



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

“DIVERSIDAD DE TARDÍGRADOS SEMITERRESTRES EN
LA FAJA VOLCÁNICA TRANS-MEXICANA”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

Licenciado en Biología

P R E S E N T A:

JOSÉ JORGE ROMERO MENDOZA

DIRECTOR DE TESIS:

DR. JORGE JIMÉNEZ CONTRERAS

Los Reyes Iztacala, Edo. De México, 2017





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Contenido

AGRADECIMIENTOS.....	2
AGRADECIMIENTOS PERSONALES.....	4
RESUMEN	5
ABSTRACT.....	6
INTRODUCCIÓN	7
Generalidades del Filo Tardigrada	8
ANTECEDENTES	12
JUSTIFICACIÓN	17
OBJETIVOS	19
General.....	19
Particulares.....	19
ÁREA DE ESTUDIO	19
MATERIALES Y MÉTODOS.....	22
Colecta en campo.....	22
Aislamiento	22
Fijación, montaje e identificación	22
Análisis estadístico	23
RESULTADOS	24
Riqueza.....	24
Análisis de diversidad y similitud	25
DISCUSIÓN.....	32
Riqueza.....	32
Análisis de diversidad y similitud	34
CONCLUSIONES	36
LITERATURA CITADA.....	37

***Nothing is impossible; the word itself says
"I'm possible"***

-Audrey Hepburn

AGRADECIMIENTOS

Gracias a mi comité de tutores por sus afables correcciones y su apoyo a un proyecto de momento tan excéntrico: Dr. Jorge, Maestros Octavio, Gloria y Drs. Sarma y Nandini. A los profesores y profesoras: Gloria, Lupita, Daniel y Ángeles en la cabecera de LIC III por prestar equipo, espacio y por permitirme molestarlos para abrirme la puerta del cubículo cuando no había a quién más acudir; a Osvaldo, Daleth, Francisco y Pilar del laboratorio de microscopía por el imprescindible uso del microscopio con contraste de fases, así como por su apoyo y creciente amistad.

Gracias a todas las profesoras y profesores que me formaron a lo largo de la carrera y que en su mayoría lograron que su materia se volviera apasionante para mí al grado de pensar varias veces en tomar otros caminos muy distintos al actual. Gracias especiales a las profesoras Nandini Sarma y Teresa Ramírez ya que fue mediante una exposición en su clase del entonces Método IV que descubrí y me enamoré de los adorables tardígrados.

Agradezco igualmente a todas y todos aquellos que facilitaron la obtención de las muestras con las que he trabajado en este proyecto: Al Dr. Jorge, a Fernanda, Xel, Betzy, Jair, Adriana, Brenda, Michelle, Martita y todos los demás involucrados si es que he omitido o desconocido a alguien.

Interminables gracias a la Universidad Nacional Autónoma de México y en especial a la Facultad de Estudios Superiores Iztacala por cobijar esta fase de mi vida académica y profesional.

Se agradece al programa, antes PRONABES, ahora Manutención por la beca que ayudó a dar varios respiros a lo largo de la carrera y a restar algunas inquietudes económicas a mis padres. Así mismo al programa de Becas para Titulación – Proyectos de Investigación por el actual apoyo que ha sido de tremenda ayuda.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

Agradezco, primero que nada, a mi irremplazable e imprescindible familia. Esta que ha apoyado consistentemente mis esfuerzos y me ha motivado a seguir adelante guiado por aquello que me apasione y entusiasme. Gracias a mis padres Patricia Irene Mendoza Espejo y Jorge Luis Romero Flores, a mi hermano Emmanuel y a mi cuñada Lidia. En extensivo, a mi familia no humana... Mis queridas mascotas que han sido un humilde y alingüe apoyo en esos días que las palabras faltaban y la gente distaba.

Imposible e injusto sería tratar de listar y mencionar todos los nombres y aportes de mis queridas amistades a lo largo del tiempo que les he conocido. Algunas personas han sido de gran apoyo pero de paso efímero en mi vida y otras de mayor tiempo y constante ayuda. Sin embargo destaco a mis más grandes y presentes amistades: Orel, Alhelí, Nely, Rubí... Gracias por las risas, las ocurrencias, los recorridos turísticos gratuitos y en general, por el apoyo en los momentos duros de esta travesía que aún dista mucho de culminar.

Por último pero jamás menos importante... Gracias a esas miradas, esa sonrisa y la ineludible ternura. Gracias a aquella voz apaciguante pero tenaz. Gracias por las palabras, por los ánimos y los consuelos. Gracias por la esperanza en la belleza, el espíritu y la verdad en una misma persona.

RESUMEN

La biodiversidad es un concepto multidimensional, que abarca la típica variedad de niveles taxonómicos, pero también la escala espacial de estos y su distribución proporcional. Las relaciones funcionales dentro de los niveles de diversidad son igualmente relevantes ya que muestran la importancia del acoplamiento de factores abióticos y bióticos. Estos últimos pueden incluir vegetación que hace la función de soporte para las llamadas epífitas, cuyas comunidades pueden ser tan diversas como en muchos ambientes macroscópicos albergando microinvertebrados como ácaros, rotíferos, nemátodos y tardígrados. El Filo Tardigrada en especial tiene aún un muy incipiente conocimiento en zonas tropicales y subtropicales como México; tras 106 años desde la primera referencia a tardígrados mexicanos, sólo 44 especies han sido reportadas en 11 publicaciones; de éstas, 18 registros se consideran dudosos. Con el fin de incrementar este conocimiento en nuestro territorio y ofrecer un perfil más ecológico a los estudios acerca de tardígrados, en la presente investigación se observaron 130 muestras de musgos y líquenes de 14 localidades pertenecientes a la Faja Volcánica Transmexicana (FVTM), reconocida como centro de gran diversidad de especies. Se identificaron 14 géneros de tardígrados pertenecientes a 6 familias. Los géneros dominantes en la FVTM fueron *Macrobotus*, *Minibiotus*, *Milnesium* y *Pseudechiniscus*. En general, tanto la diversidad como la riqueza fueron equilibradas entre musgos y líquenes, aunque los segundos superaron a los primeros en abundancia de individuos. Dentro del área de estudio, Pinal de Amoles, Tilostoc y Mesón Viejo fueron las localidades que presentaron mayor número de géneros, pero Tilostoc fue la localidad más diversa. La gran similitud entre la mayoría de las localidades sugiere la necesidad de una investigación de mayor profundidad taxonómica en el área de estudio.

ABSTRACT

Biodiversity is a multidimensional concept, encompassing the typical variety of taxonomic levels, but also the spatial scale of these and their proportional distribution. The functional relationships within the diversity levels are evenly relevant since they show the importance of the coupling of abiotic and biotic factors. The latter may include vegetation that performs as a support for the so called epiphytes, whose communities can be as diverse as many macroscopic environments, harboring microinvertebrates like mites, rotifers, tardigrades and nematodes. The Phylum Tardigrada has still a very incipient knowledge in tropical and subtropical zones like Mexico; after 106 years since the first reference to Mexican tardigrades, only 44 species have been reported in 11 publications; among these, 18 records are considered doubtful. In order to increase this knowledge into our territory and provide a more ecological profile to the studies on tardigrades, in the present research 130 samples of mosses and lichens from 14 locations belonging to the Trans-Mexican Volcanic Belt (TMVB) were observed, recognized as center of a great diversity of species. Fourteen genera of tardigrades belonging to 6 families were identified. The dominant genera in the TMVB were *Macrobotus*, *Minibiotus*, *Milnesium* and *Pseudechiniscus*. Overall, both diversity and richness were balanced between mosses and lichens, although the latter exceeded the first in abundance of organisms. Within the study area, Pinal de Amoles, Tilostoc and Mesón Viejo were the locations that presented the highest number of genera, but Tilostoc was the most diverse location. The great similarity between most of the localities suggests the need for a deeper taxonomic investigation in the study area.

INTRODUCCIÓN

Según Van Dyke (2008), una de las mejores y más concretas definiciones de biodiversidad es la que presentan Sandlund *et al.* (1992), expresándola como la variedad estructural y funcional de formas de vida a niveles genéticos, poblacionales, de comunidad y ecosistémicos. Sin embargo, esta manera de expresarla puede llevar a erróneas conclusiones por aquellos que no son especialistas e incluso por muchos que siéndolo, no abarcan la multidimensionalidad del concepto. La biodiversidad debe ser abordada en los diferentes niveles y escalas de cada una de las tres dimensiones que la componen. La dimensión uno que abarca los genes, especies, filos, ecosistemas y funciones. La segunda dimensión aborda los niveles espaciales local, regional y global. Finalmente la tercera dimensión que trata la distribución proporcional (p. ej. especies raras, comunes, abundantes y dominantes) (Boudouresque, 2014). Una de las formas más populares e intuitivas de entender la diversidad biológica sin que esta llegue a ser sinónimo de biodiversidad, es la riqueza (Magurran y McGill, 2011). Puede aplicarse a comunidades enteras, así como a subcomponentes tales como niveles tróficos y se define como el número de taxa presentes en una unidad geográfica definida (Begon *et al.*, 2006; Boudouresque, 2014).

La riqueza puede expresarse en diferentes escalas dentro de las que se encuentran la diversidad puntual, que se refiere al número de taxa dentro de una muestra (Sala y Knowlton, 2006), la diversidad alfa (α) o número acumulativo de taxa de muestras dentro de un ecosistema en una región dada y finalmente la diversidad gamma (γ) o diversidad regional que es el número acumulativo de taxa de una escala más amplia (p. ej. conjunto de ecosistemas o regiones) (Gray, 2000).

Las relaciones funcionales dentro de los niveles de diversidad son igualmente relevantes, ya que muestran la contribución de las especies a los procesos del ecosistema, es decir, la importancia del conjunto de factores abióticos con los bióticos (Naeem, 2003). Estos últimos forman una red trófica en la que las comunidades, principalmente terrestres, pueden tener un elemento vegetal que sirva de alimento y a su vez como hábitat a los consumidores (Coxson y Nadkarni, 1995). Sin embargo, la vegetación terrestre no cuenta sólo con esas funciones, sino que también en algunas ocasiones cumplen la función de sustrato, permitiendo el desarrollo de otras formas vegetales como las llamadas epífitas.

Las epífitas son organismos fotosintéticos que crecen sobre la corteza de los árboles, tomando ventaja del soporte físico que ofrece el tronco y las ramas, manteniéndolas por encima de la tierra. Estos organismos no pueden ser considerados parásitos, ya que obtienen sus recursos de la atmósfera; su composición y abundancia en los bosques están influenciadas por la disponibilidad de humedad (sea por neblina o precipitación), la intensidad lumínica, altitud, las características de la corteza y la posición e inclinación en que se encuentra sobre el tronco o rama (Wolf, 1994; Fritz *et al.*, 2009). Si bien una parte más conocida y estudiada es la representada por bromelias, orquídeas y helechos, en la mayoría de los bosques templados también se desarrollan numerosos líquenes, musgos y hepáticas (Ellis *et al.*, 2015).

Estos organismos son conocidos por su poiquilohidria, lo que implica que no regulan activamente su estatus hídrico usando un sistema vascular especializado tal como el xilema y el floema de las plantas vasculares. En su lugar, estas especies responden directamente a las condiciones ambientales, rehidratándose cuando el agua se encuentra disponible y tolerando la desecación de sus tejidos durante los períodos de secas (Kranner *et al.*, 2008). Dicha adaptación además de ser ventajosa para sí, también obliga a que los organismos que las habitan tengan características muy específicas para sobrevivir a este microambiente; entre sus moradores más comunes se encuentran microinvertebrados como los ácaros oribátidos, nemátodos, rotíferos bdeloideos y tardígrados (Kinchin, 1994).

El Filo Tardigrada abarca en el mundo más de 1200 especies (Degma *et al.*, 2017). Filogenéticamente se encuentran muy próximos a los onicóforos y a los artrópodos, formando el taxón Panarthropoda (Mayer *et al.*, 2013).

Generalidades del Filo Tardigrada

Los tardígrados poseen un cuerpo alargado, aproximadamente cilíndrico, convexo en la parte dorsal y plano en la parte ventral, dividido en cinco segmentos poco definidos: un segmento cefálico, tres segmentos troncales, cada uno con un par de patas y un segmento posterior, con el cuarto par de patas. Los tres primeros pares de patas están situados en posición ventral y su función es locomotora. El cuarto par de patas está dirigido hacia atrás y su principal función es de sujeción al sustrato, aunque a veces también lo pueden utilizar para moverse. Las patas son macizas y, excepto para algunos representantes marinos del orden Arthotardigrada (clase Heterotardigrada) en los que las patas son telescópicas (Dewel *et al.*, 1993), forman un continuo con el cuerpo. Tienen una

cutícula quitinosa que se extiende por toda la superficie del cuerpo, el intestino anterior (aparato bucofaríngeo, faringe y esófago) y posterior; es permeable al agua y aunque no inhibe la pérdida de agua por evaporación, sí contribuye a que ésta sea más lenta, lo que proporciona más tiempo al tardígrado para prepararse a entrar en anhidrobiosis. Esta cutícula está compuesta por tres capas: epicutícula (formada por una monocapa de células epidérmicas y limitada por la membrana basal), intracutícula (no está presente en todas las especies y varía mucho su composición) y procutícula, que contiene quitina (Greven y Greven, 1987).

La morfología de la cutícula es variada y tiene gran valor taxonómico. Ejemplos de esta variedad entre los eutardígrados son las cutículas lisas, granuladas, verrugosas (cada una de las “verrugas” recibe el nombre de gibosidad), con tubérculos, con pliegues cuticulares (que le dan al cuerpo aspecto de estar segmentado), poros de diversos tamaños y formas, pseudoplasmas, depresiones, estrías y proyecciones. Entre los heterotardígrados es común que la cutícula presente placas, por ejemplo, los representantes de la familia Echiniscidae (orden Echiniscoidea, clase Heterotardigrada) poseen placas dorsales y la cantidad y división de estas es un determinante taxonómico para varios géneros (Nelson *et al.*, 2015).

Especialmente relevantes son las garras que presentan casi todos los tardígrados al final de los apéndices puesto que su tamaño, número, forma y disposición son caracteres taxonómicos. Los heterotardígrados adultos de la familia Echiniscidae tienen cuatro garras separadas en cada pata mientras que los individuos juveniles tienen dos garras separadas. De las cuatro garras que presentan los adultos, las dos internas tienen un gancho en su base; sin embargo, las dos garras de los individuos en estado juvenil presentan siempre un gancho en su base y no puntas (Ramazzotti y Maucci, 1983). Por otro lado, los eutardígrados suelen tener dos garras dobles, denominadas diplogarras, en cada pata. Cada diplogarra consta de una rama principal, con una, dos o ninguna punta accesoria y una rama secundaria sin puntas accesorias. Estas se unen mediante un tramo común y puede estar delimitado por un septo transversal. Finalmente, en la base de las mismas puede aparecer una lúnula o un ensanchamiento cuyos márgenes puedan ser lisos, irregulares o dentados (Kinchin, 1994).

Los tardígrados cuentan con sistema nervioso, muscular, excretor, osmorregulador y digestivo (Bertolani, 1982). Éste último está compuesto por: intestino anterior, medio y posterior. Tanto el intestino anterior como el posterior están cubiertos de cutícula, que se

desprende antes de la muda. El intestino anterior está formado por el aparato bucofaríngeo y el esófago. El aparato bucofaríngeo es una estructura compleja de gran valor taxonómico en los eutardígrados (Guidetti *et al.*, 2012); consta fundamentalmente de un tubo bucal, un par de estiletes quitinosos y un bulbo faríngeo (o faringe muscular succionadora). El aparato bucofaríngeo que presenta la clase Heterotardigrada está compuesto por un anillo bucal, un par de vainas de los estiletes, un par de estiletes largos y finos, que se unen directamente al bulbo faríngeo mediante una banda muscular, y el tubo bucal, que típicamente es rígido. El bulbo faríngeo no contiene placoides (estructuras cuticulares que hay en el interior del bulbo faríngeo de algunos tardígrados), pero tiene tres barras cuticulares continuas llamadas barras bulbares (Ramazzotti y Maucci, 1983).

La morfología del aparato bucofaríngeo de eutardígrados consta de tres partes bien diferenciadas: tubo bucal, bulbo faríngeo y estiletes. El tubo bucal comienza en la boca, también denominada “apertura bucal” o anillo bucal, que es anterior o anteroventral. Alrededor de la boca puede haber una de las siguientes estructuras: lamelas, lóbulos o papulae. Su presencia y número tienen valor taxonómico a nivel de género (Pennak, 1989). El tubo bucal, propiamente dicho, es rígido en la mayoría de los eutardígrados. En algunos géneros se divide en una región anterior rígida (tubo bucal) y una región posterior flexible (tubo faríngeo), que presenta un aspecto en espiral. En otros géneros, hay una lámina ventral que se extiende desde la boca hasta la región media del tubo bucal. Los estiletes son cuticulares en todos los tardígrados, con sustancias calcificadas, lo que les permite perforar el alimento. Muchos de los taxones de la clase Eutardigrada contienen en el bulbo faríngeo unos engrosamientos cuticulares denominados placoides. Su presencia, forma, número y disposición son de gran valor a varios niveles taxonómicos. Los placoides anteriores, más largos, se denominan macroplacoides, y los posteriores, más pequeños, microplacoides; Los placoides alternan en su posición con unas apófisis cuticulares de igual tamaño entre sí, que están en la región anterior del bulbo faríngeo, al final del tubo bucal y con un septulum, que está en la región posterior del bulbo (Bertolani y Rebecchi, 1993).

Su alimentación está relacionada con la estructura y tamaño de su aparato bucofaríngeo, siendo hasta ahora los tipos de alimentación mejor reconocidos el carnívoro, que consume rotíferos, nemátodos e incluso otros tardígrados de menor tamaño; el herbívoro, que utiliza algas verdes principalmente y microbívoro, que consume bacterias (Guidetti *et al.*, 2012).

Los tardígrados pueden ser dióicos, hermafroditas e incluso muchas especies son partenogenéticas. Tras todo evento reproductivo, los animales forman huevos que pueden ser lisos u ornamentados (en cuyo caso su ornamentación es de los caracteres taxonómicos más importantes). Los huevos, principalmente los ornamentados, poseen una tolerancia considerable al estrés ambiental, por lo que son considerados otro estado de resistencia adicional a los llamados estados de dormancia (Glime, 2010).

Se llama dormancia a un período en el ciclo biológico de un organismo en el que el crecimiento, desarrollo y actividad física se suspenden temporalmente. Tiende a estar íntimamente relacionada con las condiciones ambientales y puede ser dividida en dos variantes: diapausa y quiescencia. La primera es mantenida por una respuesta fisiológica interna además de ser considerada inherente a la descendencia, mientras la segunda es de control exógeno y se da solamente en individuos adultos (Ricci, 2001). Algunos organismos quiescentes, entre ellos los tardígrados, son capaces de reducir sus actividades metabólicas a tal grado de volverse prácticamente indetectable, entrando en una forma extrema de quiescencia llamada criptobiosis (Guidetti *et al.*, 2011)

Los criptobiontes han sido clasificados en dos grupos: aquellos en los que el estado criptobiótico puede aparecer solo en un específico estadio de desarrollo ontogenético y aquellos que pueden entrar en criptobiosis en cualquier estadio de su ciclo de vida. La primera categoría incluye especies de crustáceos, braquiópodos, insectos, esporas de ciertos hongos y bacterias, así como polen y semillas de algunas plantas; en tanto que la segunda categoría principalmente incluye especies de protozoarios, rotíferos, nemátodos, tardígrados, ortópteros y varias especies de musgos, líquenes y algas, así como también algunas plantas superiores (Wright *et al.*, 1992)

Existen cinco tipos de estados de latencia o criptobiosis en los tardígrados (Crowe 1975; Wright, 2001; Northcote-Smith, 2012), de acuerdo a las condiciones que lo induzcan: enquistamiento (es el estado de latencia más común en los tardígrados acuáticos), anoxibiosis (es un estado de asfixia y se induce por bajas concentraciones de oxígeno), osmobiosis (es un estado provocado por elevadas presiones osmóticas, cuando se ve sometido a concentraciones anormales de sales), criobiosis (las bajas temperaturas fuerzan este estado) y anhidrobiosis (se alcanza al evaporarse el agua de las muestras con tardígrados terrestres y semiacuáticos) (Nelson y Marley, 2000; Bertolani *et al.*, 2004).

Tomar la llamada forma de tonel se considera un requisito vital para el éxito de la anhidrobiosis (Wright, 1988). La resistencia de ciertas especies ha sido tal como para sobrevivir condiciones de vacío espacial y extrema radiación solar; gracias a ello se les confiere un papel importante como modelo animal en investigaciones astrobiológicas (Jönsson, 2007; Jönsson *et al.*, 2008; Filippov *et al.*, 2015).

Esta gama de estrategias permite a los tardígrados estar ampliamente distribuidos en el planeta; se les encuentra generalmente en medios marinos, salobres, dulceacuícolas y terrestres (Nelson y Higgins, 1990). Los terrestres viven principalmente sobre musgos y líquenes presentes en rocas, suelo o árboles, así como en hojarasca (Nelson, 1991).

Sin embargo, la capacidad criptobiótica dificulta en gran medida aseverar el período de vida libre de un tardígrado (Nelson y Marley, 2000), aunque realizando cultivos se ha encontrado que tras salir del huevo y hasta la primera muda presentan dos garras menos que el adulto (heterotardígrados), los poros anal y genital siguen ausentes y su tamaño entre 1/3 y 1/5 del tamaño del adulto. En un segundo estado postembrionario el gonoporo aún no se presenta y sólo se divisa un pliegue anal; tampoco presentan estructuras reproductivas internas, pero las garras ya están completas. El tercer estado embrionario se caracteriza por la maduración de las gónadas, el gonoporo y el ano, restando ya únicamente crecimiento somático. Un ciclo de vida por tanto oscila de tres a cinco meses pero puede llegar hasta 30 meses (Ramazzotti y Maucci, 1983).

ANTECEDENTES

Una búsqueda en la base de datos Scopus (Elsevier) el 10 de noviembre de 2016 empleando la palabra “Tardigrade” (ya que la palabra Tardigrada incluía al suborden de mamíferos Folívora, antes llamado Tardigrada) utilizando como criterios que aparezca en el título de artículos científicos, arrojó un total de 299 resultados que se analizaron primeramente por años (**Fig. 1**).

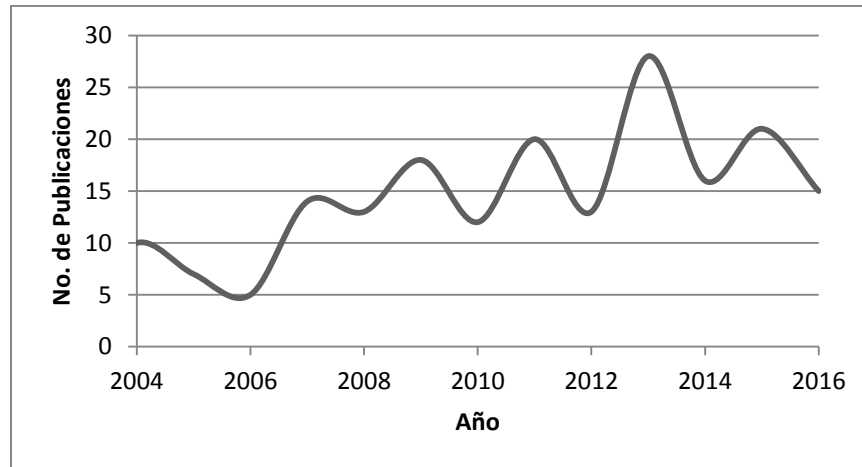


Figura 1. Número de publicaciones del Filo Tardigrada en el período 2004-2016.

Las publicaciones referentes a tardígrados han ido en aumento de manera importante desde comienzos de este siglo, mas no por ello se puede considerar que es un número alto de publicaciones (los picos máximos hasta ahora son de 28 publicaciones anuales); en contraste, la cantidad de artículos sobre el Filo Arthropoda (homologado en la búsqueda como “Arthropod”) que arroja la misma base de datos con el mismo criterio de búsqueda es de 5352 documentos (con picos que van de 177 a 246 publicaciones por año en los últimos 5 años), demostrando que son requeridos mayores esfuerzos y, sobre todo, más especialistas e interesados en los campos de estudio realizables con el Filo Tardigrada.

Los resultados de la búsqueda se ordenaron después en 4 categorías: Taxonomía-Sistemática; Ecología-Ecofisiología; Morfología-Función; y Biología Molecular-Biología Celular (**Fig. 2**). El área de Taxonomía-Sistemática (137 artículos) incluye aquellos artículos en los que se realizó la descripción y/o redescipción de un taxón y que contribuyeran en la clasificación del Filo, así como de relaciones filogenéticas con otros taxa; Ecología-Ecofisiología (85 artículos) abarcó los documentos que describieran estructura e interacciones de comunidades del Filo o de este con otros grupos y/o factores ambientales, historias de vida y experimentos de resistencia a condiciones extremas; Morfología-función (42 artículos) incluye aquellos que fueran estrictamente descriptivos acerca de la estructura celular, de tejidos, sistemas y su función; la categoría dirigida a Biología Molecular-Biología Celular (35 artículos) incluye artículos de contenido referente a procesos fisiológicos, descritos química o fisicoquímicamente, al aislamiento de

proteínas específicas, descripción de genes y sus papeles y a la secuenciación de genomas sin fines clasificativos.

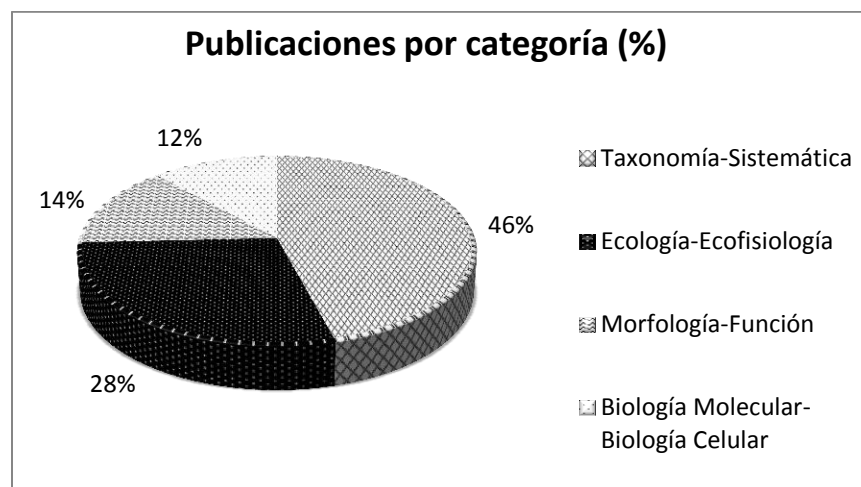


Figura 2. Porcentaje de cada categoría de publicaciones respecto al total.

Cabe mencionar que entre las publicaciones más antiguas resaltan las de carácter taxonómico y descriptivo, mientras que en años previos lo hacen las de carácter ecofisiológico demostrando la divergencia de enfoques en el estudio de estos organismos en fechas muy recientes (aproximadamente el año 2005), por lo que se pueden considerar líneas de investigación sumamente jóvenes aún.

Igualmente fue analizada la distribución de los trabajos por naciones y ya que este estudio se orienta a tardígrados mexicanos, conviene hacer mención de que México está representado únicamente por cuatro documentos reportados en esta búsqueda, dejando ver el estado insipiente en el que se encuentra el país respecto a otras naciones en cuanto a estos organismos se refiere. Es importante recordar que los resultados de esta búsqueda son solo una “muestra” de los documentos disponibles y no implican la totalidad ni la distribución absoluta de estos.

El conocimiento de los tardígrados en México surge con la contribución de Heinis (1911) y llega, de momento, hasta la realizada por Pérez-Pech *et al.* (2017) totalizando 11 contribuciones durante estos 106 años. En estas 11 publicaciones se habla de una riqueza de 44 especies en el país (**Tabla 1**), de las cuales 18 registros se consideran dudosos (marcados con un asterisco en la **Tabla 1**), requiriendo de una confirmación adicional (Kaczmarek *et al.*, 2014). Cabe destacar que solo dos especies son dulceacuícolas. Todas las demás registradas para el país provienen de muestras

epifíticas. Hasta la fecha no se ha realizado registro alguno de especies edáficas ni marinas dentro del territorio mexicano.

Tabla 1 Lista actualizada de Kaczmarek *et al.* (2011a) con relación a las especies de tardígrados registradas en México y documentos en los que se reportan. **1**, Heinis (1911); **2**, May (1948); **3**, Schuster (1971); **4**, Beasley (1972); **5**, Ramazzotti y Maucci (1983); **6**, Pilato (2006); **7**, Pilato y Lisi (2006); **8**, Beasley *et al.* (2008); **9**, Kaczmarek *et al.* (2011a); **10**, Moreno-Talamantes *et al.*, (2015); **11**, Pérez-Pech *et al.* (2017). **CHIS** = Chiapas, **CHI** = Chihuahua, **MEX** = Estado de México, **MICH** = Michoacán, **MOR** = Morelos, **NL** = Nuevo León, **OAX** = Oaxaca, **SIN** = Sinaloa, **SON** = Sonora, **QROO** = Quintana Roo, **S/R** = Sin Registro.

Especies	Estados	Fuentes
1 <i>Cornechiniscus lobatus</i> (Ramazzotti, 1943)	SIN	4
2 <i>Dactylobiotus parthenogeneticus</i> Bertolani, 1982	NL	10
3 <i>Diphascon chilense</i> Plate, 1888*	CHI	3
4 <i>Doryphoribius chetumalensis</i> Pérez-Pech <i>et al.</i> , 2017	QROO	11
5 <i>D. evelinae</i> (Marcus, 1928)	CHI	3
6 <i>D. flavus</i> (Iharos, 1966)*	CHIS	7
7 <i>D. gibber</i> Beasley y Pilato, 1987	CHIS	7
8 <i>D. mexicanus</i> Beasley, Kaczmarek y Michalczyk, 2008	OAX	8
9 <i>Echiniscus kerguelensis</i> Richters, 1904*	MEX y MOR	4
10 <i>E. kofordi</i> Schuster y Grigarick, 1966	CHIS	7
11 <i>E. siegristi</i> Heinis, 1911	OAX	1
12 <i>E. tamus</i> Mehlen, 1969*	CHI	3
13 <i>E. viridis</i> Murray, 1910	CHI	3
14 <i>E. viridissimus</i> Péterfi, 1956	OAX	9
15 <i>Haplomacrobotus hermosillensis</i> May, 1948	SON	2
16 <i>Hypsibius convergens</i> (Urbanowicz, 1925)*	CHI	3
17 <i>H. pallidus</i> Thulin, 1911*	S/R	5

18	<i>Isohypsibius sattleri</i> (Richters, 1902)	CHIS	7
19	<i>I. sculptus</i> (Ramazzotti, 1962)	MOR	4
20	<i>Itaquascon umbellinae</i> de Barros, 1939	CHI	3
21	<i>Macrobiotus alvaroi</i> Pilato y Kaczmarek, 2007	CHIS	9
22	<i>M. ascensionis</i> Richters, 1908*	S/R	5
23	<i>M. echinogenitus</i> Richters, 1904*	MEX	4
24	<i>M. furcatus</i> (Ehrenberg, 1859)	MEX y MOR	4
25	<i>M. h. hufelandi</i> C.A.S. Schultze, 1833*	CHI, MEX y OAX	1, 3, 4
26	<i>M. ocotensis</i> Pilato, 2006	CHIS	6
27	<i>M. persimilis</i> Binda y Pilato, 1972*	CHIS	9
28	<i>M. rubens</i> Murray, 1907*	OAX	1
29	<i>M. terminalis</i> Bertolani y Rebecchi, 1993	CHIS	9
30	<i>Mesobiotus contii</i> Pilato y Lisi, 2006	CHIS	7
31	<i>M. coronatus</i> de Barros, 1942	CHI y OAX	3, 9
32	<i>M. h. harmsworthi</i> Murray, 1907*	SIN y OAX	1, 4
33	<i>Milnesium t. tardigradum</i> Doyère, 1840*	CHI, MEX y MOR	3, 4, 9
34	<i>Minibiotus continuus</i> Pilato y Lisi, 2006	CHIS	7
35	<i>M. intermedius</i> (Plate, 1888)*	CHI	3
36	<i>Paramacrobiotus areolatus</i> (Murray, 1907)*	CHI	3
37	<i>P. richtersi</i> (Murray, 1911)*	CHI	3
38	<i>Pilatobius nodulosus</i> (Ramazzotti, 1957)	MEX	4
39	<i>Pseudechiniscus facettalis</i> Petersen, 1951	CHI	3
40	<i>P. gullii</i> Pilato y Lisi, 2006	CHIS	7

41	<i>P. juanita</i> de Barros, 1939	CHIS	7
42	<i>P. suillus</i> (Ehrenberg, 1853)*	OAX	1
43	<i>Ramazzottius baumanni</i> (Ramazzotti, 1962)	MEX, MICH y MOR	4
44	<i>Ramazzottius oberhaeuseri</i> (Doyère, 1840)*	MEX y MICH	4

* Registros dudosos.

Entre los pocos documentos que buscan expresar relaciones entre la diversidad de tardígrados, así como sus hábitats y sustratos se encuentra el de Guil *et al.* (2009b) en el cual hallaron patrones de dependencia por sustratos: la tierra de hojas tuvo alta riqueza específica pero baja abundancia, los musgos y líquenes en rocas presentaron valores altos y aquellos sobre cortezas valores bajos. Siguiendo con la tierra de hojas, Guil y Sánchez-Moreno (2013) determinaron la diversidad de tardígrados terrestres usando cuatro descriptores: riqueza específica, abundancia, índices de diversidad (Shannon y Simpson) y un índice trófico. Sus resultados mostraron una dependencia en las abundancias de las especies según el tipo de árbol y su división, mientras que los patrones de diversidad estuvieron relacionados con el tipo de hoja, siendo las anchas las más diversas (Shannon, Simpson, riqueza y grupos tróficos) y variando las abundancias de carnívoros, herbívoros y microbívoros según el tipo de hoja. Lo valorable de este estudio es que amplía de mejor manera en varios ejes de la biodiversidad, no sólo en la riqueza específica de los tardígrados.

JUSTIFICACIÓN

Actualmente se han estudiado aspectos biológicos de los tardígrados que han permitido emplear algunas especies de este Filo como modelos en diversos campos del conocimiento como Embriología, donde se ha determinado que las especies *Thulinia stephaniae* (Hejnal y Schnabel, 2005) e *Hypsibius dujardini* (Gabriel *et al.*, 2007) presentan patrones irregulares de clivaje en la división celular embrionaria, tal como ocurre en los Artrópodos, pudiendo servir incluso como modelos para representar el cómo la evolución de los mecanismos de desarrollo pueden producir una diversidad de planes corporales en todo el clado Ecdysozoa; Depredación, al establecerse un modelo depredador-presa entre el tardígrado *Paramacrobrotus richtersi* y el nematodo *Acrobelloides nanus*, además de concluir que los tardígrados carnívoros pueden tener un papel importante en el control de la biomasa de los nematodos tanto edáficos como

acuáticos (Hohberg y Traunspurger, 2009); Astrobiología, al reconocerse la tolerancia a ambientes extremos de un tardígrado en estado anhidrobiótico se han establecido condiciones de cultivo para la especie extremotolerante *Ramazzottius varieornatus* con visiones a su uso en esta rama científica (Horikawa *et al.*, 2008) e igualmente se ha confirmado su potencial gracias al proyecto TARDIS llevado a cabo durante la misión FOTON-M3 de la Agencia Espacial Europea en la que las especies *Milnesium tardigradum* y *Richtersius coronifer* lograron sobrevivir a la exposición del vacío, la radiación y las bajas temperaturas del espacio, regresando aún con viabilidad reproductiva (Jönsson *et al.*, 2008) y adicionalmente, Rizzo *et al.* (2015) estudiaron los efectos de un vuelo espacial en las moléculas antioxidantes de las especies *Paramacrobotus richtersi* y *Ramazzottius oberhaeuseri* en el proyecto TARDIKISS, confirmando aseveraciones previas y agregando que tanto los estados activos como inactivos de los tardígrados son de gran utilidad en la investigación espacial; Ecofisiología, en la que se ha buscado describir las propiedades fisiológicas peculiares que los tardígrados presentan como posibles mecanismos para lidiar con condiciones ambientales adversas, como crioprotectores capaces de conferir resistencia a un desenso progresivo en la temperatura (Hengherr *et al.*, 2009), el proteoma de la especie *Milnesium tardigradum* (Schokraie, 2011) o la composición iónica inorgánica de cinco especies en estado de criptobiontes (Halberg *et al.*, 2013); Ecología Evolutiva, en la que se buscan las condiciones ambientales que puedan originar la evolución, por ejemplo, de un plan corporal con estructuras móviles reducidas como en la especie *Apodibius confusus* (Hohberg *et al.*, 2011), o la evolución del sistema nervioso de varias especies marinas (Persson *et al.*, 2012) y limnoterrestres (Mayer *et al.*, 2013) con la orientación de constatar las relaciones filogenéticas de este grupo con los onicóforos y artrópodos, dando mayor sostén al clado Panarthropoda.

Sin embargo, el rol ecológico de los tardígrados se encuentra aún poco descrito. Se conoce que son presas de diversos grupos desde tardígrados más grandes hasta gastrópodos (Thorp y Covich, 2010). En algunos ambientes son reguladores importantes de nemátodos parásitos de plantas (Sanchez-Moreno, *et al.*, 2008). También se les llega a atribuir un rol de dispersores de hongos que los parasitan, así como del ciliado *Pyxidium tardigradum* (Glime, 2010).

Además, la mayor cantidad de registros de tardígrados limnoterrestres a nivel mundial, se han realizado en las regiones Paleártica (PA), Antártica (A), Neotropical (NT) y Neártica

(NA) (McInnes y Pugh, 2007). Este patrón global si bien puede estar influenciado por la distribución de los expertos del grupo (Fontaneto *et al.*, 2011), también hace que localidades a lo largo de la Faja Volcánica Transmexicana (FVTM), reconocida como centro de diversificación, endemismo y transición biogeográfica de las regiones Neártica y Neotropical (Morrone, 2005), sean de gran interés.

Es a causa de este pobre conocimiento de la diversidad del Filo Tardigrada y a su gran potencial en múltiples campos de la ciencia que se requiere de nuevos trabajos que aporten e inviten a su estudio. Por ello nos planteamos estudiar la diversidad de tardígrados semiterrestres en diferentes localidades de la FVTM.

OBJETIVOS

General

Estudiar los patrones de diversidad (alfa y gamma) de tardígrados semiterrestres en líquenes y musgos de la FVTM.

Particulares

Comparar la diversidad (mediante el índice de Shannon-Wiener) de tardígrados entre las localidades de la FVTM.

Comparar la diversidad (mediante el índice de Shannon-Wiener) de tardígrados en dos diferentes sustratos epífiticos (líquenes y musgos) en localidades de la FVTM.

Establecer los géneros dominantes en ambos sustratos y por separado mediante diagramas de Olmstead-Tukey.

Establecer la diversidad de tardígrados a distintos niveles espaciales (alfa y gamma) de la FVTM.

ÁREA DE ESTUDIO

La FVTM comprende un área de aproximadamente 160,000 km² con una longitud de casi 1000 km y un ancho variable entre 80 km y 230 km, se localiza entre los 18°30' y 21°30' latitud N en el centro de México. En el contexto geodinámico, la FVTM se encuentra construida sobre la parte sur de la placa de Norteamérica, misma que es subducida por la parte occidental de la placa de Cocos y por la microplaca de Rivera. Está próxima además al rift continental del Golfo de California, que ha sido invadido por el mar desde cerca de

12 Ma y donde se está formando corteza oceánica desde hace aproximadamente 3.6 Ma (Bird, 2003)

Según Ferrari *et al.* (2012), el basamento de la FVTM es heterogéneo y consta de dos regiones de edad e historia geológica distinta. Bajo la mitad oriental, al este de la longitud 101° W, se encuentran terrenos antiguos del Precámbrico (>542 Ma) y Paleozoico (entre 542 y 251 Ma). La parte occidental se encuentra subyacida por el llamado superterreno de Guerrero, un conjunto de arcos volcánicos marinos y depósitos sedimentarios del Triásico-Cretácico (251 a 65 Ma). En la parte occidental el volcanismo asociado a subducción ha estado activo de manera casi ininterrumpida desde el Cretácico inferior (135 Ma), mientras que en la parte oriental no hubo volcanismo entre el Jurásico y el Mioceno medio (~165 y 15 Ma)

Dentro de esta área se eligieron y realizaron colectas en 14 localidades (Fig. 3; Tabla 2)

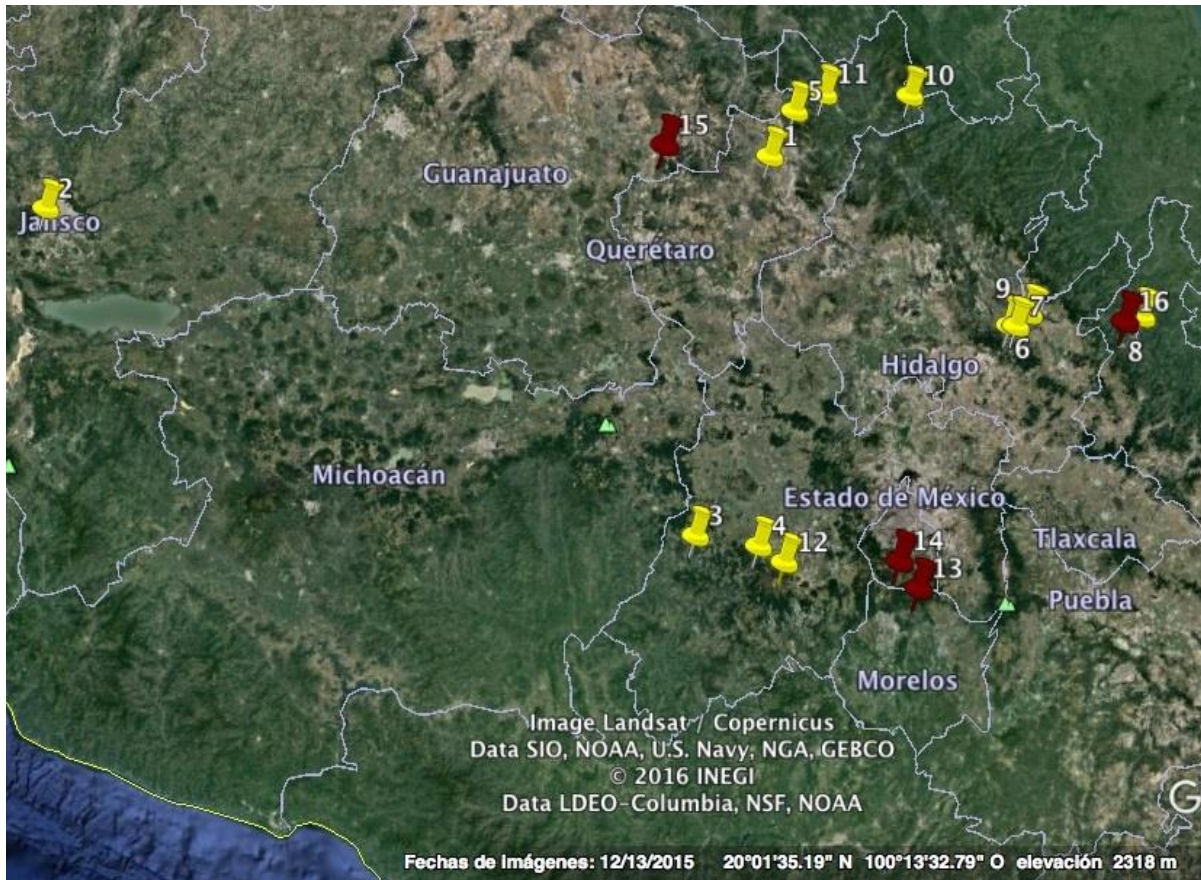


Figura 3. Localidades muestreadas de la FVTM indicadas con marcadores.

Tabla 2 . Numeración, datos generales y meteorológicos de cada localidad: Altitud, Temperatura Media Anual (TMA), Precipitación Media Anual (PMA) y Evaporación Media Anual (EMA). Fuente: Servicio Meteorológico Nacional, 2017.

Localidad	Entidad	Coordenadas	Altitud(m)	TMA (C°)	PMA(mm)	EMA
-----------	---------	-------------	------------	----------	---------	-----

Federativa			(mm)			
1 Tolimán	Querétaro	20°54'4.78"N 99°50'37.00"O	1900	25	377.3	--
2 Bugambillas	Jalisco	20°36'27.29"N 103°27'32.19"O	1767	21.2	961.9	2358.2
3 Tilostoc	Edo.México	19°12'41.13"N 100°11'20.81"O	1942	18.8	899.6	1703.1
4 Mesón Viejo	Edo.México	19°10'9.69"N 99°52'50.98"O	1882	18.2	1233.8	1365.1
5 Piñón	Querétaro	21° 6'16.92"N 99°43'22.94"O	1895	25.5	318.3	1824.8
6 El Asador	Hidalgo	20°12'32.85"N 98°33'26.50"O	2100	15.2	799.6	1672.1
7 El Duende	Hidalgo	20° 9'15.42"N 98°37'21.44"O	2100	15.2	799.6	1672.1
8 Tenango de las Flores	Puebla	20°11'49.57"N 97°59'30.40"O	1303	--	2036.8	--
9 Tilaco	Querétaro	21°10'48.21"N 99° 8'58.74"O	1610	17.8	701.7	1446.7
10 Pinal de Amoles	Querétaro	21°10'58.05"N 99°34'38.22"O	2380	--	--	--
11 Nevado de Toluca	Edo.México	19° 5'52.40"N 99°45'14.79"O	4283	3.9	1227.1	970.8
12 Cerro del Tepozteco	Morelos	18°59'3.94"N 99° 5'35.02"O	2200	20.7	1305.9	1311.5
13 Pinal de la Cima	CDMX	19° 6'23.54"N 99°11'19.78"O	3052	11.3	1129.8	1405.2
14 La Tinaja	Guerrero	20°56'43.71"N 100°21'50.20"O	1829	18.8	663.4	1667

MATERIALES Y MÉTODOS

Colecta en campo

Se colectaron ejemplares de musgos y líquenes en localidades de la FVTM (ver **Tabla 2**) a lo largo de los años 2016 y 2017. En cada una de las localidades se extrajeron al menos cinco ejemplares de cada tipo, de acuerdo a la metodología recomendada por Ramazzotti y Maucci (1983), removiéndolos cuidadosamente del sustrato con ayuda de una espátula o navaja de campo. A la brevedad fueron almacenados en bolsas de papel para su secado progresivo y transporte al laboratorio. Se registraron las coordenadas y altitud con un GPS Garmin ETREX.

Aislamiento

Una vez en el laboratorio, se tomaron cinco líquenes y cinco musgos de cada localidad de acuerdo a su integridad y tamaño; a cada uno se les tomó una submuestra de $\approx 25 \text{ cm}^2$. Cada submuestra fue colocada individualmente dentro de cajas Petri y se rehidrató con 30ml de agua destilada durante un tiempo de 2 a 5 horas. Después de transcurrido el tiempo de rehidratación, se retiró el líquen o musgo exprimiendo el exceso de agua. El agua se observó en un microscopio estereoscópico (Leica EZ4) para separar a los organismos. Los tardígrados observados fueron contados y colocados en gotas de acuerdo a sus afinidades morfológicas visibles dentro de otra caja Petri con ayuda de una pipeta Pasteur de cristal adaptada para ese fin (Nelson *et al.*, 2015). Cuando una muestra resultaba muy abundante y el tiempo se tornaba insuficiente para examinar toda el agua, se fijaba con alcohol al 96% para retrasar la degradación y continuar su observación en fechas posteriores.

Fijación, montaje e identificación

La fijación de los organismos se realizó con alcohol al 96% y se almacenaron en tubos Eppendorf de 1.5 ml. Dependiendo de la abundancia, la totalidad o solo una parte de los animales y sus huevos (si están presentes y son requeridos para su identificación) fueron montados inmediatamente en medio de Hoyer (Kinchin, 1994). Una vez hechas las preparaciones, se observaron en un microscopio óptico con filtros de contraste de fases y un filtro azul adicional (Leica DME) y los organismos más representativos fueron fotografiados. La identificación taxonómica se llevó a cabo con las claves de Bertolani (1982), Ramazzotti y Maucci (1983) y Pilato y Binda (2010).

Análisis estadístico

El análisis de los datos consistió, en primer lugar, en elaborar un diagrama de Olmstead-Tukey para categorizar a las especies en función de su abundancia y frecuencia de aparición dentro de las muestras como dominantes, ocasionales, constantes o raras. De esta manera, una especie tendrá la categoría de dominante si presenta una abundancia y frecuencia mayor a las medias aritméticas, mientras que una especie rara será aquella con valores de abundancia y frecuencia menores a ambas medias (Sokal y Rohlf, 1981).

La diversidad alfa (α) está representada por el número de géneros en cada localidad, mientras que la diversidad gamma (γ) implica la cantidad acumulativa de géneros en las múltiples localidades analizadas (Zawierucha *et al.*, 2015).

Por otro lado, se utilizó el índice de Shannon-Wiener, que es el más socorrido para expresar la diversidad de una comunidad y está dado por la siguiente fórmula:

$$H' = - \sum_{i=1}^S p_i \log_2 p_i$$

Donde:

S = Riqueza

p_i = n_i/N_i = proporción de individuos del *i*-ésimo taxón respecto al total de individuos (es decir, la abundancia relativa del taxón *i*).

n_i = número de individuos del taxón *i*

N = total de individuos de todos los taxa

Éste índice se empleó para expresar la diversidad de cada sustrato y localidad.

La comparación de la diversidad de géneros presente entre las localidades muestreadas, se realizó con el índice de similitud de Morisita-Horn (Morisita, 1959), compuesto de la siguiente forma:

$$IM - H = \frac{2 \sum (a_{ni} \times b_{nj})}{(da + db) aN \times bN}$$

Donde:

IM-H = Índice de Morisita-Horn

ani = número de organismos del i-ésimo género en el sitio A

bnj = número de organismos del j-ésimo género en el sitio B

$$da = \sum ani^2/aN^2$$

$$db = \sum bnj^2/bN^2$$

aN = número total de organismos en el sitio A

bN = número total de organismos en el sitio B

Los análisis se procesaron con PAST v.2.17 y MS Excel 2010.

RESULTADOS¹

Riqueza

Se observaron 130 muestras de líquenes y musgos; de ellas 86 albergaron tardígrados. De un total de 2511 individuos y huevos se identificaron 14 Géneros de 6 Familias en 14 localidades de la FVTM. La Clase Eutardigrada fue la dominante en musgos y líquenes ya que presentó 5 Familias mientras que en la Clase Heterotardigrada solo se observaron organismos pertenecientes a la Familia Echiniscidae. Dentro de la Clase Eutardigrada las Familias Hypsibiidae y Macrobiotidae fueron las dominantes en la FVTM con 4 géneros cada una de ellas (**Tabla 3**).

Tabla 3 Clasificación taxonómica de los géneros encontrados.

Phylum Tardigrada (Spallanzani, 1777)
Clase Heterotardigrada Marcus, 192
Familia Echiniscidae Thulin, 1928
<i>Echiniscus</i> Schultze, 1840
<i>Pseudechiniscus</i> Thulin, 1911
Clase Eutardigrada Richters, 1926
Familia Hypsibiidae Pilato, 1969

¹ *Para acceso a material adicional (Fotos y Descripciones de las especies, Análisis y discusión a nivel específico, etc.), favor de contactar al autor al correo ixorchestral.bio3@gmail.com

	<i>Adropion</i> Pilato, 1987
	<i>Diphascon</i> Plate, 1889
	<i>Hypsibius</i> Ehrenberg, 1848
	<i>Pilatobius</i> Bertolani, Guidetti, Marchioro, Altiero, Rebecchi & Cesari, 2014
Familia Isohypsibiidae	Sands, McInnes, Marley, Goodall-Copestake, Convey & Linse, 2008
	<i>Doryphoribius</i> Pilato, 1969
	<i>Isohypsibius</i> Thulin, 1928
Familia Macrobiotidae	Thulin, 1928
	<i>Macrobiotus</i> Schultze, 1834
	<i>Mesobiotus</i> Vecchi, Cesari, Bertolani, Jönsson, Rebecchi & Guidetti, 2016
	<i>Minibiotus</i> Schuster, 1980
	<i>Paramacrobiotus</i> Guidetti, Schill, Bertolani, Dandekar & Wolf, 2009
Familia Milnesiidae	Ramazzotti, 1962
	<i>Milnesium</i> Doyère, 1840
Familia Ramazzottiidae	Sands, McInnes, Marley, Goodall-Copestake, Convey & Linse, 2008
	<i>Ramazzottius</i> Binda & Pilato, 1986

Análisis de diversidad y similitud

Los diagramas de Olmstead-Tukey mostraron los géneros dominantes, constantes, ocasionales y raros en musgos, líquenes y en la totalidad de las muestras. En el caso de los musgos se obtuvieron 5 géneros dominantes los cuales fueron: *Macrobiotus*, *Mesobiotus*, *Milnesium*, *Minibiotus* y *Pseudechiniscus*. Sin embargo, no hubo género alguno considerado constante; los nueve géneros restantes se catalogaron como raros y ocasionales (**Fig. 4A**). Al igual que en los musgos, en los líquenes se observaron 5 géneros dominantes: *Hypsibius*, *Macrobiotus*, *Milnesium*, *Minibiotus* y *Ramazzottius*. Al no haber constantes, la mayoría de los géneros fueron raros y ocasionales (**Fig. 4B**). Por último, los seis géneros dominantes considerando ambos sustratos fueron: *Hypsibius*, *Macrobiotus*, *Milnesium*, *Minibiotus*, *Pseudechiniscus* y *Ramazzottius*. Sólo el género *Mesobiotus* fue considerado constante y el resto de los géneros fueron raros y ocasionales (**Fig. 4C**).

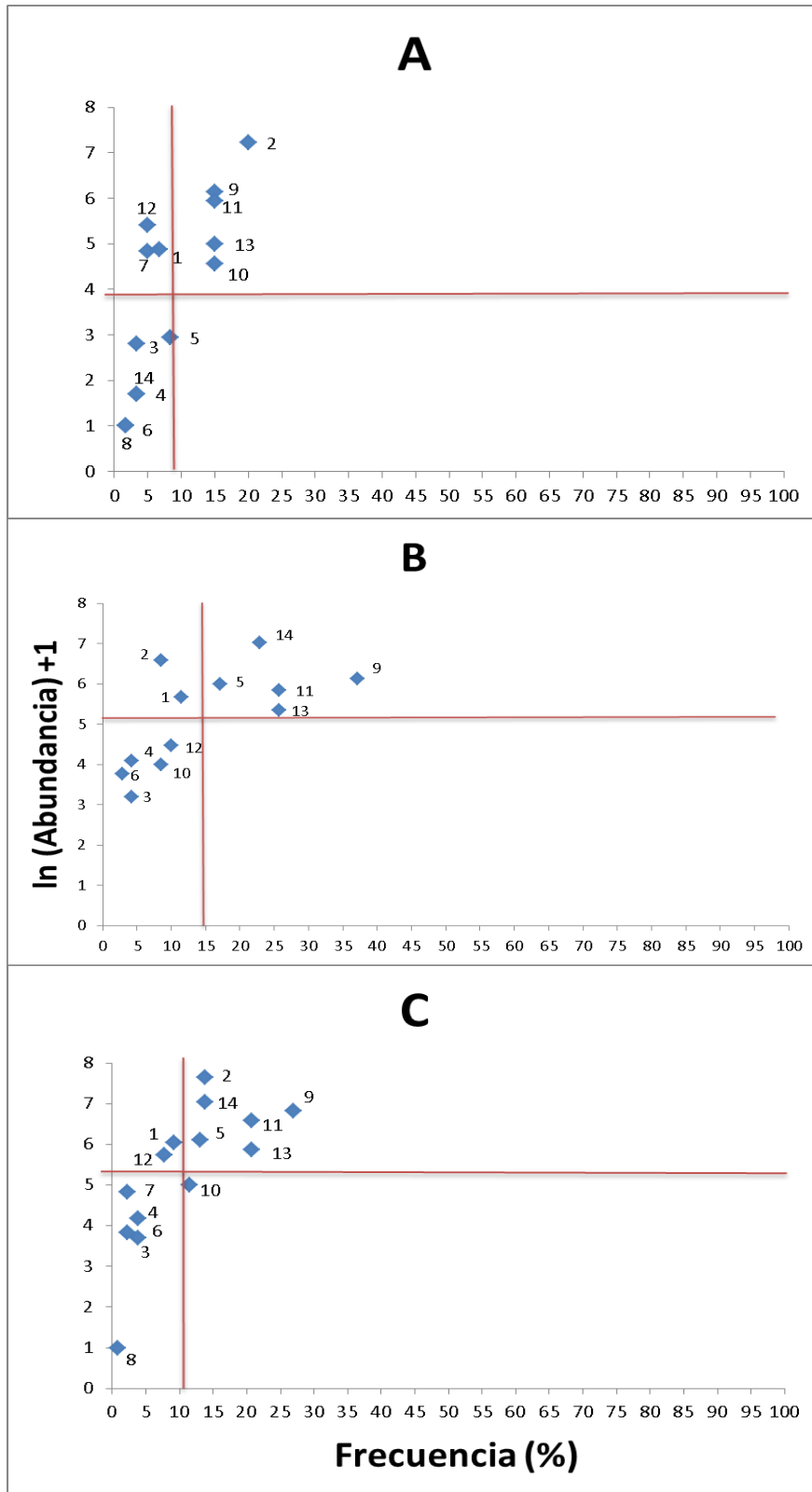


Figura 4. Dominancia los géneros en: **A**, musgos. **B**, líquenes. **C**, ambos. 1 *Echiniscus*, 2 *Pseudechiniscus*, 3 *Adropion*, 4 *Diphascon*, 5 *Hypsibius*, 6 *Pilatobius*, 7 *Doryphoribius*, 8 *Isohypsibius*, 9 *Macrobiotus*, 10 *Mesobiotus*, 11 *Minbiotus*, 12 *Paramacrobiotus*, 13 *Milnesium*, 14 *Ramazzottius*.

Para dimensionar mejor la magnitud de los géneros dominantes dentro del territorio estudiado se presentan las abundancias de estos en cada localidad en que fueron encontrados. De este modo *Macrobiotus*, el género mejor posicionado en el diagrama de Olmstead-Tukey, resulta serlo gracias a su presencia en 11 de las 14 localidades, si bien su abundancia no superan los 63 individuos por localidad (**Fig. 5**).

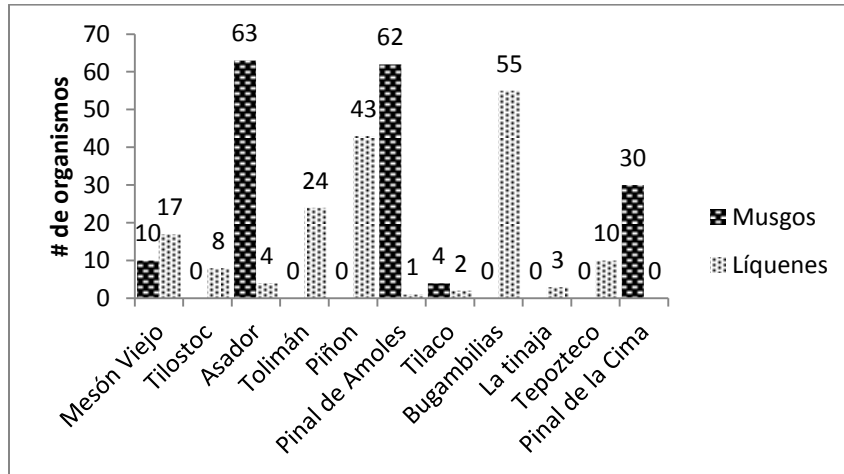


Figura 5. Abundancia del género *Macrobiotus* dentro de la FVTM. Los datos de número de individuos representa a los que se encuentran en 25 cm².

La abundancia de individuos del género *Minibiotus* se representa en la **Figura 6**. Es claro que, más que una abundancia homogénea, su dominancia se debe a la presencia que tuvo en las muestras de 11 localidades, así como la gran cantidad de individuos (164) que se encontraron en una de estas, El Nevado de Toluca, mientras que en las demás localidades su abundancia fue menor.

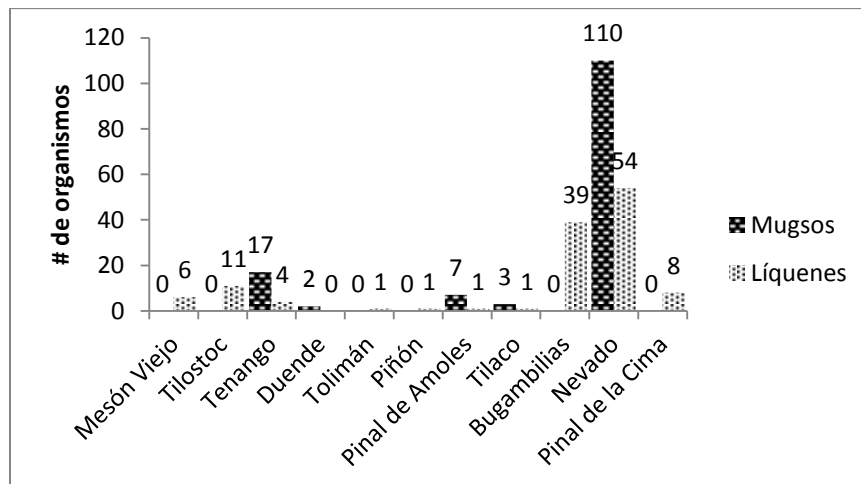


Figura 6. Abundancia del género *Minibiotus* dentro de la FVTM. Los datos de número de individuos representa a los que se encuentran en 25 cm².

El género *Milnesium* estuvo presente en 10 de las 14 localidades (**Fig. 7**), sin embargo su abundancia es claramente más baja que los géneros anteriores (poco menos de la mitad del número de individuos del género anterior).

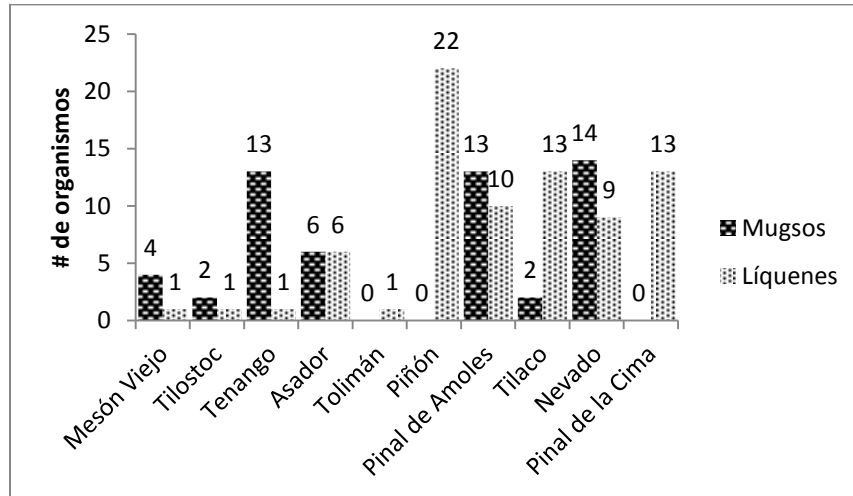


Figura 7. Abundancia del género *Milnesium* dentro de la FVTM. Los datos de número de individuos representa a los que se encuentran en 25 cm².

El género *Pseudechiniscus* estuvo presente únicamente en siete localidades. A pesar de esto el posicionamiento entre los géneros dominantes se debe a su gran abundancia (**Fig. 8**); la más alta de todos los géneros con 772 individuos. Destaca la abundancia tan importante que presentó en la localidad de Pinal de Amoles, que es la máxima registrada.

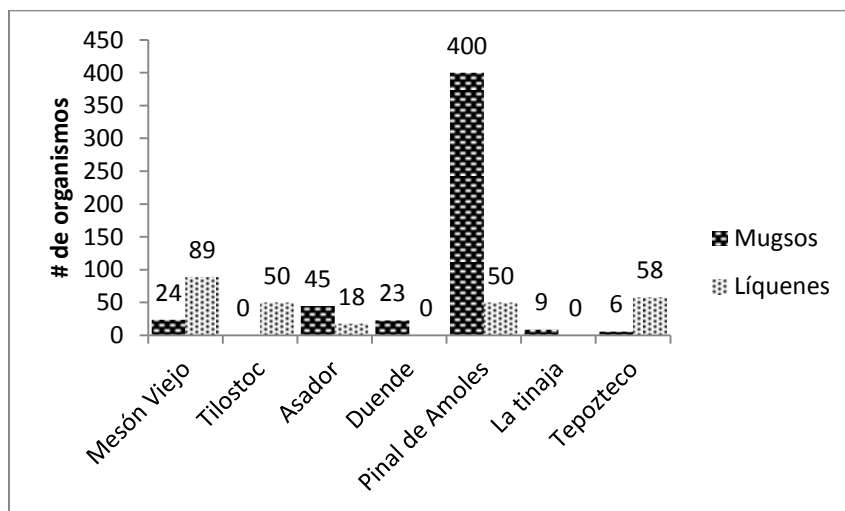


Figura 8. Abundancia del género *Pseudechiniscus* dentro de la FVTM. Los datos de número de individuos representa a los que se encuentran en 25 cm².

Considerando el número de individuos por localidad resalta el caso de Pinal de Amoles (PA) donde se obtuvieron 627 tardígrados; en contraste, los sitios que menos aportaron

fueron La Tinaja, El Duende y Tilaco con 22, 36 y 57 individuos respectivamente. En cada localidad se registraron en promedio 179 individuos. En los líquenes se observaron un promedio de 100 individuos mientras que en musgos, el número fue menor, con apenas 78 individuos por localidad (**Fig. 9**).

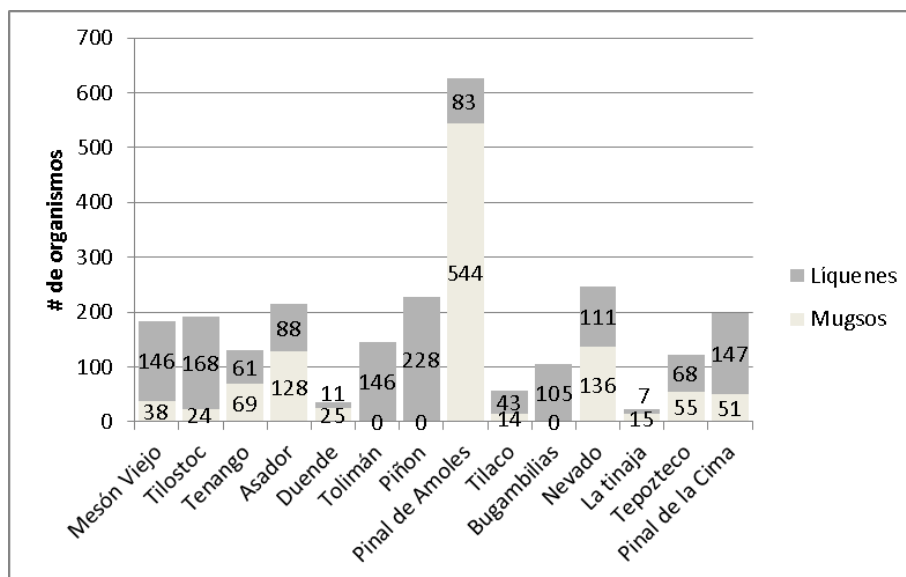


Figura 9. Abundancias de tardígrados en las localidades muestreadas de la FVTM. Los datos de número de individuos representan a los que se encuentran en 25 cm².

La diversidad puntual, dada por los géneros morando una sola muestra positiva osciló de uno a seis en los musgos y de uno a siete en los líquenes, siendo en ambos casos el valor modal igual a uno. La diversidad α fue de 0 a 11 en el caso de musgos y de 1 a 11 en el caso de líquenes, teniendo un valor promedio de 4.5 en ambos sustratos. En tanto a la diversidad γ , es decir, el total de géneros acumulados dentro de las muestras analizadas del área de estudio fue igual a 14.

El número de géneros en musgos fue mayor en cinco localidades, los líquenes superaron en cuatro y en tres sitios hubo la misma cantidad de ambos; esto sin contar Tolimán ni Piñón, locaciones en las que no se hallaron musgos con los cuales contrastar. Las cifras más altas se presentaron en los musgos de Pinal de Amoles y en los líquenes de Tilostoc y Mesón Viejo, con 11, 11 y 9 géneros distintos respectivamente (**Fig. 10A**). La más baja se dio en los líquenes de El Duende con un solo género.

La riqueza total de las localidades (considerando ambos sustratos) (**Fig. 10B**) fue mayor en Pinal de Amoles y Tilostoc con 12 géneros totales y la menor en las localidades de Duende, Bugambilias y el Cerro del Tepozteco con tan solo tres registros.

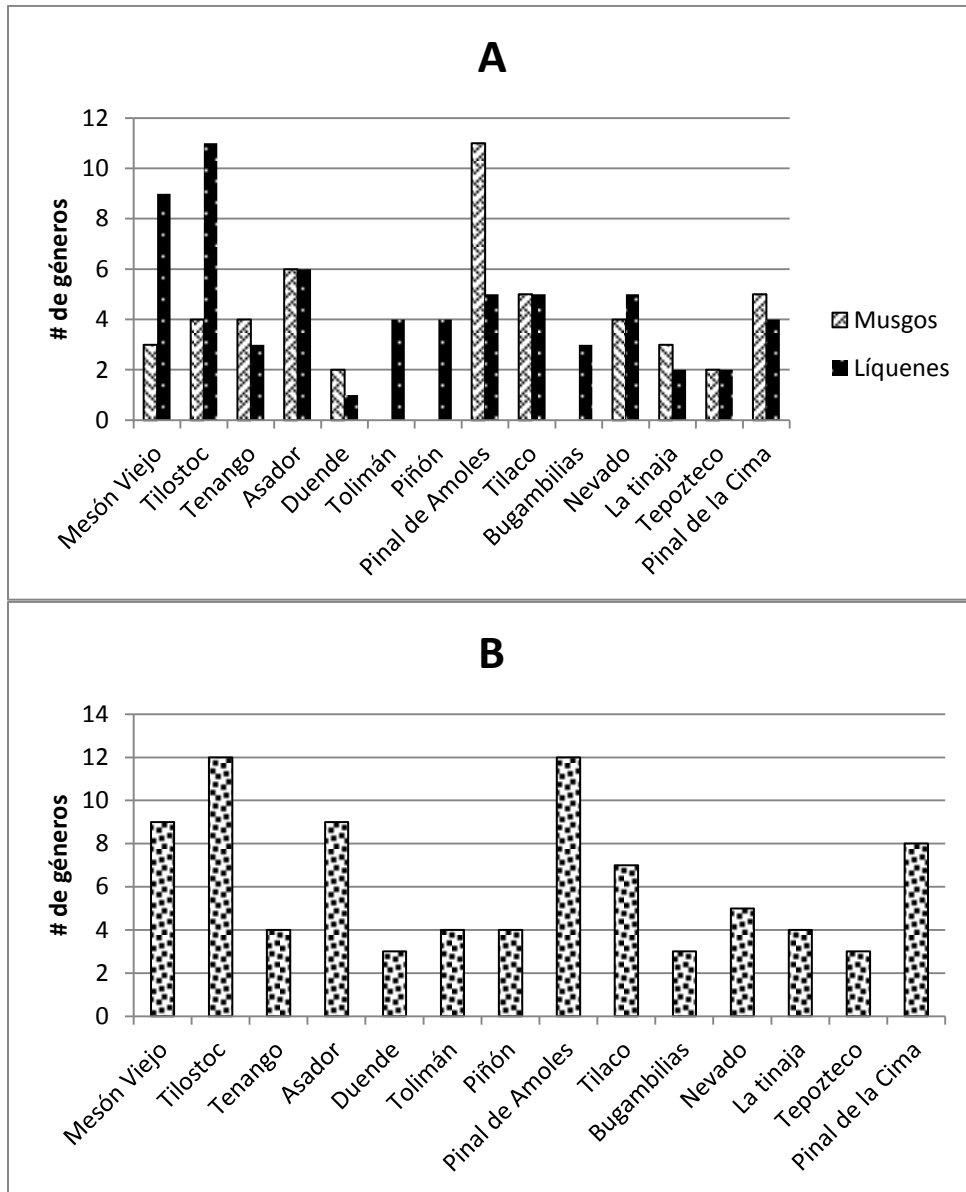


Figura 10. Cantidad de géneros en las localidades. **A**, musgos vs líquenes. **B**, totales por localidad.

El equilibrio es igualmente notorio entre líquenes y musgos en términos de diversidad, pues en seis localidades fueron superiores los líquenes, en cinco lo fueron los musgos y en una hubo la misma diversidad, no cotejando Piñón ni Tolimán por la ausencia de musgos en el sitio de muestreo (**Fig. 11A**). De esta manera separada la mayor diversidad se presentó en los líquenes de Tilostoc ($H'=1.989$) y musgos de Tilaco ($H'=1.574$), en tanto que los menores valores recaen en los líquenes de El Duende ($H'=0$, al albergar solo una especie), los musgos del mismo sitio ($H'=0.278$) y los líquenes de Tenango ($H'=0.3246$)

La diversidad por localidad (líquenes con musgos) fue mayor en Tilostoc ($H'=2.173$), El Asador ($H'=1.62$) y Tilaco ($H'=1.476$), mientras que Tolimán ($H'=0.526$), Tenango ($H'=0.806$) y El Duende ($H'=0.809$) resultaron ser los más bajos (**Fig. 11B**).

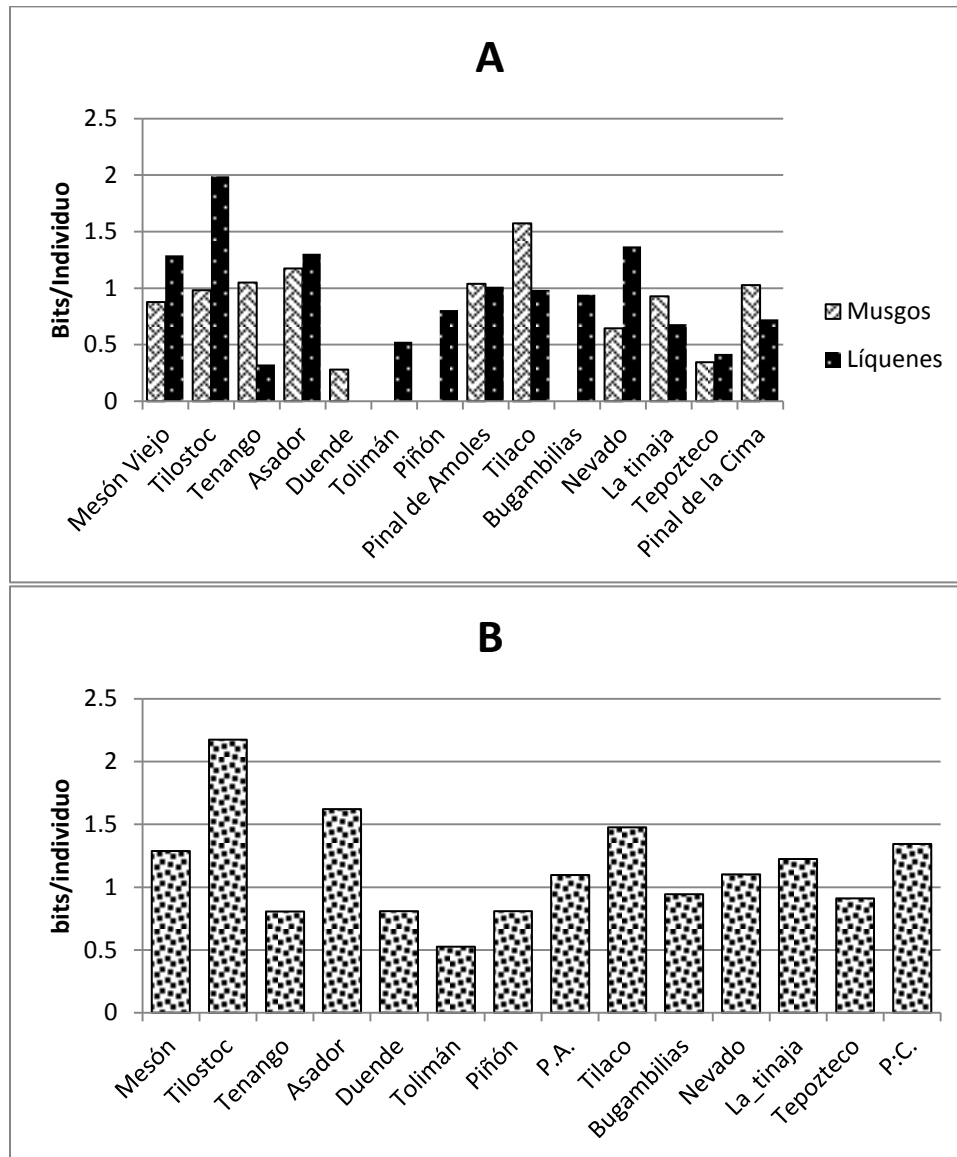


Figura 11. Diversidad por localidad. **A**, musgos vs líquenes. **B**, totales por localidad.

En posteriores análisis de similitud, que toman en cuenta la abundancia de los géneros, la mayoría de las localidades tuvieron una similitud mayor a 0.5 así como los conjuntos mayores a dos localidades (**Fig. 12**). Únicamente dos localidades, Tenango de las Flores y Pinal de la Cima, poseen una similitud por debajo del valor antes mencionado.

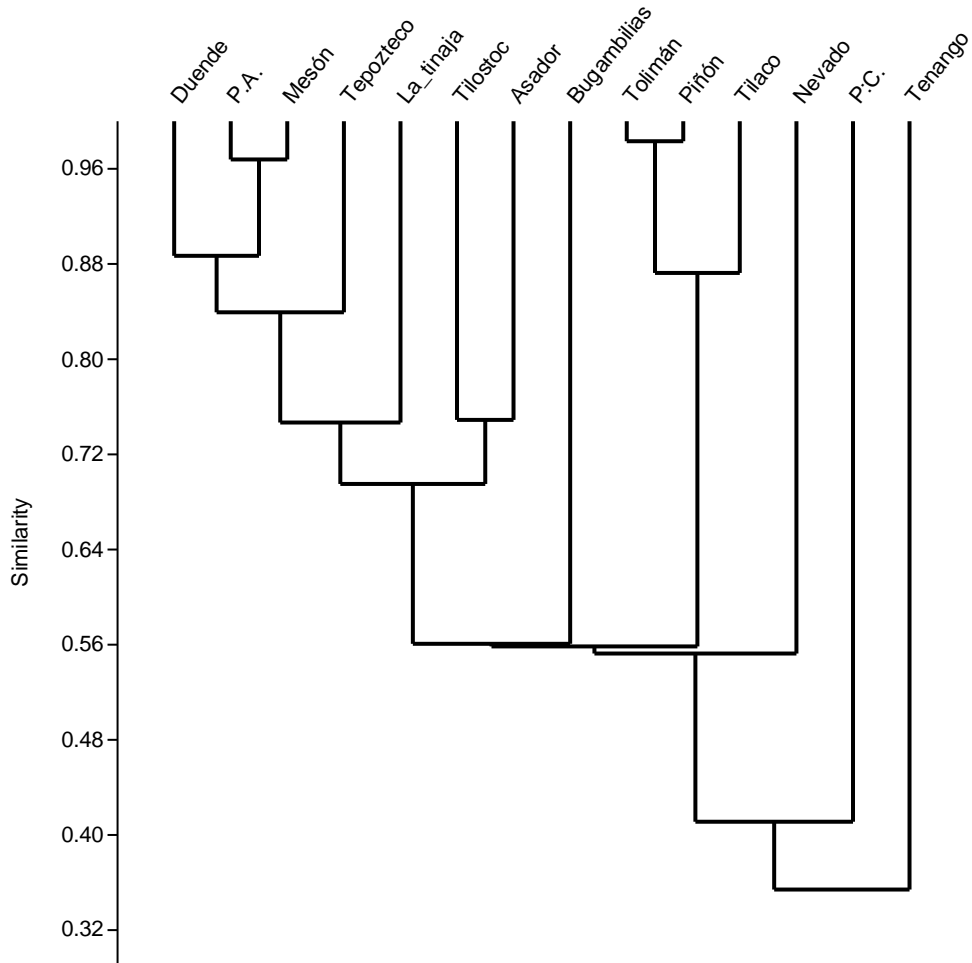


Figura 12. Diagrama de similitud entre las localidades de la FVTM.

DISCUSIÓN

Riqueza

El 66% de las muestras fueron positivas, albergando tardígrados. Este valor es cercano, a lo reportado en trabajos similares (Hallas 1978; Dastych 1985; Jönsson 2003; Guil *et al.*, 2009b) con rangos que oscilan de 70 a 90% de muestras conteniendo tardígrados y/o sus huevos. Sin embargo, el déficit en el porcentaje de muestras positivas podría estar relacionado con los métodos de colecta o con el tipo de ambientes donde se realizaron las mismas (Guil *et al.*, 2009b; Kaczmarek *et al.*, 2011b).

Dentro de las 11 publicaciones sobre tardígrados en el territorio nacional (Claps y Rossi, 2002; Beasley *et al.*, 2008; Kaczmarek *et al.*, 2011a; Moreno-Talamantes *et al.*, 2015; Pérez-Pech *et al.*, 2017) se tienen registros de 44 especies en únicamente 10 estados de

la república, sin embargo el presente trabajo incrementa los registros estatales de tardígrados, al haber considerado 6 estados antes no explorados (Querétaro, Hidalgo, Puebla, Jalisco, Guerrero y la CDMX).

Respecto a las especies observadas en este trabajo, se distinguieron un total de 46 especies que incluirían más de 30 nuevos registros y algunas nuevas especies para la ciencia. Sin embargo, dada la importancia de dichas aseveraciones y de la falta de especialistas sobre el grupo en nuestro país, las confirmaciones sobre la correcta identificación de las entidades específicas de los tardígrados encontrados en este estudio están siendo revisadas por uno de los expertos del grupo a nivel mundial (Łukasz Kaczmarek), por lo que hasta no completar la misma se prefirió trabajar los resultados hasta nivel de género.

Los heterotardígrados sólo se encontraron en lugares relativamente húmedos, siendo por completo ausentes en las localidades con menor precipitación (318mm a 377mm) y mayor temperatura (21°C a 25°C) y evaporación (1824mm a 2358mm) anuales (**Tabla 2**), a pesar de ser considerados por Guil y Sánchez-Moreno (2013) como bien adaptados a espacios abiertos y xéricos. Sin embargo, en la literatura disponible no se menciona alguna otra asociación que apoye la preferencia de los heterotardígrados a zonas secas y la antes mencionada se llevó a cabo en una montaña de España central, dentro de la región Paleártica.

El género *Pilatobius* se encontró únicamente en el Nevado de Toluca a gran altitud (4283 msnm). Miembros de éste género como la especie *Pilatobius nodulosus* en particular, podría estar más asociada a grandes altitudes ya que su registro en México a cargo de Beasley (1972) se dio en el volcán Popocatepetl (a 4000 msnm), y/o a bajas temperaturas dentro del continente americano (Kaczmarek *et al.*, 2014). Otro caso donde se puede observar cierta preferencia, pero ahora por un sustrato, es del género *Doryphoribius* hacia los musgos, ya que con excepción del registro de *D. evelinae*, todos los registros del género dentro de nuestro territorio (incluyendo los del presente trabajo) se han dado en musgos, así como en trabajos realizados en otros territorios (Beasley y Miller, 2012), si bien estos últimos pueden estar más influenciados por la alta preferencia de los investigadores por las muestras musícolas. Respecto a la preferencia de alguna especie por el otro sustrato estudiado en este proyecto, los líquenes, el género *Ramazzottius* fue encontrado, con únicas excepciones de muy baja abundancia en La Tinaja y Tilaco, en esta clase de sustrato, lo que coincide con lo que Kinchin (1994) propone como una

especialización de este género por microambientes de rápida desecación o incluso xéricos.

Un aspecto importante a destacar es que parte de los organismos del género *Milnesium* identificados en este trabajo presentan tubos bucales relativamente más delgados y alargados que los de especies del mismo género en otros continentes e incluso regiones biogeográficas, lo que bien podría estar relacionado con un hábito alimenticio distinto (Roszkowska *et al.*, 2015). El hecho de que la faringe y los tubos bucales tengan importancia taxonómica para la identificación de los tardígrados (Guidetti *et al.*, 2012) y que las descripciones de éstos se han realizado principalmente en sistemas templados (McInnes y Pugh, 2007), hablan de la necesidad de incorporar la mayor cantidad de herramientas posibles en la identificación de los tardígrados para clarificar su estatus taxonómico. Una de estas herramientas empleada con éxito en varios taxa, es el código de barras genético (Citocromo Oxidasa I) que ayuda a clarificar el estatus taxonómico con suficiente resolución cuando existen complejos taxonómicos (Hebert *et al.*, 2003; Birky, 2007; Gissi *et al.*, 2008; Galtier *et al.*, 2009) la cual podría ser incorporada al estudio de los tardígrados mexicanos

Análisis de diversidad y similitud

Aproximadamente la mitad de los géneros (7) hallados fueron dominantes de acuerdo con el diagrama de Olmstead-Tukey, presentándose en muchas muestras y en abundancias altas o considerables. Varios de estos, sobretodo los tres dominantes principales (*Macrobotus*, *Minibiotus* y *Milnesium*) están ampliamente distribuidos y se consideran cosmopolitas, encontrándose representantes de estos géneros de manera común en una mayoría de estudios (Meyer 2006; Meyer *et al.*, 2013; Zawierucha *et al.*, 2015; Rocha *et al.*, 2016).

La tendencia general sobre la abundancia de tardígrados obtenida en este trabajo, muestra valores mayores en los líquenes respecto a los observados en musgos. En la literatura publicada son pocos los trabajos que abordan la diversidad de tardígrados por lo que los datos reportados aún son un tanto contradictorios. Mientras para Zawierucha *et al.* (2017) las mayores densidades se pueden observar en musgos y las mayores diversidades en líquenes, para Bartels y Nelson (2007), en su trabajo realizado con estimadores de diversidad, los mayores valores de diversidad deberían encontrarse en los

musgos, sin embargo esta es solo una predicción realizada para el Parque Nacional Smoky Mountains en Estados Unidos.

El intervalo de la diversidad obtenido mediante el índice de Shannon-Wiener (de $H' = 0.526$ en Tolimán hasta $H' = 2.17$ en Tilostoc) para las localidades de la FVTM, está por debajo de lo observado por Meyer *et al.* (2013) en ambientes poco alterados ($H' = 3.01$), por tanto, la diversidad de tardígrados en estas localidades se asemeja más a la diversidad en sitios con cierto grado de perturbación antropogénica.

Según Meyer y Hinton (2007), las zonas con mayor riqueza regional (más diverso y localizado) de tardígrados limnoterrestres en el continente americano se presentan en las zonas ártica y subártica con 204 especies, sin embargo acorde a lo observado con un gran número de taxas, la zona neotropical puede ser una de las más diversas (Condon *et al.*, 2008), pero que no refleja esta diversidad por lo aún escaso de los trabajos realizados con tardígrados en dicha región.

Uno de los trabajos realizados en esta región biogeográfica neotropical fue el hecho por Kaczmarek *et al.* (2011b) en el que la altitud, precisamente, fue el factor más determinante de la distribución de los tardígrados en Costa Rica, seguido por el tipo de medio (urbano, rural o natural). Como muestran los resultados de este trabajo pese a que no hubo la intención directa de recorrer algún gradiente ambiental, la gran variedad de localidades muestreadas dentro del área comprendida incluyó altitudes desde los 1303 msnm (Tenango de las Flores) hasta los 4283 (Nevado de Toluca); TMA's desde los 3.9°C (Nevado de Toluca) hasta los 25.5°C (Piñón); PMA's de 318.3mm (Piñón) a 2036.8mm (Tenango) y EMA's de 970.8mm (Nevado) a 2358.2mm (Bugambilias) como valores más extremos (para abreviaturas véase la **Tabla 2**). Si bien los resultados de este trabajo no muestran una clara relación de la riqueza o abundancia con la altitud, existen un gran número de estudios donde se observan los efectos de la altitud sobre los parámetros ecológicos de los tardígrados (Rodríguez-Roda, 1951; Dastych, 1987, 1988; Beasley, 1988; Collins y Bateman, 2001;), algunos se han llevado a cabo en altitudes bajas comparadas con las que se dan en nuestro país y con intervalos de altitud relativamente cortos (Dastych, 1985; Guil *et al.*, 2009a; Zawierucha *et al.*, 2015). Esto confiere a México, particularmente a la zona de la FVTM, un interesante potencial para realizar investigaciones de este tipo, cuidando que el planteamiento de los estudios

considere como objetivo diversos intervalos de altitud, lo que indudablemente contribuiría en la clarificación de estas relaciones.

Las características, patrones ambientales y por ende formación de una gran diversidad de ambientes hace de la FVTM lugar propicio para albergar una amplia diversidad de especies de tardígrados. A pesar de lo que se observa en el análisis de cluster con el índice de Morisita, donde las localidades en general muestran un grado alto de similitud, restaría profundizar en las especies que deriven de los géneros hallados, ya que la disimilitud puede ir en incremento. Esto dentro de un territorio altamente diverso en cuanto a condiciones climáticas y de altitud, así como de barreras orográficas en un terreno reciente (de 251 a 542 Ma), activo (con vulcanismo casi ininterrumpido desde hace 135 Ma) y accidentado (Ferrari *et al.*, 2012).

Finalmente, una consideración importante para incrementar y complementar el estudio de los tardígrados en zonas tropicales y subtropicales es el tipo de muestras, ya que de acuerdo a Guil *et al.* (2009b), los valores más elevados en cuanto a riqueza y diversidad de tardígrados se observan en muestras saxícolas, considerando que las muestras que dominan en este estudio (cortícolas) tienen los niveles más bajos de índices de diversidad y riqueza, se hace necesaria la incorporación de este tipo de muestras para tener un panorama más completo de la diversidad de este grupo en la FVTM.

Debido a la escasez de documentos con parámetros ecológicos y, sobretodo, el incipiente estudio de tardígrados para cualquier enfoque científico en países tropicales y subtropicales (siendo el último dentro de dichas zonas el de Kaczmarek *et al.*, 2011b), este proyecto se puede considerar aún pionero en cuanto a la profundización y comparación en el estudio de la diversidad de tardígrados dentro de dichas regiones.

CONCLUSIONES

Se identificó en 14 localidades de la FVTM una diversidad gamma (γ) de 14 géneros de tardígrados pertenecientes a 6 familias. Los géneros dominantes en la FVTM fueron *Macrobotus*, *Minibiotus*, *Milnesium* y *Pseudechiniscus*.

En general, en las localidades de la FVTM tanto la diversidad como la riqueza fueron equilibradas entre musgos y líquenes, pero los segundos superaron a los primeros en

abundancia de tardígrados. Dentro del área de estudio, PA, Tilostoc y Mesón Viejo presentaron la mayor diversidad alfa (α) con 11, 11 y 9 géneros respectivamente, pero Tilostoc fue la localidad más diversa de acuerdo con índice de Shannon-Wiener.

La gran similitud entre la mayoría de las localidades sugiere la necesidad de una investigación de mayor profundidad taxonómica en el área de estudio.

LITERATURA CITADA

- Bartels, P. J., y Nelson, D. R. 2007. An evaluation of species richness estimators for tardigrades of the Great Smoky Mountains National Park, Tennessee and North Carolina, USA. *Journal of Limnology*, 66(Suppl. 1):104-110.
- Beasley, C. W. 1972. Some tardigrades from Mexico. *Southwestern Naturalist* 17(1): 21–29.
- Beasley, C. W. 1988. Altitudinal distribution of Tardigrada of New Mexico with the description of a new species. *The American Midland Naturalist* 120, 436_440.
- Beasley, C.W., Kaczmarek, Ł. y Michalczyk, Ł. 2008. *Doryphoribius mexicanus*, a new species of Tardigrada (Eutardigrada, Hypsibiidae) from Mexico (North America). *Proceedings of the Biological Society of Washington* 121: 34–40.
- Beasley, C. W. y Miller, W. R. 2012. Additional Tardigrada from Hubei Province, China, with the description of *Doryphoribius barbarae* sp. nov. (Eutardigrada: Parachela: Hypsibiidae). *Zootaxa* 3170:55–63.
- Begon, M., Townsend, C. R. y Harper, J. L. 2006. Ecology: From individuals to ecosystems. Malden, MA: Blackwell Pub.
- Bertolani, R. 1982. 15. Tardigradi (Tardigrada). Guide per il riconoscimento delle specie animali delle acque interne Italiane. *Verona: Consiglio Nazionale Delle Ricerche*. 104 pp.
- Bertolani, R., Guidetti, R., Jönsson, I. K., Altiero, T., Boschini, D. y Rebecchi, L. 2004. Experiences with dormancy in tardigrades. *Journal of Limnology*, 63: 16-25.

- Bertolani, R., y Rebecchi, L. 1993. A revision of the *Macrobotus hufelandi* group (Tardigrada, Macrobiotidae), with some observations on the taxonomic characters of eutardigrades. *Zoologica Scripta*, 22(2): 127-152.
- Bird, P. 2003. An updated digital model of plate boundaries. *Geochemistry, Geophysics, Geosystems*, 4(3).
- Birky, C. W. 2007. Workshop on barcoded DNA: application to rotifer phylogeny, evolution, and systematics. *Hydrobiologia*, 593(1), 175-183.
- Boudouresque, F. 2014. Insights into the diversity of the biodiversity concept. *Sci .Rep. Port-cros natl. Park*, 28: 65-86.
- Claps, M.C. y Rossi, G. 2002. Tardigrada. En: J.E. Llorente B. and J.J. Morrone (eds). *Biodiversidad, taxonomía y biogeografía de artrópodos de México: hacia una síntesis de su conocimiento, Vol. III*. México. D.F.: UNAM, CONABIO, ECOSUR and BAYER pp. 171-186
- Collins, M. y Bateman L. 2001. The ecological distribution of tardigrades in Newfoundland. *Zoologischer Anzeiger* 240, 291-297.
- Condon, M. A., Scheffer, S. J., Lewis, M. L. y Swensen, S. M. 2008. Hidden neotropical diversity: greater than the sum of its parts. *Science*, 320(5878), 928-931.
- Coxson, D.S. y Nadkarni, N.M. 1995. Ecological roles of epiphytes in nutrient cycles of forest ecosystems. In M.D. Lowman y N.M. Nadkarni (Eds) *Forest Canopies Academic Press*. New York, USA.
- Crowe, J. 1975. The physiology of cryptobiosis in tardigrades. *Mem Ist Ital Idrobiol* 32 suppl.: 37-59
- Dastych, H. 1985. West Spitsbergen Tardigrada. *Acta Zoologica Cracviensia* 28, 169_214.
- Dastych, H. 1987. Altitudinal distribution of Tardigrada in Poland. In R. Bertolani (ed.): *Biology of tardigrades. Selected Symposia and Monographs U. Z. I. Vol. 1*. Pp. 169_176. Modena: Mucchi Editore.
- Dastych, H. 1988. The Tardigrada of Poland. *Monografie Fauny Polski* 16. Warsaw: Pan´stwowe Wydawnictwo Naukowe.

- Degma, P., Bertolani, R. y Guidetti, R. 2017 Actual checklist of Tardigrada species. <http://www.tardigrada.modena.unimo.it/miscellanea/Actual%20checklist%20of%20Tardigrada.pdf>, pp. 45. Accessed 27 Jul 2017
- Dewel, R. A., Nelson, D. R. y Dewel, W. C. 1993. Tardigrada. *Microscopic anatomy of invertebrates*, 12: 143-183.
- Ellis, C. J., Eaton, S., Theodoropoulos, M. y Elliott, K. 2015. Epiphyte Communities and Indicator Species. An Ecological Guide for Scotland's Woodlands. Royal Botanic Garden, Edinburgh.
- Ferrari, L., Orozco-Esquivel, T., Manea, V. y Manea, M. 2012. The dynamic history of the Trans-Mexican Volcanic Belt and the Mexico subduction zone. *Tectonophysics*, 522: 122-149.
- Filippov, A. E., Gorb, S. N. y Popov, V. L. 2015. What can we learn from the "water bears" for the adhesion systems using in space applications? *Facta Universitatis, Series: Mechanical Engineering*, 13(3): 241-247.
- Fontaneto, D., Barbosa, A.M., Segers, H. y Pautasso M. 2011. The 'rotiferologist' effect and other global correlates of species richness in monogonont rotifers. *Ecography*. 35(2): 174-182.
- Fritz O., Brunet J. y Caldiz M. 2009. Interacting effects of tree characteristics on the occurrence of rare epiphytes in a Swedish boreal forest. *The Bryologist*, 112: 488–505.
- Gabriel, W. N., McNuff, R., Patel, S. K., Gregory, T. R., Jeck, W. R., Jones, C. D. y Goldstein, B. 2007. The tardigrade *Hypsibius dujardini*, a new model for studying the evolution of development. *Developmental biology*, 312(2): 545-559.
- Galtier, N., Nabholz, B., Glémin, S. y Hurst, G. D. D. 2009. Mitochondrial DNA as a marker of molecular diversity: a reappraisal. *Molecular ecology*, 18(22), 4541-4550.
- Gissi, C., Iannelli, F. y Pesole, G. 2008. Evolution of the mitochondrial genome of Metazoa as exemplified by comparison of congeneric species. *Heredity*, 101(4), 301-320.
- Glime, J. 2010. Bryophyte Ecology: Volume 2, Bryogological Interaction. Houghton, MI: Michigan Technological University and the International Association of Bryologists.

- Gray, J. S. 2000. The measurement of marine species diversity, with an application to the benthic fauna of the Norwegian continental shelf. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 250: 23-49.
- Greven, H. y Greven, W. 1987. Observations on the permeability of tardigrade cuticle using lead as an ionic tracer. In *Biology of the Tardigrades, Selected Symposia and Monographs. UZI*, 1: 35-43.
- Guidetti R., Altiero, T., Marchioro, T., Sarzi-Amade, L., Avdonina, A. M., Bertolani, R. y Rebecchi, L. 2012. Form and function of the feeding apparatus in Eutardigrada (Tardigrada). *Zoomorphology* 131(2):127–148.
- Guidetti, R., Altiero, T. y Rebecchi, L. 2011. On dormancy strategies in tardigrades. *Journal of insect physiology*, 57: 267-276.
- Guil, N., Hortal, J., Sánchez-Moreno, S. y Machordom, A. 2009a. Effects of macro and micro-environmental factors on the species richness of terrestrial tardigrade assemblages in an Iberian mountain environment. *Landscape Ecology* 24: 375-390.
- Guil, N., Sánchez-Moreno, S. y Machordom, A. 2009b. Local biodiversity patterns in micrometazoans: Are tardigrades everywhere? *Systematics and Biodiversity*, 7(3): 259-268.
- Guil, N. y Sanchez-Moreno, S. 2013. Fine-scale patterns in micrometazoans: tardigrade diversity, community composition and trophic dynamics in leaf litter. *Systematics and Biodiversity*, 11(2): 181-193.
- Halberg, K. A., Larsen, K. W., Jørgensen, A., Ramløv, H. y Møbjerg, N. 2013. Inorganic ion composition in Tardigrada: cryptobionts contain a large fraction of unidentified organic solutes. *Journal of Experimental Biology*, 216(7): 1235-1243.
- Hallas, T.E. 1978. Habitat preference in terrestrial tardigrades. *Annales Zoologici Fennici* 15: 66-68.
- Hebert, P. D., Ratnasingham, S. y de Waard, J. R. 2003. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 270, S96-S99.

- Heinis, F. 1911. Beitrag zur Kenntnis der zentralamerikanischen Moosfauna. *Revue Suisse de Zoologie* 19: 253–266.
- Hejnol, A. y Schnabel, R. 2005. The eutardigrade *Thulinia stephaniae* has an indeterminate development and the potential to regulate early blastomere ablations. *Development*, 132(6): 1349-1361.
- Hengherr, S., Worland, M. R., Reuner, A., Brümmer, F. y Schill, R. O. 2009. Freeze tolerance, supercooling points and ice formation: comparative studies on the subzero temperature survival of limno-terrestrial tardigrades. *Journal of Experimental Biology*, 212(6): 802-807.
- Hohberg, K. y Traunspurger, W. 2009. Foraging theory and partial consumption in a tardigrade–nematode system. *Behavioral Ecology*, 20(4): 884-890.
- Hohberg, K., Russell, D. J. y Elmer, M. 2011. Mass occurrence of algal-feeding tardigrade *Apodibius confusus*, in the young soils of a post-mining site. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 49(1): 62-65.
- 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. y Okuda, T. 2008. Establishment of a rearing system of the extremotolerant tardigrade *Ramazzottius varieornatus*: a new model animal for astrobiology. *Astrobiology*, 8(3): 549-556.
- Jönsson, K.I. 2003. Population density and species composition of moss-living tardigrades in a boreo-nemoral forest. *Ecography* 26: 356-364.
- Jönsson, K. I. 2007. Tardigrades as a potential model organism in space research. *Astrobiology* 7: 757–766.
- Jönsson, K. I., Rabbow, E., Schill, R. O., Harms-Ringdahl, M. y Rettberg, P. 2008. Tardigrades survive exposure to space in low Earth orbit. *Current Biol.* 18: 729-731
- Kaczmarek, Ł., Diduszko, D. y Michalczyk, Ł. 2011a. New records of Mexican Tardigrada. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 82(4): 1324–1327.

- Kaczmarek, Ł., Gołdyn, B., Wełnicz, W. y Michalczyk, Ł. 2011b. Ecological factors determining Tardigrada distribution in Costa Rica. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 49(1): 78-83.
- Kaczmarek, Ł., Michalczyk, Ł. y McInnes, S. J. 2014. Annotated zoogeography of non-marine Tardigrada. Part I: Central America. *Zootaxa* 3763(1): 1-62.
- Kinchin, I. M. 1994. The biology of tardigrades. Portland Press.
- Kranner I., Beckett R., Hochman A. y Nash T.H. 2008. Desiccation tolerance in lichens: a review. *The Bryologist*, 111: 576–593
- Magurran, A. E. y McGill, B. J. (Eds.). 2011. Biological diversity: frontiers in measurement and assessment. Oxford University Press.
- May, R.M. 1948. Nouveau genre et espèce de Tardigrade du Mexique: *Haplomacrobotus hermosillensis*. *Bulletin de la Société Zoologique de France* 73: 95–97.
- Mayer, G., Martin, C., Rüdiger, J., Kauschke, S., Stevenson, P. A., Poprawa, I., Hohberg, K, O Schill, R., Pflüger, H. J. y Schlegel, M. 2013. Selective neuronal staining in tardigrades and onychophorans provides insights into the evolution of segmental ganglia in panarthropods. *BMC Evolutionary Biology*, 13(1): 230.
- McInnes, S. J. y Pugh, P. J. A. 2007. An attempt to revisit the global biogeography of limno-terrestrial Tardigrada. *Journal of Limnology*, 66(1): 90-96.
- Meyer, H. A. 2006. Small-scale spatial distribution variability in terrestrial tardigrade populations. *Hydrobiologia* 558: 133-139.
- Meyer, H. A. y Hinton, J. 2007. Limno-terrestrial Tardigrada of the Nearctic Realm. In: G. Pilato, G. and Rebecchi, L. (eds.). Proceedings of the Tenth International Symposium on Tardigrada. *Journal of Limnology*, 66(1): 97-103.
- Meyer, H. A., Hinton, J y Samletzka, C. A. 2013. Water bears in the Anthropocene: a comparison of urban and woodland tardigrade (Phylum Tardigrada) communities in Southwestern Louisiana, USA. *Journal of Limnology*, 72: 123-127

- Moreno-Talamantes, A., Roszkowska, M., Ríos, G. P., Flores, M. J. J y Kaczmarek, Ł. 2015. First record of *Dactylobiotus parthenogeneticus* Bertolani, 1982 (Eutardigrada: Murrayidae) in Mexico. *Check List* 11(4): 1723.
- Morisita, M. 1959. Measuring of interspecific association and similarity between communities. *Mem. Fac. Sci. Kyushu Univ. Series E*, 3: 65-80.
- Morrone, J. J. 2005. Hacia una síntesis biogeográfica de México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 76: 207–252.
- Naeem, S. 2003. The functional role of biodiversity. En: Seminar on biodiversity and biological conservation, Vilà M., Rodà F., Ros J. (Eds.), Barcelona, Institut d'Estudis Catalans publ.: 241-264.
- Nelson, D. 1991. Tardigrada. En: Ecology and classification of North American Freshwater Invertebrates. Academic Press. Inc. U.S.A. 501-514p.
- Nelson, D.R., Guidetti, R. y Rebecchi, L. 2015. Chapter 17. Tardigrada. En: J.H. Thorp y D.C. Rogers (eds.), Thorp and Covich's Freshwater Invertebrates, Vol. I, Academic Press, Elsevier, Boston, MA.
- Nelson, D. y Higgins, R. 1990. Tardigrada. En: Soil Biology Guide. Jhon Wiley & Sons Inc. U.S.A. 393-417p.
- Nelson, D. R. y Marley, N. J. 2000. The biology and ecology of lotic Tardigrada. *Freshwater Biology*, 44(1): 93-108.
- Northcote-Smith, E. 2012. The ecology of tardigrades. *The Plymouth Student Scientist*, 5(2): 569-580.
- Pennak, R. W. 1989. Fresh-water invertebrates of the United States. Protozoa to Mollusca. John Wiley & Sons Inc. 3rd edition, 628p.
- Pérez-Pech, W. A., Anguas-Escalante, A., Cutz-Pool, L. Q. y Guidetti, R. 2017. *Doryphoribius chetumalensis* sp. nov. (Eutardigrada: Isohypsibiidae) a new tardigrade species discovered in an unusual habitat of urban areas of Mexico. *Zootaxa*, 4344(2), 345-356.

- Persson, D. K., Halberg, K. A., Jørgensen, A., Møbjerg, N. y Kristensen, R. M. 2012. Neuroanatomy of *Halobiotus crispae* (Eutardigrada: Hypsibiidae): Tardigrade brain structure supports the clade Panarthropoda. *Journal of Morphology*, 273(11): 1227-1245.
- Pilato, G. 2006. Remarks on the *Macrobiotus polyopus* group, with the description of two new species (Eutardigrada, Macrobiotidae), *Zootaxa* 1298: 37-47.
- Pilato, G. y Binda, M. G. 2010. Definition of families, subfamilies, genera and subgenera of the Eutardigrada, and keys to their identification. *Zootaxa*, 2404: 1-54.
- Pilato, G. y Lisi, O. 2006. Notes on some tardigrades from southern Mexico with description of three new species. *Zootaxa* 1236: 53-68.
- Ramazzotti, G. y Maucci, W. 1983. Il Phylum Tardigrada. *Memoire dell'Istituto Italiano di Idrobiologia Dott. Marco de Marchi* 41:1-1012.
- Ricci, C. 2001. Dormancy patterns in rotifers. *Hydrobiologia*. 446/447: 1-11.
- Rizzo, A. M., Altiero, T., Corsetto, P. A., Montorfano, G., Guidetti, R. y Rebecchi, L. 2015. Space Flight Effects on Antioxidant Molecules in Dry Tardigrades: The TARDIKISS Experiment. *BioMed Research International*, vol. 2015.
- Rocha, M. A., González-Reyes, A., Corronca, J., Rodríguez-Artigas, S., Doma, I., Repp, E. Y. y Acosta, X. 2016. Tardigrade diversity: an evaluation of natural and disturbed environments of the province of Salta (Argentina). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 178: 755–764
- Rodriguez-Roda, J. 1951. Algunos datos sobre la distribución de los tardígrados españoles. *Boletín de la Real Sociedad Española de Historia Natural. Sección Biológica*, 49: 75-83.
- Roszkowska, M., Ostrowska, M. y Kaczmarek, Ł. 2015. The genus *Milnesium* Doyère, 1840 (Tardigrada) in South America with descriptions of two new species from Argentina and discussion of the feeding behaviour in the family Milnesiidae. *Zoological Studies*, 54(1): 12.
- Sala, E. y Knowlton, N. 2006. Global marine biodiversity trends. *Annu. Rev. Environ. Resour.* 31: 93-122.

- Sanchez-Moreno, S., Ferris, H. y Guil, N. 2008. Role of tardigrades in the suppressive service of a soil food web. *Agriculture, Ecosystems, and Environment*, 124: 187-192.
- Sandlund, O. T., Hindar, K. y Brown, A. H. T (eds). 1992. Conservation of biodiversity for sustainable development. *Scandinavian University Press*, Oslo, Norway.
- Schokraie, E. 2011. Investigating the Proteome of Tardigrades: Towards a Better Understanding of Molecular Mechanisms during Anhydrobiosis. Doctoral dissertation, Technische Universität
- Schuster, R.O. 1971. Tardigrada from Barranca del Cobre, Sinaloa and Chihuahua, Mexico. *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 84: 213–224.
- SMN, Servicio Meteorológico Nacional. Normales Climatológicas por Estado. Consultado el 28 de Septiembre de 2017 de <http://smn.cna.gob.mx/es/climatologia/informacion-climatologica>
- Sokal, R. R. y Rohlf, F. J. 1981. Biometry: the principles and practices of statistics in biological research. Freeman and Company. New York, New York. 859 p.
- Thorp, J. y Covich, A. 2010. Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates. London, England: Academic Press.
- Van Dyke, F. 2008. Biodiversity: concept, measurement, and challenge. *Conservation Biology: Foundations, Concepts, Applications*, 83-119.
- Wolf, J. H. 1994. Factors controlling the distribution of vascular and non-vascular epiphytes in the northern Andes. *Vegetatio*, 112(1): 15-28.
- Wright, J. C. 1988. Structural correlates of permeability and tun formation in tardigrade cuticle: an image analysis study. *Journal of ultrastructure and molecular structure research*, 101(1): 23-39.
- Wright, J.C., Westh, P. y Ramløv, H. 1992. Cryptobiosis in Tardigrada. *Biological Reviews* 67: 1–29.
- Wright, J. C. 2001. Cryptobiosis 300 years on from van Leuwenhoek: what have we learned about tardigrades? *Zoologischer Anzeiger-A Journal of Comparative Zoology*, 240(3): 563-582.

Zawierucha, K., Smykla, J., Michalczyk, Ł., Gołdyn, B. y Kaczmarek, Ł. 2015. Distribution and diversity of Tardigrada along altitudinal gradients in the Hornsund, Spitsbergen (Arctic). *Polar Research*, 34: 24168.

Zawierucha, K., Węgrzyn, M., Ostrowska, M. y Wietrzyk, P. 2017. Tardigrada in Svalbard lichens: diversity, densities and habitat heterogeneity. *Polar Biology*, 1–8.