

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA  
FACULTAD DE CIENCIAS  
BIOLOGÍA



TESIS

ANÁLISIS METODOLÓGICO PARA CULTIVO *IN VITRO* DE TARDÍGRADOS  
(EUTARDIGRADA, HETEROTARDIGRADA) DE BAJA CALIFORNIA

Que para obtener el título de

BIÓLOGA

PRESENTA

Yosira Mariela García Rodríguez

DIRECTORA DE TESIS

Dra. Patricia Guadalupe Núñez Pérez

Ensenada, B. C.

Mayo de 2025



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA  
FACULTAD DE CIENCIAS,  
CAMPUS ENSENADA.



**“Análisis metodológico para cultivo *in vitro* de tardígrados (Eutardigrada,  
Heterotardigrada) de Baja California”**

TESIS

PARA CUBRIR LOS REQUISITOS NECESARIOS PARA OBTENER EL  
TÍTULO DE

**BIÓLOGO**

PRESENTA

**Yosira Mariela García Rodríguez  
350231**

A quien el Comité de Tesis autoriza el trabajo terminal y de acuerdo con el  
Art. 19 del R.G.E.P.E.P, emite los siguientes votos aprobatorios mediante rubrica:

\_\_\_\_\_  
DRA. PATRICIA GUADALUPE NÚÑEZ PÉREZ  
**DIRECTORA**

\_\_\_\_\_  
DRA. SOCORRO JIMENEZ VALERA  
SINODAL

\_\_\_\_\_  
DRA. ALBA DUEÑAS CEDILLO  
SINODAL

\_\_\_\_\_  
DR. ALEJANDRO SANCHEZ GONZALEZ  
SINODAL

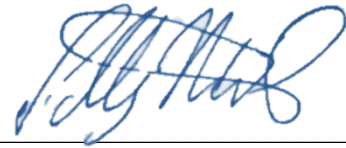
**“Por la Realización Plena del Ser”**

## RESUMEN

Resumen de la tesis de Yosira Mariela García Rodríguez presentada como requisito parcial para la obtención de la Licenciatura en Biología. Ensenada, Baja California, México. Mayo de 2025.

"Análisis metodológico para cultivo *in vitro* de tardígrados (Eutardigrada, Heterotardigrada) de Baja California"

Resumen aprobado:



---

Dra. Patricia Guadalupe Núñez Pérez

El filo Tardigrada ha sido objeto de estudio en las últimas décadas. Es conocido por su notable resistencia a condiciones ambientales extremas. Algunas especies de este grupo son consideradas organismos modelo en la Astrobiología. Sin embargo, los trabajos enfocados en el cultivo de tardígrados siguen siendo limitados. En este estudio, se evaluaron distintas metodologías para el cultivo *in vitro* de especies de tardígrados presentes en Baja California con el objetivo de determinar las más eficaces. Para ello, se realizaron colectas de musgos y líquenes en la ciudad de Ensenada y en el desierto de Cataviña, en San Quintín, a partir de los cuales se extrajeron individuos de *Paramacrobotus gadabouti*, *Macrobotus hufelandi*, *Milnesium tardigradum*, *Ramazzottius sp.* y *Viridiscus viridianus*. Posteriormente, estos organismos fueron cultivados bajo diferentes condiciones de sustrato, medio acuoso, temperatura, fotoperiodo y humedad-deseccación. Además, se cultivaron musgos y la microalga *Chlorella vulgaris* como fuente de alimento, y se utilizó *Hypsibius exemplaris* como especie control. Las observaciones periódicas permitieron evaluar la actividad, alimentación y reproducción de cada especie. Se registró la producción de huevos en cuatro de las especies trabajadas, aunque solo en el control se logró un incremento en la población inicial. El análisis del efecto de la temperatura en los tardígrados de la familia Macrobiotidae, en conjunto con los resultados obtenidos en las demás especies, sugiere que temperaturas bajas, junto con el cambio constante del medio acuoso, incrementan el éxito del cultivo. Además, los cultivos de musgos y *C. vulgaris*

demonstraron ser una fuente viable de alimento para los tardígrados herbívoros y un suplemento para los omnívoros. Estos hallazgos resaltan la importancia de mantener un cultivo simultáneo de alimento vivo, incluyendo musgos, microalgas, rotíferos y nemátodos, para favorecer la estabilidad de las poblaciones de tardígrados. El establecimiento de metodologías eficientes para su cultivo no solo facilita su estudio en condiciones controladas, sino que también abre nuevas posibilidades para su aplicación en disciplinas como la Biotecnología, la Biomedicina y la Astrobiología.

**Palabras clave:** cultivo, eutardigrada, heterotardigrada, Ensenada, Cataviña

## ABSTRACT

The phylum Tardigrada has been the subject of study in recent decades due to its remarkable resistance to extreme environmental conditions. Some species within this group are considered model organisms in fields such as Astrobiology. However, research focused on tardigrade cultivation remains limited. In this study, different *in vitro* cultivation methodologies were evaluated for tardigrade species found in Baja California to determine the most effective ones. To this end, moss and lichen samples were collected in the city of Ensenada and the Cataviña desert in San Quintín, from which individuals of *Paramacrobrotus gadabouti*, *Macrobrotus hufelandi*, *Milnesium tardigradum*, *Ramazzottius sp.*, and *Viridiscus viridianus* were extracted. These organisms were subsequently cultivated under different conditions of substrate, aqueous medium, temperature, photoperiod, and humidity-desiccation. Additionally, moss and the microalga *Chlorella vulgaris* were cultivated as a food source, and *Hypsibius exemplaris* was used as a control species. Periodic observations allowed for the evaluation of activity, feeding, and reproduction in each species. Egg production was recorded in four of the studied species, although only the control group showed an increase in the initial population. The analysis of temperature effects on tardigrades of the family Macrobiotidae, along with the results obtained for other species, suggests that low temperatures, combined with constant medium renewal, enhance cultivation success. Furthermore, moss and *C. vulgaris* cultures proved to be a viable food source for herbivorous tardigrades and a supplement for omnivorous species. These findings highlight the importance of maintaining a simultaneous culture of live food sources, including mosses, microalgae, rotifers, and nematodes, to support the stability of tardigrade populations. Establishing efficient methodologies for their cultivation not only facilitates their study under controlled conditions but also opens new possibilities for their application in fields such as Biotechnology, Biomedicine, and Astrobiology.

**Keywords:** culture, Eutardigrada, Heterotardigrada, Ensenada, Cataviña

## **DEDICATORIA**

A quienes han luchado por el derecho a la educación y el acceso equitativo a la ciencia. Quienes han abierto las puertas que hoy podemos cruzar.

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi directora de tesis, la **Dra. Patricia G. Núñez**, por su paciencia, motivación y entusiasmo. Su guía ha sido fundamental en mi formación, tanto en la Tardigradología como en la Astrobiología. Más allá de su papel como asesora, la considero una guía en mi crecimiento personal y profesional; espero algún día ser una científica tan pulcra como usted.

A mis sinodales, la **Dra. Alba Dueñas-Cedillo**, la **Dra. Socorro Jiménez Valera** y el **Dr. Alejandro Sánchez González**, por sus valiosas aportaciones y su entusiasmo en mi trabajo.

Al **Dr. Roberto Vázquez Meza**, por permitirme ser parte del Laboratorio de Astrobiología y compartir su amor por la ciencia, y su cariño y respeto por sus estudiantes. Su conocimiento y lecciones de vida que nos ayudan a tener un camino iluminado.

A la **Dra. Ma. del Pilar Sánchez**, quien amablemente nos otorgó una muestra de microalgas del Laboratorio de Biología de Algas de CICESE, con las cuales se llevó a cabo una parte importante de la metodología.

A la **Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM)** y al **Instituto de Astronomía, UNAM, Ensenada**, del que he formado parte como estudiante asociada y que me permitió acceso a sus instalaciones para desarrollar esta investigación. Asimismo, agradezco el respaldo del **proyecto PAPIME-DGAPA-UNAM-PE109824** para la realización de este trabajo.

A la **Universidad Autónoma de Baja California (UABC)**, donde inicié mi formación académica y que me brindó las herramientas para desarrollarme en el camino de la ciencia.

A los profesores de la **Facultad de Ciencias**, quienes compartieron sus conocimientos y sembraron en mí la pasión por el aprendizaje.

## AGRADECIMIENTOS PERSONALES

A mi mamá, **Juanita Rodríguez**, quien siempre me ha apoyado en mis decisiones, me ha permitido crecer con libertad y nunca ha dejado de animarme a cumplir mis retos. Gracias por enseñarme a no rendirme, a perseverar y a seguir mis sueños. Y a mi papá, **Manuel García**, por su cariño.

A mi prometido, **Luis Andrés**, quien ha estado a mi lado tanto en lo personal como en lo académico desde hace más de media vida. Gracias por creer en mí, animarme y motivarme en todos los proyectos que hemos emprendido juntos. A nuestras mascotas: **Mosca**, que en su tiempo con nosotros me acompañó en mis noches de estudio. **Doja**, que con su compañía día y noche ha hecho felices todos los momentos que compartimos.

A mis suegros, **Oliva y Enrique**, por el apoyo que nos han brindado a lo largo de estos años. Y a **Beto**, que me alegra que ahora sea parte de la Facultad de Ciencias.

A mis hermanos, **Diana y Ángel**, por su apoyo incondicional, ya sea de cerca o a la distancia. Así como a **Paty**, que te considero parte de nosotros.

A mis compañeros del Laboratorio de Astrobiología, los chikes, el equipo que siempre soñé. Gracias por todas las chikeaventuras que hemos vivido, por los momentos de aprendizaje, por las risas y por hacer de este camino algo inolvidable. Definitivamente deberían hacer una sitcom de todo lo que hemos pasado. **Dra. Manet Estefanía Peña**, hermana científica mayor, gracias por todo. No hay palabras suficientes para agradecer a todo lo que me has aportado. No solo admiro tu tenacidad y entusiasmo como astrobióloga y divulgadora, sino también el apoyo incondicional que me has brindado desde Clubes de Ciencia 2019. Me gusta pensar que fuiste tú quien me inspiró en aquella Noche de las Estrellas en 2015, y ahora poder llamarte una de mis mejores amigas, es un gran honor.

**Biol. Esther Reyes**, mi tardiwife, tu trabajo es fundamental para el mío, gracias por todo tu apoyo y sobre todo por tu amistad. Sé que juntas lograremos nuestras metas en la tardigradología. No eres una luna, tú eres un Sol.

**Biol. Carlos Nieto**, gracias por el apoyo en el cultivo de algas, el muestreo en Cataviña, por compartir tus conocimientos, por los domingos de trabajo sin descanso, los cafés, los raites y hasta los regaños. Me facilitaste la vida y nunca faltaron las risas en el lab.

**L.C.C. Andy García**, además de ser el amor de mi vida, también eres chike, así que te agradezco doblemente. Nos has hecho a todos subir nuestros estándares en absolutamente todo lo que hacemos. Gracias por tu apoyo para mejorar las figuras de este trabajo.

**Biol. Beba Meneses, Biol. Belen Cruz, Biol. Berny Peña, Biol. Rubén Ruiz, Biol. Exp. Mariana García, Fis. Adamary Velasquez, Fis. Alexis Núñez y Fis. Marlon García**, su amistad y sensación familiar siempre será una motivación para seguir trabajando en proyectos interesantes. A todos los demás chikes que han estado de paso y han dejado una huella en nuestro trabajo, gracias por formar parte de este camino.

A mis amigos **Rosa, Fernando, Vero, Christian**. Nuestra amistad ha estado presente a través de los años, y espero que siga siendo así. Agradezco el apoyo que me han brindado desde que éramos adolescentes sin metas claras. Cada quien ha ido encontrando su camino, pero confío en que siempre nos tendremos unos a otros.

A los amigos que hice en los distintos trabajos que tuve durante mis años de licenciatura (**Caramelino, Cinépolis, Rupestre, Salud Digna**). De cada uno de ustedes me llevo valiosos aprendizajes. Gracias por cambiar turnos, cubrir mis horarios, preguntarme sobre mis áreas de estudio, asistir a eventos de divulgación, darme ánimos y hacer que el trabajo fuera más llevadero y divertido. Aunque la vida nos haya llevado por distintos caminos, las coincidencias en espacio y tiempo siempre las recordaré con cariño.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

RESUMEN.....	III
ABSTRACT.....	V
DEDICATORIA .....	VI
AGRADECIMIENTOS .....	VII
AGRADECIMIENTOS PERSONALES.....	VIII
ÍNDICE DE CONTENIDO.....	X
ÍNDICE DE FIGURAS.....	XIII
ÍNDICE DE TABLAS .....	XIX
1. INTRODUCCIÓN .....	1
2. ANTECEDENTES.....	3
2.1 Generalidades del filo Tardigrada.....	3
2.2 Reproducción .....	4
2.3.1 Cultivos en laboratorio.....	7
2.3.2 Cultivos en Latinoamérica y México .....	11
3.PERSPECTIVAS: IMPORTANCIA DE LOS TARDÍGRADOS EN ASTROBIOLOGÍA, BIOTECNOLOGÍA Y BIOMEDICINA.....	13
4. HIPÓTESIS.....	16
5. OBJETIVOS .....	16
Objetivo general.....	16
Objetivos específicos .....	16
6. ÁREA GEOGRÁFICA DE ESTUDIO.....	18

6.1 Cerro Chapultepec, Ensenada, Baja California.....	18
6.2 Cataviña, San Quintín, Baja California.....	23
7. METODOLOGÍA .....	29
7.1 Colecta y procesamiento de las muestras.....	29
7.2 Montaje de los organismos.....	30
7.3 Identificación de las muestras .....	30
7.4 Cultivo de alga <i>Chlorella vulgaris</i> .....	31
7.5 Preparación de agar KCM para crecimiento de musgos .....	32
7.6 Cultivo de <i>Paramacrobrotus gadabouti</i> y <i>Macrobrotus hufelandi</i> (Familia Macrobrotidae) .....	33
7.7 Cultivo de <i>Milnesium tardigradum</i> .....	35
7.8 Cultivo de <i>Viridiscus viridianus</i> .....	35
7.9 Cultivo de <i>Ramazzottius sp.</i> .....	36
7.10 Cultivo de <i>Hypsibius exemplaris</i> .....	37
8. RESULTADOS.....	38
8.1 Identificación de los organismos.....	38
8.2 Cultivo de alga <i>Chlorella vulgaris</i> .....	41
8.3 Crecimiento de musgos en agar KCM .....	43
8.4 Cultivo de <i>Paramacrobrotus gadabouti</i> y <i>Macrobrotus grupo hufelandi</i> (Familia Macrobrotidae).....	45
8.5 Cultivo de <i>Milnesium tardigradum</i> .....	49
8.6 Cultivo de <i>Viridiscus viridianus</i> .....	51
8.7 Cultivo de <i>Ramazzottius sp.</i> .....	53
8.8 Cultivo de <i>Hypsibius exemplaris</i> .....	58
9. DISCUSIÓN .....	64
9.1 Diversidad de especies .....	64
9.2 Cultivo de microalgas .....	66
9.3 Alimentación .....	67
9.4 Sustrato.....	71

9.5 Medio .....	71
9.6 Temperatura .....	73
9.7 Humedad y desecación.....	74
9.8 Fotoperiodo .....	75
10. CONCLUSIONES .....	77
11. LITERATURA CITADA.....	80
12. GLOSARIO.....	100
13. APÉNDICES Y ANEXOS.....	103

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Taxonomía clásica de clases y órdenes de Tardigrada, y sus esquemas característicos. Tomado de Jørgensen, et al., 2018.....	3
Figura 2. Dos métodos de oviposición en tardígrados, a. en exuvia, lisos, b. en el ambiente, generalmente ornamentados. Modificado de Sugiura y Matsumoto (2021). .....	5
Figura 3. Zonas de muestreo de líquenes y musgos de Baja California. Los puntos indican las coordenadas de los muestreos correspondientes a la Tabla III. (A) Ubicación geográfica del Estado de Baja California. Ubicado en el noroeste de la República Mexicana, colinda al norte con Estados Unidos de América, al oeste con el Océano Pacífico, al este con el estado de Sonora y el Golfo de California, y al sur con el estado de Baja California Sur. (B) Acercamiento al área de estudio Cerro Chapultepec, ubicado en la ciudad de Ensenada. (C) Acercamiento al área de estudio Cataviña, ubicado en el municipio de San Quintín. Elaborado en el software QGIS 3.38.2 Grenoble, utilizando datos de INEGI (2024), ArcGis Hub (2024) y GEBCO Compilation Group (2024).....	19
Figura 4. Climograma basado en los datos de la Estación 00002025 Ensenada (OBS) (31°51'28" N, 116°36'21" W, altura 21.0 msnm) recolectados entre 1951 y 2010. Graficado de acuerdo con los datos normales climatológicos del Servicio Meteorológico Nacional (2024). .....	20

Figura 5. Paisaje del Cerro Chapultepec, ubicado en la zona semi urbana del municipio de Ensenada, Baja California. Presenta vegetación perteneciente a matorral costero, con arbustos esclerófilos. Fotografía capturada en diciembre de 2024. .... 21

Figura 6. Musgos y líquenes muestreados en el Cerro Chapultepec. (A) *Syntrichia ruralis*, muestra 1; (B) *Tortula muralis* con esporofitos, muestra 4 (C) *Thuidium robustum*, muestra 8. (D) *Xanthoparmelia cumberlandia*, liquen adherido a roca, muestra 18. Fotografías tomadas con la aplicación Naturalista, (A), (B) y (D) por la usuaria Esther Elena Reyes Acosta, *estherera*, (C) por la usuaria Yosira Mariela García Rodríguez, *yosiragarcia*..... 22

Figura 7. Climograma basado en los datos de la Estación 00002051 San Luis Baja California (29°43'38" N, 114°42'39" W, altura 480.0 msnm) recolectados entre 1951 y 2010. Graficado de acuerdo con los datos normales climatológicos del Servicio Meteorológico Nacional (2024). .... 24

Figura 8. Musgos y líquenes colectados en el Desierto de Cataviña. A. *Syntrichia* cf. *caninervis* expuesto a la luz solar, sobre suelo arenoso, muestra 2; B. *Syntrichia* cf. *caninervis*, adherido a suelo arenoso y roca granítica, sombra parcial, muestra 3; C. liquen costroso adherido a corteza esclerificada de cardón *Pachycereus pringlei*, muestra 4; D. Liquen costroso adherido a roca, muestra 2. Fotografías tomadas con la aplicación Naturalista. (A), (B) y (C) por la usuaria Yosira Mariela García Rodríguez, *yosiragarcia*, (D) por el usuario Carlos Eduardo Nieto Durán, *charlieend*. .... 25

Figura 9. Paisaje en Cataviña, localidad en el municipio de San Quintín. Perteneciente a la Reserva de la Biosfera Valle de los Cirios, presenta principalmente vegetación sarcococaula. Fotografía capturada en mayo de 2022. .... 26

Figura 10. Tardígrados identificados empleados en los cultivos del trabajo. (A) <i>Paramacrobiotus gadabouti</i> (B) <i>Macrobiotus hufelandi</i> (C) <i>Milnesium tardigradum</i> (D) <i>Ramazzottius sp</i> (E) <i>Viridiscus viridianus</i> (F) <i>Hypsibius exemplaris</i> . Figuras A y C cortesía de Esther E. Reyes Acosta. ....	39
Figura 11. Algunos de los caracteres que permiten la identificación de los tardígrados presentes en esta investigación. (A) Aparato bucofaríngeo de <i>Paramacrobiotus gadabouti</i> (B) Aparato bucofaríngeo de <i>Macrobiotus</i> grupo <i>hufelandi</i> (C) Aparato bucofaríngeo y garras en el primer par de patas de <i>Milnesium tardigradum</i> (D) Aparato bucofaríngeo de <i>Ramazzottius sp</i> (E) Patrón de gránulos en las placas dorsales de <i>Viridiscus viridianus</i> (F) Aparato bucofaríngeo de <i>Hypsibius exemplaris</i> . Figuras A y C cortesía de Esther E. Reyes Acosta. ....	40
Figura 12. Cultivos iniciales de la microalga <i>Chlorella vulgaris</i> . (A) Concentración 0.5% (B) Concentración 0.75% (C) Concentración 1.0%. En los tres casos se observa un crecimiento evidente en el fondo de los matraces.....	42
Figura 13. Microalgas <i>Chlorella vulgaris</i> observadas con microscopio óptico Leica® DM750 y fotografiadas con la cámara Leica® ICC50 W.....	43
Figura 14. Comparativa de crecimiento de musgos en agar KCM durante un periodo de 20 días. (A, B, C, D, I, K, L, M) Musgos en el día 4 post implantación. (E, F, G, H, N, Ñ, O) Musgos en el día 24 post implantación. Se observa crecimiento del protonema y pequeños brotes en todas las cajas de Petri. (F) Puede notarse una burbuja de aire entre el plástico de la caja de Petri y el gel de agar KCM, debido a deshidratación en el agar. Las cajas petri mostradas tienen un diámetro de 35mm.....	44

Figura 15. Se muestra la tendencia en la supervivencia de las diferentes poblaciones de tardígrados, en las tres temperaturas evaluadas. La supervivencia se expresa en porcentaje. ....	46
Figura 16. Diferencias porcentuales entre los organismos que presentaron actividad o inactividad (letargo) en diferentes temperaturas durante días específicos. ....	47
Figura 17. Huevos presentes en los cultivos. (A) Huevo fijado en PVA perteneciente al grupo <i>Macrobotus hufelandi</i> . (B) Huevo fijado en PVA de la especie <i>Paramacrobotus gadabouti (richtersi)</i> . (C) Se indican con flechas blancas tres huevos de <i>Paramacrobotus gadabouti</i> en cultivo, adheridos a cúmulos de <i>Chlorella vulgaris</i> . (D) Tardígrado hembra ovígera. ....	48
Figura 18. Comportamiento porcentual de la supervivencia de <i>Milnesium tardigradum</i> durante 21 días de experimentación. ....	49
Figura 19. Comportamiento porcentual de la actividad de <i>Milnesium. tardigradum</i> en días específicos del experimento. ....	50
Figura 20. Ejemplares de <i>Milnesium tardigradum</i> turgentes, con extremidades extendidas coincidente con anoxibiosis. Cubiertos por una capa blanquecina que impide la visualización detallada del organismo. ....	51
Figura 21. Se muestra el comportamiento porcentual de la supervivencia de <i>Viridiscus viridianus</i> en días específicos. ....	52
Figura 22. Comparación de porcentajes de tardígrados activos e inactivos durante días específicos del experimento. ....	53

Figura 23. Comportamiento porcentual de la supervivencia de tardígrados del género <i>Ramazzottius sp</i> en días específicos.....	54
Figura 24. Comportamiento porcentual de tardígrados activos e inactivos en días específicos. Se presentaron mayormente activos durante los 21 días.....	55
Figura 25. Huevos ornamentados del género <i>Ramazzottius sp</i> . observados en el cultivo, se indican con las flechas. (A) Varios huevos adheridos a un gametofito de musgo, (B) Huevo adherido a cúmulo de <i>Chlorella vulgaris</i> . A y B, imágenes capturadas con cámara de teléfono celular en el ocular del estereoscopio Konus Crystal-45. (C) Microfotografía de un huevo con la envoltura desprendida. Se señala con flecha color naranja y negro, a la derecha se observa la cubierta con procesos cónicos, se señalan con flecha blanca y negro.....	56
Figura 26. Tardígrado <i>Ramazzottius sp</i> . alimentándose del alga <i>Chlorella vulgaris</i> . Imagen capturada con cámara de teléfono celular en el ocular del estereoscopio Konus Crystal-45.....	57
Figura 27. Aparición de puntos blanquecinos en la superficie del gel de agar KCM del cultivo de <i>Ramazzottius sp</i> , posible contaminación por bacterias. Imagen capturada con cámara de teléfono celular en el ocular del estereoscopio Konus Crystal-45. ....	58
Figura 28. Comportamiento porcentual de la supervivencia de los tardígrados <i>Hypsibius exemplaris</i> en días específicos del experimento. ....	60
Figura 29. Comportamiento porcentual de individuos activos e inactivos en días específicos del experimento de cultivo de <i>H. exemplaris</i> . La mayoría de los individuos presentaron actividad durante el experimento.....	61

Figura 30. (A) Hembra de *H. exemplaris* ovígera. Es posible observar opacidad en la región central del ejemplar (señalado con flecha negra), correspondiente a huevos que serán ovipositados en la siguiente muda. K.(B) Exuvia con huevos. Se pueden observar 9 huevos, señalados con las flechas negras..... 62

Figura 31. (A) Ejemplar adulto forrajeando en cúmulos de *C. vulgaris*. Debido a la transparencia del cuerpo del tardígrado, es posible observar su contenido intestinal. (B) Excretas de *H. exemplaris*, señaladas con flecha blanca. Muestran una morfología cilíndrica, y coloración coincidente con *C. vulgaris*..... 63

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla I.</b> Aplicaciones potenciales de moléculas de tardígrados en biomedicina y farmacología. Traducido de Kasianchuk y colaboradores (2023). .....	14
<b>Tabla II.</b> Comparación de minerales y pH de las marcas de agua mineral sin gas más utilizadas en cultivo de tardígrados (Żywiec Zdrój y Volvic) y las de mayor comercialización en México. Todos los valores están en miligramos/Litros. ND indica la falta de datos de ese parámetro. Información obtenida de las etiquetas. ....	10
<b>Tabla IIIa.</b> Muestras efectuados durante los años 2022 y 2023 en las localidades Cerro Chapultepec y Cataviña. ....	27
<b>Tabla IIIb.</b> Muestras efectuados durante los años 2022 y 2023 en las localidades Cerro Chapultepec y Cataviña. ....	28
<b>Tabla IV.</b> Géneros y especies identificados a través de claves dicotómicas (Guidetti y Bertolani, 2005; Pilato y Binda, 2010; Meier et al., 2019), literatura específica (Pilato et al., 2007; Nelson et al., 2020; Guidetti et al., 2022; Momeni et al., 2023) y localidad. ....	41

## 1. INTRODUCCIÓN

Los tardígrados, también conocidos como osos de agua o cerditos del musgo, son un grupo de invertebrados bilaterales microscópicos y acuáticos que habitan en diversos ambientes alrededor del mundo. Fueron descubiertos en Europa a finales del siglo XVIII por Johann August Ephraim Goeze y, hasta la fecha, se han registrado en todos los continentes, desde el fondo marino hasta las cumbres más altas (Greven, 2018; Nelson et al., 2018).

Su amplia distribución puede atribuirse a su capacidad de dispersión, su pequeño tamaño y la reproducción asexual en algunas especies (Artois et al., 2011; Gaşiorek, 2024). Además, poseen una notable resistencia a condiciones extremas, como temperaturas bajas, ambientes hipo o hiperosmóticos, bajas concentraciones de oxígeno, desecación y altas dosis de radiación (Møbjerg et al., 2011).

Su resistencia se debe a su capacidad de entrar en criptobiosis, un estado de latencia en el que el metabolismo disminuye hasta niveles indetectables. Debido a esta característica, los tardígrados han despertado gran interés en áreas como la Biotecnología, la Biomedicina y la Astrobiología (Erdmann y Kaczmarek, 2017; Hashimoto et al., 2016; Horikawa et al., 2008b, 2012; Kasianchuk et al., 2023; Kirke et al., 2020; Persson et al., 2011; Rebecchi et al., 2012; Ricci et al., 2021; Rizzo et al., 2015; Wilanowska, 2024).

Diversos estudios han analizado las moléculas responsables de su resistencia para su posible aplicación en la preservación de materiales biológicos, fármacos y alimentos (Schill et al., 2009; Kasianchuk et al., 2023), así como en la protección celular en

organismos vegetales y animales (Hashimoto et al., 2016; Kirke et al., 2020; Ricci et al., 2021).

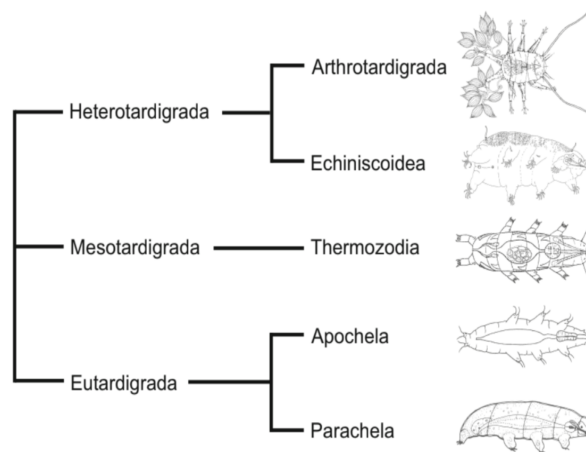
El cultivo *in vitro* de tardígrados se ha realizado desde 1914 y ha cobrado mayor relevancia desde la década de 1960 (Altiero et al., 2018). A lo largo de los años, el cultivo ha sido empleado en estudios sobre taxonomía, comportamiento alimentario, relaciones interespecíficas y resistencia a condiciones extremas. Sin embargo, son pocos los estudios que se enfocan exclusivamente en el cultivo de tardígrados, aunque en los últimos años ha habido un aumento de metodologías propuestas para Eutardigrada (Roszkowska et al., 2021). En esta investigación se analizaron las metodologías existentes aplicadas a especies de tardígrados presentes en el estado de Baja California, con el propósito de evaluar su eficacia y proponer estrategias óptimas para su cultivo. Consideramos que la experimentación con especies locales enriquece los estudios taxonómicos de la región, permite la caracterización morfológica de huevos, juveniles y adultos de una misma población, así como la posibilidad de realizar estudios moleculares que complementen un estudio integral. Así mismo, las metodologías sencillas y accesibles pueden ser replicadas en cualquier laboratorio que se encuentre interesado en el estudio de los tardígrados terrestres.

El mantenimiento de cultivos saludables es fundamental para el Laboratorio de Astrobiología del Instituto de Astronomía de la UNAM, en Ensenada, ya que permitirá llevar a cabo experimentos bajo condiciones extremas, como exposición a radiación y bajas temperaturas.

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 Generalidades del filo Tardigrada

El filo Tardigrada se incluye en el clado Ecdysozoa (Nelson et al., 2010; Campbell et al., 2011), dentro del superfilo Panarthropoda junto con Arthropoda y Onychophora (Smith y Goldstein, 2017). Son microinvertebrados acuáticos, con un tamaño de entre 50 y 1200  $\mu\text{m}$ , presentan un cuerpo generalmente cilíndrico y segmentado, con cuatro pares de patas (Møbjerg et al., 2018). Actualmente se conocen alrededor de 1488 especies, las cuales se pueden clasificar en tres clases: Eutardigrada, Heterotardigrada y Mesotardigrada (Figura 1) (Degma y Guidetti, 2024).



**Figura 1.** Taxonomía clásica de clases y órdenes de Tardigrada, y sus esquemas característicos. Tomado de Jørgensen, et al., 2018.

Se pueden encontrar como principales diferencias entre las clases la morfología que presentan y los hábitats donde pueden encontrarse. Por ejemplo, los eutardigrados, divididos en los órdenes Apocheila y Paracheila (Fig. 1), son comúnmente encontrados

en hábitats dulceacuícolas y terrestres, mientras que Heterotardigrada, divididos en los órdenes Arthrotardigrada y Ehiniscoidea (Fig. 1), pueden encontrarse comúnmente en hábitats marinos y zonas terrestres con ambientes cálidos y áridos (Møbjerg et al. 2018). Morfológicamente, los heterotardígrados tienen una cutícula con placas definidas, tanto dorsales como ventrales, así como apéndices, conocidos como cirros y clavas; mientras que los eutardígrados muestran una cutícula lisa y delgada, sólo en casos aislados se encuentran especies con apéndices, y es posible identificarlos con el tubo bucofaríngeo (Møbjerg et al., 2018; Fleming & Arakawa, 2021).

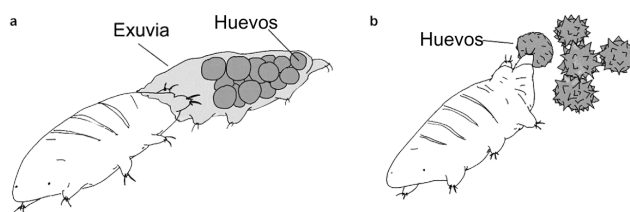
El filo Tardigrada presenta una distribución mundial, sin embargo, al tener una amplia diversidad de especies es posible encontrar especies tanto endémicas como cosmopolitas (Gąsiorek, 2024), pues ciertos taxones requieren condiciones ambientales específicas, mientras que otros presentan un rango más amplio de adaptabilidad. Pese a esto, todos los tardígrados son considerados hidrófilos, pues requieren de al menos una película de agua para llevar a cabo sus funciones (Miller, 1997; Kinchin, 2008). No obstante, al existir una falta de agua, los tardígrados no fallecen, sino que entran en un estado de latencia llamado criptobiosis (Crowe, 1971; Bertolani et al., 2004).

## 2.2 Reproducción

El phylum Tardigrada presenta distintos tipos de reproducción, siendo la anfigonía y la telitoquia los tipos prominentes. La anfigonía, o reproducción sexual, se da en especies bisexuales y hermafroditas, donde se requiere la unión de gametos femeninos y masculinos para llevar a cabo la fertilización. En cambio, la telitoquia, es

un tipo de reproducción asexual partenogenética, en la que solamente se produce progenie femenina a partir de huevos no fertilizados (Moyes y Schulte, 2007). El tipo de reproducción puede estar relacionado con el tipo de dispersión y el tipo de sustrato en el que los tardígrados habitan, siendo posible que una especie pueda presentar ambos tipos de reproducción, dependiendo también de factores externos (Bertolani et al., 1990).

Los huevos, puestos por las hembras, se pueden observar en dos maneras, huevos ornamentados con distintos tipos de espículas, denominadas procesos (Fig. 2b), que son liberados al ambiente; y los huevos lisos (Fig. 2a), ovipositados en la exuvia una vez que la progenitora muda su cutícula (Fig. 2b) (Sugiura y Matsumoto, 2021; Guidetti, 2024). Los huevos, además de su importancia para el estudio de la biología del desarrollo, son de suma importancia taxonómica, pues pueden presentar una amplia variedad de ornamentaciones características (Bertolani et al., 1996).



**Figura 2.** Dos métodos de oviposición en tardígrados, a. en exuvia, lisos, b. en el ambiente, generalmente ornamentados. Modificado de Sugiura y Matsumoto (2021).

Dentro de los grupos de interés para este trabajo, se encuentra el género *Paramacrobiotus sp.*, que está compuesto por al menos 45 especies, y solamente se conoce el mecanismo reproductivo de 14 de ellas (Kayastha et al., 2023b). En el caso

de *Paramacrobotus gadabouti* Kayastha 2023, se registra que es una especie que se reproduce por telitoquia (Kayastha et al., 2023a). En otras especies de este género, por ejemplo, *P. richtersi* (Murray, 1911) y *P. experimentalis* (Gąsiorek, Stec, Morek, Zawierucha, Michalczyk & Kaczmarek, 2021), también se registra reproducción sexual, donde se ha podido observar fertilización externa (Guidetti et al., 2019; Kayastha et al., 2023b).

Se ha registrado que algunas de las especies del género *Macrobotus sp.* presentan reproducción sexual, con poblaciones bisexuales que pueden llegar a presentar hábitos de apareamiento y fertilización externa (Sugiura et al., 2019; Sugiura y Matsumoto, 2021). La oviposición se da directamente al ambiente, con huevos ornamentados.

En la especie *Milnesium tardigradum* Doyère, 1840 se han registrado poblaciones principalmente telitóquicas, pero existen poblaciones con machos en raras ocasiones (Suzuki, 2008; Sugiura y Matsumoto, 2021). La oviposición se da en la exuvia, donde los huevos son lisos. Otras especies del género presentan también reproducción asexual, se han podido generar poblaciones en cultivo a partir de incluso un individuo (Morek et al., 2019).

Respecto al género *Ramazzottius sp.*, se han registrado tanto especies anfimícticas como telitóquicas (Rebecchi y Bertolani, 1988; Bertolani et al., 1990). Los huevos que produce este género son ornamentados y depositados directamente al ambiente. Se han realizado estudios que demuestran la tolerancia a factores extremos en huevos tanto en estado anhidrobiótico como hidratados (Horikawa et al., 2012). De forma similar, el género *Hypsibius sp.* muestra una variedad de mecanismos

reproductivos (Dastyh et al., 2003; Pilato et al., 2006). En el caso específico de *Hypsibius exemplaris* (Gąsiorek, Stec, Morek & Michalczyk, 2018), se trata de una especie partenogenética (Stone y Vasanthan, 2020), y la oviposición se da en huevos lisos dentro de la exuvia.

El género *Viridiscus sp.* se creía exclusivamente partenogenética hasta el año 2020, cuando Nelson y colaboradores identificaron la presencia de machos. Por tanto, específicamente en la especie *Viridiscus viridianus* (Pilato, Fontoura & Lisi, 2007), aunque la tasa de machos es baja en comparación a la de hembras, se trata de una especie gonocórica, sin un notable dimorfismo sexual, más que la diferenciación en el gonoporo (Nelson et al., 2020; Momeni et al., 2023).

### **2.3.1 Cultivos en laboratorio**

Para llevar a cabo el estudio de las capacidades de resistencia en laboratorio, es necesario contar con poblaciones abundantes de diversas especies. Por esto, se han cultivado para su estudio desde principios del siglo XX (von Wenck, 1914). Durante las últimas décadas, se han presentado numerosos protocolos para el cultivo de eutardígrados (Suzuki, 2003; Schill y Fritz, 2008; Horikawa, 2008a; Hengherr et al., 2009; Sugiura et al., 2019; Guidetti et al., 2020; Kaczmarek et al., 2020; Roszkowska et al., 2021), sin embargo, el estudio de cultivo de heterotardígrados se ha abordado solamente por Momeni et al., (2022). En este estudio, Momeni y colaboradores señalan que el cultivo de heterotardígrados puede estar limitado debido a que pasan más tiempo en estado de desecación que en estado activo, ya que las zonas donde habitan tienden a ser menos húmedas, por lo que proponen un ciclo de humedad y

deseccación intercalado, con temperatura constante de 20°C, un fotoperiodo de 16:08 horas de luz y oscuridad, humedad relativa del 55% y alimentación a base de *C. vulgaris* y protonema de musgo.

El cultivo de los tardígrados también ha permitido conocer sus diferentes tipos de alimentación y preferencias alimentarias (Sayre, 1969; Schill et al., 2011; Bryndová et al., 2020). Gracias a estos estudios, se conoce que los tardígrados pueden ser clasificados como herbívoros, como los de los géneros *Ramazzottius sp.* y *Viridiscus sp.*, que se alimentan principalmente de microalgas verdes y musgos; hay también tardígrados carnívoros, como los del género *Milnesium sp.*, que se alimentan principalmente de rotíferos y nemátodos, pero se ha registrado que también llegan a alimentarse de otros tardígrados; y existe un grupo de tardígrados omnívoros, como son los géneros *Paramacrobiotus sp.* y *Macrobiotus sp.*, que pueden alimentarse tanto de otros microinvertebrados, como de musgo, algas, bacterias, levaduras o detritus (Doncaster y Hooper, 1961; Suzuki, 2003; Horikawa et al., 2008a; Sanchez-Moreno et al., 2008; Guidetti et al., 2012; Nelson et al., 2018; Momeni et al., 2022).

Algunos de los factores fisicoquímicos de importancia para el cultivo *in vitro* de tardígrados son el sustrato, el medio, la temperatura, el fotoperiodo y la relación de humedad-deseccación. Como sustrato, se han propuesto dos principales opciones, lijar o rayar el fondo de la caja de Petri para crear una textura rugosa a base de surcos, o cubrir el fondo de las cajas con solución de agar. También se ha propuesto una película de algas en el fondo del contenedor (Baumann et al., 1961; Gross et al., 2001; Gabriel y Goldstein, 2007; Gabriel, 2007; Propawa et al., 2015b; Erdmann et al., 2007).

El medio acuoso de preferencia es el agua mineral no gasificada, generalmente de marcas comerciales. Las marcas de agua mineral embotellada más populares entre los autores son Żywiec Zdrój y Volvic, en las que generalmente varía el contenido de minerales. Algunas de las marcas con mayor distribución en comercios mexicanos son Sta. María, Agua de Piedra, Panna y Evian, que, a su vez, también muestran variaciones en la proporción de minerales (Tabla II). Además del agua mineral, algunos autores utilizan medios elaborados en laboratorio como el medio de Chalkey (Gabriel et al., 2007, Núñez et al., 2019) y el medio KCM (Suma, 2020).

La temperatura óptima promedio para el cultivo de diferentes géneros de Eutardigrada se encuentra entre los 14°C y 20°C (Roszkowska et al., 2021), mientras que para Heterotardigrada se recomienda una temperatura entre 20°C y 25°C (Momeni et al., 2022).

**Tabla II.** Comparación de minerales y pH de las marcas de agua mineral sin gas más utilizadas en cultivo de tardígrados (Żywiec Zdrój y Volvic) y las de mayor comercialización en México. Todos los valores están en miligramos/Litros. ND indica la falta de datos de ese parámetro. Información obtenida de las etiquetas.

	Żywiec Zdrój	Volvic	Sta. María	Evian	Agua de Piedra	Panna
<b>Calcio</b>	36,3	12	7,1	80	244	31,5
<b>Sulfatos</b>	ND	9	1	14	220	21,6
<b>Magnesio</b>	5,3	8	5	26	22	6,5
<b>Sodio</b>	7,8	12	8	6,5	25	6,5
<b>Bicarbonatos</b>	121,1	74	68	360	155	106
<b>Potasio</b>	ND	6	2,6	1	ND	0,8
<b>Silicatos</b>	ND	32	ND	15	ND	6,9
<b>Cloruros</b>	ND	15	1	10	28,4	7,3
<b>Nitratos</b>	ND	7,3	2	3,8	0,09	2,9
<b>pH</b>	ND	7	7,4	7,2	8	7,9

El fotoperiodo utilizado en laboratorio usualmente es de 12:12 horas de luz y oscuridad (Altiero y Rebecchi, 2001; Schill y Fritz, 2008; Schill, 2013; Kagoshima et al., 2013; Altiero et al., 2015; Lemloh et al., 2015), o completamente en oscuridad, aunque muchos autores no registran el fotoperiodo de sus cultivos. Roszkowska y colaboradores (2021) indican que el fotoperiodo puede ser irrelevante para muchos de estos animales ya que carecen de visión.

La mayoría de los estudios en los que se han cultivado eutardígrados se mantienen en humedad constante, manteniendo la actividad de los organismos por semanas, meses o años (Altiero y Rebecchi, 2001; Roszkowska et al., 2021; Momeni et al., 2022), sin embargo, Momeni y colaboradores (2022) proponen que en el caso de

Heterotardigrada, es importante tener un periodo de desecación parcial diaria, así como una desecación total periódica para imitar las condiciones ambientales en que los heterotardígrados se desarrollan.

### 2.3.2 Cultivos en Latinoamérica y México

El cultivo de tardígrados en México y Latinoamérica ha sido poco estudiado. El primer trabajo en este tema trata de tardígrados limnoterrestres de Brasil, donde se estudió una metodología para cultivar al género *Macrobiotus sp.*, que se cultivó con agua destilada y el alga *Chlorella vulgaris* en recipientes de plástico con una capa de agar en el fondo como sustrato (Meneghin y Pulschen, 2010).

Posteriormente, en 2019, Núñez y colaboradores lograron con éxito el cultivo de *Hypsibius dujardini* (Doyère, 1840) con agua potable como medio (aunque recomiendan utilizar el medio Chalkey) a temperatura ambiente, un sistema de aireación automatizado y alga *Spirulina sp.* como alimento, en una pequeña pecera de vidrio bajo luz tenue. Aunque la cepa de tardígrados procedía de cultivo previo de la compañía Carolina® Biological Supply, este es hasta la fecha el único protocolo publicado e implementado para el cultivo de tardígrados en México.

Finalmente, en 2021, Amórtegui Ayala presentó como trabajo de tesis de licenciatura la implementación de un protocolo de cultivo de Eutardigrada para el Laboratorio de Investigación de Biología en la Universidad del Bosque, en Bogotá, Colombia. En dicho trabajo, se cultivó a los tardígrados *Macrobiotus sp.*, *Milnesium sp.* e *Hypsibius sp.*, que se alimentaron con *Chlorella sorokiniana* y *Azospirillum*

*brasilense*, con dos diferentes temperaturas, y una mezcla de agua mineral y agua destilada como medio. En este trabajo, se determinó que la temperatura ambiente (20 °C – 23 °C) es adecuada para el mantenimiento de los cultivos, ya que a esta temperatura los tardígrados mostraron una mayor tasa de alimentación y mejor supervivencia, con una puesta de 13 huevos y el mantenimiento de su población inicial, mientras que a temperaturas más bajas la población disminuyó un 50%. Asimismo, se concluyó que la combinación de *C. sorokiniana* y *A. brasilense* como fuente de alimento favorece el mantenimiento de los tardígrados.

### 3. PERSPECTIVAS: IMPORTANCIA DE LOS TARDÍGRADOS EN ASTROBIOLOGÍA, BIOTECNOLOGÍA Y BIOMEDICINA

Una característica primordial que hace interesante el estudio de los tardígrados es su habilidad para enfrentar condiciones extremas: falta de oxígeno, sequía, radiación ionizante, presión, salinidad, temperatura, pH. Dado que los extremófilos se caracterizan por sobrevivir a uno de estos parámetros en un grado inusual, y los tardígrados pueden sobrevivirlos simultáneamente, son considerados como organismos poliextremófilos (Gagy-Palfy & Stoian, 2011; Goldstein, 2018).

El estudio de la resistencia de los tardígrados a condiciones extremas, aunque poco explorado en Latinoamérica y en el mundo en general, es clave para comprender su biología, fisiología, ecología y taxonomía. Además, tiene aplicaciones en disciplinas como la tardigradología (el estudio de los tardígrados), la biomedicina, la biotecnología, las ciencias ómicas y la astrobiología.

Específicamente en el campo de la astrobiología, que estudia el origen, evolución, distribución y futuro de la vida en la Tierra y el universo (Morrison, 2001), los tardígrados han sido clasificados como un organismo modelo (Suzuki, 2003; Horikawa, 2008b; Wilanowska et al., 2024). Esto debido a su capacidad de criptobiosis y la capacidad de mantener a salvo su material genético y sus células durante los periodos de estrés. Esto es posible en parte a varios factores como azúcares o proteínas especiales. Una de las azúcares implicadas es la trehalosa (Nguyen et al., 2022). Entre las proteínas implicadas en su resistencia se encuentran las TDPs (*Tardigrade Disordered Proteins*), que engloba a la proteína Dsup (*damage suppressor protein*), CAHS (*cytoplasmic abundant heat soluble protein*), MAHS (*mitochondrial abundant*

*heat soluble protein*) y SAHS (*secreted abundant heat soluble protein*), así como las LEAs (*late embryogenesis abundant proteins*) (Tabla I). Estas proteínas tienen diversas funciones, y se plantea que pueden ser muy útiles en biomedicina y farmacología, sobre todo por su potencial para permitir la desecación celular en la criptobiosis (Tabla I) (Kasianchuk et al., 2023).

**Tabla I.** Aplicaciones potenciales de moléculas de tardígrados en biomedicina y farmacología. Traducido de Kasianchuk y colaboradores (2023).

Grupo de proteínas		Aplicaciones biomédicas potenciales
(TDPs) Proteínas desordenadas de tardígrados	Dsup	Protección contra estrés oxidativo
		Protección contra la radiación
	CAHS	Preservación de enzimas
		Preservación de células
		Preservación de proteínas terapéuticas
		Nuevos agentes anti apoptóticos
		Diseño de plataformas de vacunas secas
	MAHS	Preservación de células
LEAs (Proteínas abundantes en la embriogénesis tardía)		Preservación y almacenamiento a largo plazo de células

Los tardígrados se han estudiado en varias ocasiones en ciencias espaciales (Erdmann y Kaczmarek, 2017; Jagadeesh et al., 2018) e incluso han sido trasladados

a la Estación Espacial Internacional para estudiar los efectos de la exposición al espacio en diferentes misiones y proyectos donde se ha estudiado su resistencia al vacío, radiación ionizante y microgravedad, así como sus mecanismos de protección de ADN (Rebecchi et al., 2009; Persson et al., 2011; Rizzo et al., 2015). Comprender estos mecanismos es crucial, ya que permiten a los tardígrados sobrevivir en condiciones extremas que serían letales para la mayoría de los organismos. Esto no solo ofrece información sobre los límites de la vida en la Tierra, sino que también tiene implicaciones en la búsqueda de vida en otros planetas y en el desarrollo de estrategias para la protección de biomoléculas y células en entornos espaciales.

El cultivo de tardígrados en laboratorio no solo garantiza la viabilidad de los organismos de estudio, sino que también son clave para profundizar en la comprensión de la adaptación y supervivencia de la vida en entornos extremos, con aplicaciones en Astrobiología y exploración espacial. Además, permitirá un mejor conocimiento de la taxonomía y ecología poblacional de las especies locales, promoviendo colaboraciones interdisciplinarias con áreas como la Biotecnología y las ciencias ómicas.

#### **4. HIPÓTESIS**

Las especies de Eutardigrada y Heterotardigrada presentes en Baja California compartirán, en general, requerimientos similares de cultivo con los descritos en la literatura. Sin embargo, podrían presentar variaciones debidas a las diferencias ecológicas de sus hábitats de origen, las cuales pueden influir en sus preferencias alimentarias y en las condiciones fisicoquímicas óptimas para su mantenimiento *in vitro*.

#### **5. OBJETIVOS**

##### **Objetivo general**

Evaluar y comparar metodologías existentes para el cultivo *in vitro* de especies de tardígrados (Eutardigrada y Heterotardigrada) presentes en Baja California, con el fin de identificar las más eficaces en términos de supervivencia y reproducción sostenida en condiciones controladas.

##### **Objetivos específicos**

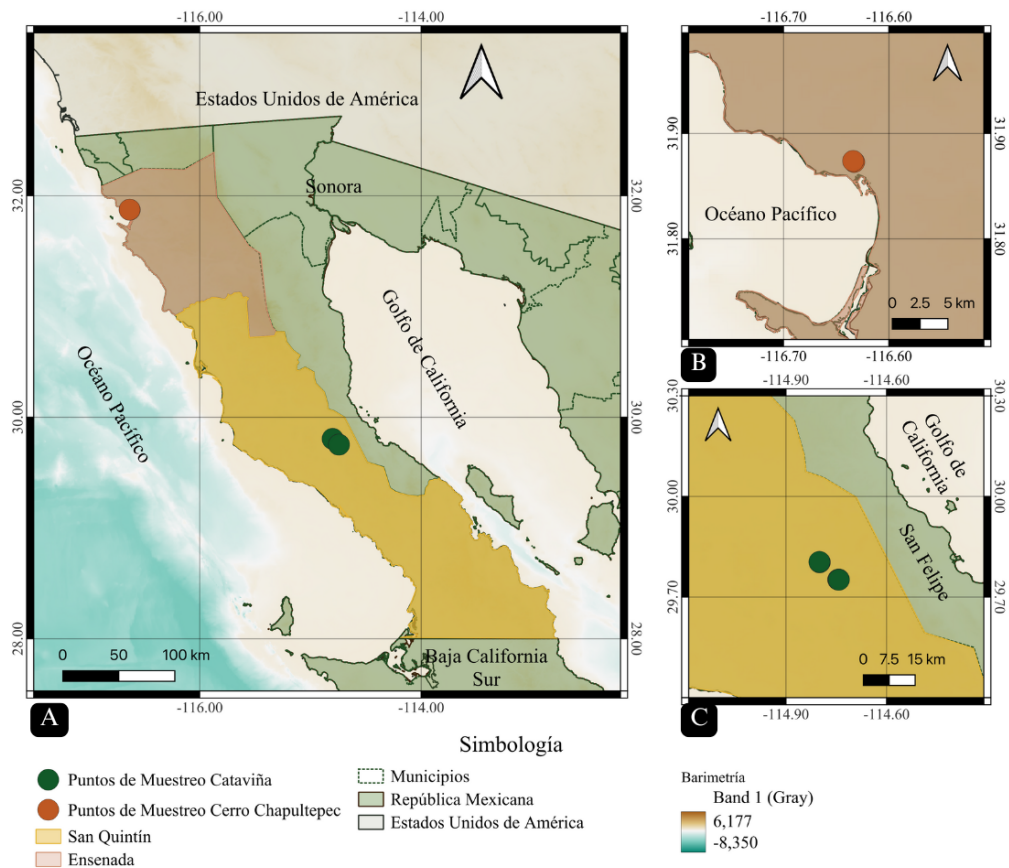
1. Analizar las preferencias alimentarias de distintas especies de tardígrados mediante la observación de su comportamiento trófico en condiciones de laboratorio.
2. Desarrollar y optimizar técnicas de cultivo que promuevan la reproducción de al menos dos especies identificadas en las salidas de campo, con evidencia de descendencia viable hasta la segunda generación (F2).

3. Establecer cultivos *in vitro* de tardígrados en reproducción continua (con F2 confirmada), como base para futuros ensayos bajo condiciones fisicoquímicas extremas.

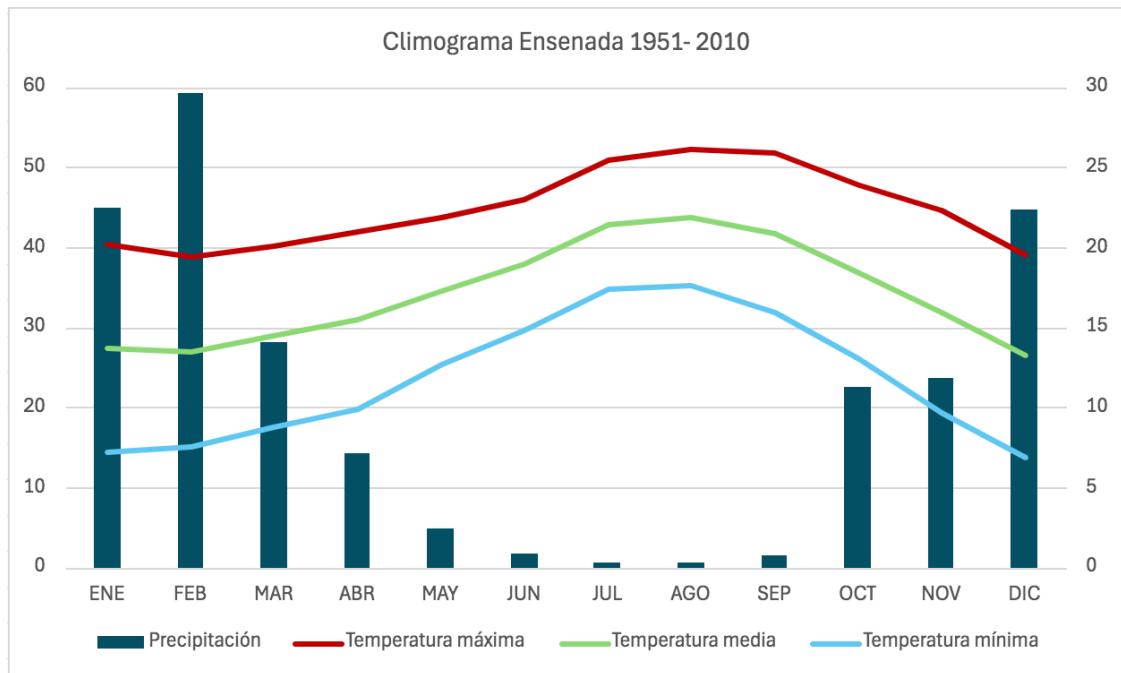
## **6. ÁREA GEOGRÁFICA DE ESTUDIO**

### **6.1 Cerro Chapultepec, Ensenada, Baja California**

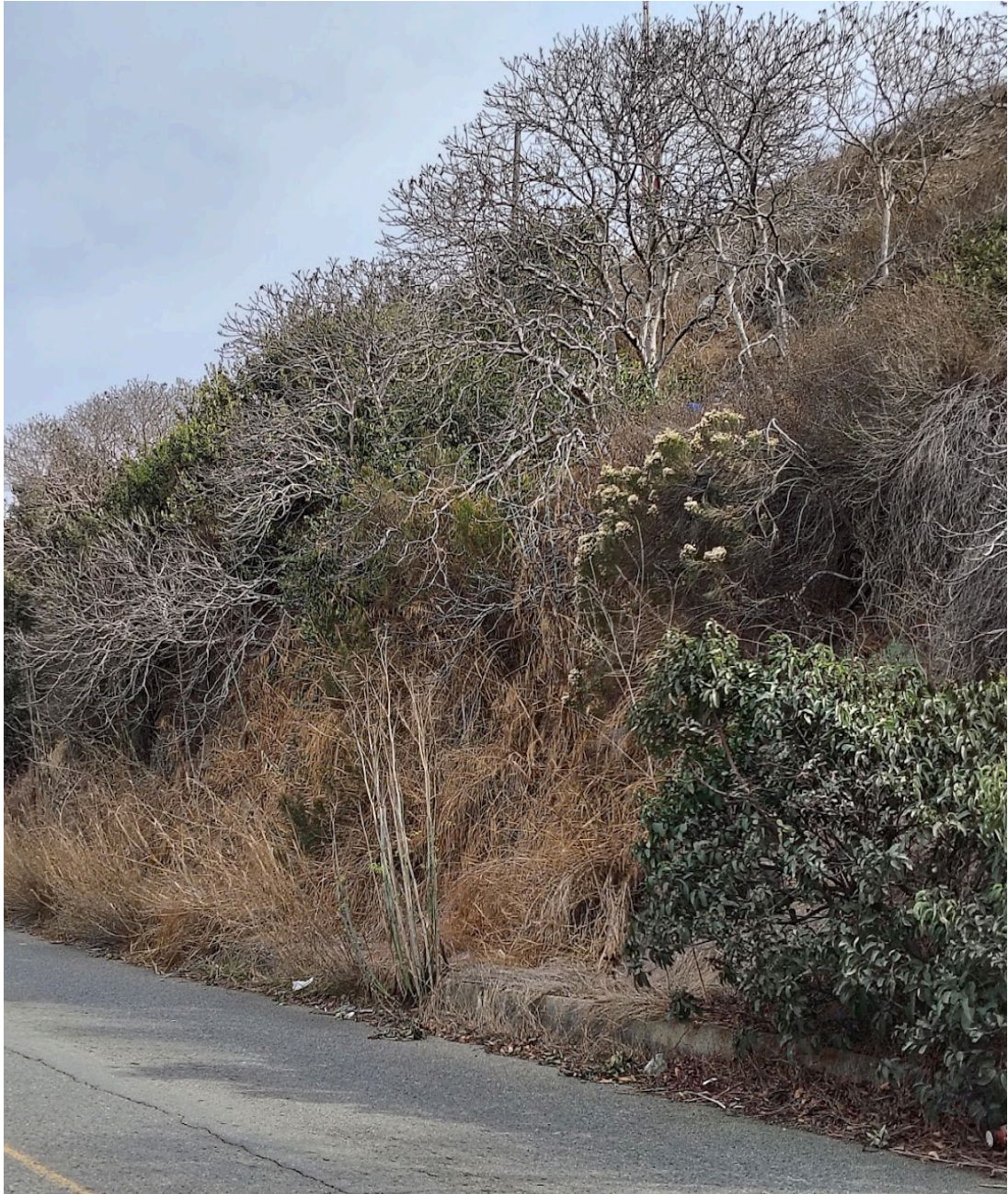
Ensenada es un municipio localizado en la región noroeste del estado de Baja California. Se encuentra en el piso bioclimático Termomediterráneo (Peinado et al., 1994), que cuenta con un clima semiárido caracterizado por temperaturas moderadas por largos periodos de sequía, y cortos periodos de lluvias invernales entre los meses de diciembre y febrero (Fig. 4). La vegetación en esta región está caracterizada por el matorral costero con formaciones de arbustos esclerófilos (Fig. 5) (Peinado et al., 1995; González-Abraham et al., 2010). El Cerro Chapultepec, en la zona suburbana de la ciudad, es una colina con un pronunciado efecto de ladera, en la que la cara norte presenta gran abundancia de arbustos y caídas de agua, que permiten crecer musgos y líquenes en el nivel del suelo (Fig. 6). En este trabajo se colectaron 28 muestras de musgos y líquenes de forma aleatoria en el área del Cerro Chapultepec (Figs. 3 y 6, Tabla III). Este muestreo fue posterior a la temporada de lluvias en la región, en marzo de 2023.



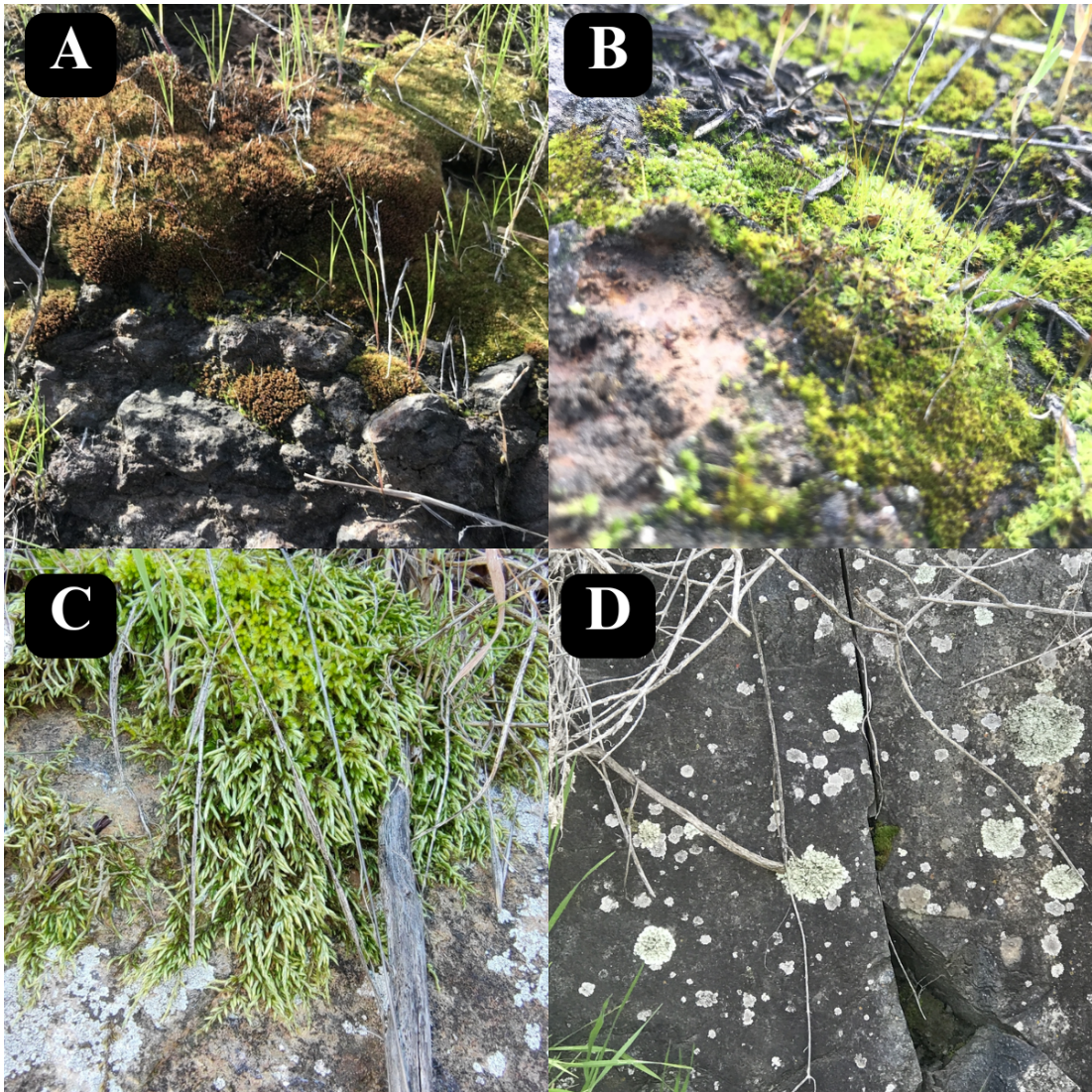
**Figura 3.** Zonas de muestreo de líquenes y musgos de Baja California. Los puntos indican las coordenadas de los muestreos correspondientes a la Tabla III. (A) Ubicación geográfica del Estado de Baja California. Ubicado en el noroeste de la República Mexicana, colinda al norte con Estados Unidos de América, al oeste con el Océano Pacífico, al este con el estado de Sonora y el Golfo de California, y al sur con el estado de Baja California Sur. (B) Acercamiento al área de estudio Cerro Chapultepec, ubicado en la ciudad de Ensenada. (C) Acercamiento al área de estudio Cataviña, ubicado en el municipio de San Quintín. Elaborado en el software QGIS 3.38.2 Grenoble, utilizando datos de INEGI (2024), ArcGis Hub (2024) y GEBCO Compilation Group (2024).



**Figura 4.** Climograma basado en los datos de la Estación 00002025 Ensenada (OBS) ( $31^{\circ}51'28''$  N,  $116^{\circ}36'21''$  W, altura 21.0 msnm) recolectados entre 1951 y 2010. Graficado de acuerdo con los datos normales climatológicos del Servicio Meteorológico Nacional (2024).



**Figura 5.** Paisaje del Cerro Chapultepec, ubicado en la zona semi urbana del municipio de Ensenada, Baja California. Presenta vegetación perteneciente a matorral costero, con arbustos esclerófilos. Fotografía capturada en diciembre de 2024.

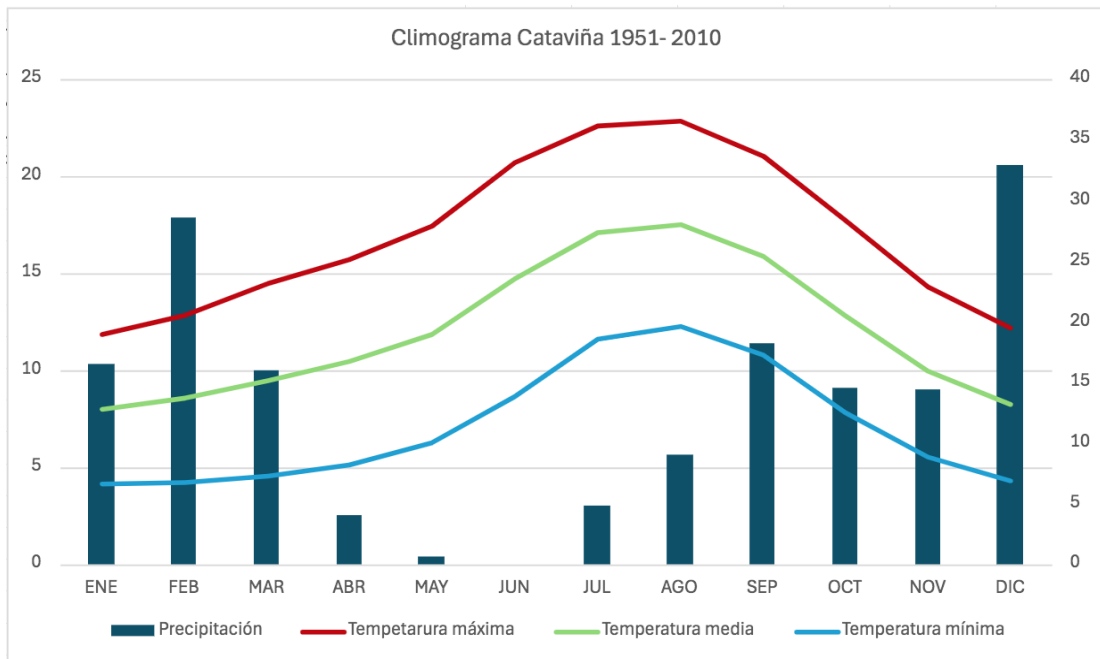


**Figura 6.** Musgos y líquenes muestreados en el Cerro Chapultepec. (A) *Syntrichia ruralis*, muestra 1; (B) *Tortula muralis* con esporofitos, muestra 4 (C) *Thuidium robustum*, muestra 8. (D) *Xanthoparmelia cumberlandia*, líquen adherido a roca, muestra 18. Fotografías tomadas con la aplicación Naturalista, (A), (B) y (D) por la usuaria Esther Elena Reyes Acosta, *estherera*, (C) por la usuaria Yosira Mariela García Rodríguez, *yosiragarcia*.

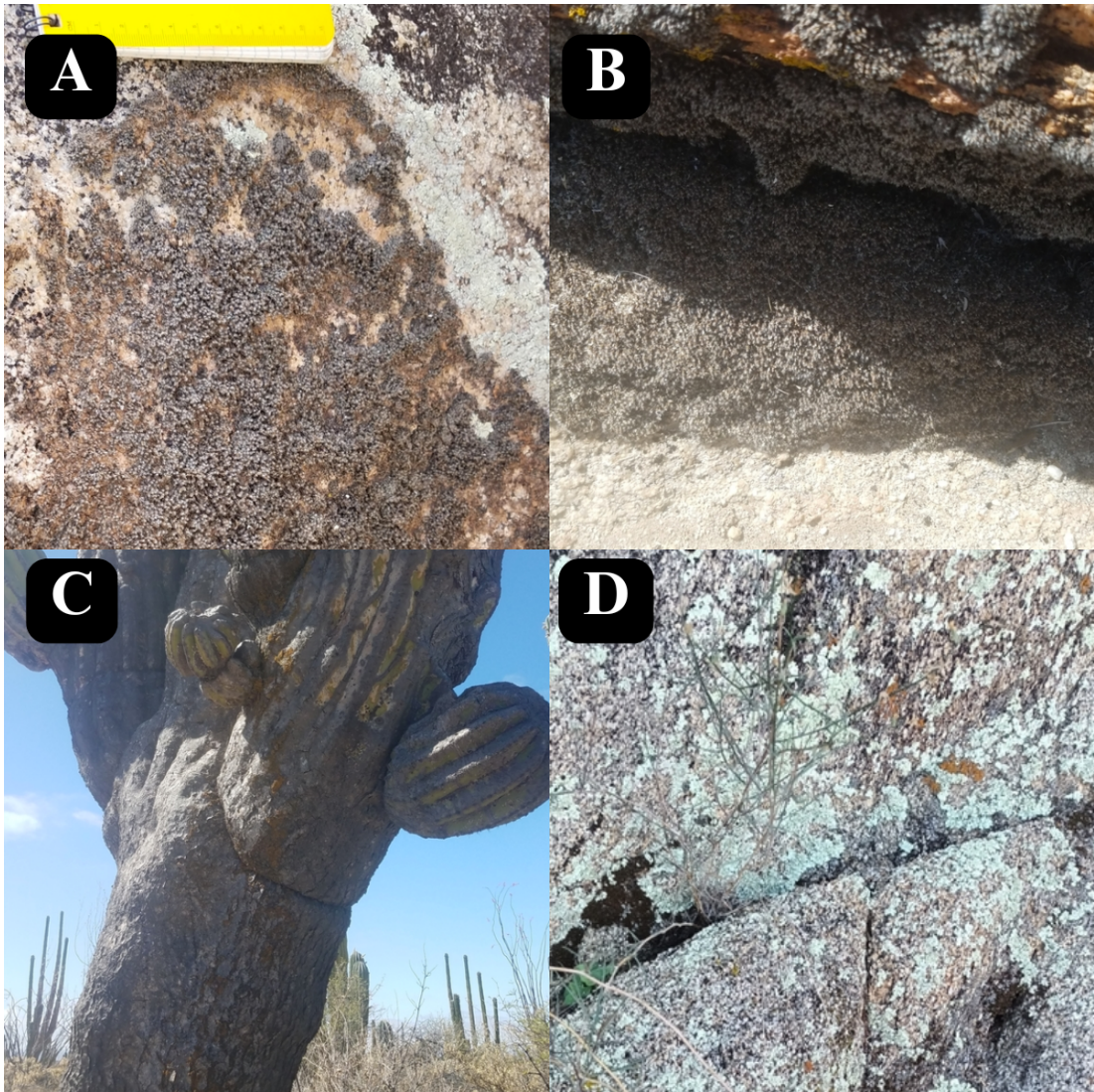
## **6.2 Cataviña, San Quintín, Baja California**

El desierto de Cataviña se ubica en la región de Vizcaíno, una de las subdivisiones del desierto sonorense (Peinado et al., 1994b). Se encuentra en el piso bioclimático Mesotropical, presentando un clima mayoritariamente árido, con precipitaciones que se dan principalmente entre diciembre y febrero, y el resto durante los meses de otoño (García, 2004) (Fig. 7). Adicionalmente, esta región presenta nieblas frecuentes, mismas que influyen la presencia de líquenes y epífitas (Gonzalez-Abraham, 2010). Los líquenes presentes se encuentran incrustados a rocas graníticas, o adheridos a formas vegetativas como cactáceas con tallos lignificados (Fig. 8). Esta región está caracterizada como matorral sarcocaulé, donde abundan formas vegetales arbustivas y grandes cactáceas de troncos gruesos. (Fig. 9).

En mayo de 2022 se colectaron cinco muestras de musgos y líquenes de forma aleatoria en el desierto de Cataviña, y posteriormente otro muestreo donde se colectaron 10 muestras aleatoriamente en diciembre de 2023 (Tabla III, Fig. 8).



**Figura 7.** Climograma basado en los datos de la Estación 00002051 San Luis Baja California ( $29^{\circ}43'38''$  N,  $114^{\circ}42'39''$  W, altura 480.0 msnm) recolectados entre 1951 y 2010. Graficado de acuerdo con los datos normales climatológicos del Servicio Meteorológico Nacional (2024).



**Figura 8.** Musgos y líquenes colectados en el Desierto de Cataviña. A. *Syntrichia* cf. *caninervis* expuesto a la luz solar, sobre suelo arenoso, muestra 2; B. *Syntrichia* cf. *caninervis*, adherido a suelo arenoso y roca granítica, sombra parcial, muestra 3; C. líquen costroso adherido a corteza esclerificada de cardón *Pachycereus pringlei*, muestra 4; D. Líquen costroso adherido a roca, muestra 2. Fotografías tomadas con la aplicación Naturalista. (A), (B) y (C) por la usuaria Yosira Mariela García Rodríguez, *yosiragarcia*, (D) por el usuario Carlos Eduardo Nieto Durán, *charlieend*.



**Figura 9.** Paisaje en Cataviña, localidad en el municipio de San Quintín. Perteneciente a la Reserva de la Biosfera Valle de los Cirios, presenta principalmente vegetación sarcocaulé. Fotografía capturada en mayo de 2022.

**Tabla IIIa.** Muestreos efectuados durante los años 2022 y 2023 en las localidades Cerro Chapultepec y Cataviña.

Fecha	Localidad	Número de Muestra	Tipo de muestra	Coordenadas
07/03/23	Chapultepec	1	Musgo	31.873, -116.633
07/03/23	Chapultepec	2	Musgo	31.874, -116.634
07/03/23	Chapultepec	3	Musgo	31.874, -116.634
07/03/23	Chapultepec	4	Musgo	31.874, -116.634
07/03/23	Chapultepec	5	Musgo	31.874, -116.634
07/03/23	Chapultepec	6	Musgo	31.874, -116.634
07/03/23	Chapultepec	7	Musgo	31.874, -116.634
07/03/23	Chapultepec	8	Musgo	31.874, -116.634
07/03/23	Chapultepec	9	Musgo	31.874, -116.634
07/03/23	Chapultepec	10	Musgo	31.874, -116.635
07/03/23	Chapultepec	10.1	Liquen/Musgo	31.874, -116.635
07/03/23	Chapultepec	11	Liquen	31.873, -116.633
07/03/23	Chapultepec	12	Musgo	31.873, -116.633
07/03/23	Chapultepec	13	Liquen	31.873, -116.633
07/03/23	Chapultepec	13,1	Liquen/Musgo	31.873, -116.633
07/03/23	Chapultepec	13,2	Musgo	31.873, -116.633
07/03/23	Chapultepec	14	Liquen/Musgo	31.873, -116.633
07/03/23	Chapultepec	14,1	Musgo	31.873, -116.633
07/03/23	Chapultepec	14,2	Liquen	31.873, -116.633
07/03/23	Chapultepec	15	Musgo	31.873, -116.633
07/03/23	Chapultepec	15,1	Liquen	31.873, -116.633
07/03/23	Chapultepec	16	Liquen/Musgo	31.873, -116.631
07/03/23	Chapultepec	17	Musgo	31.873, -116.631
07/03/23	Chapultepec	17,1	Musgo	31.873, -116.631

**Tabla IIIb.** Muestreos efectuados durante los años 2022 y 2023 en las localidades

Cerro Chapultepec y Cataviña.

Fecha	Localidad	Número de Muestra	Tipo de muestra	Coordenadas
07/03/23	Chapultepec	17,2	Musgo	31.873, -116.631
07/03/23	Chapultepec	18	Liquen	31.873, -116.632
07/03/23	Chapultepec	19	Liquen	31.873, -116.632
21/05/2022	Cataviña	1	Musgo	29.80391, -114.79897
21/05/2022	Cataviña	2	Musgo	29.80353, -114.79945
21/05/2022	Cataviña	3	Musgo	29.80327, -114.79987
21/05/2022	Cataviña	4	Liquen	29.80216, -114,80122
21/05/2022	Cataviña	5	Musgo	29.80495, -114.80021
22/12/2023	Cataviña	2	Liquen	29.75171, -114.74431
22/12/2023	Cataviña	3	Musgo	29.75169, -114.74410
22/12/2023	Cataviña	4	Liquen	29.75221, -114.74240
22/12/2023	Cataviña	5	Musgo	29.75233, -114,74228
22/12/2023	Cataviña	6	Musgo	29.75221, -114.74257
22/12/2023	Cataviña	7	Liquen/Musgo	29.75187, -114.74358
22/12/2023	Cataviña	8	Liquen/Musgo	29.75224, -114.74302
22/12/2023	Cataviña	9	Musgo	29.75185, -114,74295
22/12/2023	Cataviña	10	Musgo	29.75130, -114,74222

## **7. METODOLOGÍA**

### **7.1 Colecta y procesamiento de las muestras**

Los musgos y líquenes colectados se guardaron en bolsas de papel estraza desde el momento de la colecta hasta la rehidratación. Estas bolsas se etiquetaron con nombre de la localidad, fecha, número de muestra, coordenadas, tipo de muestra (musgo, líquen, o musgo y líquen), tipo de ecosistema y nombre del recolector. Todas las muestras fueron almacenadas en cajas de cartón en el Laboratorio de Astrobiología, en el Instituto de Astronomía de la Universidad Nacional Autónoma de México, en Ensenada, Baja California.

Se tomó un centímetro cúbico de cada muestra (contando sedimento y el musgo o líquen) para su observación en estereoscopio. Estas porciones se remojaron en agua mineral Sta. María® durante 24 horas a temperatura ambiente en cajas de Petri de vidrio de 90 mm. Una vez pasadas las 24 horas, se retiró el musgo o líquen exprimiendo el exceso de agua de estos, y se filtraron con un colador de acero inoxidable. Los tardígrados fueron extraídos manualmente con ayuda de una pipeta de transferencia de plástico, y colocados en una caja de Petri de plástico limpia. La extracción se llevó a cabo confirmado los pasos mediante observación con el estereoscopio (Konus Crystal-45).

## **7.2 Montaje de los organismos**

Para facilitar su observación y obtener más información para su correcta identificación, los tardígrados encontrados fueron fijados y montados en portaobjetos para su posterior observación en microscopio óptico (Leica® DM750). Primero, los tardígrados se colocaron en un vidrio de reloj con agua potable. Después, se aplicó calor con un encendedor para generar un aumento repentino de la temperatura, lo que provocó una modificación en las proteínas de los organismos, manteniéndolos turgentes, permitiéndonos una mejor identificación de los ejemplares. El agua se retiró cuidadosamente, y los tardígrados fueron trasladados al portaobjetos con ayuda de una pipeta de plástico. Se retiró el exceso de agua con un trocito de papel servilleta humedecido previamente. Se agregó una gota de alcohol polivinílico (PVA) sobre los tardígrados. Se colocó un cubreobjetos y viendo a través del microscopio se acomodó cada uno con ayuda de una aguja, hasta lograr la posición deseada, idealmente una vista dorsal o ventral.

## **7.3 Identificación de las muestras**

Los tardígrados encontrados fueron identificados a nivel género y en algunos a nivel especie, observando características anatómicas y morfológicas con un microscopio óptico Leica® DM750, con base a las claves taxonómicas (Guidetti y Bertolani, 2005; Pilato y Binda, 2010; Meier et al., 2019) y la literatura específica de algunos géneros (Pilato et al., 2007; Nelson et al., 2020; Guidetti et al., 2022; Momeni et al., 2023).

Los tardígrados del Cerro Chapultepec fueron procesados en un proyecto alterno a cargo de la Dra. Patricia G. Núñez en colaboración entre el Laboratorio de Astrobiología IA-UNAM, Ensenada, Baja California, y Łukasz Michalczyk's Lab, Jagellionian University, Cracovia, Polonia, donde se realizó trabajo molecular para la identificación de ejemplares adultos y huevos.

Los musgos se identificaron con ayuda de claves dicotómicas y bibliografía específica (Norris y Shevock, 2004; Delgadillo et al., 2022, Reyes-Acosta, 2024).

#### **7.4 Cultivo de alga *Chlorella vulgaris***

El cultivo de la microalga *Chlorella vulgaris* (50 ml) fue donado por el Laboratorio de Biotecnología de Algas del Centro de Investigación Científica y Educación Superior de Ensenada (CICESE).

Las soluciones de fertilizante Bayfolan® sólido (% peso/peso: N 24.00%, Ca 0.020%, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 17.00%, Mg 0.025%, K<sub>2</sub>O 13.00%, Cu 0.025%, S 0.20%, Co 0.005%, Fe 0.10%, Mo 0.0025%, Zn 0.10%, Clorhidrato de tiamina 0.0040%, Mn 0.05%, Ácido indol acético 0.0030%, B 0.04%) se prepararon en tres concentraciones diferentes para evaluar cuál sería más eficaz para mantener el cultivo. La concentración 1 al 0.5% (1.25 gr Bayfolan® sólido/250 ml agua destilada), la concentración 2 al 0.75% (1.87 gr Bayfolan® sólido/250 ml agua destilada), y la concentración 3 al 1.0% (2.5 gr Bayfolan® sólido/250 ml agua destilada). Una vez agregado el soluto al agua destilada, se agitó por 5 minutos a 530 rpm en termoplato a temperatura ambiente. Tras su preparación, cada solución se esterilizó en autoclave

quirúrgico electrónico (Lorma® Modelo AV07) en el programa 2 (132°C por 15 minutos, con presión de 2.2 a 2.4 kg/cm<sup>2</sup> y secado de 30 minutos).

Posteriormente se prepararon tres medios de cultivo con cada concentración (0.5%, 0.75% y 1.0%), combinando 50 ml de fertilizante por cada 200 ml de agua destilada. Cada medio se preparó en un frasco de vidrio lavado previamente con agua clorada y enjuagado con agua destilada. En cada frasco se agregaron 15 ml de algas *Chlorella vulgaris* por cada 300 ml de medio. Estas se mantuvieron a una temperatura ambiente (23±3°C), expuestas a la luz solar indirecta durante el fotoperiodo natural de los meses de abril, mayo y junio (aproximadamente 12 horas de oscuridad, 12 horas de luz). Además, se realizaron réplicas a partir del cultivo con el fertilizante de concentración 2 (0.75%), siguiendo la nueva proporción de 50 ml de algas, 50 ml de fertilizante y 200 ml de agua destilada.

### **7.5 Preparación de agar KCM para crecimiento de musgos**

Se preparó gel de agarosa al 1.2% con solución KCM (KCl, CaCl y MgSO<sub>4</sub>). Para la elaboración de la solución KCM se mezclaron 8 mg de KCl, 7 mg de CaCl y 8 mg de MgSO<sub>4</sub> en un litro de agua destilada. Esta solución se almacenó en una botella de plástico transparente previamente lavada con agua y jabón, con un enjuague final de agua destilada. Se prepararon 100 ml de solución KCM con 1.2 g de agar en un vaso de precipitado de 250 ml, utilizando termoplato a 130°C y 230 rpm con agitador magnético. Posteriormente fue esterilizado en autoclave quirúrgico electrónico

(Lorma® Modelo AV07) en el programa 2 (132°C por 15 minutos, con presión de 2.2 a 2.4 kg/cm<sup>2</sup> y secado de 30 minutos).

Además, se lavaron las cajas de Petri de plástico de 35, 50 y 90 milímetros. Se agregó una capa de agar a cada una de las cajas y se dejó gelificar.

Los musgos de las muestras colectadas en la zona de Cerro Chapultepec fueron hidratados con agua Sta. María® por 24 horas. Pasado este tiempo se tomaron gametofitos con ayuda de pinzas. Estos se colocaron en una caja de Petri de vidrio de 50 mm y se lavaron con agua destilada para eliminar el exceso de sustrato adherido. Posteriormente fueron agregados 4 gametofitos a cada caja de Petri de 35 mm utilizando pinzas colibrí y se introdujo el rizoide de cada gametofito en el agar, dejando expuestas las hojas. El mismo procedimiento se realizó en las cajas de 50 y 90 milímetros con musgo colectado en la zona de Cataviña.

Cada caja fue rociada con agua mineral (Sta. María®) diariamente y expuesta a un fotoperiodo 12:12 durante aproximadamente un mes previo al cultivo de los tardígrados. Las cajas fueron mantenidas a una temperatura ambiente promedio de 23±3°C y las cajas que no fueron utilizadas se les agregó agua mineral hasta el momento de colocar los tardígrados.

## **7.6 Cultivo de *Paramacrobotus gadabouti* y *Macrobotus hufelandi* (Familia Macrobotidae)**

Se aislaron 60 especímenes de las especies *Paramacrobotus gadabouti* y *Macrobotus hufelandi*, recolectados tras la hidratación de musgos colectados en la

zona Cerro Chapultepec (muestras #1, #2, #3, #4, #6, #12, #13.2, #14.1, #15). Inicialmente se colocaron en una caja de Petri de vidrio de 50mm con agua mineral Sta. María y los detritus de las muestras como alimento. Esto se mantuvo hasta recolectar 60 individuos. Posteriormente, en cada una de las 3 cajas de Petri de plástico de 35x10mm, se colocaron 20 tardígrados. Las cajas de Petri fueron rayadas con una aguja de disección para crear surcos que faciliten la tracción de los tardígrados a manera de sustrato y se agregó agua mineral Sta. María® como medio. Las cajas se mantuvieron cerradas para mantener evitar la evaporación del medio, y estas a su vez se colocaban en una caja de Petri de 90x15mm para poder manejarlas fácilmente. Además, se añadieron rotíferos y nemátodos propios de la muestra y la microalga *Chlorella vulgaris* como alimento. Los cultivos se mantuvieron a una temperatura constante de 9°C en un refrigerador. El fotoperiodo se estableció a oscuridad constante, únicamente exponiéndose a la luz cuando se revisaban en estereoscopio.

Otros 20 tardígrados de las mismas especies se mantuvieron con las mismas condiciones de medio, sustrato, alimentación y fotoperiodo, con una temperatura de 13°C, y 20 ejemplares más con una temperatura de 26°C.

En cada tratamiento se realizaron cambios de medio cada 3 días para mantener los cultivos frescos.

Los tardígrados fueron contados todos los días durante quince días, evaluando el número de tardígrados presentes, número de tardígrados activos e inactivos, número de huevos y comportamiento alimentario.

### **7.7 Cultivo de *Milnesium tardigradum***

Se aislaron 10 especímenes *Milnesium tardigradum* extraídos de la muestra #18 recolectada en la zona del Cerro Chapultepec y se colocaron una caja de Petri de plástico de 35x10mm. El fondo de la caja de Petri fue rayado con una aguja de disección para crear surcos que faciliten la tracción de los tardígrados a manera de sustrato. Se añadió agua mineral Sta. María® como medio, y las cajas se mantuvieron cerradas para mantener evitar la evaporación del medio, dentro de una caja de Petri plástico de 90x10mm, para facilitar su manipulación. Se agregaron rotíferos y nematodos (*ad libitum*) propios de la muestra como alimento. Los cultivos se mantuvieron a una temperatura ambiente de  $23\pm 3^{\circ}\text{C}$ . El fotoperiodo se estableció a 12 horas de oscuridad y 12 horas de luz. Se realizaron cambios de medio cada semana, y los tardígrados fueron contados todos los días durante quince días, evaluando el número de tardígrados presentes, número de tardígrados activos e inactivos, presencia o ausencia de huevos y comportamiento alimentario.

### **7.8 Cultivo de *Viridiscus viridianus***

Se aislaron 7 individuos de *Viridiscus viridianus* de musgos y líquenes recolectados en el matorral sarcocaula de Cataviña (muestra #2 de liquen, colectada en 2023). Se colocaron todos los tardígrados en una caja de Petri de plástico de 50X10mm con agar y musgo como sustrato, y se añadió una película de 2 ml de agua mineral Sta. María como medio. El alga *Chlorella vulgaris* se ofreció como alimento, adicional al musgo presente. Los cultivos se mantuvieron a una temperatura ambiente de  $23\pm 3^{\circ}\text{C}$

y el fotoperiodo se estableció a 12 horas de oscuridad y 12 horas de luz. Debido a que en el cultivo de heterotardígrados es fundamental mantener periodos de humedad y desecación (Momeni et al., 2022), durante 10 días se roció cada caja con agua mineral una vez al día, posteriormente se dejó secar completamente por 3 días. Para esto se utilizaron cajas de Petri con tapas ventiladas, permitiendo la evaporación del medio diariamente. Este ciclo de relación humedad y desecación se mantuvo constante durante la duración del cultivo. Los tardígrados fueron contados todos los días durante quince días, evaluando el número de tardígrados presentes, número de tardígrados activos e inactivos, número de huevos y comportamiento alimentario.

### **7.9 Cultivo de *Ramazzottius sp.***

Se aislaron cinco tardígrados extraídos de un líquen costroso adherido a la corteza de tronco del cardón *Pachycereus pringlei*, en el matorral sarcocaulé de Cataviña (muestra #4 colectada en 2022). Los tardígrados extraídos se colocaron en una caja de Petri de plástico de 35x10mm, donde se cultivó previamente el musgo *Syntrichia ruralis* en agar KCM, lo cual sirvió como sustrato para los animales. Se agregó agua mineral Sta. María® como medio. Como alimento, se añadió el alga *Chlorella vulgaris*. El cultivo se mantuvo a una temperatura constante de  $23\pm 3^{\circ}\text{C}$ . Se mantuvo en oscuridad principalmente, exponiéndose a la luz únicamente al momento de revisarlo bajo el estereoscopio.

Se realizó un cambio de medio acuoso cada 3 días, y los tardígrados fueron monitoreados diariamente durante quince días, evaluando el número de tardígrados

presentes, número de tardígrados activos e inactivos, número de huevos y comportamiento alimentario.

### **7.10 Cultivo de *Hypsibius exemplaris***

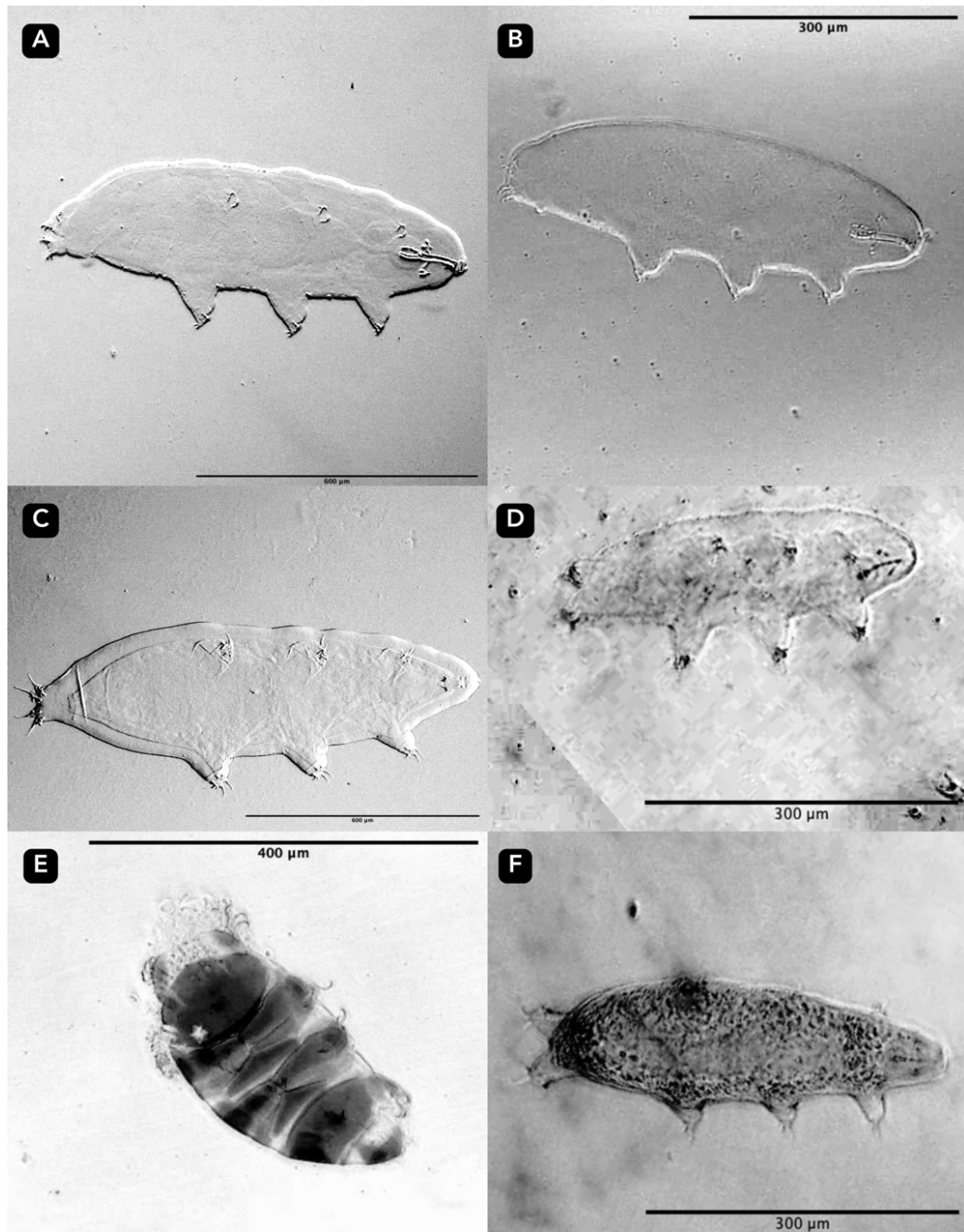
Como control, se aislaron 20 tardígrados de la especie *Hypsibius exemplaris* de un cultivo preexistente, proveniente de Carolina® Biological Supply. Los ejemplares se colocaron en una caja de Petri plástica de 35x10mm con el fondo rayado como sustrato para facilitar la tracción de los animales. Se agregó agua mineral Sta. María® como medio de cultivo, y alga *Chlorella vulgaris* como alimento. Este cultivo se mantuvo en refrigeración a una temperatura de 9°C, con un periodo de oscuridad de 20 horas, y 4 horas bajo la luz de una lámpara LED, a 20°C. Se realizó un cambio de medio cada 3 días, y se monitoreó la actividad durante 21 días, evaluando el número de tardígrados presentes, número de tardígrados activos e inactivos, número de huevos y comportamiento alimentario.

## 8. RESULTADOS

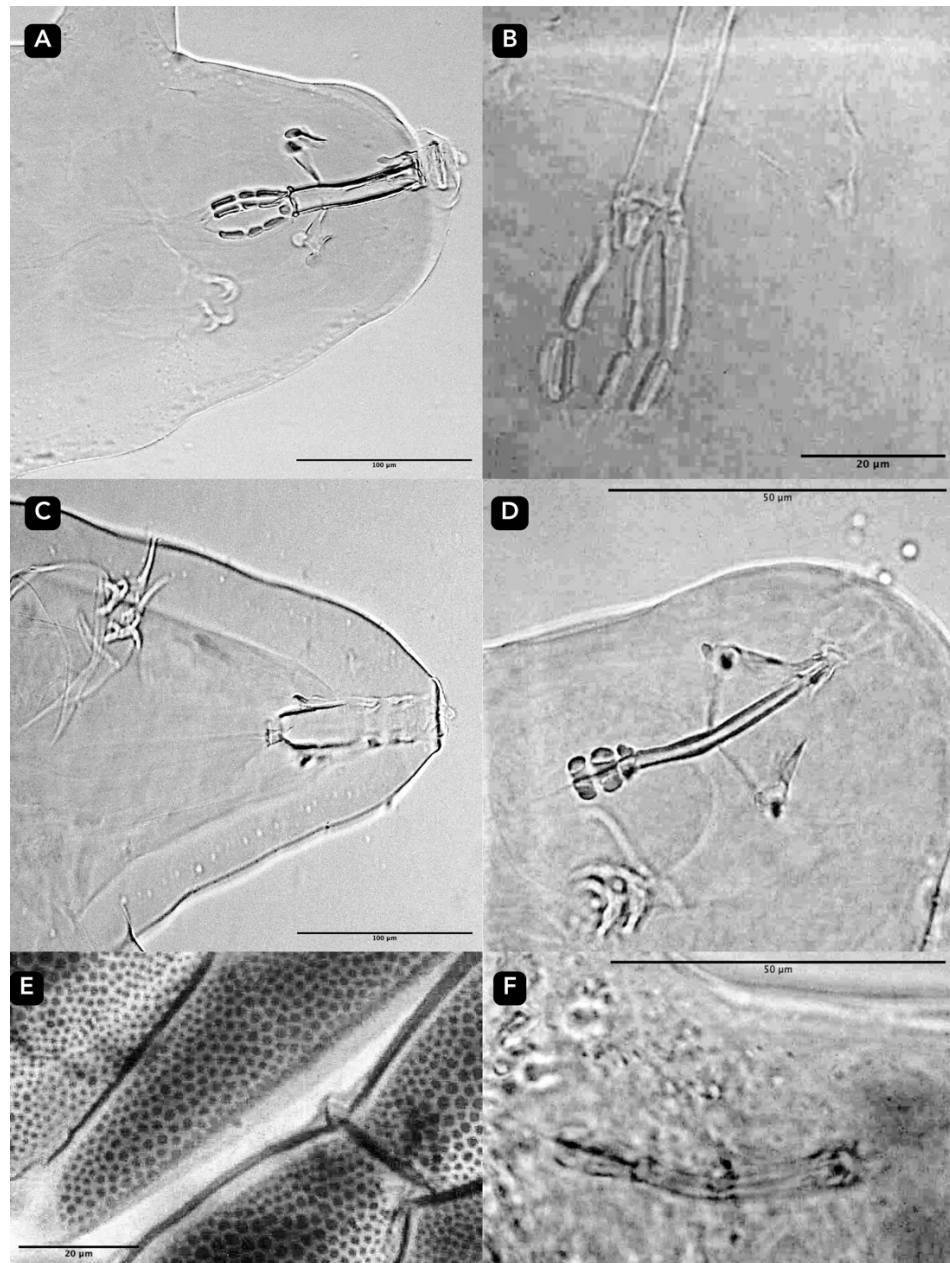
### 8.1 Identificación de los organismos

Los tardígrados fijados en laminillas fueron identificados a nivel género, y cuando fue posible, especie. Se encontraron tardígrados pertenecientes a los géneros *Paramacrobiotus gadabouti (richtersi)*, *Macrobiotus hufelandi.*, *Milnesium tardigradum.*, *Ramazzottius sp.* y *Viridiscus viridianus.* La especie *Hypsibius exemplaris*, utilizada como control, también se fijó en laminilla como referencia (Fig. 10, Fig. 11).

Los tardígrados *Paramacrobiotus gadabouti (richtersi)*, *Macrobiotus hufelandi*, y *Milnesium tardigradum* fueron encontrados en musgos y líquenes de Cerro Chapultepec, *Viridiscus viridianus* y *Ramazzottius sp.* en musgos y líquenes de Cataviña (Tabla IV).



**Figura 10.** Tardígrados identificados empleados en los cultivos del trabajo. (A) *Paramacrobotus gadabouti* (B) *Macrobotus hufelandi* (C) *Milnesium tardigradum* (D) *Ramazzottius sp* (E) *Viridiscus viridianus* (F) *Hypsibius exemplaris*. Figuras A y C cortesía de Esther E. Reyes Acosta.



**Figura 11.** Algunos de los caracteres que permiten la identificación de los tardígrados presentes en esta investigación. (A) Aparato bucofaringeo de *Paramacrobiotus gadabouti* (B) Aparato bucofaringeo de *Macrobiotus* grupo *hufelandi* (C) Aparato bucofaringeo y garras en el primer par de patas de *Milnesium tardigradum* (D) Aparato bucofaringeo de *Ramazzottius* sp. (E) Patrón de gránulos en las placas dorsales de *Viridiscus viridianus* (F) Aparato bucofaringeo de *Hypsibius exemplaris*. Figuras A y C cortesía de Esther E. Reyes Acosta.

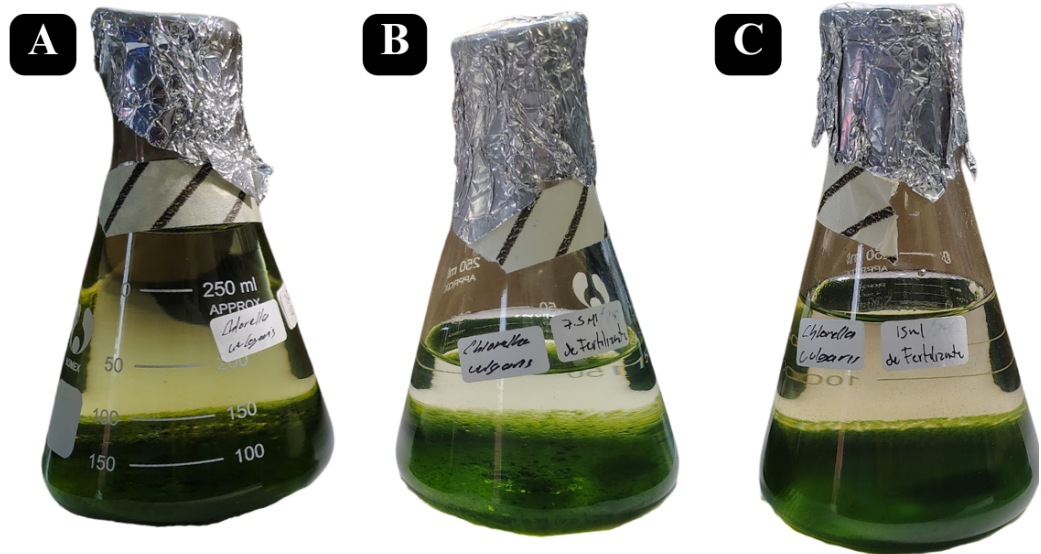
**Tabla IV.** Géneros y especies identificados a través de claves dicotómicas (Guidetti y Bertolani, 2005; Pilato y Binda, 2010; Meier et al., 2019), literatura específica (Pilato et al., 2007; Nelson et al., 2020; Guidetti et al., 2022; Momeni et al., 2023) y localidad.

Género y especie	Localidad
<i>Paramacrobotus gadabouti</i>	Cerro Chapultepec
<i>Macrobotus hufelandi</i>	Cerro Chapultepec
<i>Milnesium tardigradum</i>	Cerro Chapultepec
<i>Ramazzottius sp</i>	Cataviña
<i>Viridiscus viridianus</i>	Cataviña

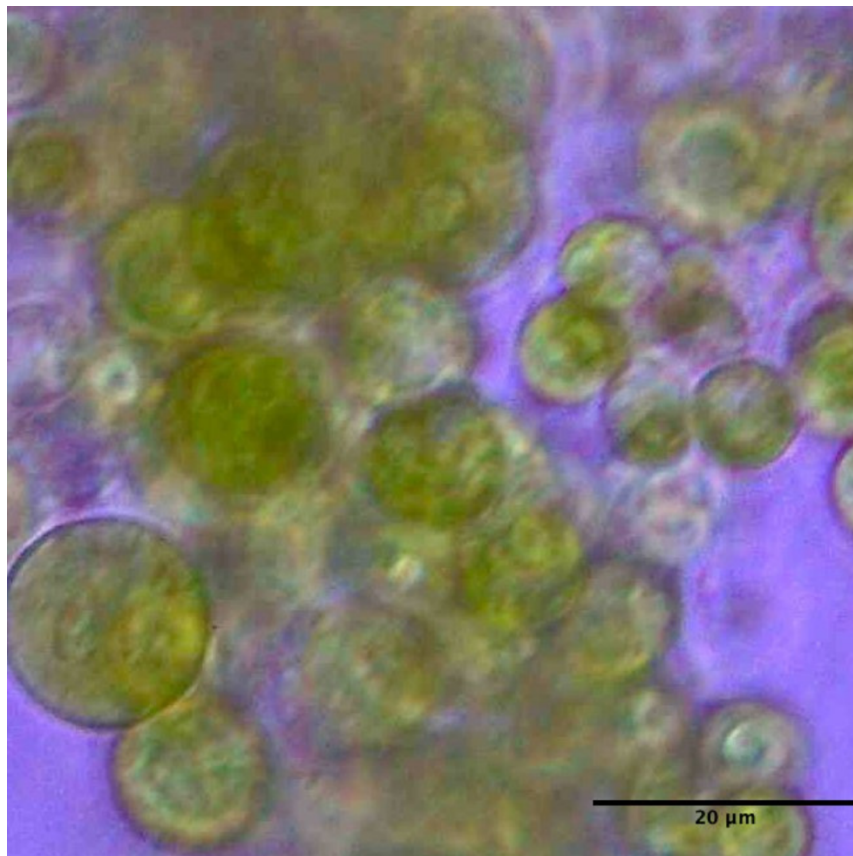
Los musgos fueron identificados como *Syntrichia ruralis*, *Tortula muralis* y *Thuidium robustum*, en la localidad Cerro Chapultepec, Ensenada. El musgo presente en Cataviña, San Quintín, se identificó como *Syntrichia cf. caninervis*.

## 8.2 Cultivo de alga *Chlorella vulgaris*

Tras un mes con los tratamientos de Bayfolan® sólido, los recipientes con preparación para el cultivo de microalgas con diferentes concentraciones del fertilizante (0.5%, 0.75% y 1.0%) se observó un cambio prominente en la coloración del fondo de los frascos a un tono verde intenso, lo que indica la presencia de células del alga *C. vulgaris* (Fig. 12). Esta coloración incrementó gradualmente en los tres tratamientos, lo que sugiere una óptima adaptación al medio de cultivo utilizado. Se sugiere que hubo un incremento en la densidad de células de *C. vulgaris* tras observación con microscopía óptica (Fig. 13).



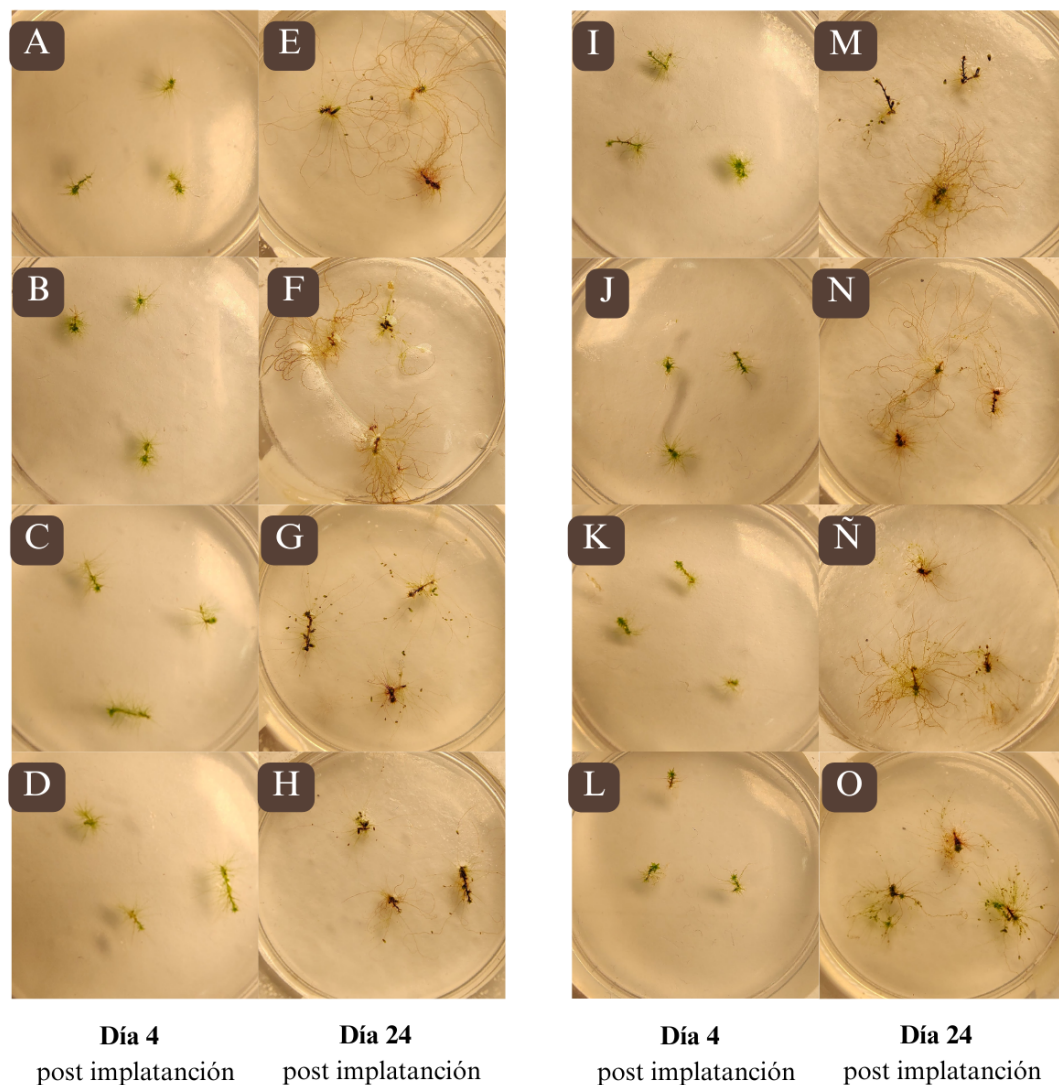
**Figura 12.** Cultivos iniciales de la microalga *Chlorella vulgaris*. (A) Concentración 0.5% (B) Concentración 0.75% (C) Concentración 1.0%. En los tres casos se observa un crecimiento evidente en el fondo de los matraces.



**Figura 13.** Microalgas *Chlorella vulgaris* observadas con microscopio óptico Leica® DM750 y fotografiadas con la cámara Leica® ICC50 W.

### **8.3 Crecimiento de musgos en agar KCM**

Se observó un crecimiento de los musgos en el agar KCM, durante el mes de observación, se registró el crecimiento de protonema y brotes de musgo extendiéndose a partir de cada gametofito implantado (Fig. 14). En muestras donde el grosor del gel de agar KCM fue más delgado, la deshidratación provocó desprendimiento y formación de burbujas entre el gel y el plástico (Fig. 14F), por lo que esas cajas fueron desechadas por la mayor probabilidad de contaminación.



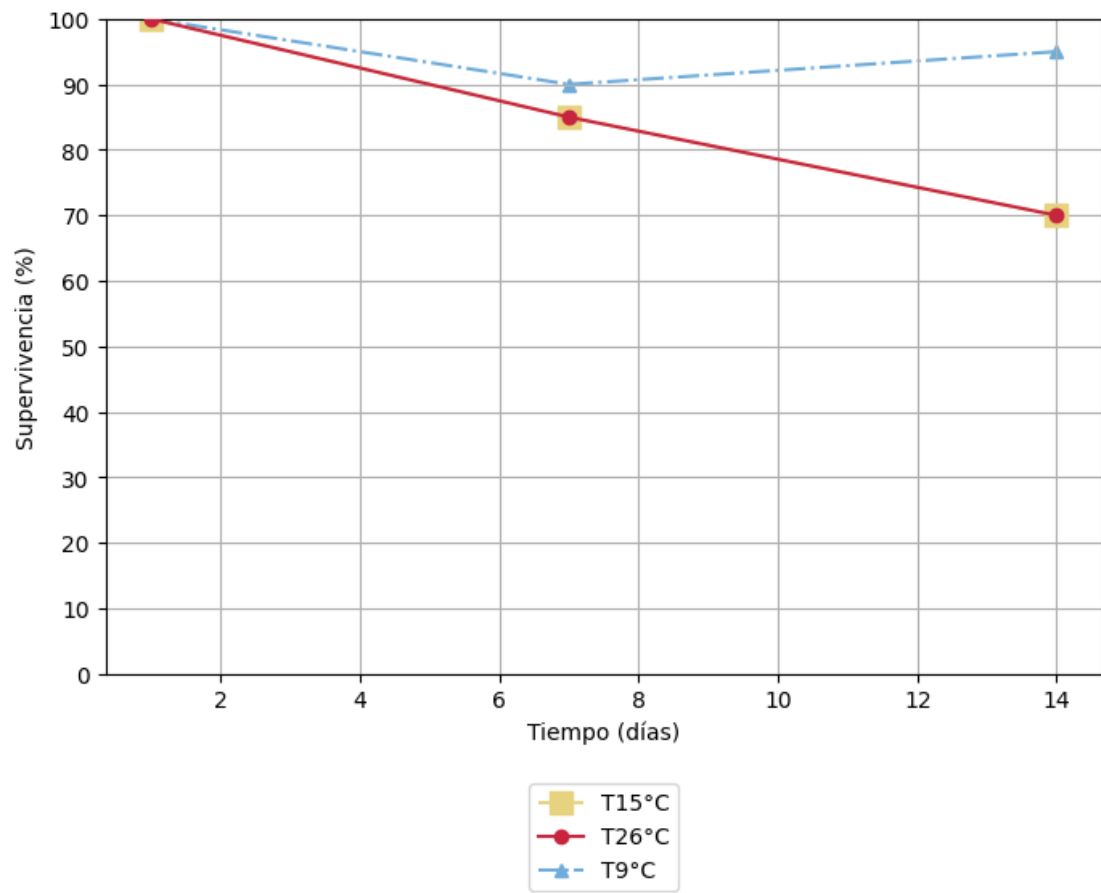
**Figura 14.** Comparativa de crecimiento de musgos en agar KCM durante un periodo de 20 días. (A, B, C, D, I, K, L, M) Musgos en el día 4 post implantación. (E, F, G, H, N, Ñ, O) Musgos en el día 24 post implantación. Se observa crecimiento del protonema y pequeños brotes en todas las cajas de Petri. (F) Puede notarse una burbuja de aire entre el plástico de la caja de Petri y el gel de agar KCM, debido a deshidratación en el agar. Las cajas petri mostradas tienen un diámetro de 35mm.

#### **8.4 Cultivo de *Paramacrobiotus gadabouti* y *Macrobiotus* grupo *hufelandi* (Familia Macrobiotidae)**

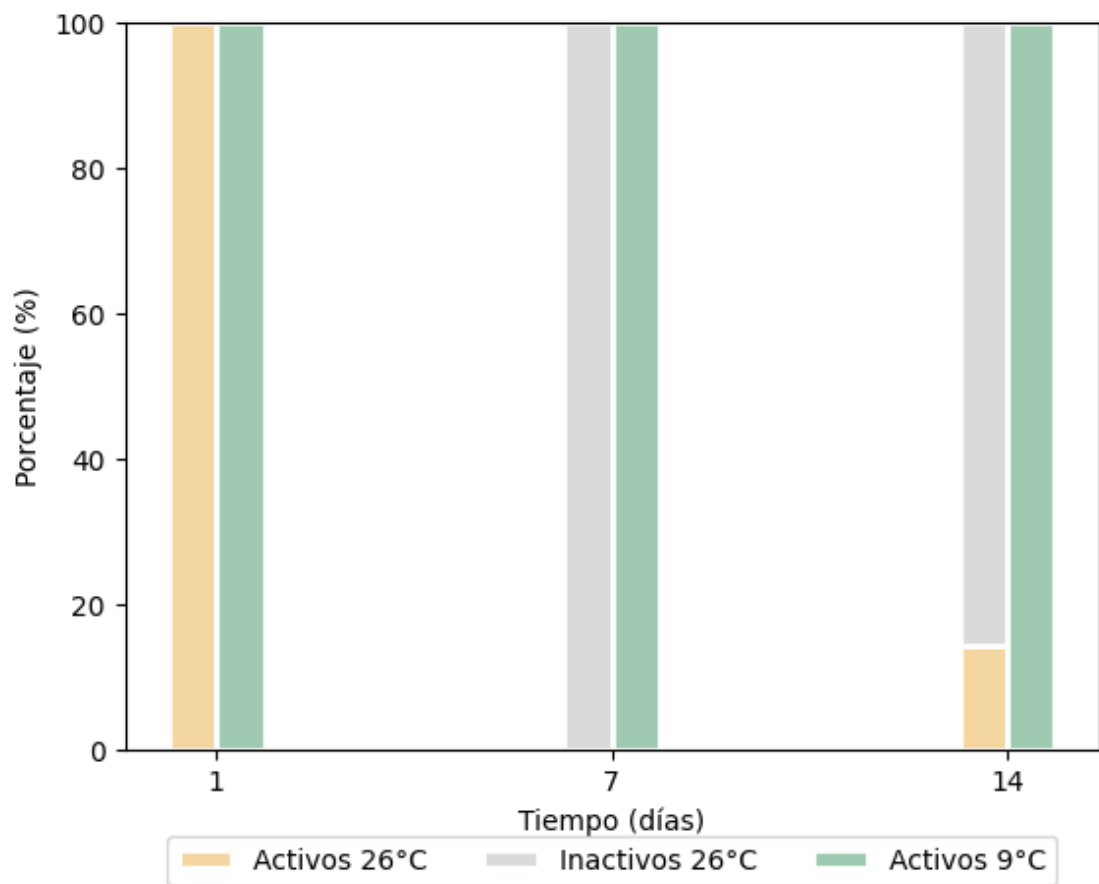
Se encontraron diferencias entre los tratamientos de temperatura para el cultivo de *P. gadabouti* y *M. hufelandi*. En los tratamientos con temperatura de 26°C y 15°C la población inicial decreció gradualmente, mientras que en el tratamiento con temperatura de 9°C decreció los primeros días, pero después se mantuvo constante. La supervivencia mostró diferencias respecto a las temperaturas evaluadas, las diferencias se presentaron entre las temperaturas de 15°C y 26°C respecto a la temperatura de 9°C, en ésta última se observó una supervivencia de entre el 100 y 90%, mientras que entre 15 y 26 grados la supervivencia fue entre 100 y 70%. (Fig. 15).

Se encontraron diferencias entre los tratamientos de temperatura para el cultivo de *P. gadabouti* y *M. hufelandi*. En los tratamientos con temperatura de 26°C y 15°C la población inicial decreció gradualmente, mientras que en el tratamiento con temperatura de 9°C decreció los primeros días, pero después se mantuvo constante. La supervivencia mostró diferencias respecto a las temperaturas evaluadas, las diferencias se presentaron entre las temperaturas de 15°C y 26°C respecto a la temperatura de 9°C, en ésta última se observó una supervivencia de entre el 100 y 90%, mientras que entre 15 y 26 grados la supervivencia fue entre 100 y 70%. (Fig. 15).

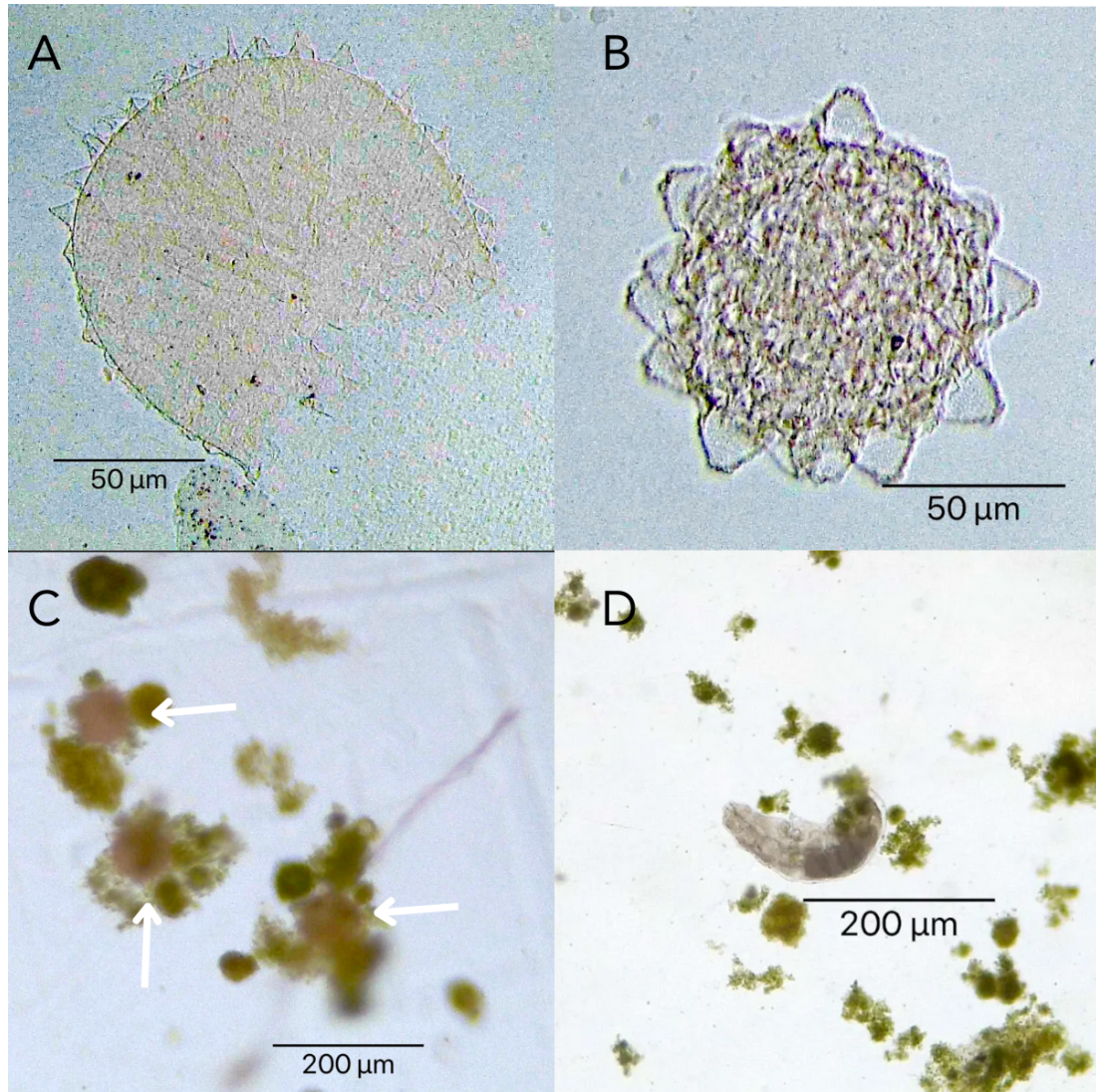
Respecto a la reproducción, se observaron huevos a partir del cuarto día en los tratamientos T26°C y T9°C, así como hembras que presentaban huevos en desarrollo en su interior (Fig. 17). No se observó la eclosión de ningún huevo.



**Figura 15.** Se muestra la tendencia en la supervivencia de las diferentes poblaciones de tardígrados, en las tres temperaturas evaluadas. La supervivencia se expresa en porcentaje.



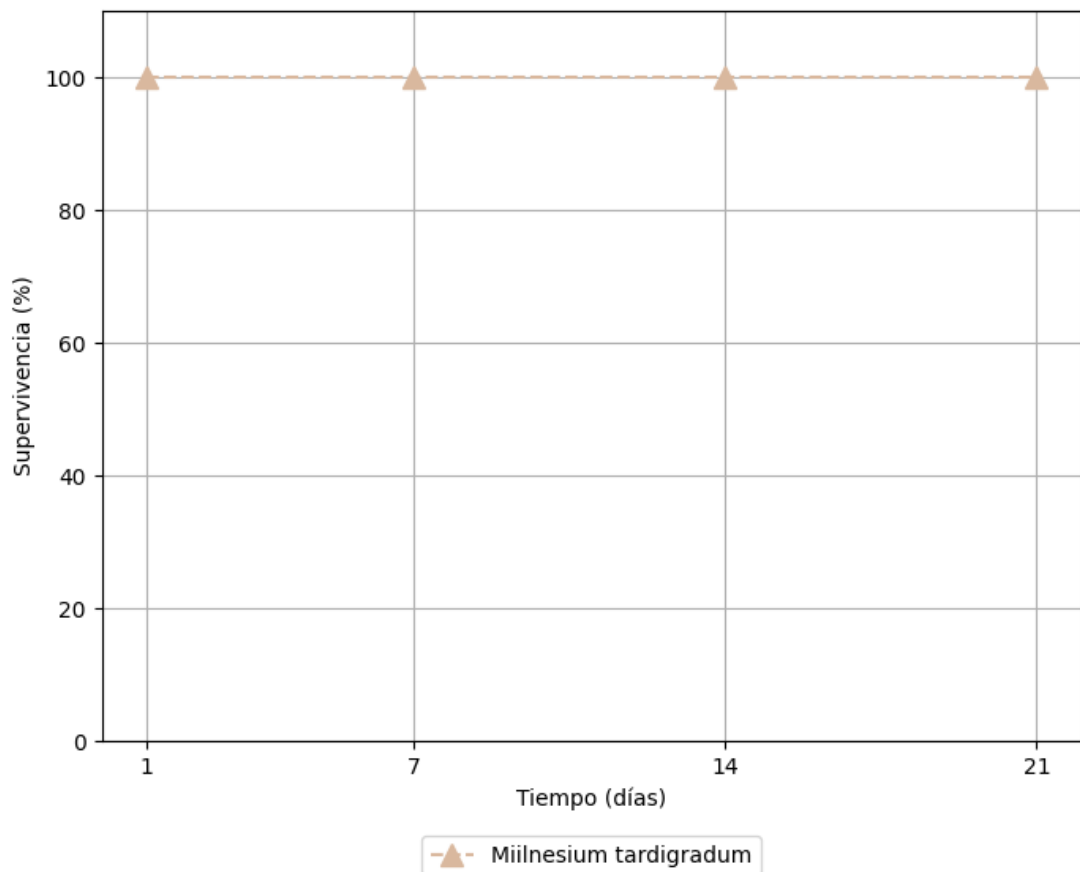
**Figura 16.** Diferencias porcentuales entre los organismos que presentaron actividad o inactividad (letargo) en diferentes temperaturas durante días específicos.



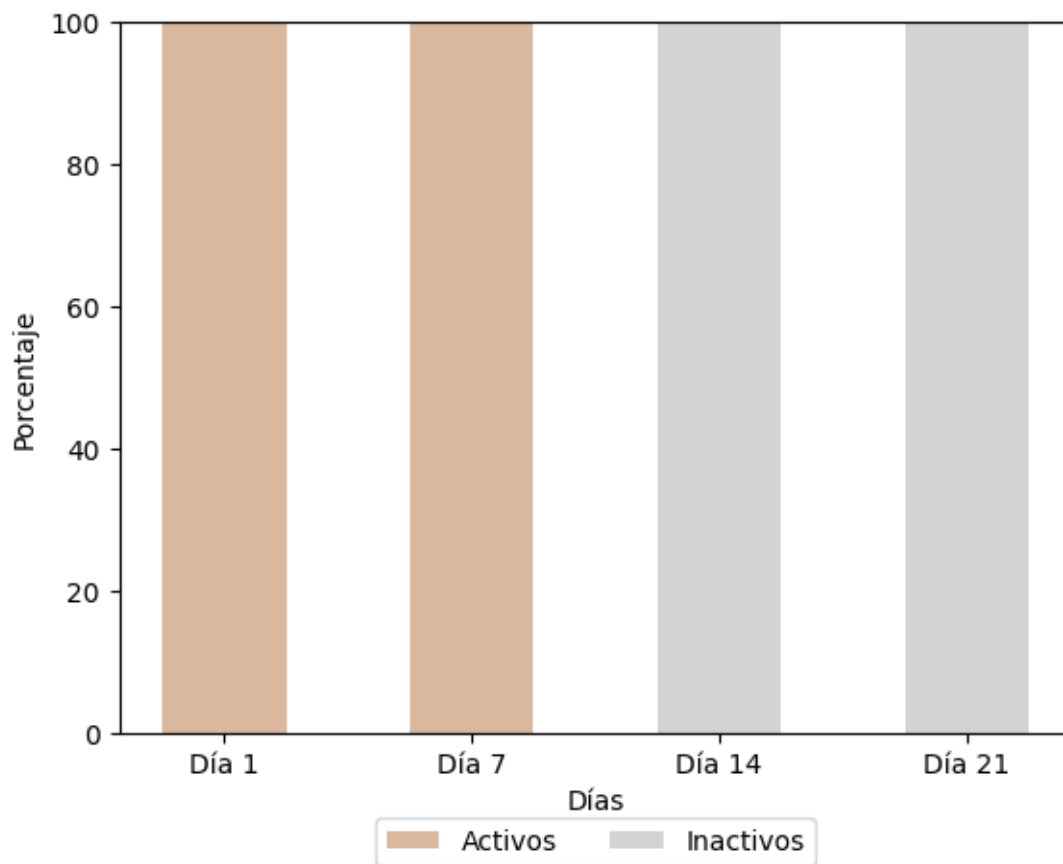
**Figura 17.** Huevos presentes en los cultivos. (A) Huevo fijado en PVA perteneciente al grupo *Macrobotus hufelandi*. (B) Huevo fijado en PVA de la especie *Paramacrobotus gadabouti (richtersi)*. (C) Se indican con flechas blancas tres huevos de *Paramacrobotus gadabouti* en cultivo, adheridos a cúmulos de *Chlorella vulgaris*. (D) Tardígrado hembra ovígera.

### 8.5 Cultivo de *Milnesium tardigradum*

Se mantuvieron los 10 ejemplares durante tres semanas, en las cuales se conservó constante el número de individuos (Fig. 18), pero estos cesaron su actividad a partir del día 14 (Fig. 19). Los ejemplares se observaron turgentes, con las extremidades extendidas. Posteriormente, en el día 17 se observó una capa blanquecina que recubría a la mayoría de los individuos (Fig. 20). Debido a este resultado, no fue posible obtener huevos de este género ni observar su comportamiento alimentario.



**Figura 18.** Comportamiento porcentual de la supervivencia de *Milnesium tardigradum* durante 21 días de experimentación.



**Figura 19.** Comportamiento porcentual de la actividad de *Milnesium. tardigradum* en días específicos del experimento.

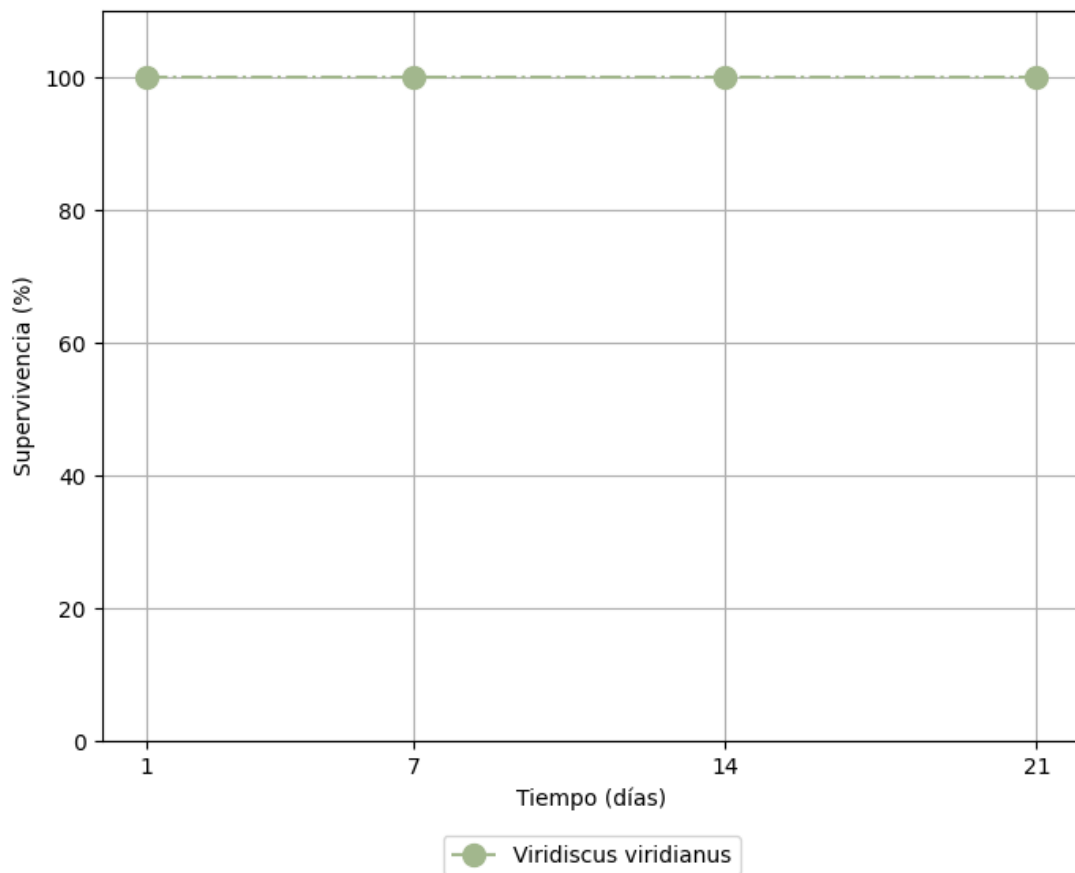


**Figura 20.** Ejemplares de *Milnesium tardigradum* turgentes, con extremidades extendidas coincidente con anoxibiosis. Cubiertos por una capa blanquecina que impide la visualización detallada del organismo.

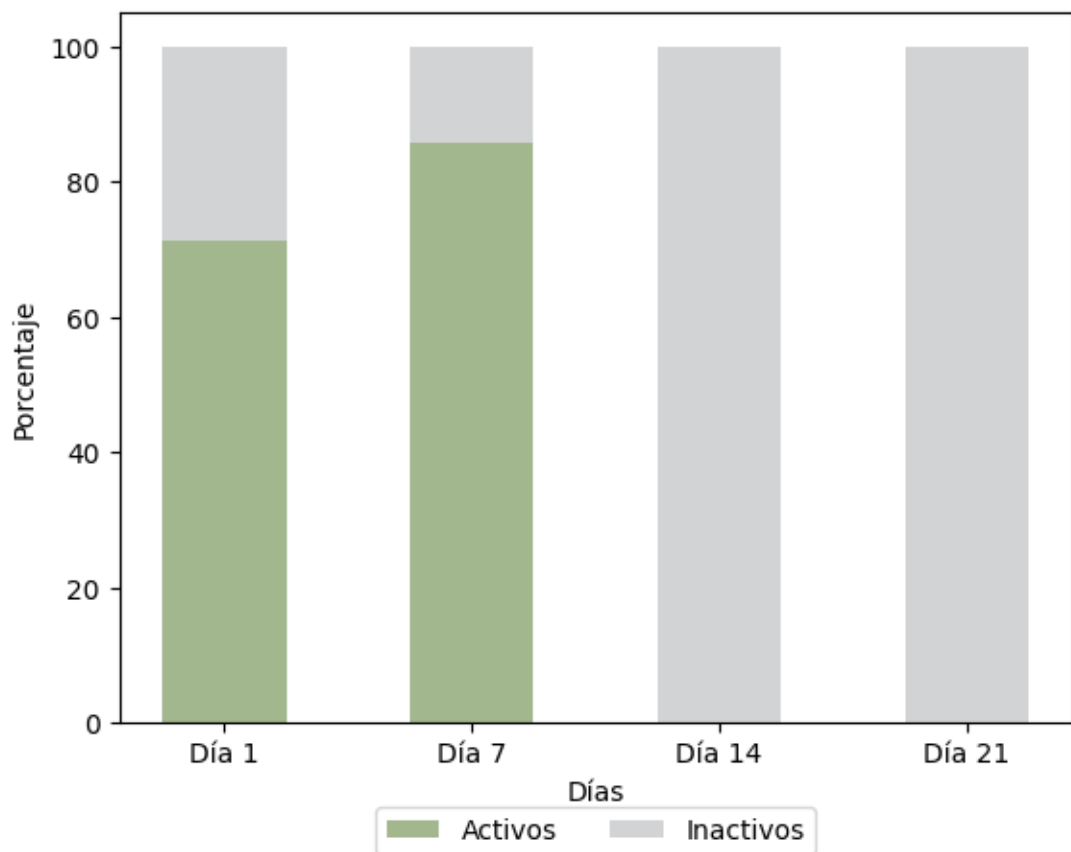
### **8.6 Cultivo de *Viridiscus viridianus*.**

La población inicial de siete tardígrados del género *Viridiscus viridianus* se mantuvo sin cambios durante las tres semanas del experimento (Fig. 21). Debido a la diferencia en la relación de humedad y desecación, se esperaba que los días de evaporación del medio no se presentara actividad. Sin embargo, evaluando únicamente los días con acceso al medio acuoso, sólo se observó actividad durante la primera y

segunda semana del experimento (Fig. 22). Mientras los organismos estaban activos fue posible observarlos forrajeando en cúmulos de *Chlorella vulgaris*, mas no se registró la presencia de huevos.



**Figura 21.** Se muestra el comportamiento porcentual de la supervivencia de *Viridiscus viridianus* en días específicos.



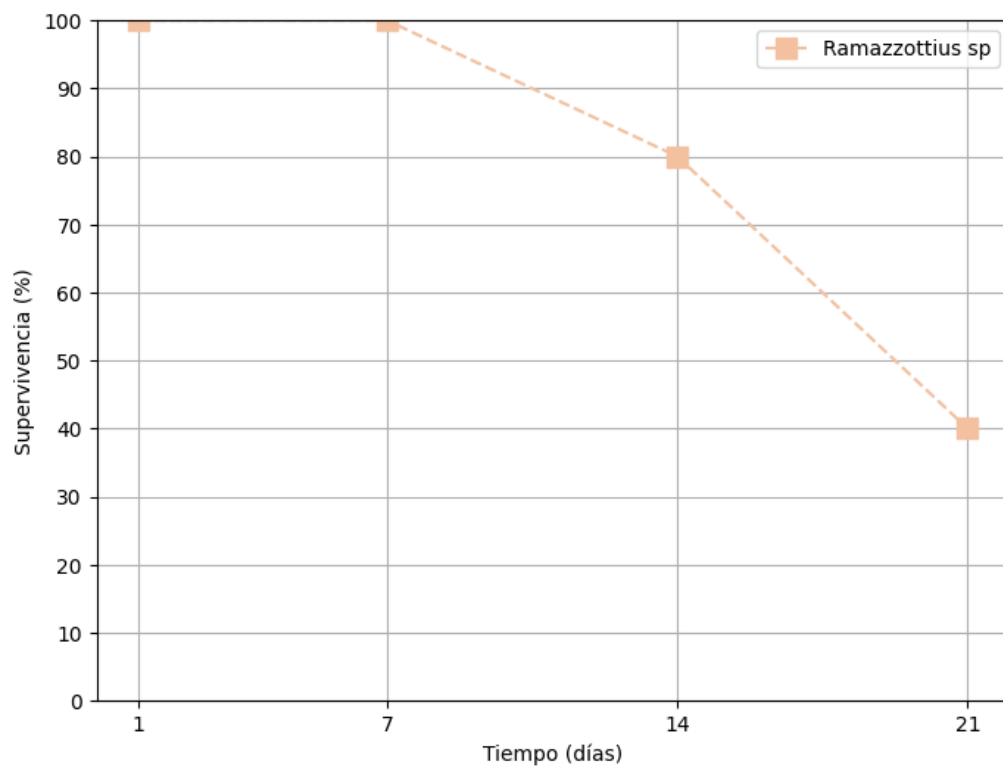
**Figura 22.** Comparación de porcentajes de tardígrados activos e inactivos durante días específicos del experimento.

### 8.7 Cultivo de *Ramazzottius sp.*

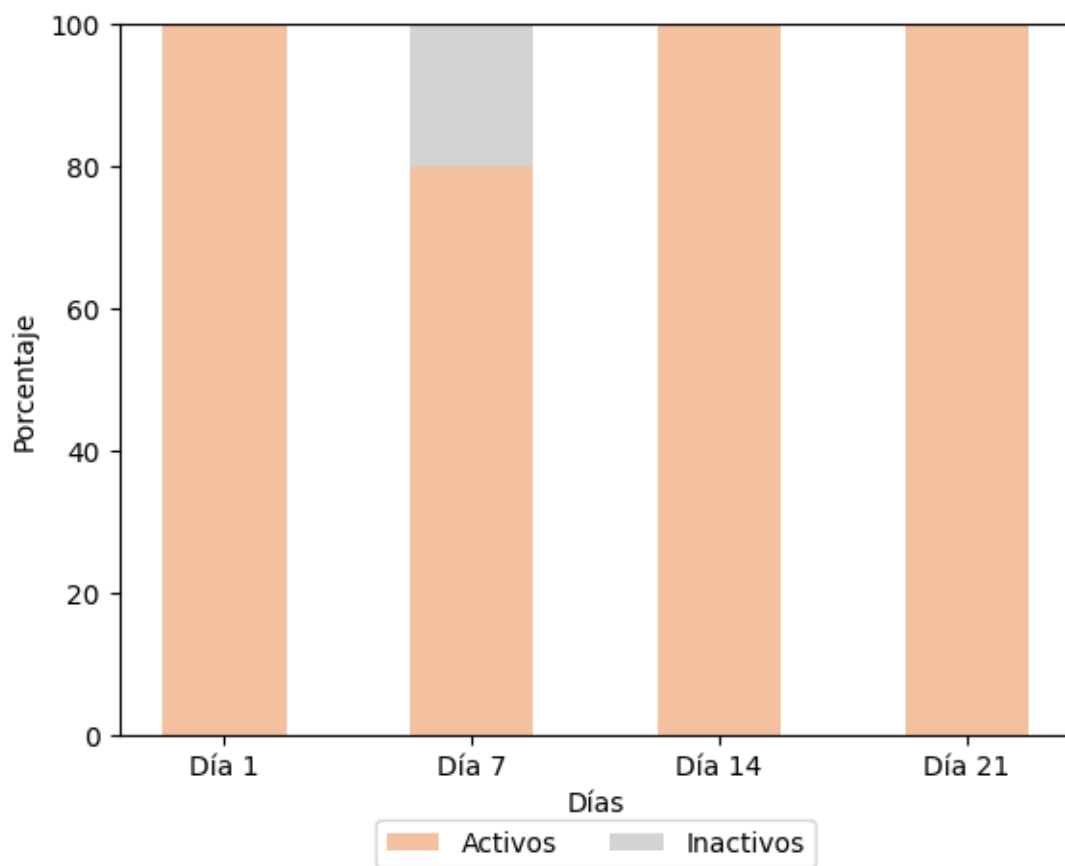
Los tardígrados se mantuvieron en el número inicial durante las primeras dos semanas, posteriormente fueron disminuyendo, en donde su supervivencia descendió hasta el 40 % (Fig. 23). Su actividad se mantuvo constante, observándose mayormente activos (Fig. 24). El día 17 se observó la presencia de 8 huevos, unos de estos se

encontraron adheridos a uno de los gametofitos de musgo y otros en cúmulos del alga *C. vulgaris* (Fig. 25).

Fue posible observar que los tardígrados consumieron microalgas, ya que se registró contenido digestivo coincidente con los alimentos proporcionados (Fig. 26). Similar a los ejemplares, a partir de los 21 días los huevos se desintegraron, por tanto, no fue posible registrar ninguna eclosión. Adicionalmente, aparecieron múltiples puntos blanquecinos que indicaron la contaminación del medio (Fig. 27).

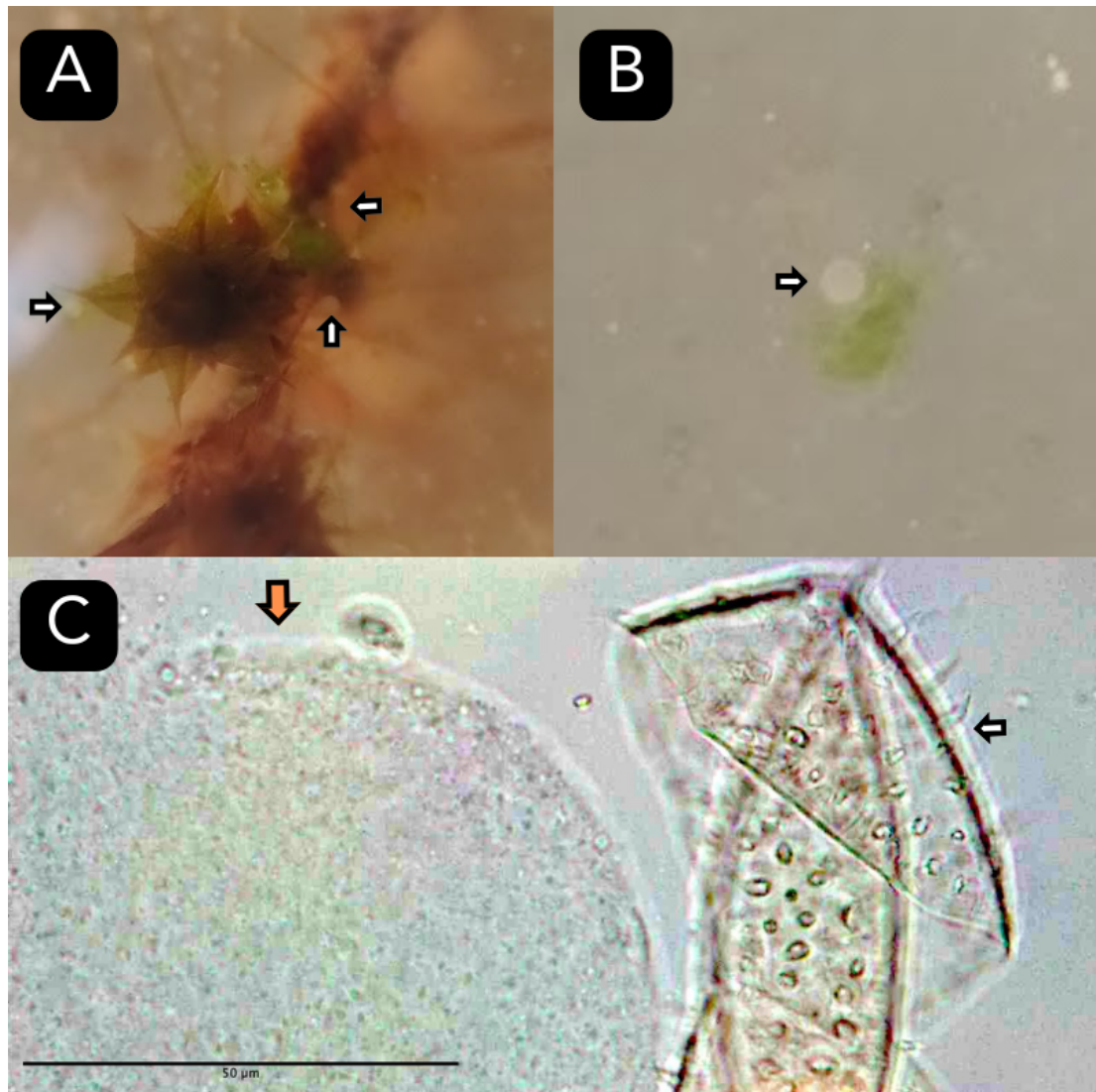


**Figura 23.** Comportamiento porcentual de la supervivencia de tardígrados del género *Ramazzottius sp* en días específicos.



**Figura 24.** Comportamiento porcentual de tardígrados activos e inactivos en días específicos.

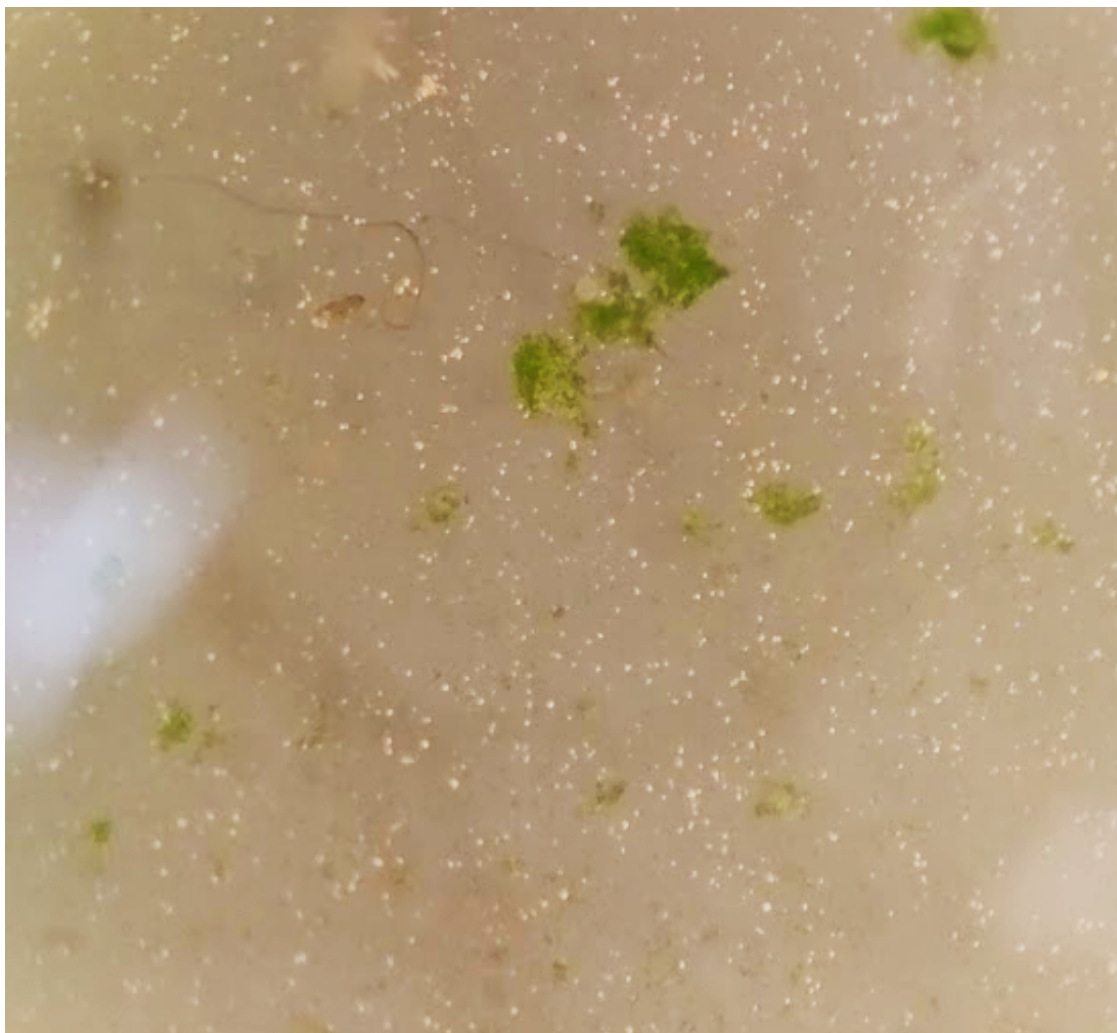
Se presentaron mayormente activos durante los 21 días.



**Figura 25.** Huevos ornamentados del género *Ramazzottius sp.* observados en el cultivo, se indican con las flechas. (A) Varios huevos adheridos a un gametofito de musgo, (B) Huevo adherido a cúmulo de *Chlorella vulgaris*. A y B, imágenes capturadas con cámara de teléfono celular en el ocular del estereoscopio Konus Crystal-45. (C) Microfotografía de un huevo con la envoltura desprendida. Se señala con flecha color naranja y negro, a la derecha se observa la cubierta con procesos cónicos, se señalan con flecha blanca y negro.



**Figura 26.** Tardígrado *Ramazzottius sp.* alimentándose del alga *Chlorella vulgaris*. Imagen capturada con cámara de teléfono celular en el ocular del estereoscopio Konus Crystal-45.



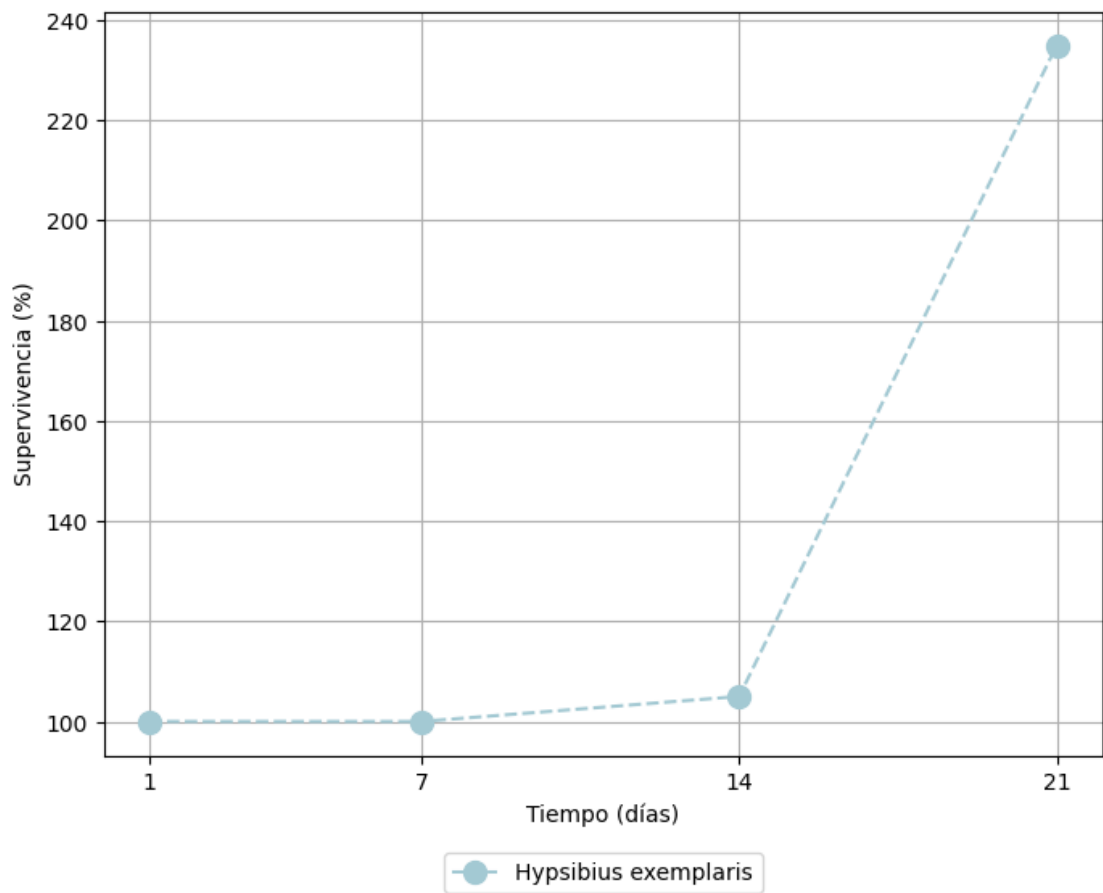
**Figura 27.** Aparición de puntos blanquecinos en la superficie del gel de agar KCM del cultivo de *Ramazzottius sp*, posible contaminación por bacterias. Imagen capturada con cámara de teléfono celular en el ocular del estereoscopio Konus Crystal-45.

### **8.8 Cultivo de *Hypsibius exemplaris***

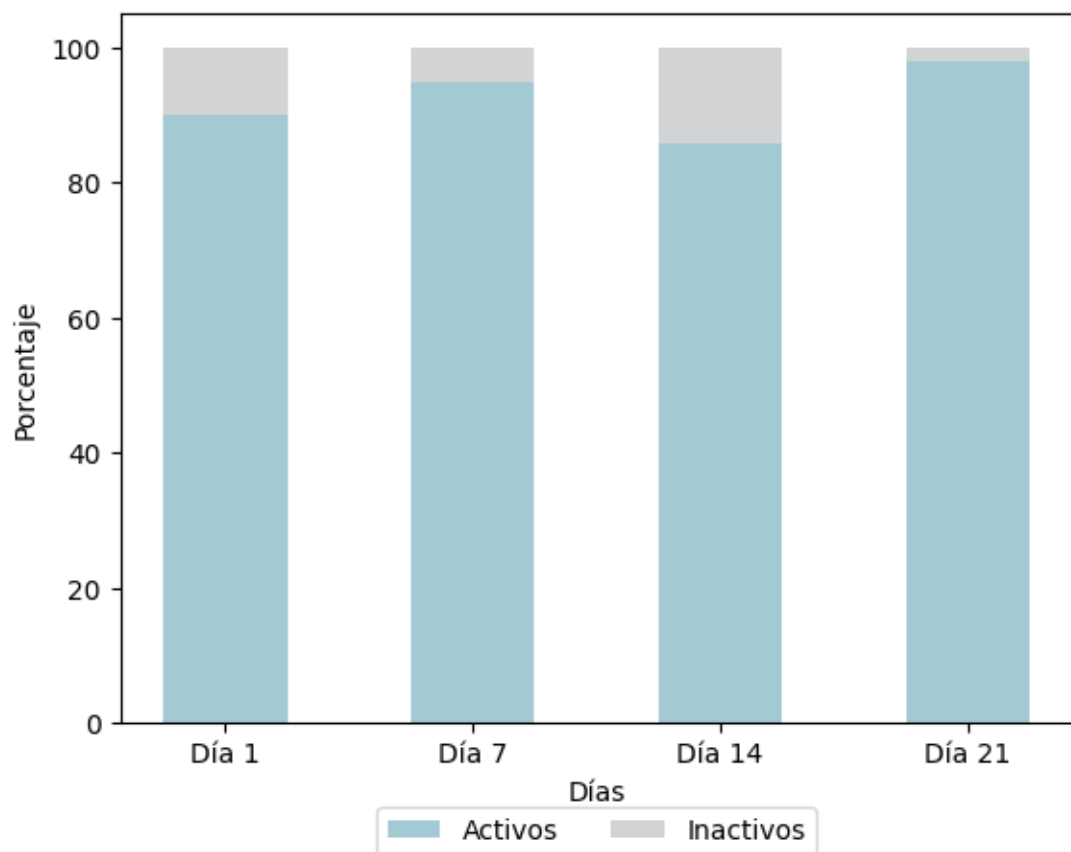
La cantidad de tardígrados presentes en el cultivo se mantuvo constante (20 ejemplares) durante las primeras dos semanas del experimento. Entre la segunda y

tercera semana la población comenzó a aumentar, llegando a una tasa de 235% de supervivencia, con una población de 47 individuos (Fig. 28). Los ejemplares se mantuvieron mayoritariamente activos durante las tres semanas de observación, mostrando un mayor porcentaje de actividad tras los cambios de medio acuoso (Fig. 29).

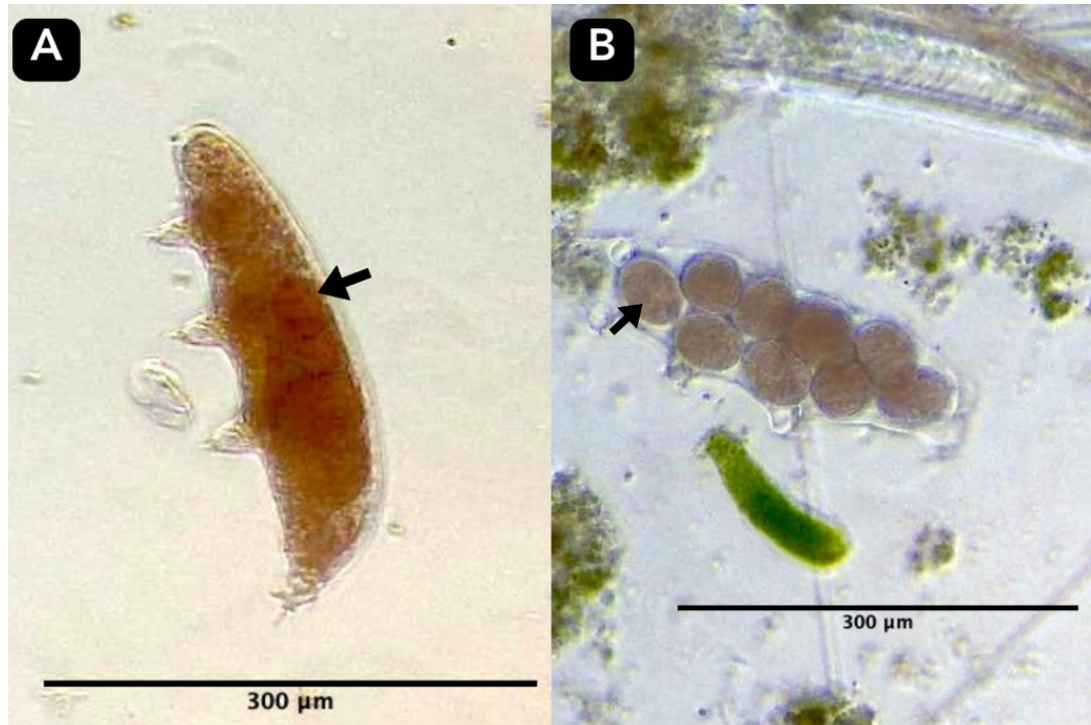
Desde el primer día se observaron hembras grávidas, pero a partir del tercer día del experimento, fue posible observar exuvias con huevos. (Fig. 30) Hasta el día 15, se registraron 19 exuvias con un aproximado de 219 huevos en total. Fue posible observar el forrajeo de los animales evidenciado por el contenido intestinal, así como excretas (Fig. 31).



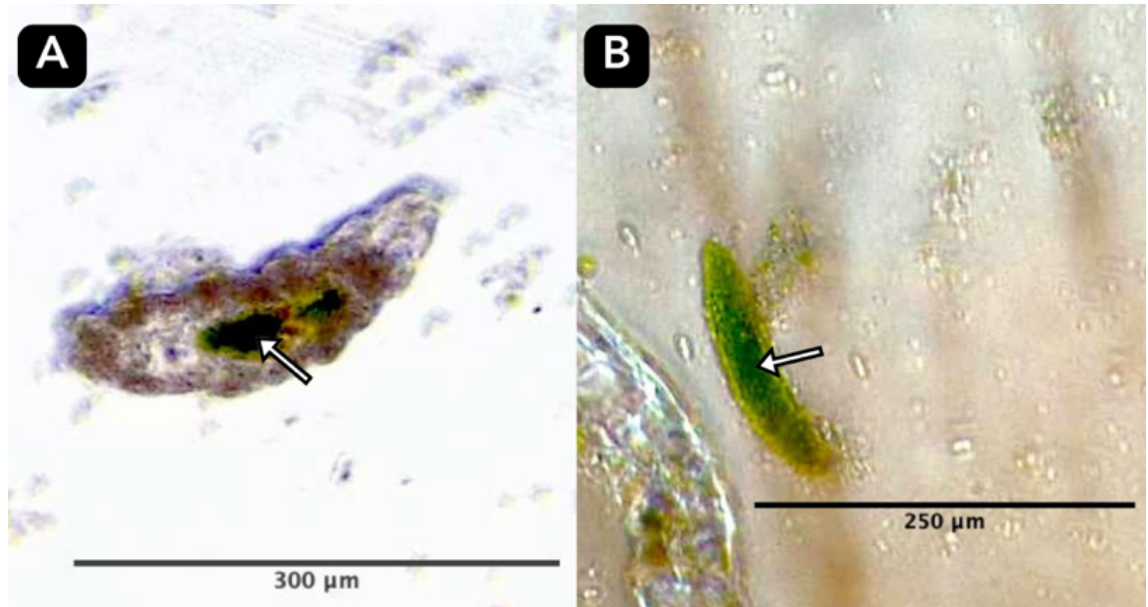
**Figura 28.** Comportamiento porcentual de la supervivencia de los tardígrados *Hypsibius exemplaris* en días específicos del experimento.



**Figura 29.** Comportamiento porcentual de individuos activos e inactivos en días específicos del experimento de cultivo de *H. exemplaris*. La mayoría de los individuos presentaron actividad durante el experimento.



**Figura 30.** (A) Hembra de *H. exemplaris* ovígera. Es posible observar opacidad en la región central del ejemplar (señalado con flecha negra), correspondiente a huevos que serán ovipositados en la siguiente muda. K.(B) Exuvia con huevos. Se pueden observar 9 huevos, señalados con las flechas negras.



**Figura 31.** (A) Ejemplar adulto forrajeando en cúmulos de *C. vulgaris*. Debido a la transparencia del cuerpo del tardígrado, es posible observar su contenido intestinal. (B) Excretas de *H. exemplaris*, señaladas con flecha blanca. Muestran una morfología cilíndrica, y coloración coincidente con *C. vulgaris*.

## 9. DISCUSIÓN

### 9.1 Diversidad de especies

Los géneros de tardígrados que fueron encontrados en la zona de estudio Cerro Chapultepec son consistentes con los reportados previamente por Reyes-Acosta (2024), mientras que los pertenecientes a la zona del Desierto de Cataviña pueden catalogarse como primeros registros. El primer registro para Baja California fue realizado en la Sierra de San Pedro Mártir, publicado por Núñez y colaboradores (2021), y posteriormente en la ciudad de Ensenada (Reyes-Acosta, 2024), donde se han reportado diferentes géneros de tardígrados tanto de la clase Eutardigrada como Heterotardigrada.

Además de la identificación morfológica, las especies *Paramacrobiotus gadabouti* y *Milnesium tardigradum* fueron confirmadas tras secuenciación genómica llevada a cabo como parte de una colaboración entre el Laboratorio de Astrobiología IA-UNAM, Ensenada, Baja California, y Łukasz Michalczyk's Lab, Jagellonian University, Cracovia, Polonia (Núñez, P. G., comunicación personal, enero de 2025). De acuerdo con Kayastha y colaboradores (2023a), *P. gadabouti* pertenece al complejo de especies *Paramacrobiotus richtersi*. Esta especie se considera cosmopolita, aunque muestra afinidad por los climas mediterráneos (Kayastha et al., 2023c). Los tardígrados del género *Viridiscus viridianus* fueron identificados de acuerdo con el patrón presente en las placas *V. viridianus* (Fig. 11E), de acuerdo con lo registrado por Nelson y colaboradores (2020).

La identificación de los musgos fue acorde a lo registrado por Reyes-Acosta (2024) en la localidad Cerro Chapultepec. Para la localidad de Cataviña, el musgo identificado fue *Syntrichia* cf. *caninervis*, característico de zonas desérticas (Norris y Shevock, 2004). La diversidad de musgos en Baja California es poco conocida, con solo algunos registros de colecciones (Delgadillo-Moya, 2012, 2024).

La identificación de las especies colectadas para búsqueda de tardígrados, aunque no es un objetivo específico del estudio, invita a explorar más estas formas vegetales. En el caso del género *Syntrichia* (Fig. 8A, 8B), se han registrado niveles de tolerancia a factores extremos como desecación, radiación y temperaturas extremas, y además es un importante componente de las costras biológicas (Jauregui-Lazo et al., 2022; Li et al., 2024). Puesto que es también el hábitat de otros microinvertebrados extremotolerantes asociados con los tardígrados, resulta interesante explorar la relación en conjunto como organismos de interés para la astrobiología.

De acuerdo con Momeni y colaboradores (2022), la solución de agar KCM utilizada como sustrato puede aportar cationes además de favorecer la tracción de los animales. Estos cationes pueden aportar al desarrollo del musgo, aunque creemos es posible que utilizar una solución de agar preparada con el fertilizante Bayfolan® sólido en una baja concentración, de entre 0.10-0.50g/L, podría dar mejores resultados en el crecimiento de rizoides y protonema (Fig. 14) por su contenido en macro y micronutrientes. Sin embargo, aunque el fertilizante Bayfolan® sólido fue eficaz para el cultivo de microalgas, se tendrían que realizar ensayos para confirmar si es funcional para el crecimiento de musgos. Al tener un mayor porcentaje de cobertura de musgo, la desecación de los tardígrados podría ser más gradual, tendrían mayor área de

refugio, así como mayor cantidad de alimento para los herbívoros como *Viridiscus viridianus* y *Ramazzottius sp.*

La mayoría de los musgos y líquenes recolectados tanto en el Cerro Chapultepec como en Cataviña se encuentran a nivel del suelo, ya sea en rocas o directamente en el sustrato, pero el género *Ramazzottius sp.* (Fig. 10D) fue el único localizado en un líquen en una cactácea (*Pachycereus pringlei*) (Fig. 8C) a una altura aproximada de un metro. Esto promueve la posibilidad de realizar estudios ecológicos futuros, donde se evalúen factores relacionados con el gradiente entre muestras colectadas a nivel del suelo y otras colectadas a mayor altura, así como su relación con el tipo de sustrato.

## 9.2 Cultivo de microalgas

El cultivo de microalgas *Chlorella vulgaris* mostró una adecuada adaptación al medio formulado con el fertilizante agrícola Bayfolan® sólido en sus diferentes concentraciones, similar a otras microalgas como *Nannochloropsis sp.*, que han sido cultivadas eficientemente con fertilizantes agrícolas comerciales o fabricados a baja escala en laboratorio (Valenzuela-Espinoza et al., 1999; Nava-Gomez, 2014).

Visualmente, el frasco con la concentración de fertilizante Bayfolan® sólido al 0.75% mostró una coloración verde más uniforme y brillante, en contraste con el tono más opaco observado en las otras concentraciones (Fig. 12), lo que sugiere una concentración más favorable para el crecimiento de las algas. Sin embargo, debido a que no se llevó un control detallado del número de células ni de otros parámetros cuantitativos, este resultado es preliminar y se basa exclusivamente en la observación

cualitativa. Las réplicas realizadas con la concentración de fertilizante al 0.75% mostraron un patrón de crecimiento similar, con una coloración verde que también fue visible en el fondo de los frascos (Fig. 12). Este comportamiento sugiere que la concentración de 0.75% de fertilizante proporcionó los nutrientes adecuados para el desarrollo de las microalgas en los términos del experimento. A pesar de que las microalgas fueron cultivadas exclusivamente para la alimentación de tardígrados en este trabajo, se plantea que también sean la base alimenticia en el cultivo de rotíferos que a su vez también servirán como alimento principal de los tardígrados carnívoros y omnívoros como *Milnesium tardigradum*, *Paramacrobiotus gadabouti* y *Macrobiotus hufelandi*.

### 9.3 Alimentación

Para los tardígrados herbívoros *Hypsibius exemplaris*, *Ramazzottius sp* y *Viridiscus viridianus*, así como para los omnívoros *Paramacrobiotus gadabouti* y *Macrobiotus hufelandi*, las algas cultivadas cumplieron eficientemente como alimento.

*Chlorella vulgaris* contiene diferentes pigmentos como  $\beta$ -carotenos, astaxantina, luteína, clorofila A y B, feofitina A y B, violaxantina, y cantaxantina, algunos de los cuales pueden ser benéficos para el organismo que la consume, e incluso, se ha observado que presenta una protección ante metales pesados (Shim et al., 2008; Safi et al., 2014). Además, es una buena fuente de ácidos grasos poliinsaturados (Tokuşoglu y Ünal, 2003) y proteínas (Niccolai et al., 2019). *C. vulgaris* no es la única opción para la alimentación de tardígrados herbívoros y omnívoros, en diversos estudios (Altiero et al., 2015; Bryndová et al., 2020) han

utilizado otras microalgas como *Spirulina sp* y *Chlorococcum sp*, las que han resultado efectivas (Núñez et al., 2019). No obstante, la morfología esférica y el tamaño de *C. vulgaris* (Fig. 13) y *Chlorococcum sp* permite una fácil absorción por parte tanto de larvas, juveniles y adultos de diferentes especies de tardígrados. Momeni y colaboradores (2022) mencionan que juveniles de *V. viridianus* se alimentan comúnmente de microalgas, mientras que los adultos logran alimentarse tanto de microalgas como de protonema de musgos. Algunas microalgas son catalogadas también como extremófilas, por lo que pueden coincidir con tardígrados en hábitats extremos, por ejemplo, en crioconitas heladas o zonas áridas secas y calurosas (Lukešová y Frouz, 2007).

La relación entre la alimentación y la reproducción de tardígrados ha sido poco estudiada, sin embargo, es sabido que una mayor ingesta proteica permite aumentar las probabilidades de fecundidad exitosa en algunos tardígrados (Bryndová, 2020). De acuerdo con nuestros resultados obtenidos, observamos que en *P. gadabouti*, *M. hufelandi* se obtuvieron pocos huevos, y en *M. tardigradum* ninguno, lo que quizás se deba a que no logramos coleccionar suficientes rotíferos y nemátodos para su alimentación complementaria. Otros autores, encontraron que en el tardígrado *Paramacrobiotus fairbanski*, con dieta omnívora, presentó una mayor fecundidad al alimentarse con rotíferos comparado a una dieta de microalgas (Bryndová et al., 2020). Debido a esto, se recomienda mantener a la par un cultivo de rotíferos para satisfacer las necesidades de los tardígrados omnívoros y carnívoros.

Aunque no se lograron obtener huevos de *Milnesium tardigradum* y *V. viridianus*, a lo largo del desarrollo de este trabajo se han podido observar exuvias con

huevos de ambas especies, extraídas de muestras de musgos y líquenes de las mismas localidades exploradas en este trabajo (Núñez, P. G, Reyes-Acosta, E., García León, M, García Rodríguez, Y. M, observaciones personales), coincidentes con lo descrito en la literatura, como exuvias con tres a seis huevos lisos en *Milnesium tardigradum* y exuvias con uno a cuatro huevos con tonalidades naranjas en *Viridiscus viridianus* (Suzuki, 2003; Bryndová et al., 2020; Momeni et al., 2022).

*P. gadabouti*, *M. hufelandi* y *Ramazzottius sp.* produjeron pocos huevos que no eclosionaron durante la duración del experimento, posiblemente debido a que requieren un periodo de maduración de mayor tiempo, o por la influencia de parámetros no ideales en la población parental, como la alimentación o la temperatura (Bryndová et al., 2020; Roszkowska et al., 2021).

De acuerdo con Bryndová y colaboradores (2020), en el caso de *Milnesium*, solo se logra la reproducción con una dieta exclusiva de rotíferos, mientras que en *Paramacrobrotus* sí logran producir huevos aún en una dieta conformada en su mayoría por microalgas, una dieta que incluya rotíferos y algas logrará una producción de huevos mayor. Respecto a la temperatura, Roszkowska y colaboradores mencionan que las temperaturas altas (mayores a 25°C) pueden inducir a la anoxia, pero mantener una temperatura baja (menor a 16°C) pueden ralentizar la reproducción. Por tanto, reiteramos la importancia de mantener un cultivo de rotíferos a la par del cultivo de tardígrados omnívoros y carnívoros, y mantener temperaturas similares a las del hábitat natural de los tardígrados cultivados.

La especie con mayor éxito de cultivo en este trabajo fue el utilizado como control, *Hypsibius exemplaris*, que produjo al menos 219 huevos distribuidos en 19

exuvias con un promedio de 11.52 huevos presentes por exuvia durante las primeras dos semanas del experimento, y de los cuales, 37 de estos eclosionaron exitosamente hasta el día 21.

Entre las observaciones sobre los huevos, coincidimos con Stone y Vasanthan (2020) al notar que el número de huevos por exuvia puede incrementar o disminuir según la madurez de la hembra ovipositora, además de observar que los huevos recién ovipositados tienen un color más oscuro, mientras que los huevos próximos a eclosionar presentan mayor transparencia.

Estos resultados demuestran que el cultivo de *Hypsibius exemplaris* es viable para reproducir en cualquier laboratorio con acceso a elementos básicos como contenedores (cajas de Petri, matraz Erlenmeyer o peceras de vidrio), agua de manantial, y microalgas, como *Chlorella vulgaris*, *Chlorococcum sp* o *Spirulina sp.* (Nuñez 2019; Stone y Vasanthan, 2020), además de la capacidad de mantener una temperatura menor a 20°C. Una de las principales razones de su facilidad de fecundidad puede radicar en el hecho de ser una especie telitóquica y herbívora, pues al tener una hembra fértil y acceso a su alimento, puede generarse una población de cientos de organismos en pocas semanas.

El éxito de cultivo de *Hypsibius exemplaris* permite considerarlos como modelos para docencia en biología y astrobiología (Nuñez et al., 2019), biología del desarrollo (Gabriel et al., 2007; Goldstein, 2018), neurociencias (Smih et al., 2018; Lyons y Kato, 2025).

## 9.4 Sustrato

Como sustrato, el gel de agarosa cumplió una buena función en los cultivos de *Viridiscus viridianus* y *Ramazzottius sp.* (Fig. 14), aunque se estima que la formación de fisuras en la superficie del gel puede conducir al hundimiento de los huevos y organismos de forma accidental. Suzuki (2003) menciona que los huecos en la superficie pueden evitarse al agregar agua a las placas de agar recién preparadas.

Otros problemas presentados con el gel de agarosa es la facilidad con que puede secarse y por ende separarse de la caja de Petri, así como la posibilidad de contaminación fúngica y bacteriana. Una opción recomendable para evitar la contaminación es el cambio frecuente de medio acuoso. Si bien es una buena opción, sobre todo para los tardígrados con dietas herbívoras, este método requiere cuidados adicionales. En contraste, utilizar el fondo rayado como sustrato no tiene mayores inconvenientes, como fue realizado con los tardígrados *Hypsibius exemplaris*, *Macrobiotus hufelandi*, *Paramacrobiotus gadabouti (richtersi)* y *Milnesium tardigradum*. Debido a la necesidad de cultivar el protonema de musgos, no parece viable el utilizar el fondo rayado como sustrato para *V. viridianus*, pero es posible utilizar este método para los otros tardígrados en experimentos futuros.

## 9.5 Medio

El agua mineral Sta. María® como medio de cultivo cumplió eficientemente su función. Mientras que algunos autores recomiendan utilizar una solución de agua destilada y agua mineral de 3:1, respectivamente (Horikawa, 2008a; Kosztyła et al., 2016; Morek et al., 2020), en este estudio se decidió trabajar directamente con el agua

mineral Sta. María® sin diluirse, ya que las proporciones de algunos de los minerales presentes, como el calcio y bicarbonatos, son menores a los utilizados por los autores mencionados (Tabla II). Adicionalmente, con el uso de agua mineral se notó una disminución en la contaminación por hongos en comparación con el uso de agua potable. Esta comparativa se pudo realizar de acuerdo con observaciones personales en procesamiento de muestras previo (Anexo 1).

De acuerdo con los resultados obtenidos en los porcentajes de actividad de los tardígrados sobrevivientes (Fig. 15, 18, 21, 23, 28), es posible deducir que el cambio continuo de medio puede propiciar la actividad al mantener niveles de oxígeno estables en el cultivo, evitando así la inactividad por anoxibiosis. Aunque es posible revertir la anoxibiosis, Nelson y colaboradores (2010) indican que algunos tardígrados, sobre todo los que viven exclusivamente en hábitats acuáticos (por ejemplo, ríos, lagos, lagunas, charcas) no sobreviven por mucho tiempo en este estado, por lo que es importante agregar oxígeno al medio a la mayor brevedad posible. En 2023, Hagelbäck y Jönsson realizaron un experimento en el que los tardígrados *Hypsibius exemplaris* y *Richtersius cf. coronifer* fueron expuestos a hipoxia en periodos determinados de tiempo, obteniendo resultados desfavorables para los individuos con la mayor exposición, 24 horas.

Dicho resultado sugiere que los tardígrados que permanecen mayor tiempo en anoxibiosis no pueden recuperarse. De acuerdo con nuestros resultados, no todos los organismos regresan a la actividad posteriormente a cambiar el medio por agua mineral limpia y oxigenada, como fue observado en *Milnesium tardigradum* y *V. viridianus* (Fig. 18 y 21). En el caso del cultivo de *M. hufelandi* y *P. gadabouti*, se logró observar

que solo uno de los tardígrados del tratamiento con temperatura de 26°C recuperó su capacidad de movimiento (Fig. 15). Estos cambios en el nivel de oxígeno pueden ser causados por diversos factores, como la temperatura. Se ha mostrado que a temperaturas más altas la oxigenación se reduce, mientras que en temperaturas bajas el nivel de oxígeno se mantiene constante (Jane et al., 2021; Roszkowska, 2021). Por esto, consideramos que uno de los factores clave para lograr el cultivo de tardígrados es la temperatura.

## 9.6 Temperatura

Para los géneros *Milnesium spp.*, *Ramazzottius spp.* y para la especie *Viridiscus viridianus.*, la temperatura ideal va en el rango de los 20°C a 25°C, mientras que para *Hypsibius exemplaris*, *Macrobiotus spp.* y *Paramacrobiotus spp.*, se estima un rango óptimo de entre 14 a 20°C (Suzuki, 2003; Horikawa et al., 2008; Roszkowska et al., 2021; Momeni et al., 2022). Para estos últimos géneros, se observa que en esos rangos se presenta actividad, ingesta de alimentos y producción de huevos, sin embargo, con la temperatura más baja, la tasa de éxito de estos atributos de las poblaciones es más elevada, y conforme aumenta la temperatura su actividad disminuye.

En el caso de *Viridiscus viridianus*, *Ramazzottius sp.*, *Hypsibius exemplaris* y *Milnesium tardigradum* no se evaluó la diferencia de comportamiento del cultivo en diferentes temperaturas debido a que no se encontraron suficientes tardígrados en las muestras recolectadas, pese a ello, podría considerarse el experimentar con este parámetro en experimentos futuros.

Los hábitats donde se colectaron las distintas especies presentan una temporada de lluvias en invierno, con temperaturas promedio que oscilan entre los 10°C y 15°C, llegando a temperaturas mínimas de entre 6 y 8 grados centígrados (Fig. 4, Fig. 7), por lo que es posible que los periodos de mayor actividad de las especies colectadas en Baja California sean exitosas al mantener este rango de temperatura. Debido a esto, se plantea que mantener temperaturas bajas en los cultivos de especies de Baja California puedan mejorar las condiciones de cultivo, similar a las condiciones naturales de sus hábitats.

### **9.7 Humedad y desecación**

El cultivo de Eutardigrada generalmente implica mantener a los organismos en una constante humedad, lo cual resulta en un mayor tiempo de actividad y por tanto de llevar a cabo procesos biológicos como alimentación y reproducción. El medio líquido, aunque siempre presente, debe cumplir un mantenimiento periódico, tanto para mantener la limpieza del cultivo como para mantener oxigenados a los tardígrados. En lo que respecta al cultivo de *Milnesium tardigradum.*, *Paramacrobotus gadabouti.* y *Macrobotus hufelandi.*, se observó que los organismos se mostraban turgentes, alargados y transparentes, lo que indica un estado de anoxibiosis (Nelson et al., 2010; Roszkowska, 2021). Entre las posibles soluciones, se encuentran los cambios de medio acuoso continuos, así como mantener los cultivos a temperaturas frías.

Para el cultivo de Heterotardigrada, se mantuvo un ciclo de humedad por 10 días con evaporación parcial, seguido por tres días de desecación, siguiendo la propuesta de Momeni y colaboradores (2022). Sin embargo, tras los tres días de

deshidratación los tardígrados no recuperaron la actividad, por lo que se sugiere que la población de *V. viridianus* de Cataviña, Baja California, podría beneficiarse de otro ciclo de humedad y desecación, que, debido a la falta de organismos extraídos, y la ausencia de una población F1, no pudo ser evaluado.

La bibliografía sobre métodos de cultivo para heterotardígrados es escasa y no existen otras opciones para realizar comparaciones metodológicas. Por esto, consideramos necesario seguir experimentando con el cultivo de heterotardígrados, tanto la especie *V. viridianus* colectada en Cataviña, como otras especies de *Echiniscus spp.* reportadas en Ensenada y San Pedro Mártir, Baja California, por Reyes-Acosta (2024) y Núñez et al. (2021).

### **9.8 Fotoperiodo**

El fotoperiodo establecido de acuerdo con los géneros, basado en la literatura, demostró ser funcional de forma general. Sin embargo, se observó que los tardígrados *M. hufelandi* y *P. gadabouti*, que permanecieron refrigerados y en oscuridad constante, aumentaban su actividad tras varios minutos de exposición a la luz. Esto sugiere que estos tardígrados podrían beneficiarse de un fotoperiodo mixto, con ciclos regulares de luz y oscuridad. Una posible explicación para este comportamiento es que, al igual que *M. tardigradum*, poseen células fotorreceptoras (Nelson et al., 2010) que les permiten detectar la iluminación. No obstante, no parece haber una relación directa entre la luz y un movimiento dirigido (fototaxis), sino que este fenómeno podría clasificarse como fotocinesis, donde la luz influye en el movimiento de manera aleatoria (Beasley, 2001). Fleming (2018) sugiere que la presencia de opsinas en los

tardígrados puede inferir en que ciertas especies de este grupo tengan la capacidad de detectar colores, como ocurre en otros taxones del clado Ecdysozoa.

Sin embargo, este aspecto aún no ha sido verificado y se requieren más estudios en el área. En cuanto al heterotardígrado *V. viridianus*, que también cuenta con células fotorreceptoras, Momeni y colaboradores (2022) mencionan que un fotoperiodo de 16:8 horas de luz: oscuridad pueden presentar mejores resultados, pero debido a que en la región de Baja California el tiempo máximo de luz natural en los días más largos del año son aproximadamente 14 horas, se propone utilizar un fotoperiodo de 14:10 horas luz oscuridad.

## 10. CONCLUSIONES

1. La diversidad de tardígrados en musgos y líquenes del Cerro Chapultepec, Ensenada, mostró coincidencias con la diversidad de especies encontradas en exploraciones previas en la zona. En contraste, los registros obtenidos en musgos y líquenes de Cataviña, San Quintín, representan nuevos registros, por lo que se recomienda un estudio detallado para evaluar la diversidad de tardígrados en estas áreas.
2. Los musgos recolectados evidenciaron un crecimiento adecuado en agar KCM, lo que lo posiciona como un sustrato viable tanto para el cultivo de musgos como para distintas especies de tardígrados. No obstante, en comparación con otros medios, el agar KCM requiere cuidados específicos para su mantenimiento óptimo.
3. El cultivo de *Chlorella vulgaris* fue eficiente al utilizar el fertilizante agrícola Bayfolan® Sólido, con un rendimiento óptimo a una concentración del 0.75%. Esta microalga resultó ser una fuente de alimento adecuada para *Hypsibius exemplaris*, *Viridiscus viridianus* y *Ramazzottius* sp. En el caso de *Paramacrobotus gadabouti* y *Milnesium hufelandi*, *C. vulgaris* proporcionó una fuente parcial de alimento, complementada con rotíferos y nemátodos. Para estas especies omnívoras, así como para *Milnesium tardigradum*, la provisión constante de presas vivas es fundamental para garantizar el éxito en su mantenimiento y reproducción.

4. La especie con mayor éxito reproductivo fue *Hypsibius exemplaris*, especie herbívora que comúnmente se encuentra en cuerpos de agua dulce. A comparación de especies omnívoras y carnívoras como *P. gadabouti*, *M. hufelandi* y *M. tardigradum*, *H. exemplaris* cumplió con las necesidades nutricionales requeridas, por lo que inferimos que la alimentación está estrechamente relacionada con la capacidad reproductiva.
5. El agua mineral Sta. María® se presenta como una opción accesible y viable como medio para el cultivo de tardígrados, ya que su composición mineral permite mantener un balance osmótico adecuado en los organismos. El recambio continuo del medio no solo contribuye a la higiene del cultivo y como prevención de contaminantes como hongos, sino que también favorece una adecuada oxigenación, fundamental para su desarrollo.
6. En especies de Eutardigrada, la presencia de humedad constante es crucial, mientras que en Heterotardigrada se recomienda permitir una evaporación parcial del agua durante ciertas horas del día, así como una deshidratación periódica completa.
7. Las condiciones térmicas óptimas para el cultivo de tardígrados de Baja California corresponden a aquellas del hábitat natural en época de lluvias, con temperaturas promedio de 10 a 15 °C y mínimas de 6 a 8 °C.
8. Aunque el fotoperiodo no mostró un impacto determinante en el desarrollo de los organismos, se sugiere un régimen de 14 horas de luz y 10 horas de oscuridad para mantener condiciones similares a las de su entorno natural.

9. El cultivo de tardígrados en laboratorio representa una herramienta valiosa para el mantenimiento de poblaciones estables y que podrían servir para estudios en diversas áreas de las ciencias biológicas, incluyendo Astrobiología, Biotecnología, Biomedicina y ciencias -ómicas. Sin embargo, su cultivo exitoso requiere el manejo paralelo de otros organismos que sirven como fuente de alimento, como microalgas, rotíferos y nemátodos, lo que resalta la importancia de desarrollar estrategias integradas para su mantenimiento a largo plazo.

## 11. LITERATURA CITADA

Altiero, T., Bertolani, R., & Rebecchi, L. (2010). Hatching phenology and resting eggs in *Paramacrobrotus richtersi* (Eutardigrada, Macrobiotidae). *Journal of Zoology*, 280(4), 290–296. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.2009.00664.x>

Altiero, T., Giovannini, I., Guidetti, R., Rebecchi, L. (2015) Life history traits and reproductive mode of the tardigrade *Acutuncus antarcticus* under laboratory conditions: strategies to colonize the Antarctic environment. *Hydrobiologia* (761) 277–291. <https://doi.org/10.1007/s10750-015-2315-0>

Altiero, T., Suzuki, A. C., Rebecchi, L. (2018) Reproduction, Development and Life Cycles en R. Schill (Ed.), *Water Bears: The Biology of Tardigrades* (Zoological Monographs, Vol. 2, pp. 211-247). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-95702-9\\_8](https://doi.org/10.1007/978-3-319-95702-9_8)

Amórtegui Amaya, C. Y. (2021). Implementación de un protocolo de cultivo de eutardígrados (Animalia, Tardigrada) en el Laboratorio de investigación de biología (INBIBO) de la Universidad El Bosque. [Tesis de Licenciatura, Universidad El Bosque]. Repositorio Institucional de la Universidad El Bosque. <https://hdl.handle.net/20.500.12495/7000>

ArcGIS Hub (2024) World Countries.

[https://hub.arcgis.com/datasets/c5b7f5f41c92404a803f7e8065d464ed\\_0/explorable](https://hub.arcgis.com/datasets/c5b7f5f41c92404a803f7e8065d464ed_0/explorable)

Artois, T., Fontaneto, D., Hummon, W. D., McInnes, S. J., Todaro, M. A., Sørensen, M. V., & Zullini, A. (2011). Ubiquity of microscopic animals? Evidence from the morphological approach in species identification. In D. Fontaneto (Ed.),

Biogeography of microscopic organisms: Is everything small everywhere? (pp. 244–283). Cambridge University Press.

<https://doi.org/10.1017/CBO9780511974878.014>

Baumann, H. (1961) Der Lebensablauf von *Hypsibius (H.) convergens* Urbanowicz (Tardigrada). Zoologischer Anzeiger, 167, 362–381.

Beasley, C. W. (2001). Photokinesis of *Macrobotus hufelandi* (Tardigrada, Eutardigrada). Zoologischer Anzeiger, 240(3–4), 233–236.

<https://doi.org/10.1078/0044-5231-00030>

Bertolani, R., Guidetti, R., Jönsson, K. I., Altiero, T., Boschini, D., Rebecchi, L. (2004) Experiences with dormancy in tardigrades. Journal of Limnology. 63(1): 16-25.

<https://dx.doi.org/10.4081/jlimnol.2004.s1.16>

Bertolani, R., Rebecchi, L., & Beccaccioli, G. (1990). Dispersal of *Ramazzottius* and other tardigrades in relation to type of reproduction. Invertebrate Reproduction & Development, 18(3), 153–157.

<https://doi.org/10.1080/07924259.1990.9672137>

Bertolani, R., Rebecchi, L., Claxton, S. K. (1996) Phylogenetic significance of eggshell variation in tardigrades. Zoological Journal of the Linnean Society, 116(1-2), 139–148, <https://doi.org/10.1111/j.1096-3642.1996.tb02339.x>

Bryndová, M., Stec, D., Schill, R. O., Michalczyk, Ł., Devetter, M. (2020) Dietary preferences and diet effects on life-history traits of tardigrades. Zoological Journal of the Linnean Society. 188(3): 865-877.

<https://doi.org/10.1093/zoolinnea/zlzl46>

Cambell, I. I., Rota-Stebelli, O., Edgecombe, G. D., Marchioro, T., Longhorn, S. J., Telford, M. J., Philippe, H., Rebecchi, L., Peterson, K. J., Pisani, D. (2011) MicroRNAs and phylogenomics resolve the relationships of Tardigrada and suggest that velvet worms are the sister group of Arthropoda. Proceedings of the National Academy of Sciences USA. 108 (38) 15920- 15924.

<https://doi.org/10.1073/pnas.1105499108>

Crowe, J. H., Cooper Jr. A. F. (1971) Cryptobiosis. Scientific American. 225(6): 30-37. <https://www.jstor.org/stable/24922869>

Dastych, H., Kraus, H., Thaler, K. (2003) Redescription and notes on the biology of the glacier tardigrade *Hypsibius klebelsbergi* MIHELČIČ, 1959 (Tardigrada), based on material from the Otztal Alps, Austria. Mitteilungen aus dem Hamburgueischen Zoologischen Museum und Institut. 100, pp. 101-100.

[https://www.semanticscholar.org/paper/Redescription-and-notes-on-the-biology-of-the-1959-Dastych-](https://www.semanticscholar.org/paper/Redescription-and-notes-on-the-biology-of-the-1959-Dastych-Kraus/0fd4bad5c0fd0094801a995d58425bea2808a6f5)

[Kraus/0fd4bad5c0fd0094801a995d58425bea2808a6f5](https://www.semanticscholar.org/paper/Redescription-and-notes-on-the-biology-of-the-1959-Dastych-Kraus/0fd4bad5c0fd0094801a995d58425bea2808a6f5)

Degma, P., Bertolani, R., Guidetti, R. (2024) Actual checklist of Tardigrada species (2009-2024) 43th Edition. Recuperado de:

<https://iris.unimore.it/retrieve/420326>

Delgadillo-Moya, C., Escolástico D. A., Hernández-Rodríguez, E., Herrera-Paniagua, P., Peña-Retes, P., Juárez-Martínez, C. (2022) Manual de Briofitas. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. 1era Ed. Digital.

<https://www.ib.unam.mx/ibunam/Manual-Briofitas.pdf>

Delgadillo-Moya, Claudio. (2014). Biodiversidad de Bryophyta (musgos) en México.

Revista mexicana de biodiversidad, 85(Supl. ene), 100-105.

<https://doi.org/10.7550/rmb.30953>

Doncaster, C.C., Hooper, D.J. (1961) Nematodes attacked by protozoa and tardigrades.

Nematologica 6: 333–335

Erdmann, W., & Łukasz, Kaczmarek. (2017). Tardigrades in space research-past and future. *Origins of Life and Evolution of Biospheres*, 47, 545-553.

<https://doi.org/10.1007/s11084-016-9522-1>

Erdmann, W., Idzikowski, B., Kowalski, W., Szymański, B., Kosicki, J. Z., & Kaczmarek, Ł. (2017). Can the tardigrade *Hypsibius dujardini* survive in the absence of the geomagnetic field? *PLoS ONE*, 12(9), e0183380.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0183380>

Fleming, J. F., Arakawa, K. (2021) Systematics of tardigrada: A reanalysis of tardigrade taxonomy with specific reference to Guil et al. (2019). *Zoologica Scripta*. 50(3) 376-382 <https://doi.org/10.1111/zsc.12476>

Fleming, J. F., Møbjerg Kristensen, R., Vinther Sørensen, M., Park, T. S., Arakawa, K., Blaxter, M., Rebecchi, L., Guidetti, R., Williams, T. A., Roberts, N. W., Vinther, K., Pisani, D. (2018) Molecular palaeontology illuminates the evolution of ecdysozoan vision. *Proceedings of the Royal Society*. 285: 20182180

<https://doi.org/10.1098/rspb.2018.2180>

Gabriel, W. N., & Goldstein, B. (2007). Segmental expression of Pax3/7 and engrailed homologs in tardigrade development. *Development Genes and Evolution*, 217, 421–433. <https://doi.org/10.1007/s00427-007-0152-5>

- Gabriel, W. N., McNuff, R., Patel, S. K., Gregory, T. R., Jeck, W. R., Jones, C. D., & Goldstein, B. (2007). The tardigrade *Hypsibius dujardini*, a new model for studying the evolution of development. *Developmental Biology*, 312(2), 545–559. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2007.09.055>
- Gagyi-Palfy, A., Stoian, L. C. (2018) A short review on tardigrades - some lesser-known taxa of polyextremophilic invertebrates. *ELBA Bioflux*. 3(1): 13-26. <http://www.elba.bioflux.com.ro/docs/2011.3.13-26.pdf>
- García, E. (2004). Prefacio a la quinta edición. In *Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen*. <https://doi.org/10.2307/j.ctv1xxv3n.2>
- Gąsiorek, P. (2024) Catch me if you can, or how paradigms of tardigrade biogeography evolved from cosmopolitanism to 'localism'. *Zoological Journal of the Linnean Society*. 202(2) 1-10. <https://doi.org/10.1093/zoolinnean/zlad191>
- GEBCO Compilation Group (2024) GEBCO 2024 Grid. doi:10.5285/1c44ce99-0a0d-5f4f-e063-7086abc0ea0f
- Goldstein, B. (2018). The emergence of the tardigrade *Hypsibius exemplaris* as a model system. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2018(11), 859–866. <https://doi.org/10.1101/pdb.emo102301>
- González-Abraham, C. E., Garcillán, P. P., Ezcurra, E., & Grupo de Trabajo de Ecorregiones. (2010). Ecorregiones de la península de Baja California: Una síntesis. *Botanical Sciences*, 87, 69–82. <https://doi.org/10.17129/botsci.302>
- Greven, H. (2018) From Johann August Ephraim Goeze to Ernst Marcus: A Ramble Through the History of Early Tardigrade Research (1773 Until 1929). En Schill,

R. (Ed) Water Bears: Biology of Tardigrades. Springer. (2) 1-55.

[https://doi.org/10.1007/978-3-319-95702-9\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-95702-9_1)

Gross, V., Bährle, R., & Mayer, G. (2018). Detection of cell proliferation in adults of the water bear *Hypsibius dujardini* (Tardigrada) via incorporation of a thymidine analog. *Tissue and Cell*, 51, 77–83. <https://doi.org/10.1016/j.tice.2018.03.005>

Guidetti, R. (2024) Evolution of egg deposition strategies, exaptations of exuvia, and thanatochresis in tardigrades. *Organisms Diversity & Evolution*.

<https://doi.org/10.1007/s13127-024-00642-1>

Guidetti, R., Altiero, T., Marchioro, T., Amadè, L. S., Avdonina, A. M., Bertolani, R., & Rebecchi, L. (2012). Form and function of the feeding apparatus in Eutardigrada (Tardigrada). *Zoomorphology*, 131(2), 127–148.

<https://doi.org/10.1007/s00435-012-0149-0>

Guidetti, R., Bertolani, R. (2005) Tardigrade taxonomy: an updated check list of the taxa and a list of characters for their identification. *Zootaxa*. 845(1-46). DOI: [10.11646/ZOOTAXA.845.1.1](https://doi.org/10.11646/ZOOTAXA.845.1.1)

Guidetti, R., Cesari, M., Bertolani, Rebecchi, L., Altiero, T. (2019) High diversity in species, reproductive modes and distribution within the *Paramacrobotus richtersi* complex (Eutardigrada, Macrobiotidae). *Zoological Letters* 5, 1

<https://doi.org/10.1186/s40851-018-0113-z>

Guidetti, R., Cesari, M., Giovannini, I., Ebel, C., Förschler, M. I., Rebecchi, L., & Schill, R. O. (2022). Morphology and taxonomy of the genus *Ramazzottius* (Eutardigrada; Ramazzottiidae) with the integrative description of *Ramazzottius*

*kretschmanni* sp. nov. The European Zoological Journal, 89(1), 346–370.

<https://doi.org/10.1080/24750263.2022.2043468>

Guidetti, R., Gneuß, E., Cesari, M., Altiero, T., Schill, R. O. (2020) Life-history traits and description of the new gonochoric amphimictic *Mesobiotus joenssoni* (Eutardigrada: Macrobiotidae) from the island of Elba, Italy. Zoological Journal of the Linnean Society. 188(3): 848-859.

<https://doi.org/10.1093/zoolinnean/zlz077>

Hagelbäck, P., Jönsson, K. I. (2023) An experimental study on tolerance to hypoxia in tardigrades. Frontiers in Physiology. 14:12497773.

<https://doi.org/10.3389/fphys.2023.1249773>

Hashimoto, T., Horikawa, D., Saito, Y., Kuwahara, H., Kozuka-Hata, H., Shin-I, T., Minakuchi, Y., Ohishi, K., Motoyama, A., Aizu, T., Enomoto, A., Kondo, K., Tanaka, S., Hara, Y., Koshikawa, S., Sagara, H., Miura, T., Yokobori, S., Miyagawa, K., Suzuki, Y., Kubo, T., Oyama, M., Kohara, Y., Fujiyama, A., Arakawa, K., Katayama, T., Toyoda, A., Kunieda, T. (2016) Extremotolerant tardigrade genome and improved radiotolerance of human cultured cells by tardigrade-unique protein. Nature Communication. 7, 12808.

<https://doi.org/10.1038/ncomms12808>

Hengherr, S., Worland, M. R., Reuner, A., Brümmer, F., & Schill, R. O. (2009). High-temperature tolerance in anhydrobiotic tardigrades is limited by glass transition. Physiological and Biochemical Zoology, 82(6), 749–755.

<https://doi.org/10.1086/605954>

Horikawa, D. (2008b). The tardigrade *Ramazzottius varieornatus* as a model of extremotolerant animals. *Journal of Japanese Society for Extremophiles*, 7.2(1), 25–28. <https://doi.org/10.3118/jjse.7.2.25>

Horikawa, D. D., Kunieda, T., Abe, W., Watanabe, M., Nakahara, Y., Yukuhiro, F., Sakashita, T., Hamada, N., Wada, S., Funayama, T., Katagiri, C., Kobayashi, Y., Higashi, S., & Okuda, T. (2008a). Establishment of a rearing system of the extremotolerant tardigrade *Ramazzottius varieornatus*: A new model animal for astrobiology. *Astrobiology*, 8(3), 549–556. <https://doi.org/10.1089/ast.2007.0139>

Horikawa, D. D., Yamaguchi, A., Sakashita, T., Tanaka, D., Hamada, N., Yukihiro, F., Kawahara, H., Kunieda, T., Watanabe, M., Nakahara, Y., Wada, S., Funayama, T., Katagiri, C., Higashi, S., Yokobori, S., Kuwabara, M., Rothschild, L. J., Okuda, T., Hashimoto, H., Kobayashi, Y. (2012) Tolerance of Anhydrobiotic Eggs of the Tardigrade *Ramazzottius varieornatus* to Extreme Environments. *Astrobiology*. 12(4): 283-289. <https://doi.org/10.1089/ast.2011.0669>

INEGI (2024) Biblioteca Digital de Mapas. <https://www.inegi.org.mx/app/mapas/>

Jagadeesh, M. K., Roszkowska, M., Kaczmarek, Ł. (2018) Tardigrade indexing approach on exoplanets. *Life Sciences in Space Research*. 18() 13-16. <https://doi.org/10.1016/j.lssr.2018.08.001>

Jane, S. F., Hansen, G. J. A., Kraemer, B. M., Leavitt, P. R., Mincer, J. L., North, R. L., Pilla, R. M., Stetler, J. T., Williamson, C. E., Woolway, R. I., Arvola, L., Chandra, S., DeGasperi, C. L., Diemer, L., Dunalska, J., Erina, O., Flaim, G.,

Grossart, H-P., Hambright, K. D., ... Rose, K. C. (2021) Widespread deoxygenation of temperate lakes. *Nature*. (594) 66-77.

<https://doi.org/10.1038/s41586-021-03550-y>

Jauregui-Lazo, J., Brinda, J. C., Go Glag Consortium, Mishler, B. D. (2022) The phylogeny of *Syntrichia*: An ecologically diverse clade of mosses with an origin in South America. *American Journal of Botany*. 110(1): e16103.

<https://doi.org/10.1002/ajb2.16103>

Jørgensen, A., Kristensen, R. M., Møbjerg, N. (2018). Phylogeny and Integrative Taxonomy of Tardigrada en R. Schill (Ed.), *Water Bears: The Biology of Tardigrades* (Zoological Monographs, Vol. 2, pp. 95-114). Springer.

[https://doi.org/10.1007/978-3-319-95702-9\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-319-95702-9_3)

Kaczmarek, Ł., Roszkowska, M., Poprawa, I., Janelt, K., Kmita, H., Gawlak, M., Fiałkowska, E., Mioduchowska, M. (2020) Integrative description of bisexual *Paramacrobotus experimentalis* sp. nov. (Macrobotidae) from republic of Madagascar (Africa) with microbiome analysis. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 145:106730. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2019.106730>

Kagoshima, H., Imura, S., & Suzuki, A. C. (2013). Molecular and morphological analysis of an Antarctic tardigrade, *Acutuncus antarcticus*. *Journal of Limnology*, 72(S1), e3. <https://doi.org/10.4081/jlimnol.2013.s1.e3>

Kasianchuk N., Rzymiski P., Kaczmarek, Ł. (2023) The biomedical potencial of tardigrade proteins: A review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 158(114063)

<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.114063>

- Kayastha, P., Mioduchowska, M., Warguła, J., & Kaczmarek, Ł. (2023b). A Review on the Genus *Paramacrobotus* (Tardigrada) with a New Diagnostic Key. *Diversity*, 15(9), 977. <https://doi.org/10.3390/d15090977>
- Kayastha, P., Stec, D., Sługocki, Ł. et al. (2023a) Integrative taxonomy reveals new, widely distributed tardigrade species of the genus *Paramacrobotus* (Eutardigrada: Macrobiotidae). *Sci Rep* 13, 2196. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-28714-w>
- Kayastha, P., Szydło, W., Mioduchowska, M., Kaczmarek, Ł. (2023c) Morphological and genetic variability in cosmopolitan tardigrade species—*Paramacrobotus fairbanksi* Schill, Förster, Dandekar & Wolf, 2010. *Scientific Reports*. (13) 17672. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-42653-6>
- Kinchin, I. M. (2008). Tardigrades and anhydrobiosis: Water bears and water loss. *Biochemist*, 30(4), 18–20. <https://doi.org/10.1042/bio03004018>
- Kirke, J., Jin, X-L., Zhang, X-H. (2020) Expression of a Tardigrade *Dsup* Gene Enhances Genome Protection in Plants. *Molecular Biotechnology*. 62: 563-571. <https://doi.org/10.1007/s12033-020-00273-9>
- Kosztyła, P., Stec, D., Morek, W., Gąsiorek, P., Zawierucha, K., Michno, K., Ufir, K., Małek, D., Hlebowicz, K., Laska, A., Dudziak, M., Frohme, M., Prokop, Z. M., Kaczmarek, Ł., Michalczyk, Ł. (2016) Experimental taxonomy confirms the environmental stability of morphometric traits in a taxonomically challenging group of microinvertebrates. *Zoological Journal of the Linnean Society* 178(4) 765-775. <https://doi.org/10.1111/zoj.12409>

- Lemloh, M. L., Brümmer, F., & Schill, R. O. (2011). Life-history traits of the bisexual tardigrades *Paramacrobiotus tonollii* and *Macrobiotus sapiens*. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 49(S1), 58–61. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0469.2010.00599.x>
- Li, X., Bai, W., Yang, Q., Yin, B., Zhang, Z., Zhao, B., Kuang, T., Zhang, Y., Zhang, D. (2024) The extremotolerant desert moss *Syntrichia caninervis* is a promising pioneer plant for colonizing extraterrestrial environments. *The Innovation*. 5(4) 100657. <https://doi.org/10.1016/j.xinn.2024.100657>
- Lukešová, A., Frouz, J. (2007). Soil and Freshwater Micro-Algae as a Food Source for Invertebrates in Extreme Environments. In: Seckbach, J. (eds) *Algae and Cyanobacteria in Extreme Environments. Cellular Origin, Life in Extreme Habitats and Astrobiology*, vol 11. Springer, Dordrecht. [https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6112-7\\_14](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6112-7_14)
- Lyons, A. M., & Kato, S. (2025). The tardigrade as an emerging model organism for systems neuroscience. arXiv. <https://doi.org/10.48550/arXiv.2501.06606>
- Meier, M. Florencia, Rocha, A. Mariana, Kun, Marcelo E., Messuti, M. Inés. (2019). Claves para la identificación de géneros y especies de tardígrados (Tardigrada) limnoterrestres presentes en el Parque Nacional Nahuel Huapi y sus alrededores (Patagonia, Argentina). *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, 78(4), 1-10. <https://dx.doi.org/https://doi.org/10.25085/rsea.780407>
- Meneguín, S. P., Pulschen, A. A. (2010) Estabelecimento de uma cultura de tardígrados limno-terrestres em laboratório e desenvolvimento de metodologias

alternativas de desidratação de tardígrados. Evidência. 10(1) 2236-6059.

<https://doaj.org/article/6bd230e70bcd4d49b1797bcc0523a54b>

Miller, W. R. (1997). Tardigrades: bears of the moss. The Kansas School naturalist. 43(3): 1-16.

Møbjerg, N., Halberg, K. A., Jørgensen, A., Persson, D., Bjørn, M., Ramløv, H., Kristensen, R. M. (2011) Survival in extreme environments - on the current knowlegde of adaptations in tardigrades. Acta Physiologica. 202, 409-420. <https://doi.org/10.1111/j.1748-1716.2011.02252.x>

Møbjerg, N., Jørgensen, A., Kristensen, R. M., & Neves, R. C. (2018). Morphology and functional anatomy. En Schill, R. (Ed.), Water bears: The biology of tardigrades (Vol. 2, pp. 57-114). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-95702-9\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-319-95702-9_2)

Momeni, S., Fuentes-González, J., & Pienaar, J. (2022). How to culture limnoterrestrial heterotardigrades. Invertebrate Biology, 141(1), 1–10. <https://doi.org/10.1111/ivb.12360>

Momeni, S., Gąsiorek, P., Loeffelholz, J. et al. Green armoured tardigrades (Echiniscidae: *Viridiscus*), including a new species from the Southern Nearctic, exemplify problems with tardigrade variability research. Sci Rep 13, 16329 (2023). <https://doi.org/10.1038/s41598-023-40609-4>

Morek, W., Blagden, B., Kristensen, R. M., & Michalczyk, Ł. (2020). The analysis of inter- and intrapopulation variability of *Milnesium eurystomum* Maucci, 1991 reveals high genetic divergence and a novel type of ontogenetic variation in the

order Apochela. Systematics and Biodiversity, 18(6), 614–632.

<https://doi.org/10.1080/14772000.2020.1771469>

Morek, W., Suzuki, A. C., Schill, R. O., Georgiev, D., Yankova, M., Marley, N. J., & Michalczyk, Ł. (2019). Redescription of *Milnesium alpigenum* Ehrenberg, 1853 (Tardigrada: Apochela) and a description of *Milnesium inceptum* sp. nov., a tardigrade laboratory model. Zootaxa, 4586(1), 35.

<https://doi.org/10.11646/zootaxa.4586.1.2>

Morrison, D. (2001) The NASA astrobiology program. Astrobiology (1)1:3-13.  
doi:10.1089/153110701750137378

Moyes, C. D., Schulte, P.M. (2007) Principios de Fisiología Animal. Pearson Educación.

Nava Gómez, B. (2014) Cultivo de *Nannochloropsis sp* con fertilizantes agrícolas y evaluación de floculados como alimento para *Brachionus plicatilis* (Müller, 1786) [Tesis de Licenciatura, Universidad Autónoma de Baja California] Repositorio Institucional de la Universidad Autónoma de Baja California.

<https://hdl.handle.net/20.500.12930/597>

Nelson, D. R., Bartels, P. J., Guil, N. (2018) Tardigrade Ecology. En Schill, R. (Ed.) Water Bears: The Biology of Tardigrades. Zoological Monographs, vol 2. Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-95702-9\\_7](https://doi.org/10.1007/978-3-319-95702-9_7)

Nelson, D. R., Guidetti, R., & Rebecchi, L. (2010). Tardigrada. In Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates (pp. 455–484).

<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374855-3.00014-5>

- Nelson, D.R., Adkins, F. R., Guidetti, R., Roszkowska, M., Grobys, D., Kaczmarek, Ł. (2020) Two new species of Tardigrada from moss cushions (*Grimmia sp.*) in a xerothermic habitat in northeast Tennessee (USA, North America), with the first identification of males in the genus *Viridiscus*. PeerJ 8:e10251. <https://doi.org/10.7717/peerj.10251>
- Nguyen, K., Sharrdha, K.C., Gonzalez, T., Tapia, H., Boothby, T. C. (2022) Trehalose and tardigrade CAHS proteins work synergistically to promote desiccation tolerance. Communications biology. 5: 1046. <https://doi.org/10.1038/s42003-022-04015-2>
- Niccolai, A., Chini Zittelli, G., Rodolfi, L., Biondi, N., & Tredici, M. R. (2019). Microalgae of interest as food source: Biochemical composition and digestibility. Algal Research, 42, 101617. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101617>
- Norris, D. H., & Shevock, J. R. (2004). Contributions towards a Bryoflora of California: II A Key to the Mosses. Madroño, 51(2), 133–269. <http://www.jstor.org/stable/41425542>
- Núñez, P. G., León-Espinosa, G. A., Vázquez, R., Peña-Salinas, M. E., Rodríguez-Almaraz, G. A., & Moreno-Talamantes, A. (2021). First tardigrade records from San Pedro Mártir, Baja California, Mexico. Check List, 17(4), 1131–1142. <https://doi.org/10.15560/17.4.1131>
- Núñez, P. G., Quevedo, N. G., & Vázquez, R. (2019). A sustainable culture of tardigrades (*Hypsibius dujardini*) for astrobiological laboratory activities. EPJ

Web of Conferences, 200, 02011.

<https://doi.org/10.1051/epjconf/201920002011>

Peinado Lorca, M., Alcaraz Ariza, F. J., Delgadillo, J., & Aguado Suárez, I. (1994).

Fitogeografía De La Península De Baja California, Mexico. *Anales Del Jardín Botánico de Madrid*, 51(2), 255–277.

<http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=2948974&info=resumen&idoma=ENG>

Peinado, M., Alcaraz, F., Aguirre, J. L., Delgadillo, J., Aguado, I. (1995). Shrubland formations and associations in mediterranean-desert transitional zones of northwestern Baja California. *Plant Ecology*, 117(2), 165–179.

<https://doi.org/10.1007/BF00045507>

Persson, D., Halberg, K. A., Jørgensen, A., Ricci, C., Møbjerg, N., & Kristensen, R. M. (2011). Extreme stress tolerance in tardigrades: surviving space conditions in low earth orbit. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 49, 90–97. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0469.2010.00605.x>

Pilato, G., Binda, M. G. (2010). Definition of families, subfamilies, genera and subgenera of the Eutardigrada, and keys to their identification. *Zootaxa*, 2404(1), 1–54. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.2404.1.1>

Pilato, G., Fontoura, P., Lisi, O. (2007) Remarks on the *Echiniscus viridis* group, with description of a new species (Tardigrada, Echiniscidae). *Journal Limnology*. 66(1): 33-39. <https://doi.org/10.4081/jlimnol.2007.s1.33>

Pilato, G., Guidetti, R., Rebecchi, L., Lisi, O., Hansen, J. G., & Bertolani, R. (2006). Geonemy, ecology, reproductive biology and morphology of the tardigrade

*Hypsibius zetlandicus* (Eutardigrada: Hypsibiidae) with erection of *Borealibius* gen. n. *Polar Biology*, 29(7), 595–603. <https://doi.org/10.1007/s00300-005-0094-1>

Poprawa, I., Hyra, M., & Rost-Roszkowska, M. M. (2015). Germ cell clusters organization and oogenesis in the tardigrade *Dactylobiotus parthenogeneticus* Bertolani, 1982 (Eutardigrada, Murrayidae). *Protoplasma*, 252, 1019–1029. <https://doi.org/10.1007/s00709-014-0737-6>

Rebecchi, L., & Bertolani, R. (1988). New cases of parthenogenesis and polyploidy in the genus *Ramazzottius* (Tardigrada, Hypsibiidae) and a hypothesis concerning their origin. *International journal of invertebrate reproduction and development*, 14(2-3), 187-196. <https://doi.org/10.1080/01688170.1988.10510377>

Rebecchi, L., Altiero, T., Rizzo, A. M., Cesari, M., Montorfano, G., Marchioro, T., Bertolani, R., & Guidetti, R. (2012). Two tardigrade species on board of the STS-134 space flight. *STAMPA*, 2012, 89. Presentado en el 12º congreso en Vila Nova de Gaia, Portugal, 23–26 de julio de 2012.

[http://www.tardigrada.net/newsletter/images/symposia/12\\_Booklet.pdf](http://www.tardigrada.net/newsletter/images/symposia/12_Booklet.pdf)

Reyes-Acosta, E. E. (2024) Diversidad de tardígrados asociados a briofitas y líquenes de Ensenada, Baja California [Tesis de Licenciatura, Universidad Autónoma de Baja California] Research Gate. DOI: 10.13140/RG.2.2.11363.26400

Ricci, C., Riolo, G., Marzocchi, C., Brunetti, J., Pini, A., Cantara, S. (2021) The Tardigrade Damage Suppressor Protein Modulates Transcription Factor and DNA Repair Genes in Human Cells Treated with Hydroxyl Radicals and UV-C. *Biology*. 10(10): 970. <https://doi.org/10.3390/biology10100970>

- Rizzo, A. M., Altiero, T., Corsetto, P. A., Montorfano, G., Guidetti, R., & Rebecchi, L. (2015). Space Flight Effects on Antioxidant Molecules in Dry Tardigrades: The TARDIKISS Experiment. *BioMed Research International*, 2015, 1–7.  
<https://doi.org/10.1155/2015/167642>
- Roszkowska, M., Wojciechowska, D., Kmita, H., Cerbin, S., Dziuba, M. K., Fiałkowska, E., Sobkowiak, R., Szydło, W., & Kaczmarek. (2021). Tips and tricks how to culture water bears: simple protocols for culturing eutardigrades (Tardigrada) under laboratory conditions. *European Zoological Journal*, 88(1), 449–465. <https://doi.org/10.1080/24750263.2021.1881631>
- Safi, C., Zebib, B., Merah, O., Pontalier, P.-Y., & Vaca-Garcia, C. (2014). Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 35, 265–278.  
<https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.04.007>
- Sánchez-Moreno, S., Ferris, H., & Guil, N. (2008). Role of tardigrades in the suppressive service of a soil food web. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 124(3–4), 187–192. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2007.09.011>
- Sayre, R. M. (1969). A Method for Culturing a Predaceous Tardigrade on the Nematode *Panagrellus redivivus*. *Transactions of the American Microscopical Society*, 88(2), 266. <https://doi.org/10.2307/3224500>
- Schill, R. O. (2013). Life-history traits in the tardigrade species *Paramacrobiotus kenianus* and *Paramacrobiotus palaui*. *Journal of Limnology*, 72(S1), e20.  
<https://doi.org/10.4081/jlimnol.2013.s1.e20>

- Schill, R. O., Fritz, G. B. (2008). Desiccation tolerance in embryonic stages of the tardigrade. *Journal of Zoology*, 276(1), 103–107. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.2008.00474.x>
- Schill, R. O., Jönsson, K. I., Pfannkuchen, M., & Brümmer, F. (2011). Food of tardigrades: A case study to understand food choice, intake and digestion. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 49(SUPPL.1), 66–70. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0469.2010.00601.x>
- Schill, R. O., Mali, B., Dandekar, T., Schnölzer, M., Reuter, D., Frohme, M. (2009) Molecular mechanisms of tolerance in tardigrades: New perspectives for preservation and stabilization of biological material. *Biotechnology Advances*. 27(4): 348-352. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2009.01.011>
- Servicio Meteorológico Nacional. (2024). Datos climatológicos normales históricos de las estaciones 00002025 Ensenada (OBS) y 00002051 San Luis Baja California. Conagua. <https://smn.conagua.gob.mx/es/climatologia/informacion-climatologica/informacion-estadistica-climatologica>
- Shim, J.-Y., Shin, H., Han, J.-G., Park, H.-S., Lim, B.-L., Chung, K.-W., & Om, A.-S. (2008). Protective Effects of *Chlorella vulgaris* on Liver Toxicity in Cadmium-Administered Rats. *Journal of Medicinal Food*, 11(3), 479–485. <https://doi.org/10.1089/jmf.2007.0075>
- Smith, F. W., Goldstein, B. (2017) Segmentation in Tardigrada and diversification of segmental patterns in Panarthropoda. *Arthropod Structure & Development*. 46(6): 328-340. <https://doi.org/10.1016/j.asd.2016.10.005>

- Smith, F. W., Cumming, M., & Goldstein, B. (2018). Analyses of nervous system patterning genes in the tardigrade *Hypsibius exemplaris* illuminate the evolution of panarthropod brains. *EvoDevo*, 9(1), 19. <https://doi.org/10.1186/s13227-018-0106-1>
- Stone, J., & Vasanthan, T. (2020). Life history traits for the freshwater Tardigrade Species *Hypsibius exemplaris* reared under laboratory conditions. *Journal of Wildlife and Biodiversity*, 4(2), 65–72. <https://doi.org/10.22120/jwb.2020.96855.1037>
- Sugiura K, Minato H, Suzuki Ac, Arakawa K, Kunieda T, Matsumoto M. 2019. Comparison of sexual reproductive behaviors in two species of Macrobiotidae (Tardigrada: Eutardigrada). *Zool Sci*. 36(2):120–127. <https://doi.org/10.2108/zs180103>
- Sugiura, K., & Matsumoto, M. (2021). Sexual reproductive behaviours of tardigrades: a review. *Invertebrate Reproduction & Development*, 65(4), 279–287. <https://doi.org/10.1080/07924259.2021.1990142>
- Suma, H. R., Prakash, S., Eswarappa, S. M. (2020) Naturally occurring fluorescence protects the eutardigrade *Paramacrobiotus sp.* from ultraviolet radiation. *Biology letters*. 16: 20200391. <http://doi.org/10.1098/rsbl.2020.0391>
- Suzuki, A. C. (2003). Life history of *Milnesium tardigradum* Doyère (Tardigrada) under a rearing environment. *Zoological Science*, 20(1), 49–57. <https://doi.org/10.2108/zsj.20.49>

Suzuki, A. C. (2008) Appearance of Males in a Thelutokous Strain of *Milnesium cf. tardigradum* (Tardigrada). *Zoological Science*, 25(8):849-853 (2008).

<https://doi.org/10.2108/zsj.25.849>

Tokuşoglu, O., & Ünal, M. K. (2003). Biomass Nutrient Profiles of Three Microalgae: *Spirulina platensis*, *Chlorella vulgaris*, and *Isochrysis galbana*. *Journal of Food Science*, 68(4), 1144–1148.

<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2003.tb09615.x>

Valenzuela-Espinoza, E., Millán-Núñez, R. and Núñez-Cebrero, F. (1999). Biomass production and nutrient uptake by *Isochrysis aff. galbana* (Clone T-Iso) cultured with a low cost alternative to the f/2 medium. *Aquacult. Eng.*, 20: 135-147.

[https://doi.org/10.1016/S0144-8609\(99\)00011-4](https://doi.org/10.1016/S0144-8609(99)00011-4)

von Wenck W. 1914 Entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen an Tardigraden *Macrobiotus lacustris* Duj.. *Zoologische Jahrbücher Abteilung für Anatomie und Ontogenie der Tiere* 37 465 514 Taf. 35–8.

Wilanowska, P.A., Rzymiski, P., Kaczmarek, Ł. (2024) Correction: Wilanowska et al. Long-Term Survivability of Tardigrade *Paramacrobiotus experimentalis* (Eutardigrada) at Increased Magnesium Perchlorate Levels: Implications for Astrobiological Research. *Life (Basel)*.14(5): 573.

<https://doi.org/10.3390/life14050573>

## 12. GLOSARIO

**Ad libitum:** Expresión en latín que significa "a voluntad" o "según se desee". En biología, se usa para referirse a la disponibilidad ilimitada de alimento o recursos.

**Anhidrobiosis:** Estrategia de supervivencia en la que un organismo entra en un estado de deshidratación extrema y suspende sus funciones metabólicas hasta que se rehidrata.

**Anfimixis:** Tipo de reproducción sexual que implica la fusión de gametos de dos progenitores diferentes, dando lugar a variabilidad genética.

**Anoxibiosis:** Estado en el que un organismo responde a la falta de oxígeno reduciendo su metabolismo sin entrar en criptobiosis.

**Carnívoro:** Organismo que se alimenta principalmente de otros animales.

**Ciencias -ómicas:** Conjunto de disciplinas científicas que estudian elementos biológicos a gran escala, como la genómica (genes), proteómica (proteínas) o metabolómica (metabolitos).

**Crioconita:** Depósitos de polvo orgánico e inorgánico sobre superficies heladas, que pueden albergar comunidades microbianas.

**Criptobiosis:** Estado de vida latente en el que los procesos metabólicos de un organismo se reducen a niveles indetectables, permitiendo la supervivencia en condiciones extremas.

**Detritus:** Materia orgánica en descomposición que sirve de fuente de nutrientes en los ecosistemas.

**Ecdysozoa:** Clado de animales que mudan su cutícula durante su crecimiento, como artrópodos y tardígrados.

**Epífita:** Planta que crece sobre otra sin ser parásita, usando su soporte para acceder a la luz y la humedad.

**Esclerófilo:** Organismo adaptado a condiciones secas, con estructuras rígidas y resistentes a la pérdida de agua.

**Exuvia:** Exoesqueleto desechado por un organismo durante la muda.

**Fotocinesis:** Respuesta fisiológica de un organismo a la luz sin dirección específica.

**Fototaxis:** Movimiento de un organismo hacia o en contra de una fuente de luz.

**Gametofito:** Fase haploide del ciclo de vida de plantas y algunos organismos, responsable de la producción de gametos.

**Gonocórico:** Especie en la que los sexos están separados en individuos distintos.

**Gonoporo:** Abertura del sistema reproductor en algunos animales.

**Grávida:** Término que indica que un organismo está en estado de gestación o con huevos en desarrollo.

**Herbívoro:** Organismo que se alimenta principalmente de plantas o algas.

**Hipoxia:** Condición de baja disponibilidad de oxígeno en un ambiente o en el organismo.

**Lignificado:** Que ha desarrollado lignina en sus tejidos, aportando rigidez y resistencia estructural.

**Omnívoro:** Organismo que se alimenta tanto de materia vegetal como animal.

**Ovígera:** Hembra que porta huevos en desarrollo, ya sea dentro de su cuerpo o adheridos externamente, antes de la eclosión.

**Partenogénesis:** Forma de reproducción asexual en la que un embrión se desarrolla sin fertilización.

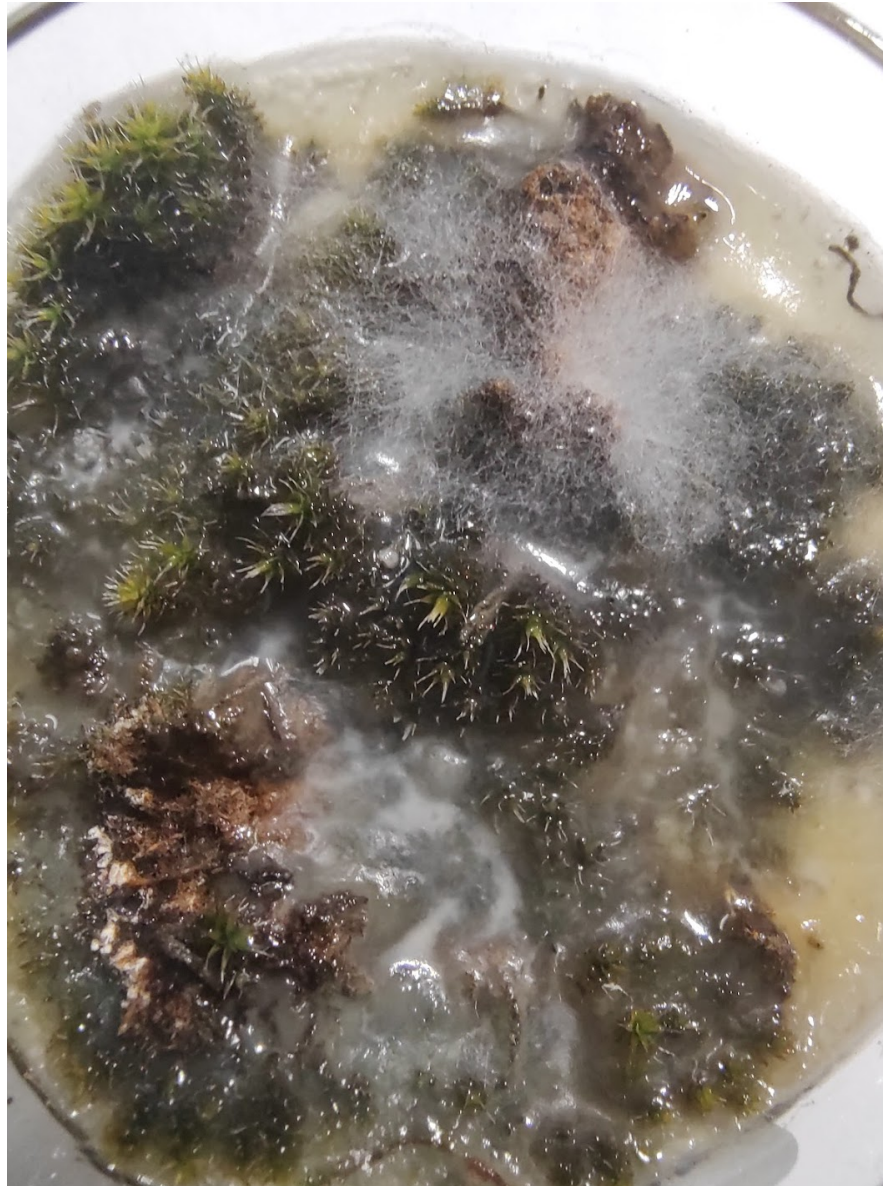
**Protonema:** Estructura filamentosa inicial en el desarrollo de los musgos a partir de una espora.

**Rizoide:** Estructura de plantas no vasculares que facilita la fijación al sustrato y la absorción de agua.

**Telitoquia:** Tipo de partenogénesis en la que solo se producen hembras a partir de huevos no fertilizados.

**Trehalosa:** Disacárido de glucosa presente en algunos organismos, crucial en la tolerancia a la desecación.

**Turgente:** Estado en el que una célula u organismo mantiene su forma debido a la presión del agua en su interior.



**Anexo 1.** Muestra de musgo contaminado con hongos

MES	PRECIPITACIÓN	T. MÁXIMA	T. MEDIA	T. MÍNIMA
ENE	45	20.2	13.7	7.2
FEB	59.2	19.4	13.5	7.6
MAR	28.2	20.1	14.5	8.8
ABR	14.2	21	15.5	9.9
MAY	4.8	21.9	17.3	12.7
JUN	1.8	23	19	14.9
JUL	0.6	25.5	21.5	17.4
AGO	0.7	26.1	21.9	17.6
SEP	1.4	25.9	20.9	16
OCT	22.5	23.9	18.4	13
NOV	23.7	22.3	16	9.7
DIC	44.6	19.6	13.3	6.9

Anexo 2. Tabla del climograma del municipio de Ensenada.

MES	PRECIPITACIÓN	T. MÁXIMA	T. MEDIA	T. MÍNIMA
ENE	10.3	19	12.8	6.6
FEB	17.8	20.6	13.7	6.8
MAR	10	23.1	15.2	7.3
ABR	2.5	25.1	16.7	8.2
MAY	0.4	27.9	19	10.1
JUN	0	33.1	23.5	13.9
JUL	3	36.1	27.4	18.6
AGO	5.6	36.5	28	19.6
SEP	11.4	33.6	25.4	17.3
OCT	9.1	28.4	20.5	12.6
NOV	9	22.9	15.9	8.9
DIC	20.5	19.5	13.2	6.9

Anexo 3. Tabla del climograma de la localidad San José, municipio de San Quintín.

%Supervivencia			
	Día 1	Día 7	Día 14
Porcentaje 26°C	100	100	100
Porcentaje 15°C	100	85	70
Porcentaje 9°C	100	85	70

**Anexo 4.** Tabla de porcentajes de supervivencia de *P. gadabouti* y *M. hufelandi* en días específicos.

%Actividad+%Inactividad T26vsT9				
Día	T26°C		T9°C	
	% Activos	%Inactivos	%Activos	%Inactivos
1	100	0	100	0
7	0	100	100	0
14	14.28	85.72	100	0

**Anexo 5.** Tabla de porcentajes de actividad influenciada por Temperatura de *P. gadabouti* y *M. hufelandi*

Supervivencia	
Día	%
1	100
7	100
14	100
21	100

**Anexo 6.** Tabla de porcentajes de supervivencia de *M. tardigradum* en días específicos.

Actividad		
Día	%Activos	%Inactivos
1	100	0
7	100	0
14	0	100
21	0	100

**Anexo 7.** Tabla de porcentaje de individuos activos e inactivos de *M. tardigradum* en días específicos.

Supervivencia	
Día	
1	100
7	80
14	40

**Anexo 8.** Tabla de porcentajes de supervivencia de *Ramazzottius sp.* en días específicos.

Actividad		
Día	%Activos	%Inactivos
1	100	0
7	80	20
14	100	0
21	100	0

**Anexo 9.** Tabla de porcentaje de individuos activos e inactivos de *M. tardigradum* en días específicos.

Supervivencia	
Día	100
1	100
7	100
14	100

**Anexo 10.** Tabla de porcentajes de supervivencia de *V. viridianus* en días específicos.

Actividad		
Día	%Activos	%Inactivos
1	71.42	28.58
7	85.71	14.29
14	0	100
21	0	10

**Anexo 11.** Tabla de porcentaje de individuos activos e inactivos de *V. viridianus* en días específicos.

Supervivencia	
Día	Porcentaje (%)
1	100
7	100
14	105
21	235

**Anexo 12.** Tabla de porcentajes de supervivencia de *Hypsibius exemplaris* en días específicos.

Actividad		
Día	%Activos	%Inactivos
1	90	10
7	95	5
14	85.71	14.28
21	97.87	2.12

**Anexo 13.** Tabla de porcentaje de individuos activos e inactivos de *H. exemplaris* en días específicos.