

Evaluación de la resistencia de los tardígrados en la estratosfera en Perú

Luis A. Allicahuaman^{1,2}, Gerardo E. Porras³

¹ Asociación Peruana de Astrobiología, La Molina, Lima, Perú

² Universidad Peruana Cayetano Heredia, San Martín de Porres, Lima, Perú

³ Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Lima, Perú

Recibido el 12 de noviembre del 2023. Revisado el 4 de diciembre del 2023.
Aceptado en 30 de diciembre del 2023. Publicado el 20 de diciembre del 2023.

<https://doi.org/10.33017/RevECIPeru2023.0010/>

Resumen

En la actualidad, no existe investigación de microorganismos enviados a la estratosfera en el Perú, ya que, la Astrobiología es una disciplina nueva para muchos investigadores. Entre los microorganismos de mayor interés en la Astrobiología, son los tardígrados. Estos son capaces de tolerar condiciones extremas alta dosis de radiación UV; radiación gamma, alta concentración de sales, baja temperatura y alta presión atmosférica; por lo tanto, son considerados como extremófilos. El objetivo del presente estudio fue analizar la supervivencia de los tardígrados, después ser expuestos a la estratosfera. Se recolectó musgos provenientes de Obrajillo en Canta. Los musgos contenían tardígrados en anhidrobiosis de manera natural. Se pesaron 2 gramos de musgo, se pusieron en placas Petri pequeñas, envueltos con parafilm para ponerlos en el soporte de carga útil del globo sonda. El lanzamiento del globo sonda fue en Yauca del Rosario- Ica (14°07.55'S y 75°34.50'W). Al finalizar del vuelo del globo sonda, las briofitas fueron rociados con agua durante 15 minutos, luego fueron sumergidos durante 45 minutos. Con la ayuda de un microscopio, se observaron los tardígrados, y se utilizó el criterio de viabilidad con algunas modificaciones. Tardígrados con movimientos corporales coordinados y activos fueron considerados vivos, pero aquellos que no se movieron fueron considerados muertos. Los tardígrados fueron montados con el medio de Hoyer para la identificación morfológica utilizando las claves taxonómicas especializadas, considerando la morfología de las garras, la cutícula y el aparato bucal. Los resultados mostraron que el 78% de los tardígrados tuvieron movimientos y el restante estuvieron inmóviles, asimismo estos pertenecieron a la clase Eutardigrada y a la familia Macrobiotidae y el género *Macrobiotus*. En conclusión, *Macrobiotus* sp., en anhidrobiosis, supervivieron a las condiciones estratosféricas siendo el primer trabajo realizado en Perú.

Descriptores: Anhidrobiosis, *Macrobiotus* sp., Resistencia, Estratosfera

Abstract

At present, there is no research on microorganisms sent to the stratosphere in Peru, since Astrobiology is a new discipline for many researchers. Among the microorganisms of greatest interest in Astrobiology are the tardigrades. These are able to tolerate extreme conditions, high doses of UV radiation, gamma radiation, high salt concentrations, low temperatures, and high atmospheric pressure; therefore, they are considered extremophiles. The objective of the present study was to analyze the survival of tardigrades after exposure to the stratosphere. Mosses were collected from Obrajillo in Canta. The mosses contained tardigrades in anhydrobiosis in a natural way. Two grams of moss were weighed, placed in small Petri dishes, wrapped with parafilm, and placed in the payload support of the balloon probe. The balloon probe was launched in Yauca del Rosario- Ica (14°07.55'S and 75°34.50'W). At the end of the balloon flight, the bryophytes were sprayed with water for 15 minutes, then submerged for 45 minutes. With the aid of a microscope, tardigrades were observed, and the viability criterion was used with some modifications. Tardigrades with coordinated and active body

movements were considered alive, but those that did not move were considered dead. Tardigrades were mounted with Hoyer's medium for morphological identification using the specialized taxonomic keys, considering the morphology of the claws, cuticles, and mouthparts. The results showed that 78% of the tardigrades had movements and the rest were immobile; these also belonged to the class Eutardigrada, the family Macrobiotidae, and the genus *Macrobiotus*. In conclusion, *Macrobiotus* sp. in anhydrobiosis survived the stratospheric conditions, being the first work carried out in Peru.

Keywords: *Anhydrobiosis, Macrobiotus sp., Resistance, Stratosphere*

1. Introducción

Los globos estratosféricos, con fines biológicos, son utilizados en las experimentaciones de exposiciones de organismos [1]. Las investigaciones emplearon globos estratosféricos con diferentes microorganismos con la finalidad de evaluar la supervivencia en un ambiente extremo. Un trabajo realizado en las montañas de Sierra Nevada del centro de California, enviaron un aislado bacteriano y adaptado al frío *Halorubrum lacusprofundi* sobrevivieron completamente, mientras una bacteria mesofila *Halobacterium* sp tuvieron una viabilidad reducida [2]. *Naganishia friedmannii* y *Exophiala* sp tuvieron una alta resiliencia bajo las condiciones estratosféricas, en comparación, las esporas *Bacillus subtilis* y *Holtermanniella Watticus* tuvieron una disminución de su viabilidad tras la exposición a la estratosfera realizado en Brasil [3]. En el Perú, solamente se lleva a cabo exposiciones de temas vinculados a la Astrobiología son realizadas por distintas organizaciones, por ejemplo, la Universidad de Lima dicta talleres y clases sobre diferentes temas relacionados entre la astrobiología y filosofía [4]. A pesar que, Perú no cuenta con infraestructuras e inversiones en temas aeroespaciales, las divulgaciones científicas permiten atraer a mucha gente ya que la vida extraterrestre es muy llamativa [5]. Un trabajo sobre la comprobación de la Astrobiología como ciencia interdisciplinaria, para ello, un grupo conformado por distintas áreas de la ciencia ligada a la astrobiología, Killalab, identificaron que la comunicación e interacción entre las disciplinas de los miembros del equipo resolvieron un problema sobre como las biopelículas de microorganismos fueron afectados tras exponerlos en condiciones espaciales [6]. Sin embargo, no se realizó investigaciones sobre la evaluación de la supervivencia de cualquier organismo en la estratosfera en Perú.

2. Metodología

En la colecta de briofitas se usó una espátula y colocado en una bolsa de papel Kraft. Se cogió un pedazo pequeño de musgo para sumergirlo en agua

durante 24 horas [7] con la finalidad de encontrar tardígrados. Se usó microscopio para observar a los tardígrados, posteriormente se utilizaron ciertos materiales que serán mencionados en cada proceso del trabajo de investigación.

2.1. Colecta de tardígrados

Se recolectó musgos provenientes de Obrajillo (11°27'10.00"S y 76°37'19.00"W), posteriormente mediante observaciones previas se confirmó que contenía tardígrados en estado normal y anhidrobiótico.



Figura 1: Los tardígrados puestos en Placas Petri.



Figura 2: Placas Petri en el globo estratosférico antes del lanzamiento

2.2 Lanzamiento de los tardígrados a la estratósfera

2 gr de musgo fueron puestos en placas Petri pequeñas y fueron envueltos con parafilm (Ver Fig. 1). Posteriormente, las placas Petri fueron colocados en el soporte de carga útil del globo sonda de manera cuidadosa (Ver Fig. 2. El lugar del lanzamiento del globo sonda fue en el Desierto de Yauca del Rosario- Ica (14°07.55'S y 75°34.50'W).

2.3 Evaluación de la resistencia de los tardígrados

Al finalizar el vuelo del globo, recuperamos las muestras biológicas. En el laboratorio, los musgos fueron remojados con agua durante 15 minutos, luego estos son sumergidos durante 45 minutos. Con la ayuda de micropipeta permitió poner los tardígrados en láminas y estas son puestas en un microscopio, se observaron los tardígrados y se utilizó el criterio de viabilidad con algunas modificaciones. Tardígrados con movimiento corporal coordinado y activo (funcionamiento de la locomoción) se consideraron vivos, pero aquellos que no se movieron fueron considerados muertos [8].

2.4 Identificación taxonómica de los tardígrados

Los tardígrados analizados fueron montados con el medio de Hoyer para la identificación morfológica utilizando las claves taxonómicas como la morfología de las garras, la cutícula y el aparato bucofaríngeo, para ello se utilizó literaturas especializadas [9], [10], [11], [12] y se utilizó microscopio contraste de fase.

3. Resultados

3.1 Supervivencia de los tardígrados

Utilizando el criterio de viabilidad, cuantificamos los tardígrados móviles e inmóviles (Ver Tab. 1) encontrados en los musgos enviados a la estratosfera.

Tabla 1: Número de tardígrados vivos y muertos de los musgos colectados de Obrajillo

Número de Placa Petri	Número de tardígrados Vivos	Número de tardígrados no vivos
1	42	5
2	38	18

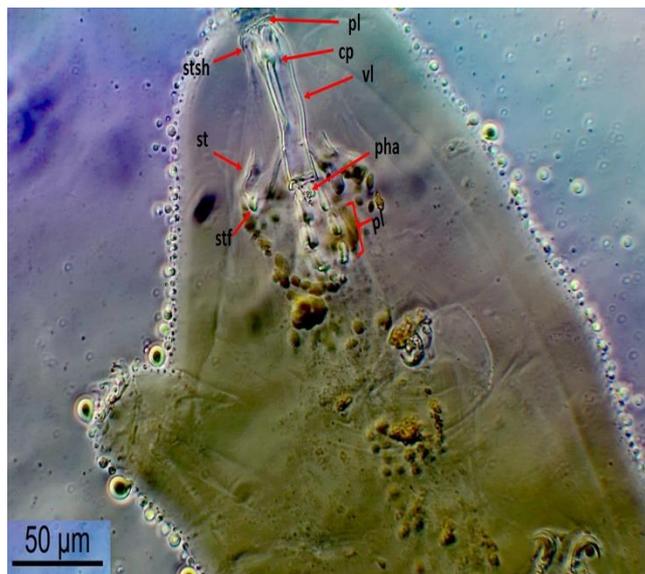


Figura 3: Esquema del aparato bucofaríngeo del Macrobiotus sp.

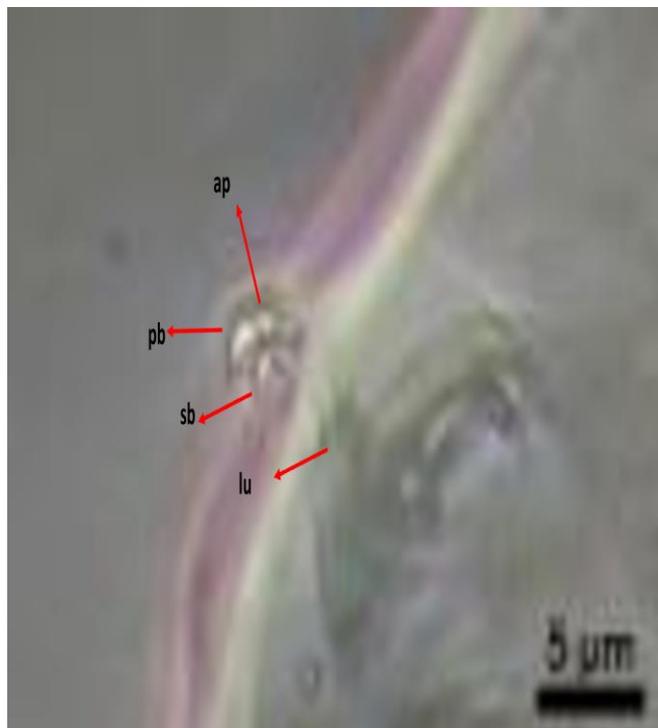


Figura 4: Esquema de la garra del Macrobiotus sp.

3.2 Identificación taxonómica de los tardígrados

Todos los tardígrados analizados fueron fijados con el medio Hoyer para la observación de las estructuras corporales. Se identificaron las partes del aparato bucofaríngeo (Ver Fig. 3) de los tardígrados analizados y son las siguientes: la apófisis faríngea (pha), procesos caudales (ccp), láminas peribucales (pl), placoides (pla), estilete (st), furca del estilete(stf), soporte del estilete (sts), vainas del estilete (stsh), lámina ventral (vl) y vainas

del estilete (stsh). También, se reconoció las partes de la garra de los tardígrados (Ver. Fig. 4) como es el accesorio punto (ap), la lúnula (lu), el brazo primario (pb) y la rama secundaria (sb). Además, los tardígrados presentan cutícula externa de aspecto liso sin placas y no tienen cirro bucal.

4. Conclusiones

El 78% de la población de los tardígrados sobrevivieron a la estratosfera, debido a que, estos estuvieron en estado anhidrobiótico y posiblemente moléculas de protección fueron sintetizadas como respuesta a un ambiente estresante. Asimismo, todos los tardígrados pertenecieron a la clase Eutardigrada, familia Macrobiotidae y el género *Macrobiotus*. El presente trabajo sería la primera demostración de la resistencia de estos micro invertebrados cuando son llevados a un ambiente estresante.

Agradecimientos

Se agradece a la Asociación Peruana de Astrobiología (ASPAST), quien nos dio la oportunidad de ser parte del Proyecto Estratósfera.

Referencias

- [1] D. J. Smith y M. B. Smith. "Ballooning for Biologists: Mission Essentials for Flying Life Science Experiments to Near Space on NASA Large Scientific Balloons", *Gravitational and space research: publication of the American Society for Gravitational and Space Research*, vol. 5, n.º 1, pp. 52-73, 2017.
- [2] P. DasSarma et al. "Survival of halophilic Archae in Earth's cold stratosphere", *International Journal of Astrobiology*, vol. 16, n.º4, pp. 1-7, 2017, doi:10.1017/S1473550416000410
- [3] A. A. Pulschen et al. "Survival of Extremophilic Yeast in the Stratospheric Environment during Balloon Flights and in Laboratory Simulations", *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 84, n.º23, pp. 1-12, 2018, https://doi.org/10.1128/AEM.01942-18
- [4] K. A. Capova et al. "*Astrobiology and Society in Europe Today*", 1er ed. (Springer, 2018), p. 17.
- [5] O. A. Chon-Torres et al. "Attitudes and perceptions towards the scientific search for extraterrestrial life among students of public and private universities in Peru", *International Journal of Astrobiology*, vol. 19, n.º5, pp. 1-9, 2020, doi:10.1017/S1473550420000130
- [6] R. E. Quispe-Pilco et al. "Conformation of an Astrobiology Interdisciplinary Research Group: The "Team Killalab" Case Study", *Proceeding*, vol. 24, n.º1, pp.1-9, 2019, https://doi.org/10.3390/IECG2019-06197
- [7] M. R. Caicedo et al. "Catálogo taxonómico de los ositos de agua (Tardigrada) de la cuenca baja de los ríos Manzanares y Gaira, Santa Marta, Colombia", *Boletín Científico del Museo de Historia Natural de la Universidad de Caldas*, vol. 18, n.º1, pp.197-209, 2014.
- [8] D. Persson et al. "Extreme stress tolerance in tardigrades: surviving space conditions in low Earth orbit", *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, vol. 49, n.º1, pp. 90-97, 2011.
- [9] G. Ramazzoti y W. Maucci. "*Il The Phylum Tardigrada*", 3era ed. (Memorie dell'Istituto Italiano di idrobiologia Dott. Marco de Marci, 1983), pp. 1-1014.
- [10] G. Pilato y M. G. Binda. "Definition or families, subfamilies, genera and subgenera of the Eutardigrada, and keys to their identification", *Zootaxa*, vol. 2404, pp. 1-54, 2010.
- [11] L. Michalczyk et al. "Redescriptions of three *Milnesium* Doyère, 1840 taxa (Tardigrada: Eutardigrada: Milnesiidae), including the nominal species for the genus", *Zootaxa*, vol. 3154, pp. 1-20, 2012.
- [12] J. Thorp y D. Rogers. "*Thorp and Covich's Freshwater invertebrates*", 4ta ed. (Academic Press, 2015), 347-380.