



Universidad de Concepción
Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas



Efecto del incremento de temperatura sobre la tolerancia al calor de
Drosophila melanogaster

Seminario de Título presentado a la
Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas
Para optar al título de Bióloga

Tamara Beatriz Goyak Retamal

Concepción, septiembre de 2024



Este Seminario de Título ha sido desarrollado en el Departamento de Zoología,
Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción.



Prof. Guía

Dra. Grisel Cavieres

Prof. Evaluadores

Dr. Claudio Correa

Dr. Emmanuel Vega

Prof. Coordinador Seminario de Título

Dr. Víctor Hernández Santander

Concepción, septiembre de 2024

AGRADECIMIENTOS

Quisiera dar las gracias a mi familia, por su amor y sacrificio. Gracias infinitas a mis padres por siempre estar ahí para ayudarme a lograr mis metas profesionales, por velar por mi bienestar personal, sobre todo. También expreso mi gratitud a mis hermanos, quienes supieron brindarme su tiempo para escucharme, aconsejarme y apoyarme en cada paso de este viaje académico. Un sincero agradecimiento a mi pareja y a mis amigas, por apoyarme en los momentos difíciles durante este largo camino, infinitas gracias por ser mi punto de apoyo. Quisiera expresar mi agradecimiento a mi profesora guía, la Dra. Grisel Cavieres. Su experiencia, comprensión y guía constante contribuyeron en el desarrollo de esta y muchas otras investigaciones durante mi desempeño académico. Agradezco su inmenso apoyo durante este viaje. Me gustaría agradecer al Center of Applied Ecology and Sustainability (CAPES) por brindarme la oportunidad de realizar esta investigación, a ANID PIA/BASAL FB0002 y a FONDECYT 11190637 por el financiamiento.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	3
ÍNDICE	4
ÍNDICE DE FIGURAS	6
ÍNDICE DE TABLAS	8
GLOSARIO	10
RESUMEN	11
ABSTRACT	12
INTRODUCCIÓN	13
Metodologías empleadas en estudios de tolerancia térmica	14
Tolerancia al calor: relación entre la temperatura crítica máxima CTmax y sensibilidad térmica Z.....	15
HIPÓTESIS	17
Hipótesis:	17
Predicciones:.....	17
OBJETIVOS	18
Objetivo general:	18
Objetivos específicos:.....	18
METODOLOGÍA	19
1.1 Modelo de estudio.....	19
1.2 Recolección, mantención y diseño experimental	21
1.3 Mediciones fenotípicas	23

RESULTADOS	28
Efectos de la temperatura sobre la masa corporal	28
Selección del modelo.....	30
Curvas de muerte térmica (TDT curves) y parámetros de tolerancia al calor	33
DISCUSIÓN	39
CONCLUSIÓN	43
BIBLIOGRAFÍA	44
Material suplementario	57
Tabla 1. Coeficientes del modelo lineal mixto (LMM) ajustado para datos de <i>Log10t</i> en individuos adultos de <i>Drosophila melanogaster</i> aclimatados durante la ontogenia a diferentes temperaturas y sometidos a ensayos de tolerancia térmica. Las diferencias significativas se señalan en negro.....	57

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Diferentes escenarios de curva de muerte térmica (TDT) ilustrando cambios hipotéticos (h_i) en la tolerancia térmica de los organismos en respuesta a temperaturas elevadas. A. Una variación positiva en CTmax (línea negra) mediante un incremento general de tolerancia al calor a través de toda la curva. B. Una variación positiva en CTmax podría aumentar la tolerancia al calor a costa de reducir la tolerancia frente a un rango de temperaturas desafiantes. C. Un incremento en la tolerancia al calor sin que ocurra un cambio en CTmax. Modificado de Castañeda et al., 2015..... 16
- Figura 2.** Fotografías de individuos adultos de *Drosophila melanogaster*. En la figura se aprecia el marcado dimorfismo sexual en esta especie, caracterizado por el tamaño de la hembra en comparación al macho y por la gran mancha oscura que este último presenta en su abdomen. Modificado de Chyb & Gombel, 2013.....20
- Figura 3.** Mantención de *Drosophila melanogaster* en el laboratorio. A. Cámaras climáticas con control de temperatura y fotoperiodo para aclimatación térmica a 21, 24, 27 y 30 ± 0.1 °C, con un fotoperiodo de 16:8h L:O. B. Botellas de vidrio de 250 ml con medio de cultivo para mantención de moscas durante su ontogenia (huevo hasta la eclosión de adultos). C. Cajas de acrílico utilizadas para mantención de adultos recién eclosionados (N = 3 cajas para cada tratamiento térmico). Estas cajas tienen en su interior placas Petri con medio de cultivo con el fin de asegurar la alimentación y posterior oviposición de las moscas. ...22
- Figura 4.** Configuración experimental para la medición de tiempo de colapso (i.e., tiempo de muerte térmica) en ensayos de tolerancia térmica en *Drosophila melanogaster* aclimatados a 21, 24, 27 y 30°C. Los ensayos se realizaron a 36, 37, 38, 39 y 40°C. Cada ensayo fue grabado con una cámara de video digital y los videos fueron revisados en computador para posteriormente registrar el tiempo de muerte de cada mosca.....24

Figura 5. Masa corporal de individuos adultos de *Drosophila melanogaster* aclimatados durante la ontogenia a distintas temperaturas 21°C (celeste), 24°C (amarillo), 27°C (naranja), y 30°C (rojo). El panel A muestra la variación en masa entre los tratamientos de aclimatación, y el panel B muestra los datos separados por sexo para cada temperatura. Los datos se muestran como promedio $\pm$ desviación estándar. En cada panel se indican los resultados del test de ANOVA, y las diferentes letras representan diferencias significativas entre grupos luego de realizado el test de comparaciones múltiples de Tukey.29

Figura 6. Curvas de supervivencia obtenidas a diferentes temperaturas para individuos adultos de *Drosophila melanogaster* aclimatados a 21 (A), 24 (B), 27 (C), y 30°C (D), y sometidos a diferentes temperaturas de ensayos térmicos (36, 37, 38, 39 y 40°C). N = 5664 individuos.....34

Figura 7. Curva de muerte térmica (TDT) basada en el mejor modelo candidato estimada para de individuos adultos de *Drosophila melanogaster* aclimatados a cuatro temperaturas. En el eje X se muestran las temperaturas de los ensayos térmicos y su proyección de CTmax y en el eje Y se muestra el tiempo de sobrevivencia transformado a minutos. Los círculos representan el promedio para cada ensayo térmico y los intervalos corresponden a la desviación estándar. Las líneas punteadas corresponden a machos y hembras de cada tratamiento térmico.35

Figura 8. Relación entre coeficientes de curva TDT obtenidos del mejor modelo candidato (Tabla 2). El color indica el valor de los coeficientes para cada tratamiento de aclimatación y la forma indica los valores por sexo. Se muestran los resultados del test ANOVA de la regresión entre coeficientes.37

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Modelos candidatos (LMMs) para evaluar el efecto de las variables las predictoras sexo (*Sex*), masa corporal (*Mc*), temperatura de ensayo (*Tens*), y temperatura de aclimatación (*Tacl*) sobre el tiempo de sobrevivencia ($\text{Log}_{10}t$) de *Drosophila melanogaster* en ensayos de tolerancia al calor. Las variables caja (*caja*) y réplica (*rep*) se evaluaron como efectos aleatorios en los modelos.....**¡Error! Marcador no definido.**

Tabla 2. Clasificación AIC y pesos de los modelos candidatos que describen el efecto del sexo (*Sex*), masa corporal (*Mc*), temperatura del ensayo térmico (*Tens*) y temperatura de aclimatación (*Tacl*) sobre el tiempo de colapso térmico ($\text{Log}_{10} t$) de *Drosophila melanogaster*. La selección del modelo incluye la comparación entre modelos que consideran efectos aditivos (+) e interactivos (²) de los predictores. La tabla muestra el número de parámetros estimados (K), la diferencia en AIC entre los modelos (ΔAIC), su verosimilitud relativa y pesos (W_i). El modelo con mejor ajuste se muestra en negrita.**¡Error! Marcador no definido.**

Tabla 3. ANOVA del mejor modelo candidato (Tabla 2) que describe los efectos del sexo (*Sex*), masa corporal (*Mc*), temperatura del ensayo térmico (*Tens*) y temperatura de aclimatación (*Tacl*) sobre el tiempo de colapso térmico ($\text{Log}_{10} t$) de *Drosophila melanogaster*. Efectos significativos ($p < 0.05$) se indican con negrita.**¡Error! Marcador no definido.**

Tabla 4. Coeficientes de curva de muerte térmica (TDT) de *Drosophila melanogaster* aclimatadas a cuatro temperaturas diferentes durante la ontogenia (huevo-adulto). Diferentes letras representan diferencias significativas entre tratamientos de aclimatación luego del test de comparaciones múltiples de Tukey. Los datos se muestran como promedio $\pm$ desviación estándar.....;E

rror! Marcador no definido.

GLOSARIO

1. *Caja*: se refiere a la réplica experimental. Cada temperatura de aclimatación se constituyó de tres réplicas (i.e., cajas de mantención de moscas) definidas como C1, C2 y C3.
2. *CTmax*: temperatura crítica máxima. Corresponde a la temperatura crítica para el colapso (i.e., muerte térmica) siguiendo 1 minuto de desafío térmico.
3. *Log₁₀t*: es el tiempo de sobrevivencia expresado en log₁₀. Corresponde al tiempo en el cual se produce la muerte del individuo producto de la constante exposición a una temperatura determinada.
4. *Mc*: corresponde a la masa corporal (mg) de individuos adultos de 10± 2 días de edad.
5. *Tacl*: corresponde a temperatura de aclimatación (21, 24, 27 y 30°C) a las que fueron expuestos los individuos de *Drosophila melanogaster* durante su ontogenia (huevo hasta adultos (10± 2 días de edad)).
6. *TDT*: abreviación de curva de muerte térmica debido a su nombre en inglés *Thermal death time*. Esta curva explica como cambian las probabilidades de supervivencia en función de la temperatura y el tiempo de exposición.
7. *Tens*: corresponde a las temperaturas del ensayo térmico a las que fueron sometidos los individuos de *Drosophila melanogaster*. Estas temperaturas fueron 36, 37, 38, 39 y 40°C.
8. *Rep*: se refiere a la réplica/repetición del ensayo térmico para estimar tiempos de colapso de los individuos a 36, 37, 38, 39 y 40°C (2 *rep* x *Tens* x *caja*).
9. *Sex*: se refiere al sexo de los organismos (hembra o macho).
10. *Z*: sensibilidad térmica. Describe la disminución en temperatura requerida para un incremento de diez veces en el tiempo tolerancia térmica.

RESUMEN

En la actualidad, el incremento de eventos climáticos extremos y el aumento de la temperatura media del planeta contribuyen a la pérdida de biodiversidad global. La capacidad de los individuos para responder con cambios morfológicos, fisiológicos o conductuales (i.e., plasticidad fenotípica) a tales desafíos podría ser clave para su sobrevivencia. Estudios han demostrado que la capacidad de tolerar altas temperaturas depende de la intensidad y de la temperatura del desafío térmico. En este sentido, las curvas de muerte térmica (TDT) incluyen estos factores mediante la estimación de CTmax (tolerancia al calor) y Z (susceptibilidad térmica) como descriptores de tolerancia térmica. Esta tesis explora como la exposición a ambientes térmicos cada vez más estresantes afecta la tolerancia al calor y la sobrevivencia de *Drosophila melanogaster*. Para responder a esta pregunta, se elaboraron curvas TDT y estimamos CTmax y Z en organismos adultos aclimatados a diferentes temperaturas durante la ontogenia (21, 24, 27 y 30°C). Además, se evaluó el efecto de la temperatura sobre la masa corporal (*Mc*) y se analizó la magnitud de la respuesta plástica de estos atributos (i.e., CTmax, Z y *Mc*). Los resultados demostraron que la temperatura de aclimatación (*TacI*), la temperatura del ensayo térmico (*Tens*) y *Mc* tuvieron impactos significativos sobre la sobrevivencia de *Drosophila melanogaster*. Organismos aclimatados a altas temperaturas mostraron un aumento significativo en su sobrevivencia, así como valores más altos de CTmax y Z en comparación con los individuos provenientes de temperaturas más bajas. La aclimatación a temperaturas estresantes generó cambios en la tolerancia al calor, sobrevivencia y en la morfología de *Drosophila melanogaster*. Los resultados sugieren que existe un compromiso entre CTmax y Z, lo cual implica una mayor tolerancia a altas temperaturas, pero durante cortos periodos de tiempo.

Palabras clave: *Drosophila melanogaster*, curvas de muerte térmica, cambio climático, plasticidad fenotípica

ABSTRACT

Currently, the increase in extreme climate events and the increase in average temperature of the planet contribute to the loss of global biodiversity. The ability of individuals to respond to these challenges through morphological, physiological or behavioral changes (i.e., phenotypic plasticity) may be crucial for their survival. Studies have shown that the ability to tolerate high temperatures depends on the intensity and temperature of the thermal challenge. In this sense, thermal death time (TDT) curves incorporate these factors by estimating CTmax (heat tolerance) and Z (thermal susceptibility) as the thermal tolerance descriptors. This thesis investigates how exposure to increasingly stressful thermal environments affects the heat tolerance and survival of *Drosophila melanogaster*. To address this, TDT curves were generated to estimate CTmax and Z in adult organisms acclimated to different temperatures (21, 24, 27 and 30°C) during ontogeny. In addition, the effect of temperature on body mass (*Mc*) was evaluated and the magnitude of the plastic response of these attributes was analyzed (i.e., CTmax, Z and *Mc*). The findings revealed that acclimatization temperature, thermal assay, and *Mc* had significant impacts on the survival of *Drosophila melanogaster*. Flies acclimated to high temperatures exhibited significantly increased survival, along with higher values of CTmax and Z, compared to individuals from lower temperatures. Acclimatization to stressful temperatures induced changes in heat tolerance, survival and morphology in *Drosophila melanogaster*. The results suggest a trade-off between CTmax and Z, which implies a greater susceptibility to high temperatures over shorter periods of time.

Keywords: *Drosophila melanogaster*, thermal death curves, climate change, phenotypic plasticity

INTRODUCCIÓN

Durante el último siglo, el planeta ha enfrentado las consecuencias del cambio climático, entre ellas el incremento de la temperatura, aumento de la variabilidad térmica y la intensificación de eventos climáticos extremos, como olas de calor, sequías y huracanes (IPCC, 2021). La degradación y transformación de los ecosistemas debido a estos cambios se ha descrito como una de las principales causas de la pérdida de biodiversidad (Meehl & Tobaldi, 2004; Palmer et al., 2017; Thornes, 2016). El Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático señala que la temperatura media anual en el mundo se ha incrementado aproximadamente 1 °C, entre 1880 y 2012, y que es probable que aumente de 1°C a 4°C para el 2100 (IPCC, 2022). En este contexto, se espera que los cambios en la temperatura del planeta sean particularmente desafiantes para los organismos ectotermos, debido a que su fisiología depende directamente de la temperatura del ambiente (Huey & Stevenson, 1979), haciéndolos particularmente vulnerables frente a cambios ambientales (Paaijmans et al., 2013; Rohr & Palmer, 2013).

Ajustes fisiológicos frente a ambientes cambiantes

Diversos investigadores argumentan que el ambiente térmico puede alterar significativamente aspectos claves de la biología de estos organismos, tales como la morfología, fisiológica, conducta y adecuación biológica (Cavieres et al., 2020; Folguera et al., 2011; Gilbert, 2001; Hofmann & Todgham, 2009; Kingsolver et al., 2015; Liu et al., 2021; Mech et al., 2018; Ragland et al., 2008; Régnière et al., 2012). Además, los organismos pueden potencialmente responder a cambios en el ambiente térmico por medio de la plasticidad fenotípica, que se define como la habilidad de genotipos de modificar el fenotipo en respuesta a factores ambientales (Bradshaw & Holzapfel, 2009; Piglucci, 2001; Stearns, 1989). Respuestas plásticas al incremento de temperatura pueden expresarse mediante ajustes bioquímicos, como una mayor expresión de proteínas de shock térmico HSP's (Sørensen & Loeschcke, 2002; Tarapacki et al., 2021), cambios morfológicos, como la reducción del tamaño corporal, modificando así, la relación superficie volumen (Polidori et al., 2020;

Sheridan & Bickford, 2011; Tseng et al., 2018), cambios fisiológicos con ajustes en los límites de tolerancia térmica (e.g., CTmax) o en el desempeño a distintas temperaturas (e.g., temperatura óptima, rango de tolerancia térmica) (Alruiz et al., 2022; Bozinovic & Cavieres, 2019; Cavieres et al., 2019; Molina et al., 2023; Rezende et al., 2020), o cambios conductuales (e.g., búsqueda de refugios, cambios en preferencia térmica) (Gilbert & Miles, 2017; Hayden Bofill & Blom, 2024).

La sensibilidad de los organismos frente a la temperatura puede estudiarse a través de los límites de tolerancia térmica, que corresponden a las temperaturas máximas o mínimas que delimitan el rendimiento de los individuos, caracterizada por la pérdida de reacción (Huey & Kingsolver, 1989; Overgaard et al., 2014). Diversos científicos se han centrado en estudios de tolerancia térmica argumentando que estos organismos son capaces de modificar sus límites térmicos (CTmax y CTmin) en respuesta a distintos escenarios de variaciones térmicas y cambios de la temperatura media (Estay et al., 2014; Chidawanyika et al., 2017). En este contexto, algunos investigadores sugieren que la variación en la tolerancia térmica de los individuos podría estar modulada por factores como el sexo (Andersen et al., 2006; Blanckenhorn et al., 2014; Boersma et al., 2018), la temperatura de aclimatación (Cavieres et al., 2019; Chown et al., 2014), el tiempo de exposición (Kingsolver et al., 2015; Rezende & Bozinovic, 2019) e incluso, rasgos morfológicos como el tamaño corporal (Leiva et al., 2019; Verspagen et al., 2020).

Metodologías empleadas en estudios de tolerancia térmica

En la era actual del calentamiento global, caracterizada por un aumento en la frecuencia de eventos climáticos extremos (e.g., olas de calor, variabilidad térmica, sequía, entre otros), es imprescindible incorporar metodologías que permitan predecir sus efectos sobre los organismos. Los estudios experimentales utilizan distintos métodos, modelos y medidas (Jørgensen et al., 2019; Kingsolver & Huey, 2008; Santos et al., 2011). En específico, la estimación de las temperaturas críticas usualmente se realiza a través de dos métodos: el método estático, que consiste en cuantificar el tiempo que demora el organismo en colapsar (i.e., muerte, coma o iniciar espasmos musculares) estando expuesto a temperaturas

estresantes constantes (Hoffmann et al., 2003) o el método dinámico, que se basa en la temperatura límite o punto límite al cual el organismo colapsa estando expuesto a una tasa controlada de aumento o disminución de temperatura (Terblanche et al., 2007). Debido al debate en torno a estas metodologías (Castañeda et al., 2012; Cooper et al., 2008), algunos estudios sugieren que se deben considerar otros factores, como el tiempo de exposición y la sensibilidad de los organismos a estos cambios en la temperatura ambiental, por lo que un modelo metodológico basado en la asociación entre la tolerancia térmica y el tiempo de exposición ha despertado un creciente interés entre los investigadores (Castañeda et al., 2012; 2015; Rezende et al., 2014). La curva de muerte térmica (TDT) indica cómo cambian las probabilidades de supervivencia en función de la temperatura y el tiempo de exposición a través de la obtención de CTmax y Z (temperatura crítica máxima y sensibilidad térmica, respectivamente) como parámetros de tolerancia térmica (Rezende et al., 2014), permitiendo estimar con mayor precisión cómo responderá un organismo a cambios en la temperatura estando expuesto durante un tiempo determinado. Otros investigadores han dado nuevas perspectivas a la curva TDT, describiendo el área bajo la curva como la “tasa de daño acumulativo”, lo que, en otras palabras, significa que las curvas demostrarían que la tasa de daño aumenta exponencialmente con la temperatura y el punto máximo (i.e., muerte) se alcanza cuando el animal ha acumulado una cantidad crítica de daño (Jørgensen et al., 2021).

Tolerancia al calor: relación entre la temperatura crítica máxima CTmax y sensibilidad térmica Z

Algunos estudios han explorado la relación entre CTmax y Z, aunque con resultados contradictorios (Alruiz et al., 2022; Willot et al., 2022). Rezende et al. (2014) describen una correlación positiva entre CTmax y Z, sugiriendo que podría existir un *trade off* o compromiso entre estos parámetros. Específicamente, muestran que especies con un mayor CTmax exhiben un mayor Z, lo que implica que la capacidad de tolerar temperaturas extremas podría no mantenerse por largos periodos de tiempo. Adicionalmente, Castañeda et al. (2015) mencionan diferentes escenarios hipotéticos que podrían presentarse en una curva de muerte térmica visualizando la tolerancia al calor en respuesta a temperaturas elevadas. Explican que, en un caso A, el organismo es capaz de aumentar la tolerancia al calor al

aumentar CTmax (Figura 1A). Por otra parte, un caso B implicaría que un aumento de CTmax podría lograrse a costa de disminuir la tolerancia al calor en un rango de temperaturas desafiantes (Figura 1B). Finalmente, un caso C describiría un incremento en la tolerancia al calor sin un cambio visible en CTmax (Figura 1C). En su investigación, demostraron que las poblaciones de *D. subobscura* cambiaron la tolerancia a altas temperaturas al aumentar CTmax, pero, al mismo tiempo, disminuyeron la tolerancia en desafíos térmicos menos extremos.

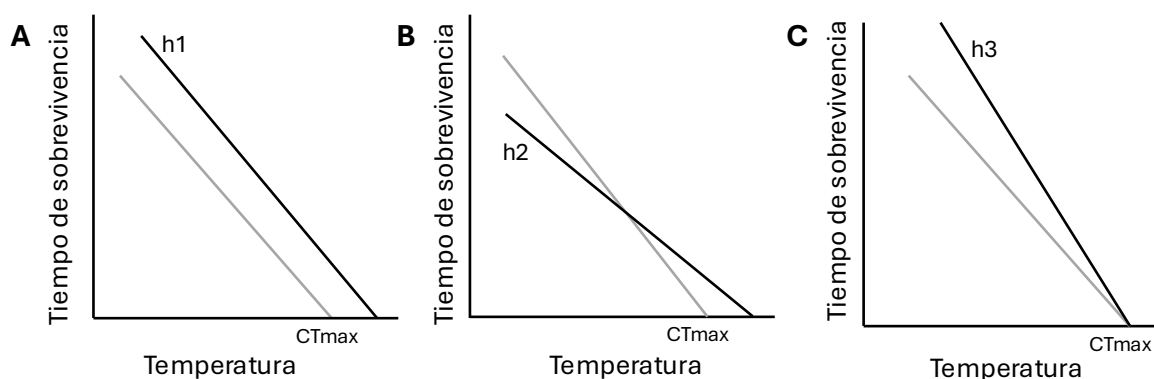


Figura 1. Diferentes escenarios de curva de muerte térmica (TDT) ilustrando cambios hipotéticos (h_i) en la tolerancia térmica de los organismos en respuesta a temperaturas elevadas. A. Una variación positiva en CTmax (línea negra) mediante un incremento general de tolerancia al calor a través de toda la curva. B. Una variación positiva en CTmax podría aumentar la tolerancia al calor a costa de reducir la tolerancia frente a un rango de temperaturas desafiantes. C. Un incremento en la tolerancia al calor sin que ocurra un cambio en CTmax. Modificado de Castañeda et al., 2015.

La presente investigación evaluó el impacto del incremento de temperatura sobre la tolerancia al calor de *Drosophila melanogaster* aclimatadas a distintas temperaturas entre 21 y 30°C, se estimó, además, CTmax y Z como parámetros descriptores de tolerancia térmica para incrementar la comprensión del efecto de temperatura sobre la sobrevivencia de los individuos. Adicionalmente, se determinó la capacidad plástica de estos rasgos. Se utilizó a *Drosophila melanogaster* como modelo de estudio, debido al gran conocimiento que existe sobre sus respuestas ante cambios en la temperatura ambiental (Alruiz et al., 2022), así como al extenso estudio de sus límites fisiológicos asociados a otros factores climáticos (Hoffmann, 2010; Ragland et al., 2008).

HIPÓTESIS

Hipótesis:

Drosophila melanogaster presenta ajustes morfológicos y fisiológicos compensatorios en respuesta al incremento de temperatura. Estos ajustes se traducen en una reducción de la masa corporal (Mc) y un incremento en la tolerancia al calor reflejado por un incremento en el tiempo de sobrevivencia, la temperatura crítica máxima (CTmax) y la sensibilidad térmica (Z).

Predicciones:

La temperatura de aclimatación se asocia negativamente con la masa corporal (Mc) y positivamente con la tolerancia térmica (sobrevivencia, CTmaz y Z) en *Drosophila melanogaster*.

OBJETIVOS

Objetivo general:

Evaluar el efecto de la temperatura de aclimatación sobre la tolerancia al calor (CTmax y Z) y la masa corporal (*Mc*) en *Drosophila melanogaster*.

Objetivos específicos:

- 1.1 Evaluar el efecto de la temperatura de aclimatación sobre la masa corporal (*Mc*, mg) en *Drosophila melanogaster*.
- 1.2 Evaluar el efecto de la temperatura de aclimatación sobre el tiempo de sobrevivencia ($\text{Log}_{10} t$) de *Drosophila melanogaster* frente a los desafíos térmicos.
- 1.3 Determinar la temperatura crítica máxima (CTmax, °C) y la sensibilidad térmica (Z, °C) de *Drosophila melanogaster* provenientes de distintos ambientes térmicos mediante la elaboración de curvas TDT (thermal death time).
- 1.4 Demostrar si existe asociación entre CTmax y Z.
- 1.5 Establecer si CTmax, Z y *Mc* son rasgos plásticos.

METODOLOGÍA

1.1 Modelo de estudio

En este estudio utilizamos individuos adultos de *Drosophila melanogaster* (Meigen, 1830), más conocida como “mosca del vinagre”. Esta especie pertenece a la familia Drosophilidae, género *Drosophila* y subgénero *Sophophora* (Powell, 1997). Originaria de África occidental, esta especie se encuentra distribuida por todo el mundo, sobre todo por el comercio y exportación de frutas desde el siglo XIX (Stephan & Li, 2007). Es una especie generalista que se alimenta y reproduce en frutas o materia orgánica en descomposición (O’Grady, 2009). Presenta un marcado dimorfismo sexual, en donde las hembras son generalmente más grandes que los machos. Además, las hembras exhiben un abdomen puntiagudo mientras que el de los machos es redondeado y tiende a curvarse (Figura 2). Ambos sexos poseen un patrón de bandas oscuras en su abdomen, sin embargo, estas bandas se fusionan en los machos formando una gran mancha oscura en el extremo del abdomen, a diferencia de las hembras, que no la poseen (Chyb & Gompel, 2013). Al ser un organismo ectotermo, sus funciones biológicas, como la reproducción, el metabolismo, desarrollo y desempeño, están directamente influenciadas por su temperatura corporal (Sunday et al., 2011). Esta especie ha demostrado ser muy práctica en estudios experimentales debido a su fácil mantenimiento en laboratorio, su ciclo de vida corto y su alta tasa reproductiva (Caravaca & Lei, 2016; Linford et al., 2013). Numerosas investigaciones utilizan a *Drosophila melanogaster* como modelo de estudio, incluyendo estudios sobre ecología reproductiva (Markow & O’Grady, 2008), comportamiento (Cavieres et al., 2019; Jordan et al., 2007), genética (Kristensen et al., 2019), plasticidad morfológica (Bitner-Mathé & Klaczko, 1999) y tolerancia térmica (Kellermann et al., 2017; Schou et al., 2015).



Figura 2. Fotografías de individuos adultos de *Drosophila melanogaster*. En la figura se aprecia el marcado dimorfismo sexual en esta especie, caracterizado por el tamaño de la hembra en comparación al macho y por la gran mancha oscura que este último presenta en su abdomen. Modificado de Chyb & Gombel, 2013.

1.2 Recolección, mantención y diseño experimental

Los individuos adultos de *Drosophila melanogaster* fueron recolectados en la zona central de Chile (33°26' S; 70°39' W, a 500 m.s.n.m., aproximadamente 250 individuos) mediante trampas de plátanos y levadura en un periodo de aproximadamente una semana. Luego, las moscas fueron trasladadas al laboratorio de Ecofisiología de la Pontificia Universidad Católica de Chile para su identificación taxonómica en base a rasgos morfológicos según Markow & O'Grady (2005) y el posterior establecimiento de líneas de laboratorio. Se formaron tres grupos con aproximadamente 80 moscas adultas cada uno, en cajas de acrílico de 20x15x15 cm con medio de cultivo Burdick (Burdick, 1995) y se mantuvieron en el laboratorio bajo condiciones controladas de temperatura y fotoperiodo ($21 \pm 0.1^\circ\text{C}$ y LD = 16:8) durante tres generaciones (Figura 3A). Para mantener un régimen de generación discreto, se permitió la ovoposición de los individuos en placas de Petri con medio de cultivo durante 24 h. Trascurrido este tiempo, los huevos de las placas de Petri fueron divididos en secciones y depositados en botellas de 250 ml con medio de cultivo (Figura 3B). Posteriormente, las moscas adultas que emergían de las botellas fueron transferidas a una nueva caja con placas de Petri con medio de cultivo. El tamaño de la población dentro de cada caja varió entre aproximadamente 2000 individuos adultos reproductores (Figura 3C), y se mantuvieron tres réplicas de cajas, que se agruparon en cada generación para minimizar la pérdida de variación genética debido a la deriva. Las moscas pertenecientes a la población stock fueron asignadas aleatoriamente a los tratamientos de aclimatación térmica de 21, 24, 27 y 30 °C, con un fotoperiodo 16:8 (L:O), en cámaras climáticas separadas (PITEC, Modelo BIOREF). Cada tratamiento térmico incluyó tres réplicas experimentales o cajas de mantención (C1, C2 y C3). Cuando los individuos de cada tratamiento de aclimatación y réplica alcanzaron 10 ± 2 días de edad se realizaron mediciones fenotípicas = masa corporal (*Mc*) y tolerancia al calor a través de curvas de muerte térmica (curvas TDT).

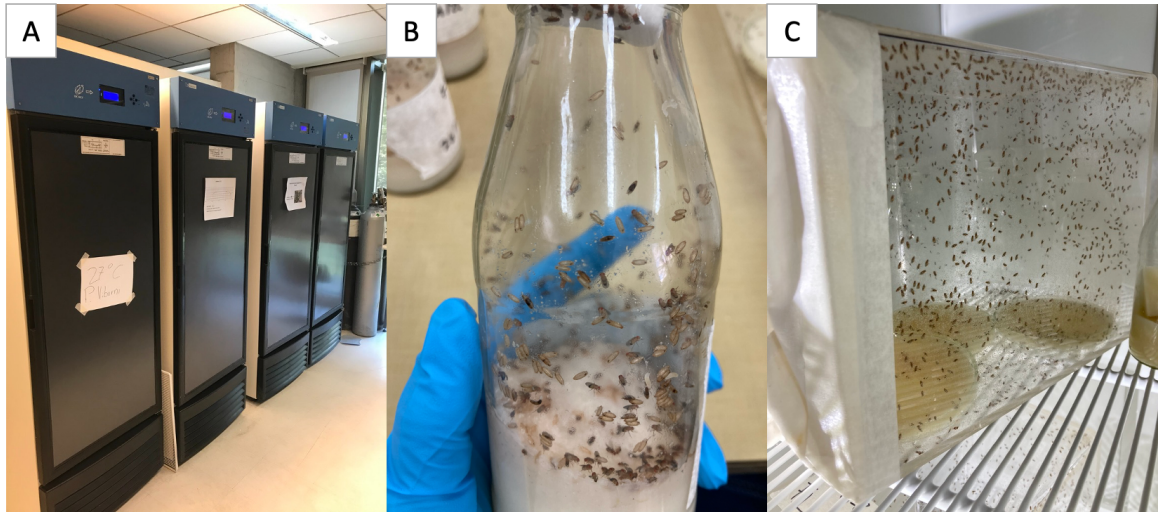


Figura 3. Mantención de *Drosophila melanogaster* en el laboratorio. A. Cámaras climáticas con control de temperatura y fotoperiodo para aclimatación térmica a 21, 24, 27 y 30 ± 0.1 °C, con un fotoperiodo de 16:8h L:O. B. Botellas de vidrio de 250 ml con medio de cultivo para mantención de moscas durante su ontogenia (huevo hasta la eclosión de adultos). C. Cajas de acrílico utilizadas para mantención de adultos recién eclosionados (N = 3 cajas para cada tratamiento térmico). Estas cajas tienen en su interior placas Petri con medio de cultivo con el fin de asegurar la alimentación y posterior oviposición de las moscas.

1.3 Mediciones fenotípicas

Masa corporal (Mc): Previo a la medición de tiempo de colapso térmico (i.e., tiempo de muerte térmica) se cuantificó la *Mc* (mg) en una micro balanza analítica con precisión 0.01mg (Bel Italia Modelo HPB-105I) .

Curva de muerte térmica (TDT thermal death time): se cuantificó la tolerancia térmica de individuos adultos de *Drosophila melanogaster* mediante la elaboración de curvas de muerte térmica (TDT) siguiendo el protocolo de Rezende et al. (2014). Para cada tratamiento térmico se construyeron curvas TDT a partir de datos de tiempo de sobrevivencia individual en un gradiente de temperaturas que van desde 36 a 40°C (N = 5 temperaturas: 36, 37, 38, 39 y 40°C). Estas mediciones se realizaron en un total de 6.000 individuos (50 individuos x 5 temperaturas de ensayo x 2 repeticiones x 3 réplicas (cajas) x 4 temperaturas de aclimatación). En cada ensayo, 50 moscas adultas previamente sexadas fueron colocadas individualmente en viales de 5 mL y expuestas a cinco temperaturas constantes en un baño termorregulado (Corio-C, Julabo) (Figura 4). Cada ensayo fue grabado con una cámara de video digital (Logitech Carl Zeiss Tessar 1080p), para luego registrar el tiempo de caída (tiempo de sobrevivencia), descrito como el momento en que el individuo pierde la capacidad locomotora y deja de moverse (cada vial se verificó individualmente).

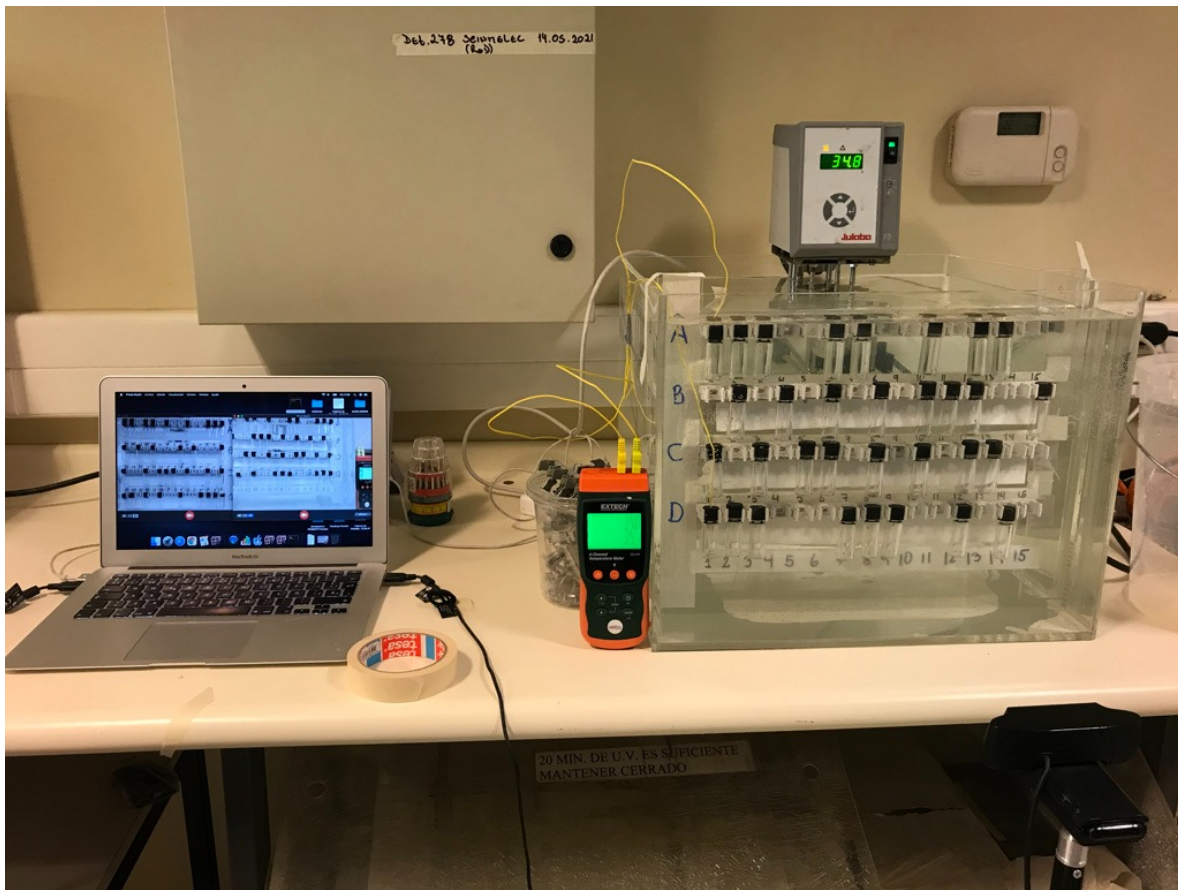


Figura 4. Configuración experimental para la medición de tiempo de colapso (i.e., tiempo de muerte térmica) en ensayos de tolerancia térmica en *Drosophila melanogaster* aclimatados a 21, 24, 27 y 30°C. Los ensayos se realizaron a 36, 37, 38, 39 y 40°C. Cada ensayo fue grabado con una cámara de video digital y los videos fueron revisados en computador para posteriormente registrar el tiempo de muerte de cada mosca.

Con los datos de tiempo de colapso (seg) obtenidos de los ensayos térmicos se construyeron curvas TDT, y se estimaron los parámetros CT_{max} y Z como sigue:

$$T_{\text{crit}} = CT_{\text{max}} - z \log_{10} t \quad (1)$$

T_{crit} corresponde a la temperatura crítica máxima (o de muerte) que cambia en función al tiempo de exposición (t). Según el modelo, CT_{max} corresponde a la temperatura que un organismo podría tolerar durante 1 minuto de exposición ($\log_{10} t = 0$, por definición, 1 minuto) y la sensibilidad térmica (Z) es la diferencia de temperatura que resulta producto de un cambio de 10 veces en el tiempo de muerte. Por ejemplo, un organismo con un CT_{max} = 42°C y un $Z = 2^\circ\text{C}$, podría tolerar un promedio de 40°C, 38°C y 36°C por 10, 100 y 1.000 minutos, respectivamente. En otras palabras, las curvas TDT explican como la tolerancia térmica varía de forma cuantificable en función de la temperatura y el tiempo de exposición.

Análisis estadísticos

Todos los análisis estadísticos se llevaron a cabo utilizando el software R versión 4.3.2 (<http://www.R-project.org/>).

El primer paso en el análisis estadístico consistió en evaluar la distribución de datos para explorar la relación entre la media y la varianza para cada variable utilizando el paquete *fitdistrplus*. Para evaluar potenciales cambios en *Mc* entre tratamientos de aclimatación y sexos se emplearon modelos lineales mixtos (LMM) utilizando *Tacl* y *Sex* como efectos fijos y la réplica experimental (*caja*) como efecto aleatorio con el paquete *lme4*. Para determinar el efecto de las variables predictoras *Tacl*, *Mc*, *Sex* y *Tens* sobre el tiempo de sobrevivencia ($\log_{10} t$) se evaluaron seis modelos que incluyeron las variables predictoras como efectos fijos y la réplica experimental (*caja*) y la repetición del ensayo (*rep*) como efectos aleatorios (Tabla 1). Utilizando el paquete *MuMIn* se realizó una selección del modelo basada en el criterio de información de Akaike (AIC), incluyendo los valores de delta AIC (ΔAIC) y los pesos de Akaike (W_i) para determinar qué modelo se ajusta mejor a los datos y cuantificar la probabilidad de cada modelo en comparación con los demás. Se aplicó un test de ANOVA al modelo seleccionado como el mejor.

Las curvas de muerte térmica (TDT) se elaboraron mediante regresiones lineales entre las temperaturas de ensayo y el tiempo de muerte en escala logarítmica ($\log_{10}$). De cada curva TDT se estimaron los parámetros de tolerancia térmica CTmax (temperatura crítica máxima) y Z (sensibilidad térmica), utilizando la fórmula previamente explicada (ecuación 1), en base al modelo lineal mixto seleccionado. Adicionalmente, se elaboraron curvas de supervivencia para cada temperatura de aclimatación en función de los desafíos térmicos. Estas curvas muestran cómo cambia la probabilidad de supervivencia durante un tiempo determinado (Rezende et al., 2020). Para evaluar una potencial asociación entre los parámetros CTmax y Z se realizó una regresión lineal.

Tabla 1. Modelos candidatos (LMMs) para evaluar el efecto de las variables las predictoras sexo (*Sex*), masa corporal (*Mc*), temperatura de ensayo (*Tens*), y temperatura de aclimatación (*Tacl*) sobre el tiempo de sobrevivencia (*Log10t*) de *Drosophila melanogaster* en ensayos de tolerancia al calor. Las variables caja (*caja*) y réplica (*rep*) se evaluaron como efectos aleatorios en los modelos.

Variable respuesta	Efectos Fijos	Efectos aleatorios
<i>Log₁₀t</i> ~	<i>Sex + Mc + Tens + Tacl</i>	<i>caja + rep</i>
	<i>Sex + Mc + Tens</i>	<i>caja + rep</i>
	<i>Sex + Mc</i>	<i>caja + rep</i>
	<i>Sex + (Mc + Tens + Tacl)²</i>	<i>caja + rep</i>
	<i>Sex + (Mc + Tens)²</i>	<i>caja + rep</i>
	<i>Sex + (Mc + Tacl)²</i>	<i>caja + rep</i>

RESULTADOS

Efectos de la temperatura sobre la masa corporal

El modelo empleado mostró la masa corporal (Mc) se vio fuertemente afectada por la temperatura de aclimatación ($Tacl$), encontrándose diferencias significativas entre los tratamientos de aclimatación ($F_{(3,5656)} = 527.8$, $p < 0.001$) (Figura 5A), sexo ($F_{(1,5654)} = 5200$, $p < 0.001$), e interacción entre las variables ($F_{(3,5656)} = 73.2$, $p < 0.001$) (Figura 5B). En general, la aclimatación a altas temperaturas generó un incremento de masa corporal en los organismos, observándose que individuos aclimatados a 30°C incrementaron su masa corporal en un 9%, 19% y 24% en comparación con los individuos aclimatados a 27, 24, y 21°C, respectivamente.

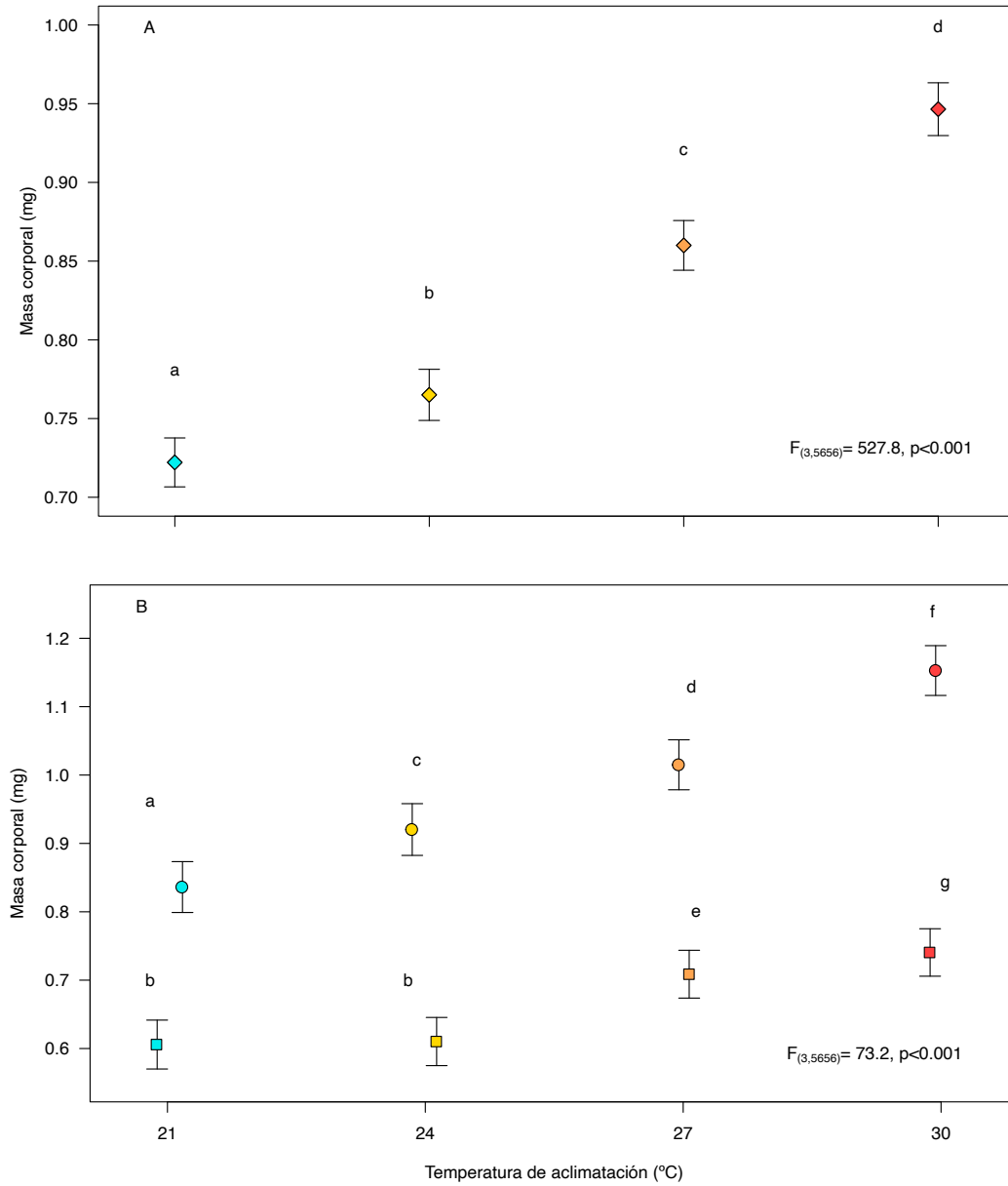


Figura 5. Masa corporal de individuos adultos de *Drosophila melanogaster* aclimatados durante la ontogenia a distintas temperaturas 21°C (celeste), 24°C (amarillo), 27°C (naranja), y 30°C (rojo). El panel A muestra la variación en masa entre los tratamientos de aclimatación, y el panel B muestra los datos separados por sexo para cada temperatura. Los datos se muestran como promedio $\pm$ desviación estándar. En cada panel se indican los resultados del test de ANOVA, y las diferentes letras representan diferencias significativas entre grupos luego de realizado el test de comparaciones múltiples de Tukey.

Selección del modelo

El modelo seleccionado de acuerdo con el criterio de Akaike (AIC) mostró que las variables sexo (*Sex*), masa corporal (*Mc*), temperatura del ensayo térmico (*Tens*) y temperatura del tratamiento (*Tacl*) influyen sobre el tiempo de sobrevivencia ($\text{Log}_{10} t$) de *Drosophila melanogaster* (Tabla 2).

Tabla 2. Clasificación AIC y pesos de los modelos candidatos que describen el efecto del sexo (*Sex*), masa corporal (*Mc*), temperatura del ensayo térmico (*Tens*) y temperatura de aclimatación (*Tacl*) sobre el tiempo de colapso térmico ($\text{Log}_{10} t$) de *Drosophila melanogaster*. La selección del modelo incluye la comparación entre modelos que consideran efectos aditivos (+) e interactivos (²) de los predictores. La tabla muestra el número de parámetros estimados (K), la diferencia en AIC entre los modelos (ΔAIC), su verosimilitud relativa y pesos (W_i). El modelo con mejor ajuste se muestra en negrita.

Variable respuesta	Variables predictoras	K	AIC	ΔAIC	W_i
$\text{Log}_{10} t \sim$	<i>Sex + Mc + Tens + Tacl</i>	13	-1096.9	252.87	1.23×10^{-55}
	<i>Sex + Mc + Tens</i>	10	-408.6	941.09	4.42×10^{-205}
	<i>Sex + Mc</i>	6	6,553.6	7,03.39	0×10^0
	<i>Sex + (Mc + Tens + Tacl)²</i>	32	-1,349.7	0.0	1×10^0
	<i>Sex + (Mc + Tens)²</i>	14	-450.9	898.87	6.50×10^{-196}
	<i>Sex + (Mc + Tens)²</i>	12	6,298.2	7,647.99	0×10^0

Tabla 3. ANOVA del mejor modelo candidato (Tabla 2) que describe los efectos del sexo (*Sex*), masa corporal (*Mc*), temperatura del ensayo térmico (*Tens*) y temperatura de aclimatación (*Tacl*) sobre el tiempo de colapso térmico ($\text{Log}_{10} t$) de *Drosophila melanogaster*. Efectos significativos ($p < 0.05$) se indican con negrita.

Variable	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	gl	gl (denominador)	F	p
<i>Sex</i>	0.24	0.24	1	5609.0	5.40	0.020
<i>Mc</i>	2.03	2.03	1	5486.0	45.80	<0.001
<i>Tens</i>	33.17	8.29	4	5634.0	187.11	<0.001
<i>Tacl</i>	5.50	1.83	3	5631.8	41.38	<0.001
<i>Mc : Tens</i>	3.72	0.93	4	5633.2	20.98	<0.001
<i>Mc : Tacl</i>	1.13	0.38	3	5631.4	8.51	0.001
<i>Tens : Tacl</i>	12.69	1.06	12	5632.4	23.87	<0.001

Los resultados del ANOVA indicaron que el tiempo de sobrevivencia ($\log_{10} t$) fue significativamente mayor en hembras que en machos (Tabla 3). En promedio, las hembras sobrevivieron ocho minutos más que los machos en los desafíos térmicos. La *Mc* también afectó significativamente al $\log_{10} t$, moscas más grandes incrementaron su sobrevivencia, principalmente en ensayos térmicos de 36 y 37°C. Sin embargo, tanto individuos pequeños como grandes no presentaron diferencias significativas frente a temperaturas más extremas (38, 39 y 40°C) (Tabla 1 Material Suplementario). Por otro lado, el $\log_{10} t$ se vio afectado por *Tens* ($F_{4,5634} = 187.1$, $p < 0.001$). Quedó en evidencia que a medida que aumentaba la temperatura del desafío térmico, el tiempo de sobrevivencia decaía (Figura 6). En promedio, las moscas fueron capaces de tolerar 1,4 horas a 36°C, 43 minutos a 37°C, 27 minutos a 38°C, 14 minutos a 39°C y 8 minutos a 40°C.

La *Tacl* impactó significativamente el $\log_{10} t$, los individuos aclimatados a temperaturas más altas presentaron un aumento en el tiempo de sobrevivencia. Los individuos provenientes de 30°C incrementaron su $\log_{10} t$ en un 7,11 y 18% en comparación con sus contrapartes a 27, 24 y 21°C (Figuras 6 y 7). Los resultados obtenidos revelaron que la sobrevivencia se vio afectada por la interacción entre *Tens* y *Tacl*, esto se observa claramente en la figura 7, en donde individuos aclimatados a altas temperaturas sobreviven por más tiempo, pero a temperaturas más extremas $\log_{10} t$ disminuye rápidamente.

Curvas de muerte térmica (TDT curves) y parámetros de tolerancia al calor

Las curvas de probabilidad de sobrevivencia revelaron que la sobrevivencia de los organismos se ve afectada tanto por la temperatura de aclimatación (*Tacl*) como por la temperatura del ensayo térmico (*Tens*) (Figura 6). El análisis visual sugiere que los individuos aclimatados a altas temperaturas sobreviven por más tiempo a temperaturas estresantes en comparación con sus contrapartes aclimatados a temperaturas más bajas, sin embargo, la sobrevivencia de los organismos decae a medida que aumenta *Tens*, resultando en curvas pronunciadas en temperaturas más extremas. Estos resultados también se reflejan en las curvas de muerte térmica (TDT) (Figura 7). El análisis de las curvas TDT demostró que *Tacl* y *Tens* influyen significativamente en el tiempo de sobrevivencia ($\log_{10} t$) de *Drosophila melanogaster* ($R^2 = 0.75$, $F_{(19,5644)} = 910.8$, $p < 0.01$). Se observó que la aclimatación a altas temperaturas permitió a los organismos resistir por más tiempo la exposición a temperaturas desafiantes.

La estimación de los parámetros de tolerancia térmica CTmax y Z, obtenidos a partir de las curvas TDT, reveló diferencias entre los tratamientos. Los valores de CTmax variaron entre 42.4°C y 44.8°C, mientras que Z mostró valores entre 3.1°C y 4.6°C. Específicamente, los organismos aclimatados a 30°C evidenciaron mayores valores de CTmax y Z en comparación con los tratamientos de 21, 24 y 27°C (Figura 8). Estos resultados indican que las moscas aclimatadas a altas temperaturas exhiben una mayor tolerancia al calor, sin embargo, esta capacidad disminuye a medida que se enfrentan a temperaturas más desafiantes.

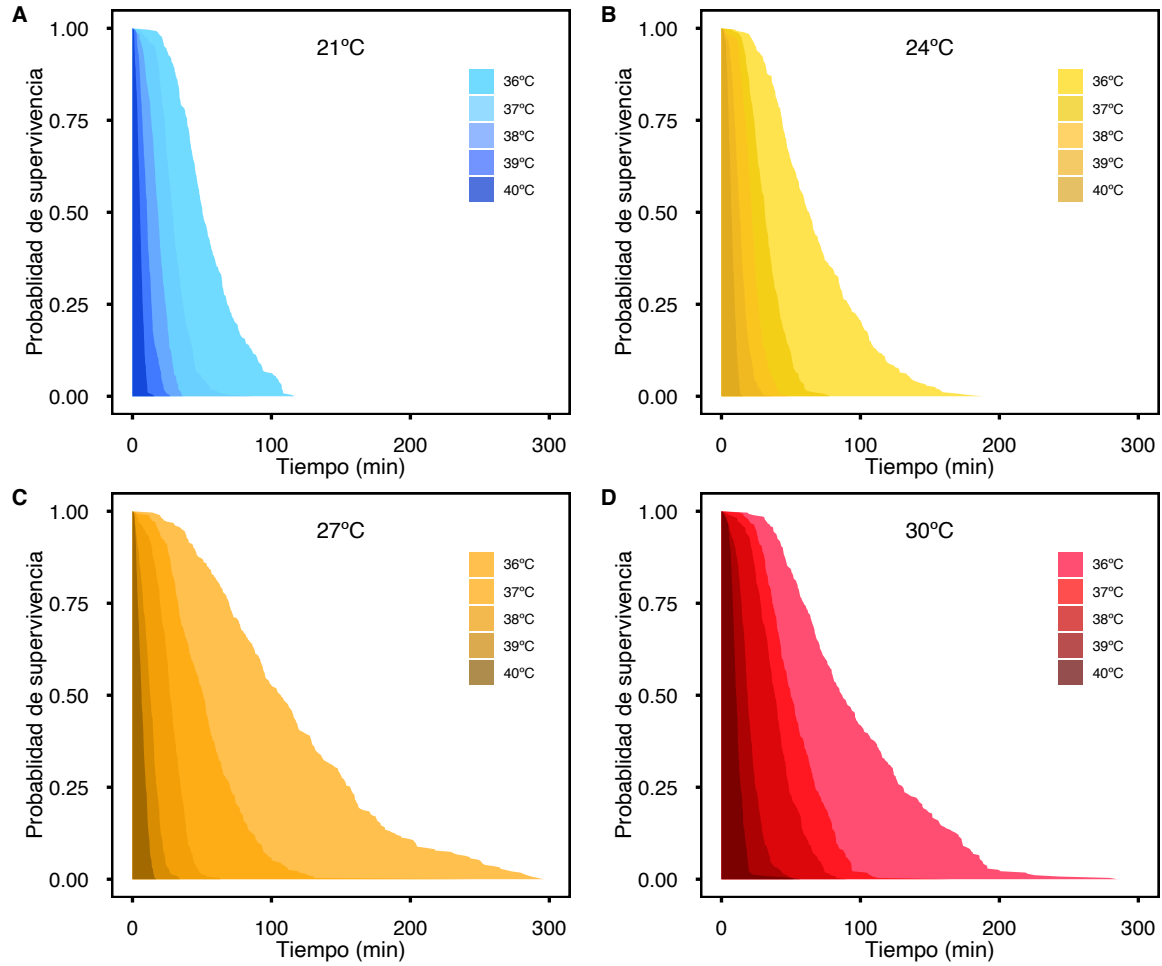


Figura 6. Curvas de supervivencia obtenidas a diferentes temperaturas para individuos adultos de *Drosophila melanogaster* aclimatados a 21 (A), 24 (B), 27 (C), y 30°C (D), y sometidos a diferentes temperaturas de ensayos térmicos (36, 37, 38, 39 y 40°C). N = 5664 individuos.

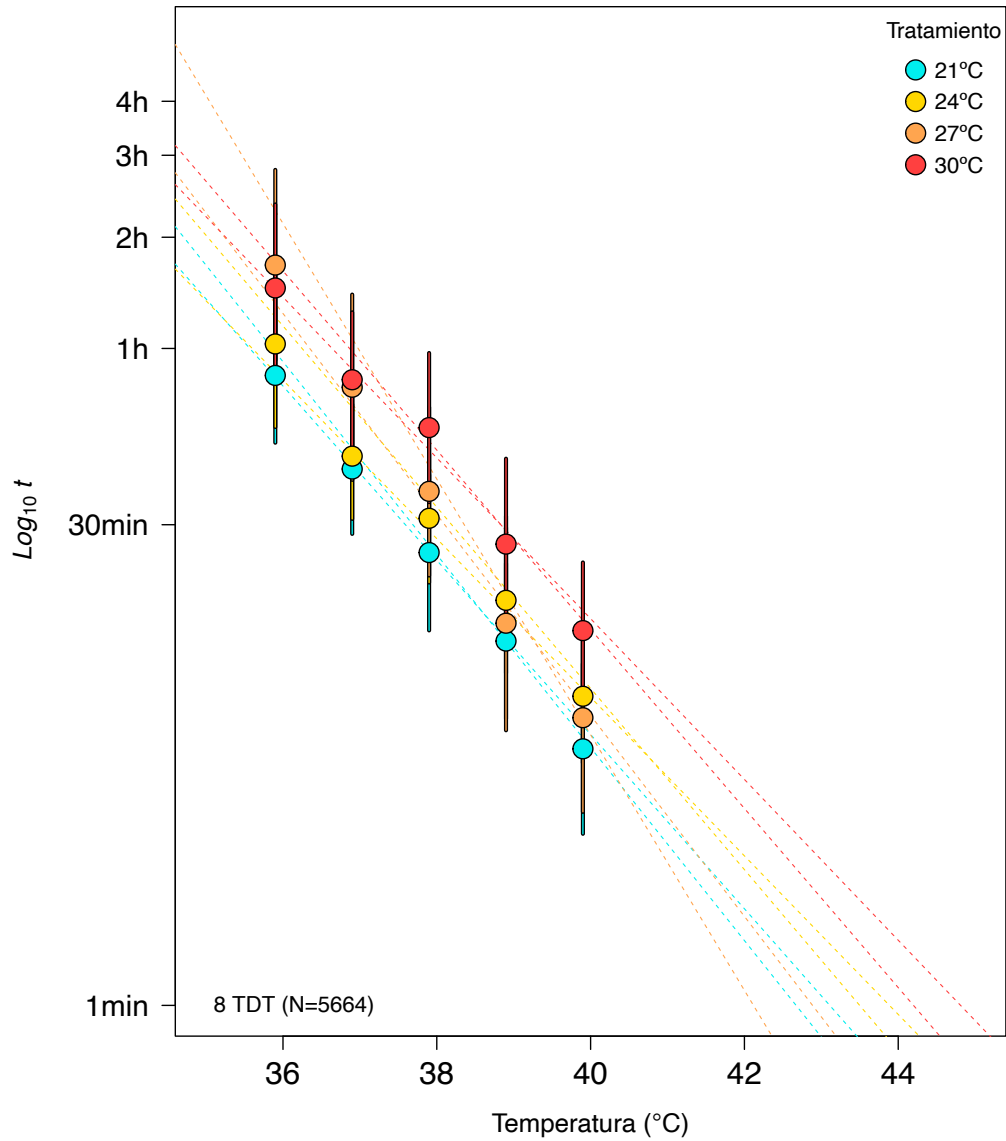


Figura 7. Curva de muerte térmica (TDT) basada en el mejor modelo candidato estimada para de individuos adultos de *Drosophila melanogaster* aclimatados a cuatro temperaturas. En el eje X se muestran las temperaturas de los ensayos térmicos y su proyección de CTmax y en el eje Y se muestra el tiempo de sobrevivencia transformado a minutos. Los círculos representan el promedio para cada ensayo térmico y los intervalos corresponden a la desviación estándar. Las líneas punteadas corresponden a machos y hembras de cada tratamiento térmico.

El análisis de regresión lineal entre CTmax (°C) y Z (°C) reveló la existencia de una asociación positiva y significativa entre las variables ($R^2 = 0.69$, $F_{(1,6)} = 13.6$, $p = 0.01$, Figura 8), donde el 69% de la variación en CTmax es explicada por la variación en Z.

Para la estimación de CTmax y Z se empleó un tamaño muestral de 5.664 individuos que permitieron la obtención de dos valores de cada coeficiente (uno para hembras y otro para machos) por cada *Tacl*. Aun así, y entendiendo las limitaciones de esta comparación, realizamos una comparación (lm) de estos coeficientes entre tratamientos (Tabla 4). Los resultados revelaron cambios en CTmax y Z entre las distintas *Tacl* (CTmax: $F_{(3,4)} = 27.5$, $p = 0.004$; Z: $F_{(3,4)} = 7.6$, $p = 0.04$). Los individuos aclimatados a las temperaturas 24 y 30°C incrementaron su tolerancia al calor (CTmax y Z) en comparación con sus contrapartes a 21 y 27°C. En particular, los organismos aclimatados a 30°C incrementaron su CTmax en 1.6, 0.8 y 2°C en comparación con aquellos aclimatados a 21, 24 y 27°C, respectivamente.

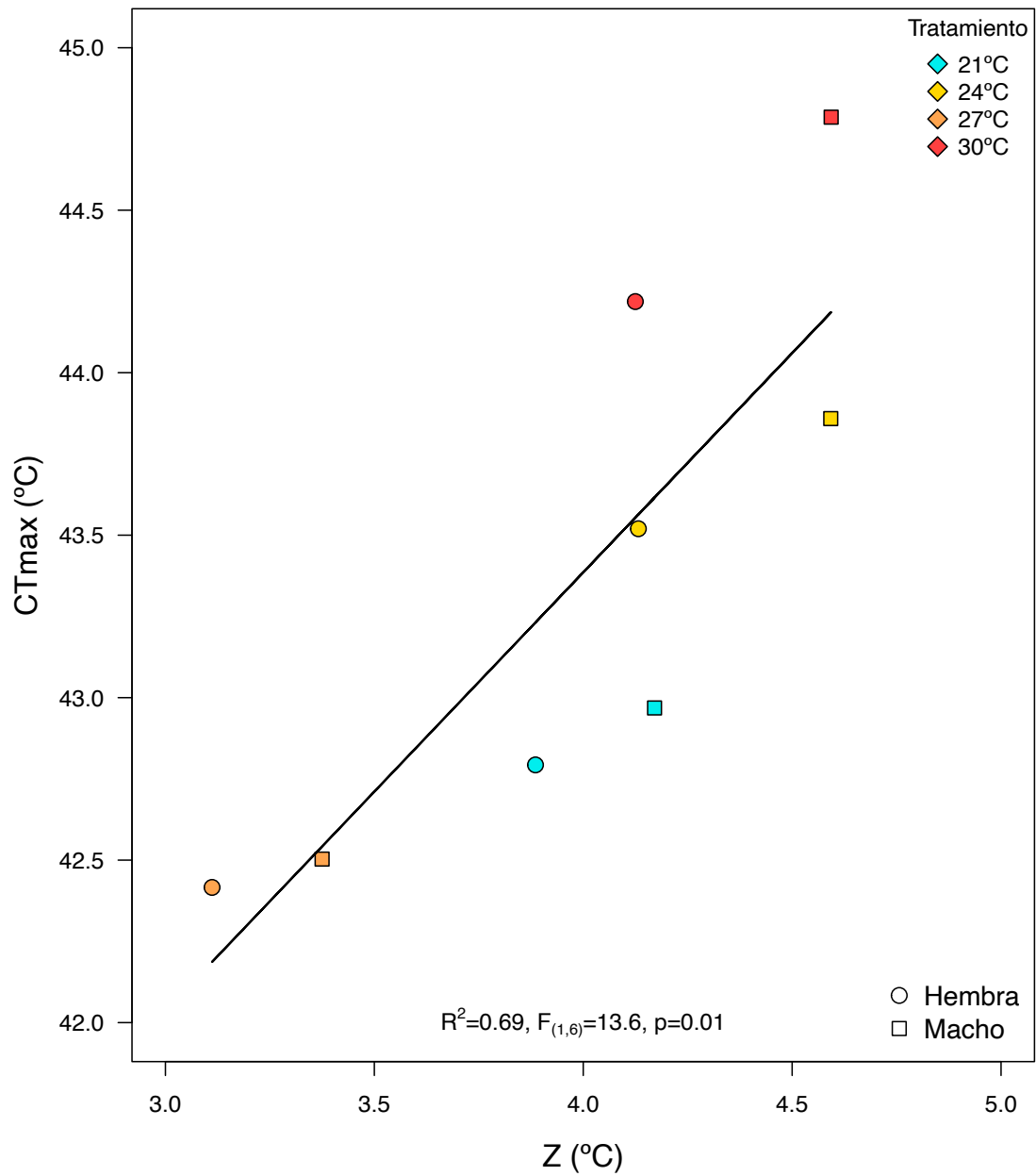


Figura 8. Relación entre coeficientes de curva TDT obtenidos del mejor modelo candidato (Tabla 2). El color indica el valor de los coeficientes para cada tratamiento de aclimatación y la forma indica los valores por sexo. Se muestran los resultados del test ANOVA de la regresión entre coeficientes.

Tabla 4. Coeficientes de curva de muerte térmica (TDT) de *Drosophila melanogaster* aclimatadas a cuatro temperaturas diferentes durante la ontogenia (huevo-adulto). Diferentes letras representan diferencias significativas entre tratamientos de aclimatación luego del test de comparaciones múltiples de Tukey. Los datos se muestran como promedio $\pm$ desviación estándar.

Coeficientes	Temperatura de Aclimatación			
	21°C	24°C	27°C	30°C
CTmax (°C)	42.9 $\pm$ 0.1 ^{ab}	43.7 $\pm$ 0.2 ^{ac}	42.5 $\pm$ 0.06 ^b	44.5 $\pm$ 0.4 ^c
Z (°C)	4.0 $\pm$ 0.2 ^{ab}	4.4 $\pm$ 0.3 ^b	3.2 $\pm$ 0.2 ^a	4.4 $\pm$ 0.3 ^b

DISCUSIÓN

El presente estudio analizó el impacto de la temperatura sobre la sensibilidad térmica de *Drosophila melanogaster*. Los resultados obtenidos demostraron que la temperatura de aclimatación afectó significativamente la tolerancia al calor a través de la sobrevivencia, CTmax, y Z, así como a la masa corporal de los individuos. El incremento en la temperatura de aclimatación generó que los individuos aclimatados a altas temperaturas aumentaran significativamente la masa corporal en comparación con aquellos aclimatados a temperaturas más bajas. La exposición a ambientes térmicos estresantes generó un incremento en el tiempo de sobrevivencia ($\log_{10} t$) de *Drosophila melanogaster*, permitiendo que las moscas aclimatadas a altas temperaturas resistieran por más tiempo la exposición a temperaturas extremas. Además, se observó que el sexo y la masa corporal influyeron significativamente en la sobrevivencia de las moscas. Quedó en evidencia que los individuos aclimatados a temperaturas más altas presentaron una mayor tolerancia al calor, reflejada por un aumento en los valores de CTmax y Z, lo que sugiere que la exposición a temperaturas desafiantes genera adaptaciones fisiológicas que mejoran la resistencia a temperaturas críticas. Sin embargo, el análisis de regresión lineal mostró que existe un compromiso entre CTmax y Z; en otras palabras, un aumento en la susceptibilidad térmica (Z) indica que aunque los organismos puedan tolerar temperaturas más altas, lo hacen en desmedro del tiempo de exposición.

Nuestros análisis indican que el incremento de temperatura afecta significativamente la masa corporal de *Drosophila melanogaster*. Contrario a nuestras predicciones, observamos que las moscas aclimatadas a temperaturas más altas aumentaron su masa corporal (Figura 5). Estos resultados se contraponen con hallazgos previos de otros investigadores que sugieren que la exposición a temperaturas cálidas resulta en individuos de menor tamaño (Crill et al., 1996; French et al., 1998; Kingsolver & Huey, 2008). Adicionalmente, se ha propuesto que los organismos estarían disminuyendo su tamaño corporal en respuesta al incremento de temperatura (Kingsolver & Huey, 2008; Sheridan & Bickford, 2011; Xi et al., 2016; Yom-

Tov & Geffen, 2006). Por ejemplo, Riemer et al. (2018) realizaron un estudio en donde incluyeron 640 individuos de distintos taxa, demostrando que el 79% de ellos redujo significativamente su tamaño corporal frente a un aumento de temperatura. Es importante mencionar que la masa corporal puede variar en función de factores como la limitación de oxígeno (Callier & Nijhout, 2014; Hoefnagel & Verberk, 2015), la disponibilidad de alimento (Chown & Gaston, 2010; Jonsson et al., 2013), la distribución geográfica (Freeman et al., 2018; Verheyen & Stoks, 2019) e incluso puede llegar a variar entre ectotermos acuáticos y terrestres (Deutsch et al., 2022; Forster et al., 2012; Herrera et al., 2023). No obstante, estos factores no fueron considerados en este estudio.

Encontramos que el sexo y la masa corporal influyeron significativamente en el tiempo de sobrevivencia ($\log_{10} t$) de *Drosophila melanogaster*. Las hembras presentaron mayor masa corporal que los machos y el incremento de masa corporal se asoció con un mayor tiempo de sobrevivencia frente a temperaturas estresantes. En concordancia con estos hallazgos, diversos estudios han señalado que las hembras son más susceptibles que los machos a fluctuaciones térmicas (Andersen et al., 2006; Dahlgaard et al., 1998; Lansing & Loeschcke, 2000), pero también presentan una mayor capacidad adaptativa frente a ambientes cambiantes (Jin et al., 2020). Si bien se requieren más estudios que consideren estas distinciones entre sexos, estas podrían estar relacionadas con la producción diferenciada de proteínas de *shock* térmico (HSPs) (Chang et al., 2019; Kang et al., 2017) y con la capacidad reproductiva (Hoffmann et al., 2003; Loeschcke et al. 1997). En cuanto a la masa corporal, Peralta-Maraver & Rezende (2021) demostraron que existe una relación entre la masa corporal y la tolerancia al calor, reportando que los animales más grandes pueden tolerar temperaturas menos extremas durante periodos más prolongados. Otros estudios han evidenciado que los organismos con mayor masa corporal, en general, resisten mejor el estrés térmico (Loeschcke et al., 1994), lo que les permite incrementar su tolerancia al calor (Klockmann et al., 2017).

La exposición a temperaturas extremas afectó negativamente el tiempo de sobrevivencia ($\log_{10} t$, Figura 6 y 7). Esto podría estar relacionado con el hecho de que la exposición prolongada a temperaturas extremas acelera la acumulación de daño celular y molecular,

aumentando la sensibilidad térmica de los organismos (Jørgensen et al., 2021; Ørsted et al., 2022). Varios estudios han planteado que el daño térmico podría estar asociado con la desnaturalización de proteínas (Hofmann & Somero, 1996), el incremento de estrés oxidativo en la célula (Ritchie & Friesen, 2022), cambios en la composición de la membrana plasmática (Crockett, 1998) y la limitación de oxígeno durante la respiración mitocondrial (Sokolova, 2023).

La plasticidad fenotípica o aclimatación a altas temperaturas permitió a los organismos aumentar su sobrevivencia ante desafíos térmicos extremos, incrementando su tolerancia a altas temperaturas (Figura 7). En promedio, las moscas aclimatadas a 21 y 24°C sobrevivieron 19 y 22 minutos, respectivamente, en el ensayo térmico a 38°C, mientras que aquellas aclimatadas a 27 y 30°C sobrevivieron 27 y 40 minutos, respectivamente, a la misma temperatura de ensayo. Resultados similares fueron obtenidos por Krebs & Loeschcke (1994), quienes demostraron que individuos adultos de *Drosophila melanogaster* aclimatados a temperaturas estresantes (37°C) sobrevivieron por más tiempo la exposición ante un estrés térmico más severo (39°C) en comparación con aquellos que se desarrollaron en ambientes cercanos a su temperatura óptima. Un estudio realizado en la *Bicyclus anynana* demostró que la temperatura de aclimatación tiene efectos positivos en la sobrevivencia, indicando que los animales aclimatados a altas temperaturas son capaces de tolerar temperaturas estresantes durante periodos más largos (Klockmann et al., 2017). Se ha descrito que los organismos son capaces de generar respuestas bioquímicas, fisiológicas y conductuales frente a factores de estrés térmico mediante diversas estrategias, como sistemas complejos de termorreceptores que impulsan mecanismos de termorregulación (Barbagallo & Garrity, 2015). Además, la producción de compuestos antioxidantes (i.e. prolina, ácido ascórbico, glutatión, entre otras) podría contrarrestar la acumulación de especies reactivas de oxígeno (ROS) en la mitocondria producto del estrés oxidativo (Bodlah et al., 2023). Por ejemplo, Jena et al. (2013), revelaron que las pupas de *Antheraea mylitta* (Lepidoptera) incrementaron los niveles de antioxidantes en respuesta a la exposición a temperaturas estresantes. Otros estudios han reportado que la capacidad de la mitocondria podría estar relacionada con los límites térmicos; en otras palabras, los organismos que experimentan daño mitocondrial a altas temperaturas exhiben una mayor tolerancia al calor (CT_{max}) en

comparación con aquellos que experimentan estos daños a temperaturas más bajas (Chung et al., 2018; Fangué et al., 2009). Otra respuesta ampliamente estudiada es la expresión de moléculas chaperonas y proteínas de *shock* térmico (HSPs), las cuales son responsables de proteger a las células y otras proteínas frente a posibles daños moleculares (Colinet et al., 2010; Horowitz, 2001). Se ha reportado que estos animales inducen la producción de estas proteínas (HSPs), lo que genera un incremento en la tolerancia térmica en respuesta al estrés térmico (Colinet et al., 2015; Dong et al., 2008; Tomanek, 2010).

El análisis de regresión lineal demostró que existe una asociación significativa y positiva entre CT_{max} y Z (Figura 8). Esto indica que los organismos que presentan una mayor tolerancia al calor también evidencian una mayor sensibilidad térmica (Z), lo que revela un compromiso entre estas variables. Los individuos capaces de tolerar temperaturas más altas solo pueden mantener esta capacidad por cortos períodos de tiempo. Tal como se esperaba, los organismos aclimatados a altas temperaturas mostraron valores más altos de CT_{max} y Z, incrementando su tolerancia térmica a temperaturas estresantes (Tabla 4). Estos resultados concuerdan con los encontrados por Rezende et al. (2014), quienes sugieren que las especies con un mayor CT_{max} también presentan un mayor Z, lo que demuestra que la capacidad de tolerar temperaturas extremas se encuentra encapsulada en CT_{max} y no puede ser mantenida por períodos prolongados. Por otra parte, Castañeda et al. (2015), indican que estos hallazgos implican que los organismos con un CT_{max} alto serían más susceptibles a temperaturas menos estresantes durante largos períodos de exposición, sugiriendo que existe un compromiso o *trade off* entre la tolerancia al calor y la sensibilidad térmica a altas temperaturas. Estudios similares que evaluaron la tolerancia al calor de organismos aclimatados a ambientes térmicos variables revelaron que existe un compromiso entre CT_{max} y la capacidad de aclimatación a altas temperaturas (Kellermann et al., 2017; Molina et al., 2023).

CONCLUSIÓN

Los resultados de este estudio respaldan la hipótesis de que la exposición a ambientes térmicos desafiantes induce ajustes morfológicos y fisiológicos en *Drosophila melanogaster*. Se encontró que el sexo, la masa corporal, la temperatura de aclimatación y el estrés térmico influyen significativamente en la sobrevivencia de esta especie. Los resultados revelaron que la aclimatación a altas temperaturas permitió a los individuos incrementar la tolerancia al calor (CT_{max}), aunque también aumentó la sensibilidad térmica (Z) frente a temperaturas más extremas. Estos hallazgos tienen implicaciones importantes en el contexto del cambio climático, ya que sugieren que algunas poblaciones de *Drosophila melanogaster* podrían tener la capacidad de adaptarse a temperaturas más altas, pero podrían ser más vulnerables frente a eventos climáticos extremos.

En conclusión, este estudio proporciona evidencia de la capacidad plástica de *Drosophila melanogaster* en respuesta al estrés térmico. Los resultados obtenidos contribuyen a la comprensión de la capacidad plástica de los organismos ectotermos frente al cambio climático, destacando la importancia de considerar los costos asociados a estas respuestas plásticas. Asimismo, es fundamental que estudios futuros incorporen aspectos moleculares, genéticos, fisiológicos y relacionados a componentes del fitness. Aunque estos resultados ofrecen una visión de cómo la temperatura afecta al organismo, es crucial investigar el significado evolutivo de los cambios y los mecanismos que permiten al animal modificar su biología.

BIBLIOGRAFÍA

- Alruiz, J. M., Peralta-Maraver, I., Bozinovic, F., Santos, M., & Rezende, E. L. (2022). Thermal tolerance in *Drosophila*: Repercussions for distribution, community coexistence and responses to climate change. *Journal of Animal Ecology*, 91(3), 655–667. <https://doi.org/10.1111/1365-2656.13653>
- Andersen, J. P., Schwartz, A., Gramsbergen, J. B., & Loeschcke, V. (2006). Dopamine levels in the mosquito *Aedes aegypti* during adult development, following blood feeding and in response to heat stress. *Journal of Insect Physiology*, 52(11–12), 1163–1170. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2006.08.004>
- Barbagallo, B., & Garrity, P. A. (2015). Temperature sensation in *Drosophila*. In *Current Opinion in Neurobiology* (Vol. 34, pp. 8–13). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2015.01.002>
- Bitner-Mathé, B. C., & Klaczko, L. B. (1999). Plasticity of *Drosophila melanogaster* wing morphology: effects of sex, temperature and density. In *Genetica* (Vol. 105).
- Blanckenhorn, W. U., Gautier, R., Nick, M., Puniamoorthy, N., & Schäfer, M. A. (2014). Stage- and sex-specific heat tolerance in the yellow dung fly *Scathophaga stercoraria*. *Journal of Thermal Biology*, 46, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2014.09.007>
- Bodlah, M. A., Iqbal, J., Ashiq, A., Bodlah, I., Jiang, S., Mudassir, M. A., Rasheed, M. T., & Fareen, A. G. E. (2023). Insect behavioral restraint and adaptation strategies under heat stress: An inclusive review. In *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences* (Vol. 22, Number 6, pp. 327–350). King Saud University. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2023.02.004>
- Boersma, N., Boardman, L., Gilbert, M., & Terblanche, J. S. (2018). Sex-dependent thermal history influences cold tolerance, longevity and fecundity in false codling moth

- Thaumatotibia leucotreta (Lepidoptera: Tortricidae). *Agricultural and Forest Entomology*, 20(1), 41–50. <https://doi.org/10.1111/afe.12227>
- Bradshaw, W. E., & Holzapfel, C. M. (2009). Light, time, and the physiology of biotic response to rapid climate change in animals. In *Annual Review of Physiology* (Vol. 72, pp. 147–166). <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-021909-135837>.
- Callier, V., & Frederik Nijhout, H. (2014). Plasticity of insect body size in response to oxygen: Integrating molecular and physiological mechanisms. In *Current Opinion in Insect Science* (Vol. 1, pp. 59–65). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2014.05.007>
- Caravaca, J. M., & Lei, E. P. (2016). Maintenance of a Drosophila melanogaster population cage. *Journal of Visualized Experiments*, 2016(109). <https://doi.org/10.3791/53756>
- Castañeda, L. E., Calabria, G., Betancourt, L. A., Rezende, E. L., & Santos, M. (2012). Measurement error in heat tolerance assays. *Journal of Thermal Biology*, 37(6), 432–437. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2012.03.005>
- Castañeda, L. E., Rezende, E. L., & Santos, M. (2015). Heat tolerance in Drosophila subobscura along a latitudinal gradient: Contrasting patterns between plastic and genetic responses. *Evolution*, 69(10), 2721–2734. <https://doi.org/10.1111/evo.12757>
- Cavieres, G., Alruiz, J. M., Medina, N. R., Bogdanovich, J. M., & Bozinovic, F. (2019). Transgenerational and within-generation plasticity shape thermal performance curves. *Ecology and Evolution*, 9(4), 2072–2082. <https://doi.org/10.1002/ece3.4900>
- Cavieres, G., Rezende, E. L., Clavijo-Baquet, S., Alruiz, J. M., Rivera-Rebella, C., Boher, F., & Bozinovic, F. (2020). Rapid within- and transgenerational changes in thermal tolerance and fitness in variable thermal landscapes. *Ecology and Evolution*, 10(15), 8105–8113. <https://doi.org/10.1002/ece3.6496>
- Chang, Y. W., Zhang, X. X., Chen, J. Y., Lu, M. X., Gong, W. R., & Du, Y. Z. (2019). Characterization of three heat shock protein 70 genes from Liriomyza trifolii and

- expression during thermal stress and insect development. *Bulletin of Entomological Research*, 109(2), 150–159. <https://doi.org/10.1017/S0007485318000354>
- Chidawanyika, F., Nyamukondiwa, C., Strathie, L., & Fischer, K. (2017). Effects of thermal regimes, starvation and age on heat tolerance of the parthenium beetle *Zygogramma bicolorata* (Coleoptera: Chrysomelidae) following dynamic and static protocols. *PLoS ONE*, 12(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169371>
- Chown, S. L., & Gaston, K. J. (2010). Body size variation in insects: A macroecological perspective. *Biological Reviews*, 85(1), 139–169. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.2009.00097.x>
- Chung, D. J., Sparagna, G. C., Chicco, A. J., & Schulte, P. M. (2018). Patterns of mitochondrial membrane remodeling parallel functional adaptations to thermal stress. *Journal of Experimental Biology*, 221(7). <https://doi.org/10.1242/jeb.174458>
- Chyb, S., & Gompel, N. (2013). *Drosophila Morphology Wild-type and classical mutants Atlas of*. www.elsevierdirect.com/rights
- Colinet, H., Lee, S. F., & Hoffmann, A. (2010). Temporal expression of heat shock genes during cold stress and recovery from chill coma in adult *Drosophila melanogaster*. *FEBS Journal*, 277(1), 174–185. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2009.07470.x>
- Colinet, H., Sinclair, B. J., Vernon, P., & Renault, D. (2015). Insects in fluctuating thermal environments. In *Annual Review of Entomology* (Vol. 60, pp. 123–140). Annual Reviews Inc. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-010814-021017>
- Cooper, B. S., Williams, B. H., & Angilletta, M. J. (2008). Unifying indices of heat tolerance in ectotherms. *Journal of Thermal Biology*, 33(6), 320–323. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2008.04.001>
- Crill, W. D., Huey, R. B., & Gilchrist, G. W. (1996). Within-and Between-Generation Effects of Temperature on the Morphology and Physiology of *Drosophila melanogaster*. In

Source: *Evolution* (Vol. 50, Number 3).
<http://www.jstor.org/URL:http://www.jstor.org/stable/2410661>

Crockett, E. L. (1998). *Cholesterol Function in Plasma Membranes from Ectotherms: Membrane-Specific Roles in Adaptation to Temperature I* (Vol. 38).
<https://academic.oup.com/icb/article/38/2/291/213831>

Dahlgaard, J., Loeschcke, V., Michalak, P., & Justesen, J. (1998). Induced thermotolerance and associated expression of the heat-shock protein Hsp70 in adult *Drosophila melanogaster*. *Functional Ecology*, 12(5), 786–793. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2435.1998.00246.x>

Deutsch, C., Penn, J. L., Verberk, W. C. E. P., Inomura, K., Endress, M.-G., & Payne, J. L. (2022). *Impact of warming on aquatic body sizes explained by metabolic scaling from microbes to macrofauna*. <https://doi.org/10.1073/pnas>

Dong, Y., Miller, L. P., Sanders, J. G., Somero, G. N., Dong1, Y., Miller1, L. P., Sanders1, J. G., & Somero1, G. N. (2008). Heat-Shock Protein 70 (Hsp70) Expression in Four Limpets of the Genus *Lottia*: Interspecific Variation in Constitutive and Inducible Synthesis Correlates with in situ Exposure to Heat Heat-Shock Protein 70 (Hsp70) Expression in Four Limpets of the Genus *Lottia*: Interspecific Variation in Constitutive and Inducible Synthesis Correlates With in situ Exposure to Heat Stress. In Source: *Biological Bulletin* (Vol. 215, Number 2).

Estay, S. A., Lima, M., & Bozinovic, F. (2014). The role of temperature variability on insect performance and population dynamics in a warming world. *Oikos*, 123(2), 131–140. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2013.00607.x>

Fangue, N. A., Richards, J. G., & Schulte, P. M. (2009). Do mitochondrial properties explain intraspecific variation in thermal tolerance? *Journal of Experimental Biology*, 212(4), 514–522. <https://doi.org/10.1242/jeb.024034>

Forster, J., Hirst, A. G., & Atkinson, D. (2012). Warming-induced reductions in body size are greater in aquatic than terrestrial species. *Proceedings of the National Academy of*

- Sciences of the United States of America*, 109(47), 19310–19314.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1210460109>
- Freeman, B. G., Lee-Yaw, J. A., Sunday, J. M., & Hargreaves, A. L. (2018). Expanding, shifting and shrinking: The impact of global warming on species' elevational distributions. *Global Ecology and Biogeography*, 27(11), 1268–1276.
<https://doi.org/10.1111/geb.12774>
- French, V., Feast, M., & Partridge, L. (1998). Body size and cell size in *Drosophila*: the developmental response to temperature. In *Journal of Insect Physiology* (Vol. 44).
- Gilbert, A. L., & Miles, D. B. (2017). Natural selection on thermal preference, critical thermal maxima and locomotor performance. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 284(1860). <https://doi.org/10.1098/rspb.2017.0536>
- Hayden Bofill, S. I., & Blom, M. P. K. (2024). Climate change from an ectotherm perspective: evolutionary consequences and demographic change in amphibian and reptilian populations. In *Biodiversity and Conservation* (Vol. 33, Number 3, pp. 905–927). Springer Science and Business Media B.V. <https://doi.org/10.1007/s10531-023-02772-y>
- Herrera, C. M., Núñez, A., Valverde, J., & Alonso, C. (2023). Body mass decline in a Mediterranean community of solitary bees supports the size shrinking effect of climatic warming. *Ecology*, 104(9). <https://doi.org/10.1002/ecy.4128>
- Hoefnagel, K. N., & Verberk, W. C. E. P. (2015). Is the temperature-size rule mediated by oxygen in aquatic ectotherms? *Journal of Thermal Biology*, 54, 56–65.
<https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2014.12.003>
- Hoffmann, A. A. (2010). Physiological climatic limits in *Drosophila*: Patterns and implications. *Journal of Experimental Biology*, 213(6), 870–880.
<https://doi.org/10.1242/jeb.037630>

- Hoffmann, Ary A., Sørensen, J. G., & Loeschcke, V. (2003). Adaptation of *Drosophila* to temperature extremes: Bringing together quantitative and molecular approaches. In *Journal of Thermal Biology* (Vol. 28, Number 3, pp. 175–216). Elsevier Ltd. [https://doi.org/10.1016/S0306-4565\(02\)00057-8](https://doi.org/10.1016/S0306-4565(02)00057-8)
- Hofmann, G E, & Somero, G. N. (1996). Interspecific variation in thermal denaturation of proteins in the congeneric mussels *Mytilus trossulus* and *M. galloprovincialis*: evidence from the heat-shock response and protein ubiquitination. In *Marine Biology*. Springer-Verlag.
- Hofmann, Gretchen E., & Todgham, A. E. (2009). Living in the now: Physiological mechanisms to tolerate a rapidly changing environment. In *Annual Review of Physiology* (Vol. 72, pp. 127–145). <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-021909-135900>
- Horowitz, M. (2001). Heat acclimation: phenotypic plasticity and cues to the underlying molecular mechanisms. In *Journal of Thermal Biology* (Vol. 26).
- Huey, R. B., & Stevenson, R. D. (1979). *Integrating Thermal Physiology and Ecology of Ectotherms: A Discussion of Approaches* (Vol. 19). <https://academic.oup.com/icb/article/19/1/357/174499>.
- IPCC, A. (2021). Climate Change 2021. The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Masson-Delmotte, V., P. Zhai, A. Pirani, S.L. Connors, C. Péan, S. Berger, N. Caud, Y. Chen, L. Goldfarb, M.I. Gomis, M. Huang, K. Leitzell, E. Lonnoy, J.B.R. Matthews, T.K. Maycock, T. Waterfield, O. Yelekçi, R. Yu, and B. Zhou (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, In press.
- IPCC,A.(2022). *Climate Change 2022: Impacts, Adaptation, and Vulnerability*. Contribution of Working Group II to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [H.-O. Pörtner, D.C. Roberts, M. Tignor, E.S. Poloczanska, K.

- Mintenbeck, A. Alegría, M. Craig, S. Langsdorf, S. Löschke, V. Möller, A. Okem, B. Rama (eds.)]. Cambridge University Press. In Press.
- Jena, K., Kumar Kar, P., Kausar, Z., & Babu, C. S. (2013). Effects of temperature on modulation of oxidative stress and antioxidant defenses in testes of tropical tasar silkworm *Antheraea mylitta*. *Journal of Thermal Biology*, 38(4), 199–204. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2013.02.008>
- Jin, J., Zhao, M., Wang, Y., Zhou, Z., Wan, F. H., & Guo, J. (2020). Induced Thermotolerance and Expression of Three Key Hsp Genes (Hsp70, Hsp21, and sHsp21) and Their Roles in the High Temperature Tolerance of *Agasicles hygrophila*. *Frontiers in Physiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.01593>
- Jonsson, B., Jonsson, N., & Finstad, A. G. (2013). Effects of temperature and food quality on age and size at maturity in ectotherms: An experimental test with Atlantic salmon. *Journal of Animal Ecology*, 82(1), 201–210. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2656.2012.02022.x>
- Jordan, K. W., Carbone, M. A., Yamamoto, A., Morgan, T. J., & Mackay, T. F. C. (2007). Quantitative genomics of locomotor behavior in *Drosophila melanogaster*. *Genome Biology*, 8(8). <https://doi.org/10.1186/gb-2007-8-8-r172>
- Jørgensen, L. B., Malte, H., Ørsted, M., Klahn, N. A., & Overgaard, J. (2021). A unifying model to estimate thermal tolerance limits in ectotherms across static, dynamic and fluctuating exposures to thermal stress. *Scientific Reports*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-92004-6>
- Jørgensen, L. B., Malte, H., & Overgaard, J. (2019). How to assess *Drosophila* heat tolerance: Unifying static and dynamic tolerance assays to predict heat distribution limits. *Functional Ecology*, 33(4), 629–642. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.13279>
- Kang, Z. W., Liu, F. H., Liu, X., Yu, W. B., Tan, X. L., Zhang, S. Z., Tian, H. G., & Liu, T. X. (2017). The potential coordination of the heat-shock proteins and antioxidant enzyme

- genes of *Aphidius gifuensis* in response to thermal stress. *Frontiers in Physiology*, 8(NOV). <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00976>
- Kellermann, V., van Heerwaardenf, B., & Sgrò, C. M. (2017). How important is thermal history? Evidence for lasting effects of developmental temperature on upper thermal limits in *Drosophila melanogaster*. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 284(1855). <https://doi.org/10.1098/rspb.2017.0447>
- Kingsolver, J. G., Higgins, J. K., & Augustine, K. E. (2015). Fluctuating temperatures and ectotherm growth: Distinguishing non-linear and time-dependent effects. *Journal of Experimental Biology*, 218(14), 2218–2225. <https://doi.org/10.1242/jeb.120733>
- Kingsolver, J. G., & Huey, R. B. (2008). *Size, temperature, and fitness: three rules*.
- Klockmann, M., Günter, F., & Fischer, K. (2017). Heat resistance throughout ontogeny: body size constrains thermal tolerance. *Global Change Biology*, 23(2), 686–696. <https://doi.org/10.1111/gcb.13407>
- Krebs, R. A., & Loeschcke, V. (1994). Costs and Benefits of Activation of the Heat-Shock Response in *Drosophila melanogaster*. In *Source: Functional Ecology* (Vol. 8, Number 6).
- Kristensen, T. N., Loeschcke, V., Tan, Q., Pertoldi, C., & Mengel-From, J. (2019). Sex and age specific reduction in stress resistance and mitochondrial DNA copy number in *Drosophila melanogaster*. *Scientific Reports*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-48752-7>
- Lansing, E., & Loeschcke, V. (2000). *Variation in the expression of Hsp70, the major heat-shock protein, and thermotolerance in larval and adult selection lines of Drosophila melanogaster*. www.elsevier.com/locate/jtherbio
- Leiva, F. P., Calosi, P., & Verberk, W. C. E. P. (2019). Scaling of thermal tolerance with body mass and genome size in ectotherms: A comparison between water- And air-

- breathers. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 374(1778). <https://doi.org/10.1098/rstb.2019.0035>
- Linford, N. J., Bilgir, C., Ro, J., & Pletcher, S. D. (2013). Measurement of lifespan in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Visualized Experiments*, 71. <https://doi.org/10.3791/50068>
- Liu, J., Wang, C., Desneux, N., & Lu, Y. (2021). Impact of temperature on survival rate, fecundity, and feeding behavior of two aphids, *aphis gossypii* and *acyrthosiphon gossypii*, when reared on cotton. *Insects*, 12(6). <https://doi.org/10.3390/insects12060565>
- Loeschcke, V., Krebs, R. A., & Barker, J. S. F. (1994). Genetic variation for resistance and acclimation to high temperature stress in *Drosophila buzzatii*. *Biological Journal of the Linnean Society*, 52(1), 83–92. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.1994.tb00980.x>
- Markow, T. A., & O’Grady, P. (2008). Reproductive ecology of *Drosophila*. In *Functional Ecology* (Vol. 22, Number 5, pp. 747–759). <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2008.01457.x>
- Mech, A. M., Tobin, P. C., Teskey, R. O., Rhea, J. R., & Gandhi, K. J. K. (2018). Increases in summer temperatures decrease the survival of an invasive forest insect. *Biological Invasions*, 20(2), 365–374. <https://doi.org/10.1007/s10530-017-1537-7>
- Meehl, G. A., & C. Tebaldi. 2004. More intense, more frequent, and longer lasting heat waves in the 21st century. *Science*. 305(5686):994-997.
- Molina, A. N., Pulgar, J. M., Rezende, E. L., & Carter, M. J. (2023). Heat tolerance of marine ectotherms in a warming Antarctica. *Global Change Biology*, 29(1), 179–188. <https://doi.org/10.1111/gcb.16402>
- O’Grady, P. M. (2009). *Drosophila melanogaster*. In *Encyclopedia of Insects* (pp. 301–303). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374144-8.00089-8>

- Ørsted, M., Jørgensen, L. B., & Overgaard, J. (2022). Finding the right thermal limit: a framework to reconcile ecological, physiological and methodological aspects of CT_{max} in ectotherms. In *Journal of Experimental Biology* (Vol. 225, Number 19). Company of Biologists Ltd. <https://doi.org/10.1242/jeb.244514>
- Overgaard, J., Kearney, M. R., & Hoffmann, A. A. (2014). Sensitivity to thermal extremes in Australian *Drosophila* implies similar impacts of climate change on the distribution of widespread and tropical species. *Global Change Biology*, 20(6), 1738–1750. <https://doi.org/10.1111/gcb.12521>
- Paaijmans, K. P., Heinig, R. L., Seliga, R. A., Blanford, J. I., Blanford, S., Murdock, C. C., & Thomas, M. B. (2013). Temperature variation makes ectotherms more sensitive to climate change. *Global Change Biology*, 19(8), 2373–2380. <https://doi.org/10.1111/gcb.12240>
- Palmer, G., Platts, P. J., Brereton, T., Chapman, J. W., Dytham, C., Fox, R., Pearce-Higgins, J. W., Roy, D. B., Hill, J. K., & Thomas, C. D. (2017). Climate change, climatic variation and extreme biological responses. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 372(1723). <https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0144>
- Peralta-Maraver, I., & Rezende, E. L. (2021). Heat tolerance in ectotherms scales predictably with body size. *Nature Climate Change*, 11(1), 58–63. <https://doi.org/10.1038/s41558-020-00938-y>.
- Pigliucci, M. (2001). *Phenotypic Plasticity: Beyond Nature and Nurture*. JHU Press.
- Polidori, C., Gutiérrez-Cánovas, C., Sánchez, E., Tormos, J., Castro, L., & Sánchez-Fernández, D. (2020). Climate change-driven body size shrinking in a social wasp. *Ecological Entomology*, 45(1), 130–141. <https://doi.org/10.1111/een.12781>.
- Ragland, G. J., Kingsolver, J. G., & Ragland, G. (2008). *The effect of fluctuating temperatures on ectotherm life-history traits: comparisons among geographic populations of Wyeomyia smithii*.

- Régnière, J., Powell, J., Bentz, B., & Nealis, V. (2012). Effects of temperature on development, survival and reproduction of insects: Experimental design, data analysis and modeling. *Journal of Insect Physiology*, 58(5), 634–647. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2012.01.010>
- Rezende, E. L., & Bozinovic, F. (2019). Thermal performance across levels of biological organization. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 374(1778). <https://doi.org/10.1098/rstb.2018.0549>
- Rezende, E. L., Bozinovic, F., Szilágyi, A., & Santos, M. (2020). *Predicting temperature mortality and selection in natural Drosophila populations*. <http://science.sciencemag.org/>
- Rezende, E. L., Castañeda, L. E., & Santos, M. (2014). Tolerance landscapes in thermal ecology. *Functional Ecology*, 28(4), 799–809. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12268>
- Riemer, K., Anderson-Teixeira, K. J., Smith, F. A., Harris, D. J., & Ernest, S. K. M. (2018). Body size shifts influence effects of increasing temperatures on ectotherm metabolism. *Global Ecology and Biogeography*, 27(8), 958–967. <https://doi.org/10.1111/geb.12757>
- Ritchie, D. J., & Friesen, C. R. (2022). Invited review: Thermal effects on oxidative stress in vertebrate ectotherms. In *Comparative Biochemistry and Physiology -Part A: Molecular and Integrative Physiology* (Vol. 263). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2021.111082>
- Rohr, J. R., & Palmer, B. D. (2013). Climate change, multiple stressors, and the decline of ectotherms. *Conservation Biology*, 27(4), 741–751. <https://doi.org/10.1111/cobi.12086>
- Santos, M., Castañeda, L. E., & Rezende, E. L. (2011). Making sense of heat tolerance estimates in ectotherms: Lessons from *Drosophila*. *Functional Ecology*, 25(6), 1169–1180. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2011.01908.x>

- Schou, M. F., Loeschcke, V., & Kristensen, T. N. (2015). Strong costs and benefits of winter acclimatization in *Drosophila melanogaster*. *PLoS ONE*, 10(6). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0130307>
- Sheridan, J. A., & Bickford, D. (2011). Shrinking body size as an ecological response to climate change. In *Nature Climate Change* (Vol. 1, Number 8, pp. 401–406). <https://doi.org/10.1038/nclimate1259>
- Sokolova, I. M. (2023). Ectotherm mitochondrial economy and responses to global warming. In *Acta Physiologica* (Vol. 237, Number 4). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1111/apha.13950>
- Stearns, S. C. (1989). The Evolutionary Significance of Phenotypic Plasticity. *BioScience*, 39(7), 436–445. <https://doi.org/10.2307/1311135>
- Stephan, W., & Li, H. (2007). The recent demographic and adaptive history of *Drosophila melanogaster*. In *Heredity* (Vol. 98, Number 2, pp. 65–68). <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800901>
- Sunday, J. M., Bates, A. E., & Dulvy, N. K. (2011). Global analysis of thermal tolerance and latitude in ectotherms. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 278(1713), 1823–1830. <https://doi.org/10.1098/rspb.2010.1295>
- Terblanche, J. S., Deere, J. A., Clusella-Trullas, S., Janion, C., & Chown, S. L. (2007). Critical thermal limits depend on methodological context. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 274(1628), 2935–2943. <https://doi.org/10.1098/rspb.2007.0985>
- Thornes, T. (2016). Animals and Climate Change. *Journal of Animal Ethics*, 6(1), 81–88. <https://doi.org/10.5406/janimalethics.6.1.0081>
- Tomanek, L. (2010). Variation in the heat shock response and its implication for predicting the effect of global climate change on species' biogeographical distribution ranges and

- metabolic costs. *Journal of Experimental Biology*, 213(6), 971–979.
<https://doi.org/10.1242/jeb.038034>
- Tseng, M., Kaur, K. M., Soleimani Pari, S., Sarai, K., Chan, D., Yao, C. H., Porto, P., Toor, A., Toor, H. S., & Fograscher, K. (2018). Decreases in beetle body size linked to climate change and warming temperatures. *Journal of Animal Ecology*, 87(3), 647–659.
<https://doi.org/10.1111/1365-2656.12789>
- Verheyen, J., & Stoks, R. (2019). Temperature variation makes an ectotherm more sensitive to global warming unless thermal evolution occurs. *Journal of Animal Ecology*, 88(4), 624–636. <https://doi.org/10.1111/1365-2656.12946>
- Verspagen, N., Leiva, F. P., Janssen, I. M., & Verberk, W. C. E. P. (2020). Effects of developmental plasticity on heat tolerance may be mediated by changes in cell size in *Drosophila melanogaster*. *Insect Science*, 27(6), 1244–1256.
<https://doi.org/10.1111/1744-7917.12742>
- Willot, Q. ;, Ørsted, M. ;, Damsgaard, C. ;, & Overgaard, J. (2022). *Aalborg Universitet Thermal-death-time model as a tool to analyze heat tolerance, acclimation, and biogeography in ants*. https://doi.org/10.25849/myrmecol.news_032:127
- Xi, X., Wu, X., Nylin, S., & Sun, S. (2016). Body size response to warming: Time of the season matters in a tephritid fly. *Oikos*, 125(3), 386–394.
<https://doi.org/10.1111/oik.02521>
- Yom-Tov, Y., & Geffen, E. (2006). Geographic variation in body size: The effects of ambient temperature and precipitation. *Oecologia*, 148(2), 213–218.
<https://doi.org/10.1007/s00442-006-0364-9>

MATERIAL SUPLEMENTARIO

Tabla 1. Coeficientes del modelo lineal mixto (LMM) ajustado para datos de *Log10t* en individuos adultos de *Drosophila melanogaster* aclimatados durante la ontogenia a diferentes temperaturas y sometidos a ensayos de tolerancia térmica. Las diferencias significativas se señalan en negro.

Efectos Fijos	Coeficiente	EE	gl	T	P
<i>Intercepto</i>	1.525	0.031	701.0	49.163	<0.001
<i>Sex</i> (Machos)	-0.018	0.008	5609.0	-2.323	0.020
<i>Mc</i> (mg)	0.276	0.038	5630.0	7.195	<0.001
<i>Tens</i> (37°C)	-0.201	0.024	5338.0	-6.194	<0.001
<i>Tens</i> (38°C)	-0.295	0.033	5633.0	-9.046	<0.001
<i>Tens</i> (39°C)	-0.511	0.034	5634.0	-15.202	<0.001
<i>Tens</i> (40°C)	-0.854	0.032	5634.0	-26.337	<0.001
<i>Tacl</i> (24°C)	0.056	0.031	5633.0	1.815	0.069
<i>Tacl</i> (27°C)	0.147	0.035	5634.0	4.232	<0.001
<i>Tacl</i> (30°C)	0.231	0.033	5632.0	6.914	<0.001
<i>Mc : Tens</i> (37°C)	-0.096	0.038	5634.0	-2.557	0.011
<i>Mc : Tens</i> (38°C)	-0.269	0.038	5631.0	-7.001	<0.001
<i>Mc : Tens</i> (39°C)	-0.302	0.040	5634.0	-7.474	<0.001
<i>Mc : Tens</i> (40°C)	-0.230	0.039	5634.0	-5.870	<0.001
<i>Mc : Tacl</i> (24°C)	0.025	0.036	5626.0	0.679	0.497
<i>Mc : Tacl</i> (27°C)	0.114	0.038	5633.0	3.033	0.002
<i>Mc : Tacl</i> (30°C)	-0.058	0.035	5632.0	-1.656	0.098
<i>Tens</i> (37°C) : <i>Tacl</i> (24°C)	-0.038	0.035	5632.0	-1.505	0.132
<i>Tens</i> (38°C) : <i>Tacl</i> (24°C)	0.018	0.025	5632.0	0.707	0.480
<i>Tens</i> (39°C) : <i>Tacl</i> (24°C)	0.036	0.025	5632.0	1.434	0.152
<i>Tens</i> (40°C) : <i>Tacl</i> (24°C)	0.057	0.026	5632.0	2.232	0.026
<i>Tens</i> (37°C) : <i>Tacl</i> (27°C)	-0.041	0.026	5632.0	-1.589	0.112
<i>Tens</i> (38°C) : <i>Tacl</i> (27°C)	-0.080	0.026	5632.0	-3.103	0.002
<i>Tens</i> (39°C) : <i>Tacl</i> (27°C)	-0.193	0.026	5632.0	-7.424	<0.001
<i>Tens</i> (40°C) : <i>Tacl</i> (27°C)	-0.165	0.026	5632.0	-6.332	<0.001

<i>Tens</i> (37°C) : <i>Tacl</i> (30°C)	0.029	0.026	5632.0	1.104	0.269
<i>Tens</i> (38°C) : <i>Tacl</i> (30°C)	0.162	0.025	5633.0	6.107	<0.001
<i>Tens</i> (39°C) : <i>Tacl</i> (30°C)	0.090	0.026	5632.0	3.427	0.001
<i>Tens</i> (40°C) : <i>Tacl</i> (30°C)	0.133	0.027	5633.0	4.935	<0.001
