3R_9871793_SNP	-	-
3R_9871933_SNP	-	-
X_10402778_INS	spri	INTRON
X_10403185_SNP	spri	INTRON
X_10814926_SNP	CG43901	UTR_3_PRIME
X_10814930_SNP	CG43901	UTR_3_PRIME
X_10814947_SNP	CG43901	UTR_3_PRIME
X_11231972_SNP	Kap3	INTRON

Variante	Gen	Ubicación
X_11860200_SNP	cac	INTRON
X_13021587_SNP	CG32638	INTRON
X_17212170_SNP	B-H2	INTRON
X_19737125_SNP	pico	INTRON
X_19737184_SNP	pico	INTRON
X_19738224_SNP	pico	INTRON
X_20570492_SNP	-	-
X_20570620_SNP	-	-
X_2512008_SNP	Tsp3A	DOWNSTREAM
X_2512023_SNP	Tsp3A	DOWNSTREAM
X_2573070_SNP	sgg	UTR_3_PRIME
X_2573244_SNP	sgg	UTR_3_PRIME
X_2573244_SNP	HLH3B	DOWNSTREAM
X_5049842_SNP	CG15465	INTRON
X_5049842_SNP	rg	INTRON
X_5049863_SNP	rg	INTRON
X_5049863_SNP	CG15465	INTRON
X_8569486_SNP	-	-
X_9281002_SNP	mgl	INTRON

Variantes en negrita también estuvieron asociadas a CT_{max} .

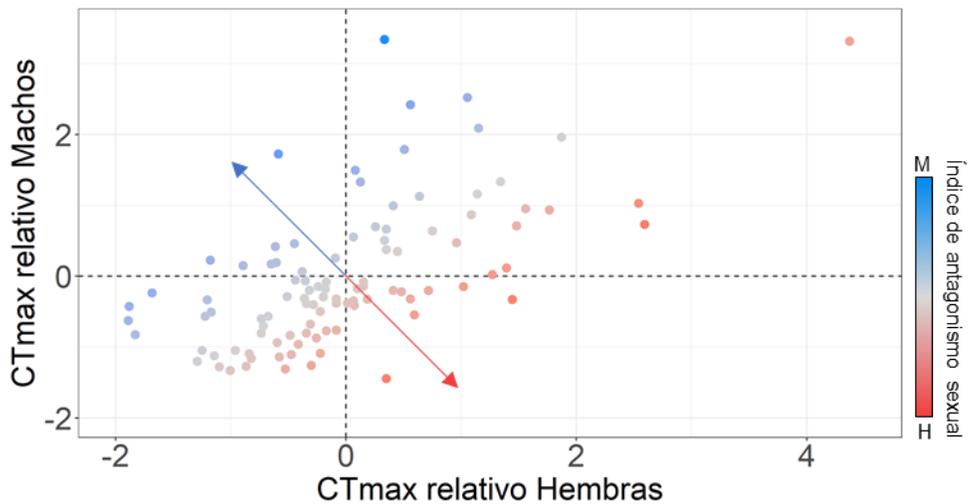


Figura 3S. CT_{max} relativo para machos y hembras de 100 líneas del DGRP. Flechas en el eje de los 45° indican el eje sexualmente antagonista. Colores indican el índice de antagonismo sexual de cada línea, valores negativos (gradiente azul) indican líneas donde el CT_{max} de los machos es mayor que el de las hembras, mientras que valores positivos (gradiente roja) indican líneas donde el CT_{max} de las hembras es mayor que el de los machos. Líneas en gris son sexualmente concordantes, ya sea para valores bajos de CT_{max} (valores negativos en ambos ejes) o para valores altos de CT_{max} (valores positivos en ambos ejes).

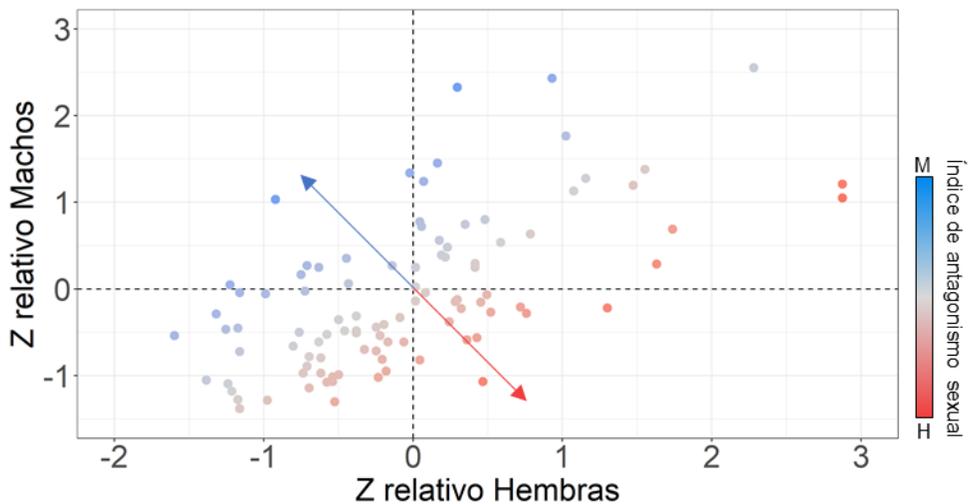


Figura 4S. z relativo para machos y hembras de 100 líneas del DGRP. Flechas en el eje de los 45° indican el eje sexualmente antagonista. Colores indican el índice

de antagonismo sexual de cada línea, valores negativos (gradiente azul) indican líneas donde el z de los machos es mayor que el de las hembras, mientras que valores positivos (gradiente roja) indican líneas donde el z de las hembras es mayor que el de los machos. Líneas en gris son sexualmente concordantes, ya sea para valores bajos de z (valores negativos en ambos ejes) o para valores altos de z (valores positivos en ambos ejes).

Tabla 5S. Índice de antagonismo sexual para *CTmax* y *z* para 100 líneas del DGRP.

DGRP	<i>CTmax</i>	<i>z</i>	DGRP	<i>CTmax</i>	<i>z</i>
28	0,611253086	0,543499392	399	-0,663152853	-0,523875882
40	-0,144989092	-0,103099466	426	0,545448104	0,742406323
41	-0,272717336	-0,177009779	427	0,676371364	0,5571606
45	0,057811048	0,059222388	437	0,160712882	0,171819694
59	-0,016491481	-0,162110388	443	-1,03764855	-1,060663346
69	0,588973286	0,197497023	486	-0,248330023	-0,349758835
75	0,284686052	0,220370962	491	-0,158721294	-0,186304893
83	-0,203493238	-0,469027602	492	0,082640491	0,07377978
85	-0,01097092	-0,013213839	509	-0,345902785	-0,226286234
91	0,3232094	0,336202273	513	-1,028700152	-0,72705155
93	0,883551476	0,95142217	517	0,342373812	0,439887654
101	-0,097072184	-0,100826551	535	-0,016857016	-0,021922313
105	-0,066669093	-0,003128635	555	0,444689046	0,314728777
109	0,238225216	0,167412409	563	0,620478669	0,389266921
136	0,480379878	0,611772977	584	0,126528175	0,157465752
142	0,156244561	0,108230488	589	-0,077362503	0,017619674
149	-0,12201652	-0,142632715	703	-0,993203843	-0,900004056
153	1,316527809	1,291861453	707	1,069878283	1,178303058
161	0,229091017	0,375947711	712	-0,034824719	0,110429761
181	0,066647586	0,118690142	714	0,195584294	0,31438678
189	-0,2223835	-0,10687892	716	0,193765721	0,138990358
195	-0,347488539	-0,271229047	721	0,551552231	0,549967403
208	0,903547063	0,736793307	732	0,248190589	0,251652568
217	-0,315163736	-0,29146436	737	0,495243948	0,430666184
228	0,649517071	0,556957149	738	0,343765044	0,084622623
239	0,066399978	0,089094812	757	-0,47038596	-0,51053296
303	-1,023321027	-0,79074685	765	-0,412450592	-0,518133058
304	-0,063058489	-0,23444926	774	-1,635850778	-1,383107782
306	-0,894994429	-0,747596408	776	-0,712125035	-0,555337226
307	0,750511981	0,882611877	787	0,178810267	0,074292777
313	0,07973138	0,03596526	799	0,435165803	0,671753727
315	-0,644029772	-0,563523964	801	-0,904255275	-0,91083816
318	-0,313292077	-0,280140972	802	0,208447023	0,126738333
319	-0,063730406	-0,191110339	810	-0,065330948	-0,101307095
321	0,207329943	0,295634292	812	0,237718245	0,353545578
324	0,825760578	0,657611976	820	1,269362446	1,087309055
335	-0,852220792	-0,962387531	822	-0,564295032	-0,69394512
336	-2,126550135	-1,954850211	843	0,27604707	0,303308034
338	0,004258685	-0,037880149	850	-0,736017131	-0,648212216

DGRP	CTmax	z	DGRP	CTmax	z
350	1,255084976	1,075130673	852	-0,012774705	-0,083922599
357	0,386703626	0,428254721	857	0,000995794	-0,045456535
362	-1,314129355	-1,436131238	859	0,804335462	0,701520057
365	-0,729715448	-0,620751255	861	0,258441868	0,332039631
375	0,394252071	0,347248567	882	-0,615395202	-0,657710781
379	-0,999490738	-0,828732369	884	0,434426013	0,388167285
380	-0,579483305	-0,493222106	890	0,422810045	0,264523685
383	0,360108695	0,225845431	897	0,046663754	0,129353247
385	0,289611292	0,396289119	900	0,03185277	0,09081354
386	-0,464526407	-0,30812367	907	0,165714718	0,15371875
392	0,42982801	0,123064975	913	-0,085677281	-0,038230886

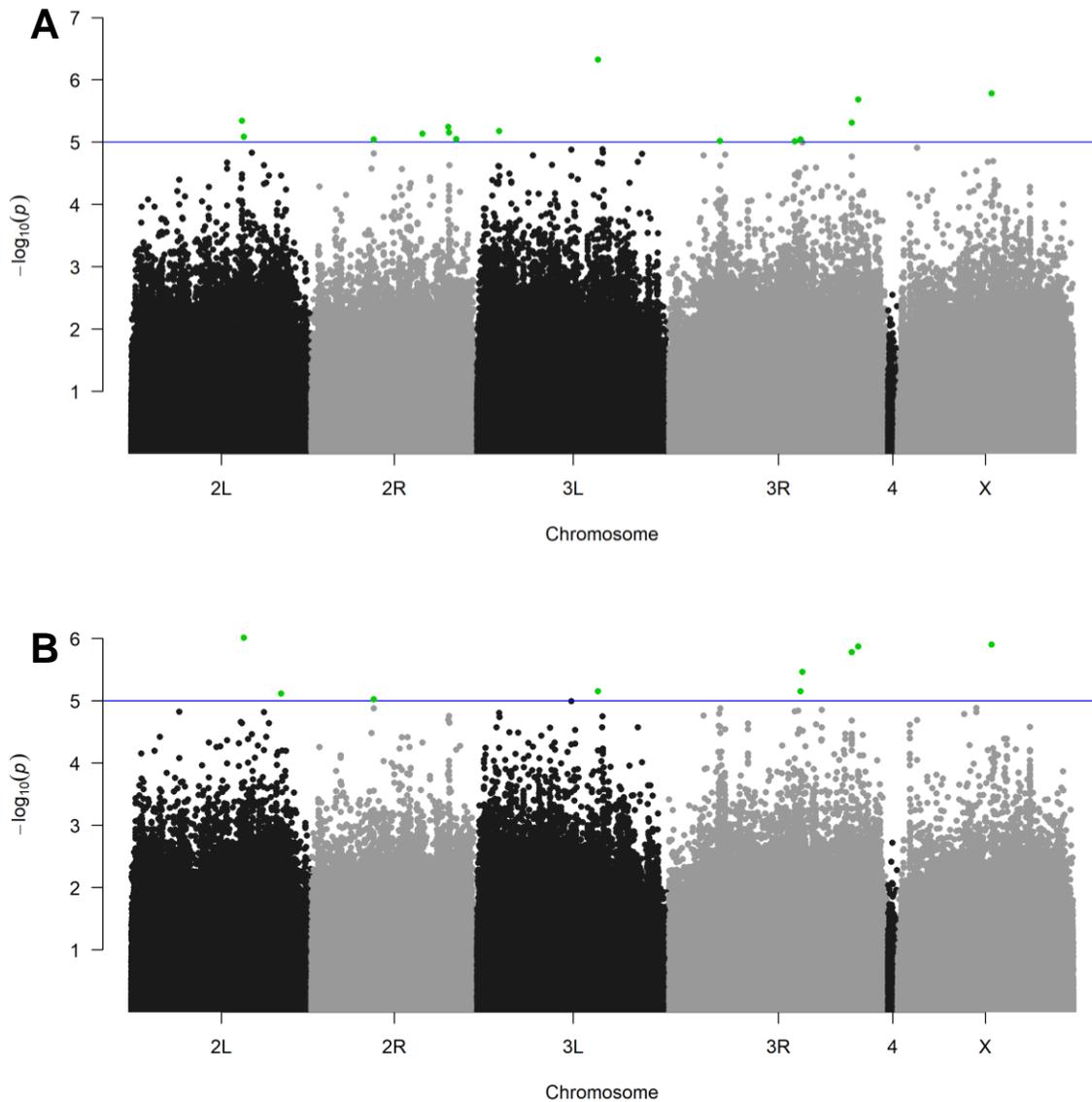


Figura 5S. Gráfico de Manhattan para la asociación de todas las variantes genéticas con el índice de antagonismo sexual de CT_{max} (A) y z (B) para 100 líneas del DGRP. Cada punto corresponde a una variante genética del genoma de *D. melanogaster*, ordenadas según su posición cromosómica. El valor en el eje Y de la variante indica la significancia de la asociación con los fenotipos. La línea azul marca el punto de corte de significancia de $P=10^{-5}$ y los puntos verdes indican variantes con asociación significativa.