

CRIPTOBIOSIS: LA EXTRAORDINARIA DEFENSA DE LOS TARDÍGRADOS ANTE DIFERENTES SITUACIONES DE ESTRÉS

Elvia C. Estrada-García • Luisa F. Ascencio-Rosado • Irma Hernández-Dávila

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Facultad de Biología

elvia_interactiva@hotmail.com

luisa.ascencio@alumno.buap.mx

irma.hernandezda@alumno.buap.mx

RESUMEN

Los tardígrados se caracterizan por su capacidad de resistencia a diferentes clases de estrés por medio de criptobiosis, cuyas técnicas de adaptabilidad pueden ser de cuatro tipos: anhidrobiosis, osmobiosis, anoxibiosis y criobiosis. Estas técnicas de adaptabilidad se presentan en diferentes condiciones y son promovidas por cambios extremos en el ambiente que normalmente conducirían a la muerte en la mayoría de los seres vivos. Sin embargo, los tardígrados se protegen de estos cambios con la formación de una barrera llamada capa de barril creada a partir de la metabolización de trehalosa, permitiéndoles sobrevivir por largos períodos de tiempo. Este artículo pretende hacer una recolección completa acerca de los estudios más recientes de este fenómeno y de las perspectivas promisorias de su aplicación en diferentes campos de la ciencia con los objetivos de preservar otro tipo de especies que no cuentan con estas técnicas de adaptabilidad y prevenir la pérdida de biodiversidad por causa de la extinción de especies. Este artículo puede ser importante para la implementación de técnicas novedosas en diversos campos de la ciencia.

Palabras clave: Criptobiosis, tardígrado, trehalosa, filo *Ecdysozoa*, capa de barril

ABSTRACT

Tardigrades are characterized by their ability to endure different kinds of stress through cryptobiosis, which may occur through four adaptability techniques: anhydrobiosis, osmobiosis, anoxybiosis, and cryobiosis. These adaptability techniques occur at different conditions and are caused by extreme environmental changes that would usually lead to the demise of most living beings. However, tardigrades are protected from these changes by the formation of a barrier called tun layer created from trehalose metabolism, allowing them to survive for a long time. This paper is intended to do a comprehensive compilation on the latest studies of this phenomenon and on the promising application prospects in different scientific areas with the purposes of preserving other species that do not have these adaptability techniques and preventing biodiversity loss through animal extinction. This paper may be significant for the implementation of innovative techniques in different scientific areas.

Keywords: Cryptobiosis, tardigrade, trehalose, phylum *Ecdysozoa*, tun layer

INTRODUCCIÓN

Los tardígrados, también llamados osos de agua debido a su aspecto, son invertebrados que están presentes en diferentes cuerpos de agua como océanos, ríos y lagos. Tienen cuerpo alargado, cuatro pares de patas con garras, cerebro, órganos sensoriales, músculos y aparato digestivo con dos aberturas (la boca y un conducto por donde excretan sus desechos y paren a sus crías). Sin embargo, no poseen sistema respiratorio, corazón, ni riñones. Se alimentan de bacterias, algas, hongos, líquenes y pequeños invertebrados como nematodos. Pertenecen al filo *Ecdysozoa* y han sido estudiados desde la década de 1550 por científicos como Gessner y Van Leeuwenhoek. Una de las características más sobresalientes de estos invertebrados es su tamaño diminuto con una medida de 200 a 700 μm de largo. Otro aspecto importante es su capacidad para responder a condiciones ambientales adversas por medio de un proceso denominado criptobiosis, el cual es un período de reducción o hasta inactividad de las actividades metabólicas que puede durar días, meses o años.

David Keilin definió criptobiosis en 1959 como “el estado de un organismo que no tiene signos vitales visibles y cuya actividad metabólica es difícil de medir, además de ser reversible desde un punto muerto” (Clegg, 2001). Hay cuatro tipos diferentes de criptobiosis: anhidrobiosis (deseccación), osmobiosis (alta concentración osmótica), anoxibiosis (deficiencia de oxígeno en el ambiente) y criobiosis (congelación). Debido a este proceso, los tardígrados son capaces de sobrevivir condiciones ambientales extremas.

El propósito de esta revisión es reconocer los procesos que están involucrados en los distintos tipos de criptobiosis que se llevan a cabo en los tardígrados.

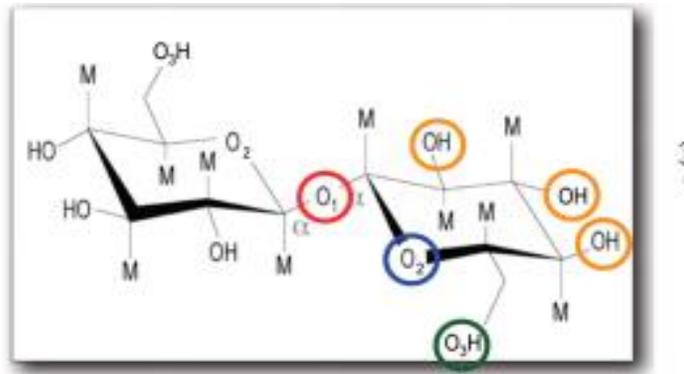


Ilustración 1. Estructura de la Trehalosa. Water and Trehalose: How Much Do They Interact with Each Other? (2016).

Criptobiosis: Un Fenómeno para la Supervivencia

La tolerancia a los cambios radicales es una de las características más sobresalientes en los tardígrados. Debido a esta capacidad, estos han logrado sobrevivir condiciones ambientales en las que la mayoría de los seres vivos morirían, como temperaturas que oscilan del cero absoluto hasta temperaturas muy elevadas, presiones altas y en el espacio como se comprobó en 2011 a partir de dos especies de tardígrados: *Richtersius coronifer* y *Milnesium tardigradum*.

En el proceso de la criptobiosis hay ciertos compuestos que desempeñan un papel importante como los disacáridos. Entre los más importantes destacan la trehalosa y la sacarosa que funcionan como agentes bioprotectores. Hay hipótesis que sugieren que la

capacidad protectora de estos disacáridos se debe a las modificaciones en la disposición tetraédrica de las moléculas de agua en la capa hidratante del carbohidrato. Esto se observó en la trehalosa disuelta porque forma muchos puentes de hidrógeno con el disolvente (S. E. Pagnotta[†], 2010).

Como resultado de esta propiedad, la trehalosa puede generar una barrera protectora que se mantiene seca a altas temperaturas y una vez rehidratada no produce daño en la función celular. Por consiguiente, se le ha considerado como un medio para conservar proteínas y células a temperatura ambiente sin llevar a cabo el proceso de liofilización.

Es importante mencionar que criptobiosis no es lo mismo que diapausa, pues si bien ambos son estados de inactividad, en la criptobiosis hay factores desencadenantes específicos donde entra en acción un estado de desarrollo genéticamente predeterminado, cuyo proceso de regeneración ocurre cuando las condiciones vuelven a ser favorables. En la diapausa, sin embargo, la actividad metabólica permanece reducida incluso cuando los cambios medioambientales vuelven a ser favorables.

Tipos de Criptobiosis

Anhidrobiosis

La anhidrobiosis es un medio de vida carente de agua (David A. Wharton, 2015). Al estar en presencia de bajas cantidades de agua, la mayoría de los organismos mueren porque ésta es una de las principales moléculas necesarias para múltiples procesos metabólicos. En la anhidrobiosis, los tardígrados obtienen la capacidad no sólo de sobrevivir concentraciones > 99%, sino también pueden volver a hidratarse para continuar viviendo. La respuesta a dicha condición de estrés genera una capa de barril, que cumple una función protectora y es resistente a factores abióticos generando cambios fenotípicos como la retracción de las extremidades del cuerpo.

Al formarse la capa de barril se deduce que la permeabilidad de la cutícula disminuye significativamente, lo que contribuye a la reducción de la transpiración que, a su vez, permite conservar una mayor cantidad de agua para comenzar el proceso de anhidrobiosis. Por consiguiente, a mayor tolerancia mayor cantidad de agua retenida, tal

como se demostró en *Hypsibius dujardini* (Weronika Welnicz, 2011), el cual tiene una baja tolerancia a la sequedad y al mismo tiempo es el que menos permeabilidad tiene. También se ha reportado que la especie *R. berhaeuseri* tiene una mayor resistencia a la desecación. Cabe destacar que la formación de la capa de barril ocurre por la intervención de trehalosa ya que se encarga de estabilizar proteínas, ácidos nucleicos y lípidos de la membrana, reemplazando el agua perdida y preservando así las estructuras que normalmente se desnaturalizarían en otro tipo de organismos. Se cree que otra posible forma de impedir la desnaturalización es a través de moléculas hidrófilas que entran en estado vítreo durante la desecación para impedir la desnaturalización por medio de inmovilización. No obstante, algunos autores señalan que no es la trehalosa quien realmente está involucrada en el proceso de criptobiosis (Weronika Welnicz, 2011), sino las proteínas de choque térmico (Heat Shock Proteins, HSP), ya que en un estudio se demostró que las proteínas derivadas de las HSPs, como las HSPs 70 observadas en *M. tardigradum* durante la anhidrobiosis, evitaban daño celular (Reuner *et al.*, 2010). Aunque otros estudios señalan que éstas no están involucradas de manera directa, aparentemente están implicadas más bien en el proceso de reparación después de la desecación.

También se ha reportado que durante la anhidrobiosis las células funcionan como almacenes de energía, lo cual se estudió en tres especies: *Milnesium tardigradum* (Doyere, 1849), *Macrobotus sapiens* (Binda y Pilato, 1984) y *Macrobotus tonollii* (referencia). En el primer período de inanición estas especies disminuyeron el tamaño de sus células, lo que provoca una liberación de los materiales almacenados. Al final de la inanición también disminuyó la cantidad de células como se ha registrado en *Anhydrobiotic M. sapiens* y *M. tonollii*, cuyas células de almacenamiento recuperan su tamaño, pero disminuyen su proliferación celular. Esto no se ha observado en *M. tardigradum*. Este punto también es retomado por autores como Rizzo *et al.* (2010) pues se han detectado tanto un aumento en la actividad del sistema enzimático antioxidante como cambios en la composición de los ácidos grasos en especies como *P. richtersi*. También se han encontrado mayores concentraciones de ácidos grasos polinsaturados, peróxido, dismutasas, glutatión y peroxidasas que le brindan una gran longevidad al tardígrado.

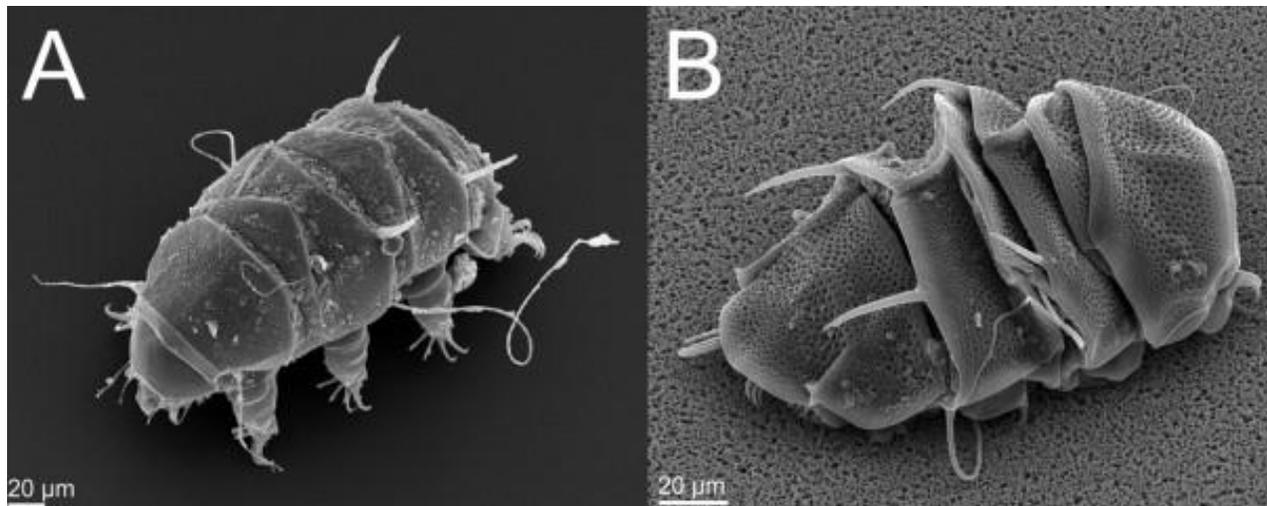


Ilustración 2. Micrografías electrónicas de barrido de *Echiniscus Granulatus*. **A.** Estado activado. **B.** Estado de tonel. Anhydrobiosis in tardigrades—The last decade (2011).

Osmobiosis

La osmobiosis se realiza cuando los tardígrados se someten a estrés osmótico, es decir, a altas concentraciones salinas. En la osmobiosis, al igual que en la anhidrobiosis, se presenta formación de capa de barril. En 1950, Collin y May encontraron que los animales sufrían estrés osmótico a una concentración de 300 mOsm. En el caso de los tardígrados lo primero que se observó es que son resistentes a bajas concentraciones de sales, es decir, son hiposmóticos. Sin embargo, en aquel entonces aún no se había determinado analíticamente si eran hiperosmóticos, así que para comprobarlo en 2007 se realizó un estudio con la especie de tardígrado *R. coronifer*, la cual se sometió a una solución salina diluida a 1 M en polietilenglicol con una osmolalidad de 1000 mOsm durante 30 minutos, dando como resultado la formación de la capa de barril que se parecía a la formada en la anhidrobiosis como se muestra en la Ilustración 3.

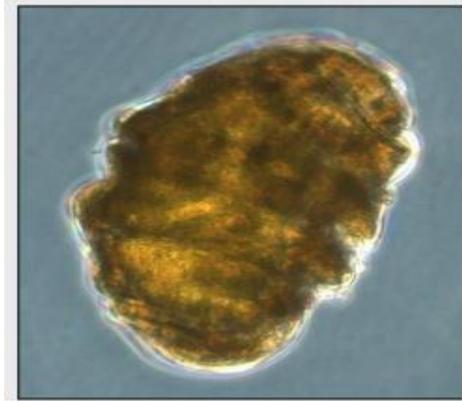


Ilustración 3. Formación de capa de barril en *R. coronifer* con una concentración 1000 mOsm.
Osmoregulation and osmobiosis in the eutardigrade *Richtersius coronifer* (2016).

Al llevar a cabo este experimento se demostró que la capa de barril se induce por estrés osmótico causado por polietilenglicol (PEG) y que las mismas concentraciones salinas no producen el mismo efecto sin PEG puesto que, como se muestra en la Ilustración 4, el tardígrado ya no está contraído porque ya no es capaz de formar la capa de barril y está a punto de morir.



Ilustración 4. Forma no retraída *R. coronifer* a una concentración de 1000 mOsm durante 1 h.
Osmoregulation and osmobiosis in the eutardigrade *Richtersius coronifer* (2016).

Por lo tanto, se realizó una hidratación que dio como resultado la inflamación de *R. coronifer* (Ilustración 5).

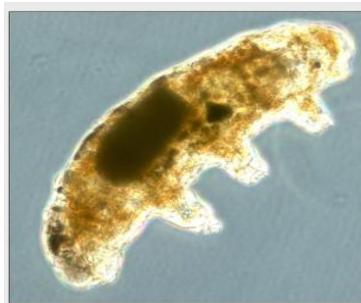


Ilustración 5. Forma hidratada de *R. coronifer*. Osmoregulation and osmobiosis in the eutardigrade *Richtersius coronifer* (2016).

En este estudio se observó que en concentraciones muy altas no es posible llevar a cabo osmobiosis debido a que el sistema de los tardígrados no puede tolerar condiciones tan inclementes como éstas, pero aun así puede tolerar condiciones de 1000 mOsm donde hay formación de la capa de barril que, al igual que en la anhidrobiosis, logra proteger al tardígrado hasta que las condiciones llegan a ser óptimas.

Anoxibiosis

Este tipo de criptobiosis se lleva a cabo en bajas concentraciones de oxígeno, lo cual puede ocurrir en lugares como sedimentos acuáticos y algunas cuevas. Generalmente ocurre en tardígrados que viven en aguas antárticas debido a que la profundidad del agua que se encuentra allí produce anoxia (disminución de oxígeno en las células). En la anoxibiosis, a diferencia de los demás tipos de criptobiosis, no se forma la capa de barril (Ilustración 3). Además, para que haya anoxibiosis se necesita de absorción de agua, tal como se describió en *R. coronifer*.

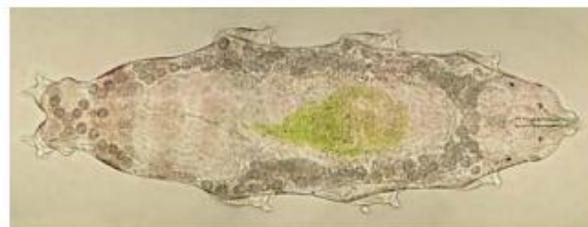


Ilustración 6. *Macrobotus hufelandi* no muestra formación de capa de barril. Osmoregulation and osmobiosis in the eutardigrade *Richtersius coronifer* (2016).

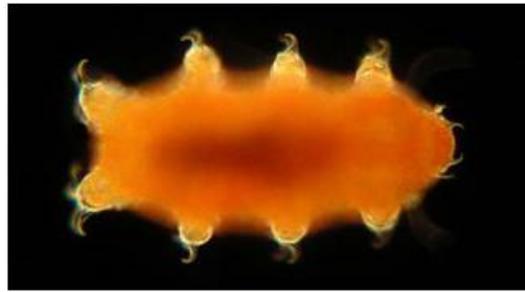


Ilustración 7. Tardígrado inflamado debido a la absorción de agua a través de la cutícula.
Osmoregulation and osmobiosis in the eutardigrade *Richtersius coronifer* (2016).

El tiempo de vida de un tardígrado se reduce a pocos días u horas, por lo que si el oxígeno no es restaurado en ese período el tardígrado muere. Al igual que en la mayoría de los tipos de criptobiosis, éste puede revivir si se le suministra oxígeno nuevamente, así que vuelve a su estado activado en minutos u horas (James H. Thorp, 2010).

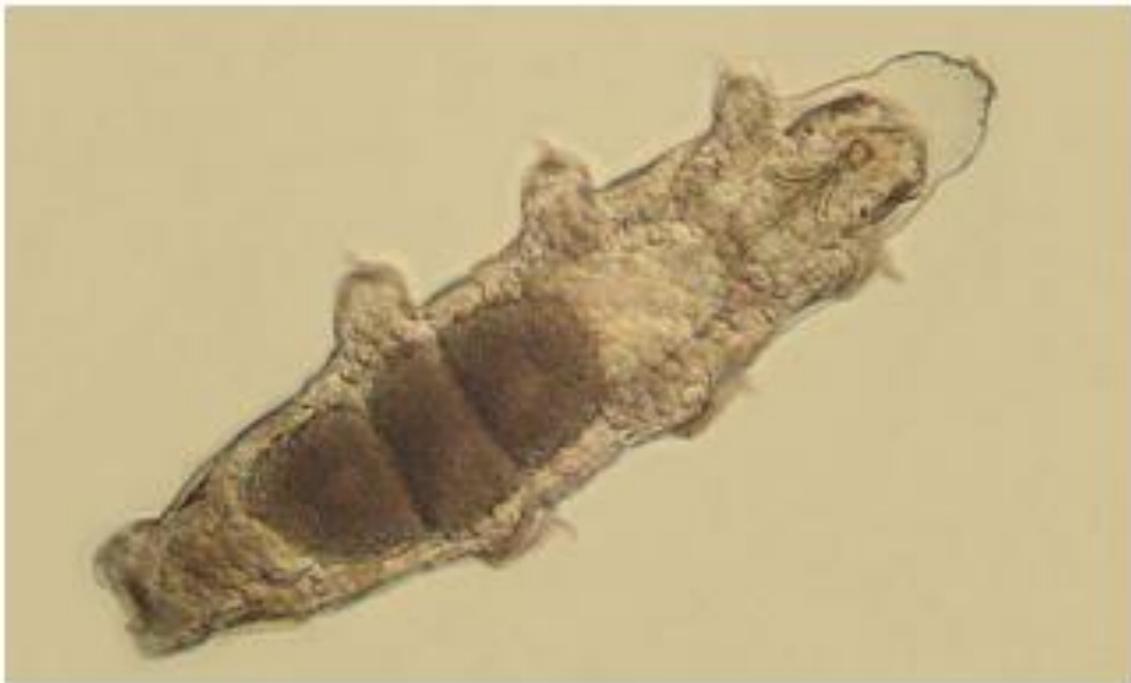


Ilustración 9. Tardígrado que vuelve al estado activado después de estar en anoxibiosis intenta recuperar la muda desplazándose a la cutícula inflamada. Osmoregulation and osmobiosis in the eutardigrade *Richtersius coronifer* (2016).

Criobiosis

El proceso de criobiosis ocurre a bajas temperaturas, incluso llegando a $-272\text{ }^{\circ}\text{C}$ (un grado por encima del cero absoluto). Cuando esto pasa, el tardígrado contrae y retrae la cabeza y las patas, tomando forma de barril, lo cual se conoce como estado de tonel.

El agua de casi cualquier organismo se cristaliza cuando se somete a bajas temperaturas; por consiguiente, ésta rompe la estructura de las células provocando la muerte del individuo. Sin embargo, los tardígrados logran sobrevivir por las proteínas de nucleación de hielo que se encuentran fuera de las células. Estas proteínas actúan como imanes de agua, es decir, sacan el agua de la célula. La congelación extracelular, promovida por las proteínas de nucleación de hielo, ocurre a temperaturas cercanas a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$. Se piensa que en *Richtersius coronifer*, la síntesis de trehalosa no es parte de este proceso, aunque puede haber otros crioprotectores en la célula. Los detalles de protección contra la congelación no se entienden completamente, pero se sabe que la pérdida de agua de las células puede causar que éstas no se congelen. El glicerol contribuye como un antioxidante y, al estar incrustado en el hielo, probablemente también previene el daño de la oxidación. En este estado criobiótico, los tardígrados pueden sobrevivir durante décadas.

Westh y Kristensen (1992) examinaron *Richtersius coronifer* y *Bertolanius nebulosus* para comparar sus estrategias en la formación de crioprotectores. Se encontró que *Richtersius coronifer* vive en musgos, mientras que *Bertolanius nebulosus* vive entre algas y musgos húmedos y pasa sus inviernos congelados en un quiste o en forma de huevo. Ambas especies pueden soportar temperaturas de $-7\text{ }^{\circ}\text{C}$. No obstante, estas dos especies evidentemente tienen diferente termoestabilidad que resulta de diferencias en las proteínas de nucleación de hielo. En ambos casos, la formación de hielo es rápida, pero lo más probable es que ya no cristalice en un minuto de nucleación. Esto protege las células contra el daño causado por cristales grandes y afilados. Sin embargo, el hielo constituye de 80 a 90% del agua corporal. La aclimatación en invierno de *R. coronifer* causa una disminución de 10% en la formación de hielo.

A pesar de su aparente indestructibilidad, no todos los tardígrados soportan bajas temperaturas y algunas especies se comportan mejor que otras. Bertolani *et al.* (2004)

demonstró esto para dos especies de tardígrados. *Ramazzottius oberhaeuseri* parece ser casi indestructible hasta $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$, mientras que *Hypsibius dujardini* tiene sólo 20% de tasa de supervivencia a esa temperatura. En realidad, tiene una tasa de supervivencia de menos de 80% a $-9\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Vacío y Radiación en el Espacio

En septiembre de 2007 en la plataforma experimental BIOPAN-6 de la Agencia Espacial Europea (ESA, por sus siglas en inglés) se comprobó que las especies *Richtersius coronifer* y *Milnesium tardigradum*, que estuvieron a una altura de 258 a 281 km sobre el nivel del mar, son capaces de soportar tanto la radiación solar cósmica como el vacío, puesto que la tasa de supervivencia registrada en estas condiciones para ambas especies fue de 68%. Incluso más sorprendente es que se hayan obtenido resultados de huevos eclosionados de estas especies expuestas al vacío y que ni siquiera presentaran diferencia alguna con los huevos eclosionados de control, así que con este experimento se halló que los tardígrados son más resistentes de lo que se pensaba. Aun en condiciones que sólo algunas especies de líquenes y bacterias habían sido capaces de tolerar, los tardígrados son capaces de establecer mecanismos de supervivencia y reproducción, pero es desconcertante que aún no se conozca con exactitud el mecanismo de tolerancia en estas condiciones. Sin embargo, en 2013 se realizó un análisis del mecanismo de protección relacionado con la radiación solar en dos especies de tardígrados. Una de las especies en cuestión fue *R. Varieornatus*, la cual se expuso a radiación UVC que es muy dañina para la vida. Esta especie soportó radiaciones de 2.5 kJ/m^2 hasta 20 kJ/m^2 debido a su mecanismo de reparación de ADN, en donde se encontró la participación del gen *phrA* que no evita daño celular, pero está involucrado en la reparación del ADN.

Ventajas Selectivas de la Criptobiosis

Los tardígrados tienen ventajas evolutivas debido a la criptobiosis, así que pueden adaptarse a nuevos nichos ecológicos, incluyendo zonas terrestres. Además, la

criptobiosis permite la eliminación de competidores, depredadores y parásitos entre los tardígrados.

La criptobiosis también permite que estos organismos puedan escapar a tiempo de un hábitat que consideren hostil para desarrollarse activamente. La historia de vida de los tardígrados consiste en períodos activos de crecimiento somático y reproducción interrumpida por períodos de inactividad metabólica impuesta por desecamiento o congelación. Este fenómeno se conoce como “fuga en el tiempo” en condiciones adversas, a diferencia de una “fuga en el espacio” donde los organismos sólo emigran (Jonsson, 2005).

Criptobiosis en Huevos de Tardígrados

La forma de reproducción de los tardígrados depende del hábitat en el que estén. En el medio marino todos los tardígrados son anfimícticos, es decir, se reproducen sexualmente puesto que hay unión de dos gametos de distintos progenitores. Para la colonización de medios más inestables, como el agua dulce o la tierra, la reproducción se lleva a cabo por partenogénesis meiótica y ameiótica. Esta última clase reproducción es un método mucho más efectivo para perpetuar la especie porque sólo requiere de un individuo para colonizar un territorio. Con cualquier tipo de reproducción en los tardígrados se necesita de la formación de un huevo.

Los huevos de todos los tardígrados terrestres pueden permanecer en período de latencia en respuesta a la desecación de su hábitat, entrar en anhidrobiosis y soportar hasta nueve años de esta manera. Estos huevos también pueden usar criobiosis para resistir temperaturas bajo cero.

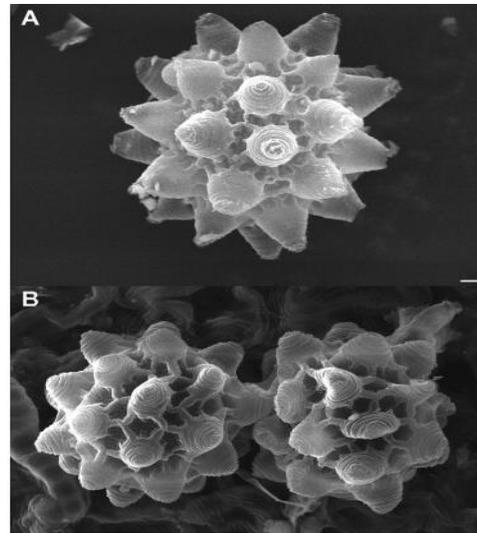


Ilustración 10. Huevos del tardígrado *Paramacrobiotus richtersi*. **A.** Forma hidratada. **B.** Huevo anhidrobiótico desecado. On dormancy strategies in tardigrades (2016).

Aplicaciones Tecnológicas de la Criptobiosis

Los tardígrados son un modelo de investigación muy útil para la astrobiología, la exploración espacial y el desarrollo de nuevas tecnologías. Debido a que tienen la habilidad de sobrevivir condiciones ambientales extremas, no necesitan mucho espacio para su investigación, permiten hacer evaluaciones de diferentes generaciones en períodos de tiempo corto y pueden ser almacenados por varios años sin perder su viabilidad.

Estas características también son de interés para otras áreas como la medicina donde, por medio de la criptobiosis, se busca reparar el ADN, manteniendo la integridad del genoma cuando haya errores de replicación para permitir que se corrijan deficiencias y enfermedades en el ser humano y otros animales.

En el ámbito de la biotecnología y la ingeniería genética se podrían aislar los genes que permiten que los tardígrados sobrevivan a condiciones adversas.

Con el uso de la criptobiosis se podrían generar bancos de semillas para mantener diferentes especies de plantas por medio de técnicas de ingeniería genética, permitiendo que las condiciones de mantenimiento de estos sitios sean menos estrictas y los beneficios más duraderos. Esto disminuiría la tasa de extinción y la pérdida de diversidad al proporcionar herramientas para colonizar hábitats que lo necesiten.

CONCLUSIÓN

En definitiva, la criptobiosis en los tardígrados brinda un modelo de estudio con gran potencial que debe ser explotado apropiadamente para aprovechar una valiosa oportunidad de obtener descubrimientos que permitan conferir características de resistencia a una variedad de productos biológicos; por ejemplo, genes o proteínas de interés para la industria, preservación de especies en peligro de extinción, agricultura, medio ambiente, entre otros.

Como se ha observado, este fenómeno se descubrió hace algunos años; sin embargo; desde entonces no se ha dado una rigurosa continuidad a los estudios realizados en estos organismos, así que se ha provocado un estancamiento de su

implementación. Este mecanismo de defensa es imponente y requiere de estudios más exhaustivos en el futuro. Mientras tanto, hay bases suficientes para fomentar la investigación en tardígrados entre la comunidad científica.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Dr. Enrique González Vergara por la revisión y orientación en la elaboración de nuestro artículo. También agradecemos la información obtenida mediante los recursos electrónicos de la Dirección General de Bibliotecas BUAP.

REFERENCIAS

1. Altiero, T.; Bertolani, R.; Rebecchi, L. (2010). *Hatching phenology and resting eggs in tardigrades*. Journal of Zoology, 280, pp. 290-296.
2. Bibliocatálogo.buap.mx. (2010). *Water and Trehalose: How Much Do They Interact with Each Other?* [Versión en línea]. Disponible en: <http://www.bibliocatalogo.buap.mx:2147/doi/pdf/10.1021/jp911940h> [Acceso el 20 de octubre de 2016].
3. Binda, M. G. y Pilato, G. (1984). *Macrobotus sapiens, nuova specie di Eutardigrado di Sicilia*. Animalia, 11 (1-3), 85-90.
4. Chang, L.; Powell, D.; Miller, W.; Lowman, M. (2015). *Tardigrades of the Canopy: Evidence of Stratification*. [Versión en línea] BioOne. Disponible en: <http://www.bibliocatalogo.buap.mx:2614/doi/full/10.1660/062.118.0306> [Acceso el 21 de octubre de 2016].
5. Clegg, J. S. (2001). *Cryptobiosis: a peculiar state of biological organization*. Comparative Biochemistry and Physiology, 128B, pp. 613-624.
6. Crowe, J. H. (1975). *The physiology of cryptobiosis in tardigrades*. Memorie dell'Istituto Italiano di Idrobiologia, 32 (Suppl.), pp. 37-59.
7. Doyere, M. (1849). *Sur un micropyle dans des oeufs du Loligo et Syngnathus Ophidium*. Bulletin de la Societe Philomathique de Paris, 15 de diciembre.
8. Glime, J. (2013). *Tardigrade Survival*. [Versión en línea]. Bryoecol. Disponible en: http://www.bryoecol.mtu.edu/chapters_VOL2/5-1Tardigrades_Survival.pdf [Acceso el 20 de octubre de 2016].

9. Glime, J. M. (2013). *Tardigrade Survival*. Capítulo: 5-1. En: Glime, J. M. Bryophyte Ecology. Volumen 2. Bryological Interaction. Libro digital 5-1-1 auspiciado por Michigan Technological University and the International Association of Bryologists. Última actualización: 2 de julio de 2013.
10. Guidetti, R.; Altiero, T.; Rebecchi, L. (2016). *On dormancy strategies in tardigrades*. [Versión en línea] ScienceDirect. Disponible en: <http://www.bibliocatalogo.buap.mx:2563/science/article/pii/S0022191011000692?np=y> [Acceso el 21 de octubre de 2016].
11. Guidetti, R.; Boschini, D.; Altiero, T.; Bertolani, R.; Rebecchi, L. (2008). *Diapause in tardigrades: a study of factors involved in encystment*. Journal of Experimental Biology, [Versión en línea] 211 (14), pp. 2296-2302. Disponible en: <http://jeb.biologists.org/content/211/14/2296> [Acceso el 20 de octubre de 2016].
12. Hengherr, S.; Worland, M.; Reuner, A.; Brummer, F.; Schill, R. (2009). Freeze tolerance, supercooling points and ice formation: comparative studies on the subzero temperature survival of limno-terrestrial tardigrades. Journal of Experimental Biology, [Versión en línea] 212 (6), pp. 802-807. Disponible en: <http://jeb.biologists.org/content/212/6/802> [Acceso el 20 de octubre de 2016].
13. Hengherr, S.; Brünner, F.; Schill R. O. (2008a). Anhydrobiosis in tardigrades and its effects on longevity traits. Journal of Zoology, 275 (2008), pp. 216-220.
14. Hengherr, S.; Heyer, A. G.; Köhler, H. R.; Schill, R. O. (2008b). Trehalose and anhydrobiosis in tardigrades—evidence for divergence in response to dehydration. FEBS, 275 (2008), pp. 281-288.
15. James, H. Thorp. (2010). Mi colección Mi historial Libros en Google Play. Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates. Kansas Lawrence: Academic Press.
16. Ji, Hun, Park; Daewha, Hong; Juno, Lee; Insung, S. Choi*. (2016). Cell-in-Shell Hybrids: Chemical Nanoencapsulation of Individual Cells. 19 de octubre de 2016. Tomado de ACS Publications. Sitio de Internet: <http://www.bibliocatalogo.buap.mx:2147/doi/pdf/10.1021/acs.accounts.6b00087>
17. J. S. C. (2001). *Cryptobiosis: a peculiar state of biological organization*. [Versión en línea] Ncbi.nlm.nih.gov Disponible en:

- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11290443> [Acceso el 21 de octubre de 2016].
18. Jönsson, K. I. y Järemo, A. (2003). A model on the evolution of cryptobiosis. *Annales Zoologici Fennici*, 40 (2003), pp. 331-340.
 19. Jönsson, K. I. (2005). The evolution of life histories in holo-anhydrobiotic animals: a first approach. *Integrative and Comparative Biology*, 45 (2005), pp. 764-770.
 20. Jönsson, K.; Ingemar; Rabbow, Elke; Schill, Ralph O.; Harms-Ringdahl, Mats and Rettberg, Petra (9 de septiembre de 2008). Tardigrades survive exposure to space in low Earth orbit. *Current Biology*. **18** (17): R729-R731.
 21. Kinchin I. M. (1994). *The Biology of Tardigrades*. Portland Press, London (1994), p. 186.
 22. Morten Bjørn-Mortensen Supervisor: Hans Ramløv. (Noviembre de 2006). Osmoregulation and osmobiosis in the eutardigrade *Richtersius coronifer*, Disponible en: http://dspace.ruc.dk/bitstream/1800/2083/1/Speciale_til_print.pdf Google scholar, [Acceso el 20 de octubre de 2016].
 23. Pérez, R.; Trejo, N.; Xocopa, Y. (n. d.). *Biología de Tardígrados: importancia y aplicaciones tecnológicas*. [Versión en línea] Google Scholar. Disponible en: http://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/46361554/Cartel_Biologia_de_tardigrados_importancia_y_aplicaciones_tecnologicas.pdf?AWSAccessKeyId=AKIAJ56TQJRTWSMTNPEA&Expires=1476813368&Signature=XTQiN%2BU2h0COskyaP9piLIAMufE%3D&response-content-disposition=inline%3B%20filename%3DBiologia_de_tardigrados_importancia_y_ap.pdf [Acceso el 20 de octubre de 2016].
 24. Ricci, M.; Pagnotta, S.; McLain, S.; Soper, A.; Bruni, F. (2010). *Water and Trehalose: How Much Do They Interact with Each Other?* [Versión en línea] *Bibliocatalogo.buap.mx*. Disponible en: <http://www.bibliocatalogo.buap.mx:2147/doi/pdf/10.1021/jp911940h> [Acceso el 20 de octubre de 2016].
 25. Reuner, A.; Hengherr, S.; Mali, B.; Förster, F.; Arndt, D.; Reinhardt, R.; Dandekar, T.; Frohme, M.; Brummer, F.; Schill, R. O. (2010). Stress response in tardigrades:

- differential gene expression of molecular chaperones. *Pubmed Journals*, 13 (8), 44. 20 de octubre de 2016. Tomado de Base de Datos NCBI.
26. Schmidt-Rhaesa, Andreas. (2007). *The Evolution of Organ Systems*. Oxford, New York: Oxford University Press.
 27. Tunnacliffe, A. y Lapinski, J. (2002). *Resurrecting Van Leeuwenhoek's rotifers: a reappraisal of the role of disaccharides in anhydrobiosis*. [Versión en línea] NCBI. Disponible en:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1693263/pdf/14561331.pdf>
 [Acceso el 20 de octubre de 2016].
 28. Welnicz, W.; Grohme, M.; Kaczmarek, L.; Schill, R.; Frohme, M. (2011). *Anhydrobiosis in tardigrades—The last decade*. [Versión en línea] ScienceDirect. Disponible en:
<http://www.bibliocatalogo.buap.mx:2563/science/article/pii/S0022191011000874?np=y> [Acceso el 20 de octubre de 2016].
 29. Wharton, D. (2015). *Anhydrobiosis*. [Versión en línea] Science direct. Disponible en:
<http://www.bibliocatalogo.buap.mx:2563/science/article/pii/S0960982215011586?np=y> [Acceso el 20 de octubre de 2016].
 30. Withers, P. y Cooper, C. (2009). *Metabolic Depression: A Historical Perspective*. [Versión en línea] Springer Link. Disponible en:
http://www.bibliocatalogo.buap.mx:2932/chapter/10.1007/978-3-642-02421-4_1
 [Acceso el 21 de octubre de 2016].
 31. Weronika, Welnicz; Markus A., Grohme; Lukasz, Kaczmarek; Ralph O., Schill; Marcus, Frohme. (2011). ITS2 und 18SrDNA-Daten von *Macrobiotus polanicus* und *Milnesium tardigradum* (Eutardigrada, Tardigrada). *Symposium of Tardigrada*, Volume 49, pp. 34–39. 20 de octubre de 2016. Tomado de *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary*. Base de datos.
 32. Wright, J. C. (1991). The significance of four xeric parameters in the ecology of terrestrial Tardigrade. *Journal of Zoology*, 224 (1991), pp. 59–77.
 33. Wright, J. C. (2001). Cryptobiosis 300 years on from van Leuwenhoek: what have we learned about tardigrades? *Zoologischer Anzeiger*, 240 (2001), pp. 563–582.

34. Wright, J. C. *et al.* (1992) P., Westh; H., Ramløv. Cryptobiosis in Tardigrada. *Biological Review*, 67 (1992), pp. 1–29.
35. Wharton, D. A. (2015). Quick guide: anhydrobiosis. *Current Biology* 25, R1114–R1116.
36. Weronika, Welnicz; Markus A., Grohme; Lukasz, Kaczmarek; Ralph O., Schill; Marcus Frohme. (2011). ITS2 und 18SrDNA-Daten von *Macrobiotus polanicus* und *Milnesium tardigradum* (Eutardigrada, Tardigrada). *Symposium of Tardigrada*, Volume 49, pp. 34–39. 20 de octubre de 2016. Tomado de *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary*. Base de datos.