



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

RODOLFO CORRÊA DE BARROS

Projeto de pesquisa apresentado à
Universidade Estadual de Campinas como
pré-requisito para ingresso no Programa de
Pesquisador Colaborador.

Supervisor: Prof. Dr. André Rinaldo Senna
Garraffoni

Campinas
2022

CONTEÚDO

1. Introdução	01
2. Justificativa	03
3. Objetivos	04
4. Metodologia	04
4.1 Área de Estudo	04
4.2 Material Biológico	05
4.3 Sistemática e Diversidade	06
5. Resultados e Desdobramentos	07
6. Orçamento	08
7. Cronograma	08
8. Referências	09
Termo de Adesão	13

TARDÍGRADOS TERRESTRES DA ILHA DO MEL, PARANÁ, BRASIL

Resumo

Tardígrados são micrometazoários hidrófilos encontrados em todos os continentes do planeta, habitando os mais variados substratos nos ambientes terrestres, marinhos e de água doce. Uma vez que a fauna de tardígrados do Brasil tem sido irregularmente estudada, é ainda pouco conhecida, especialmente nos ecossistemas insulares. O projeto tem como objetivos realizar o levantamento taxonômico de espécies de tardígrados terrestres com ocorrência na Ilha do Mel, estado do Paraná, investigando os padrões locais de diversidade e distribuição.

Palavras-chave: levantamento faunístico; Tardigrada, fauna insular.

1. Introdução

O filo Tardigrada Doyère, 1840 (do latim, *tardus* = lento + *gradus* = passo; Spallanzani, 1776) compreende um grupo de micrometazoários hidrófilos, comumente conhecidos como tardígrados ou “ursos d’água”. Foram descritos pela primeira vez ao final do século XVIII pelo naturalista alemão Johann August Ephraim Goeze (Goeze, 1773).

Apresentam o corpo bilateralmente simétrico, revestido por uma cutícula quitinosa e dividido em um segmento cefálico e quatro segmentos troncais. Cada segmento do tronco porta um par de lobópodes (membros locomotores não articulados), geralmente terminados em garras, dígitos e/ou ventosas. O comprimento corporal varia de 50 µm em tardígrados marinhos até 1200 µm em adultos terrestres. Possuem tubo digestivo completo e a cavidade corporal repleta de celomócitos, células responsáveis pela respiração, circulação e armazenamento de nutrientes. O sistema nervoso consiste em um cérebro simples e uma cadeia nervosa ventral com quatro gânglios bilobados. Os tardígrados podem ser herbívoros e se alimentarem de algas e/ou células vegetais; carnívoros, alimentando-se principalmente de rotíferos e nematoides, mas também de outros tardígrados; ou onívoros e se alimentarem de musgos, invertebrados e bactérias. Os tardígrados podem ser dioicos, partenogéticos ou monoicos (Ramazzotti & Maucci, 1983; Kinchin, 1994; Schill, 2018).

Estudos morfológicos e moleculares mostraram que os tardígrados formam um grupo monofilético relacionado aos artrópodes (Garey *et al.*, 1996; Giribet *et al.*, 1996; 1996; Garey *et al.*, 1999), compreendido entre aos Ecdysozoa, animais que fazem muda (Aguinaldo *et al.*, 1997), e os Panarthropoda, ecdisozoários com patas (Nielsen *et al.*, 1996; Rota-Stabelli *et al.*, 2010; Campbell *et al.*, 2011).

Os tardígrados são, provavelmente, os mais famosos criptozoários devido as habilidades que lhes permitem sobreviver a um amplo espectro de condições ambientais extremas, como falta de água (Wright, 1989; Rebecchi *et al.*, 2007), temperaturas muito baixas ou muito elevadas (Somme, 1996; Hengherr *et al.*, 2009), exposição à radiação ionizante (Jönsson, 2019), falta de comida (Reuner *et al.*, 2010), falta de oxigênio (Guidetti *et al.*, 2011), elevados níveis de substâncias tóxicas (Leetham *et al.*, 1982; Vargha *et al.*, 2002) ou ao vácuo espacial (Jönsson *et al.*, 2008). O que é ainda mais impressionante, os tardígrados podem, possivelmente, não envelhecer durante a anidrobiose (Hengherr *et al.*, 2008; Schill, 2010).

Tardígrados são encontrados em todos os continentes do planeta, habitando ampla diversidade de habitats terrestres, dulcícolas e marinhos, desde zonas abissais até os picos mais elevados (Ramazzotti & Maucci, 1983; Kinchin, 1994; Bertolani *et al.*, 2009). Costumam ser encontrados em diferentes tipos de substratos, tais como musgos, líquens, algas, solo e nos mais variados tipos de sedimentos em ambientes aquáticos (Nelson *et al.* 2015). A dispersão ativa dos tardígrados terrestres é limitada pelo tamanho do corpo, pela velocidade de deslocamento e pela necessidade de uma película constante de água cobrindo o corpo. Assim, a dispersão ocorre passivamente quando ovos, cistos e espécimes anidrobióticos são dispersos, predominantemente, pelo vento. Outros animais associados às comunidades terrestres (*e.g.* pássaros) podem também ajudar na dispersão dos tardígrados terrestres (Nelson *et al.* 2015; Mogle *et al.*, 2018).

Cerca de 1300 espécies de tardígrados já foram descritas até agora, incluindo duas espécies fósseis (Degma & Guidetti, 2007; Degma *et al.* 2020). A descrição de novas espécies é esperada na medida em que novas áreas geográficas sejam exploradas, podendo superar a casa das 2000 (Bartels *et al.*, 2016). A lista de verificação mais recente dos tardígrados brasileiros relata 30 espécies marinhas e 70 espécies terrestres e de água doce (Barros, 2020). O primeiro registro de um tardígrado no Brasil foi feito por James Murray em 1913, quando relatou a espécie *Macrobotus occidentalis* Murray, 1910 sem, contudo, especificar a localização (Murray, 1913). Desde então, os estudos com tardígrados no Brasil têm sido feitos de forma errática. No início da década de 1930, Gilbert Rahm

registrou 12 espécies para os estados de São Paulo, Rio de Janeiro e Pernambuco (Rahm, 1931; Rahm, 1932). Entre as décadas de 1930 e 1950, os pesquisadores Rosina de Barros, Eveline Du Bois-Reymond Marcus e Ernest Marcus se dedicaram a descrever e relatar a diversidade dos tardígrados do estado de São Paulo (Barros, 1938, 1939a, 1939b, 1942a, 1942b, 1943; Marcus, 1937; Du Bois-Reymond Marcus, 1944; Du Bois-Reymond Marcus, 1952). Após um hiato de quase 50 anos, novos registros de tardígrados foram feitos no Brasil no início da década de 2000 (Pilato *et al.*, 2000; Pilato *et al.* 2004), tendo a tardigradologia brasileira renascido a partir dos estudos realizados no litoral de Pernambuco (Rocha *et al.*, 2000, 2004, 2009) e, mais recentemente, em São Paulo (Guidetti *et al.*, 2021).

A despeito de sua pouca importância econômica (Garey *et al.*, 2008), os tardígrados representam uma excepcional oportunidade para ensino e pesquisa, sendo excelentes modelos em estudos de ecologia, evolução, desenvolvimento, etologia, fisiologia, astrobiologia, biotecnologia, medicina e taxonomia integrativa (Nelson, 2002; Roszkowska *et al.*, 2021).

2. Justificativa

O filo Tardigrada está entre os grupos menos conhecidos de protostômios e tem sido, relativamente, pouco estudado pelos zoólogos de invertebrados (Nelson, 2002). Apesar da abundância geral e distribuição cosmopolita do filo, existem padrões regionais de riqueza e abundância que permanecem desconhecidos (Guil *et al.*, 2010). Embora as espécies terrestres sejam mais bem conhecidas do que as marinhas (Bartels *et al.*, 2016), pouco se sabe sobre a distribuição dos tardígrados terrestres dentro de um mesmo habitat (Garey *et al.*, 2008).

A maior parte das espécies de tardígrados terrestres descritas foram amostradas nas regiões paleártica (55,6%) e neártica (21,3%) (Garey *et al.*, 2008), permanecendo a região neotropical ainda pouco estudada. No Brasil, existem ainda grandes regiões inexploradas (Kaczmarek *et al.*, 2015) e grande parte dos registros existentes são para os estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Ceará, Rio Grande do Norte e Pernambuco (Barros, 2020). Para o estado do Paraná, já foram relatadas 16 espécies de tardígrados terrestres, sendo todos os registros para as cidades de Curitiba, Ponta Grossa e Foz do Iguaçu. Assim sendo, a fauna de tardígrados da região litorânea paranaense ainda não foi estudada.

Por fim, embora existam estudos sobre tardígrados marinhos em ilhas da costa brasileira (Rocha *et al.*, 2004; Moura *et al.*; 2009), a fauna de tardígrados terrestres insulares permanece inexplorada.

3. Objetivos

Naturalmente, o principal objetivo do projeto é contribuir para com o conhecimento sobre a diversidade de tardígrados no Brasil. Especificamente, pretende também:

- a. Inventariar as espécies de tardígrados terrestres com ocorrência na Ilha do Mel;
- b. Reconhecer padrões locais de diversidade e distribuição;
- c. Identificar aspectos ecológicos dos tardígrados terrestres insulares;
- d. Identificar e descrever novas espécies com base na taxonomia integrativa.

4. Metodologia

4.1 Área de Estudos

A Ilha do Mel, com superfície aproximada de 27 km², localiza-se entre as desembocaduras das baías de Antonina e Paranaguá, estado do Paraná, separando esse complexo estuarino lagunar do oceano Atlântico (Fig. 1) (Paraná, 1995; Giannini *et al.*, 2004). A ilha está localizada na província biogeográfica Atlântica do domínio Paraná (Morrone, 2014). Oitenta e um por cento de sua área é ocupado pela Estação Ecológica Ilha do Mel, unidade de conservação criada em 1982 para proteger a sua principal conformação vegetacional, representada por Floresta Ombrófila Densa das Terras Baixas (Paraná, 1995).

É característica do estado do Paraná a baixa variação da precipitação. Assim sendo, a região em que se insere a Ilha do Mel apresenta uma estabilidade pluviométrica estimada de 85% do volume anual esperado. O período mais chuvoso ocorre de dezembro a fevereiro e o mais seco entre os meses de junho e agosto (Paraná, 1995).

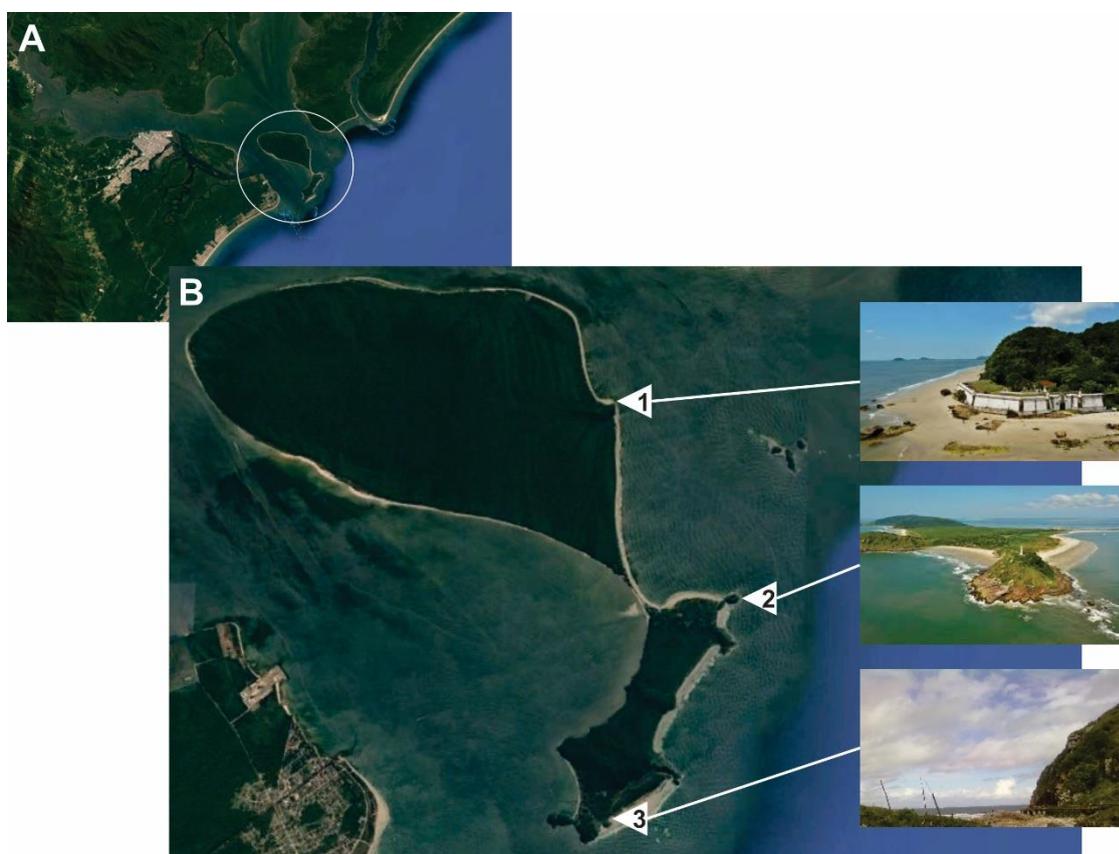


Figura 1. **A.** Posicionamento geográfico da Ilha do Mel na baía de Paranaguá. **B.** Detalhe da Ilha do Mel e os três pontos amostrais: **1.** Fortaleza Nossa Senhora dos Prazeres; **2.** Farol das Conchas; **3.** Gruta das Encantadas. Imagens: Google Earth e Creative Commons.

4.2 Material Biológico

Para investigar a variação sazonal da fauna terrestre de tardígrados serão realizadas duas campanhas amostrais, uma no período seco (junho a agosto) e outra no período chuvoso (dezembro a fevereiro). Serão amostradas três regiões distintas da ilha, a saber: Fortaleza Nossa Senhora dos Prazeres, Farol das Conchas e Gruta das Encantadas (Fig. 1; Quadro 1). As regiões foram escolhidas levando em consideração a dissimilaridade entre os ecossistemas insulares de influência sobre a fauna de tardígrados terrestres e o distanciamento do continente.

Amostras de musgos e/ou líquens serão coletadas de rochas. As superfícies rochosas demonstraram ter maiores riqueza e abundância de espécies de tardígrados quando comparado à troncos de árvores e/ou solo (Guil *et al.*, 2010). As amostras serão acondicionadas em cartuxos de papel, devidamente identificados com etiquetas de campo. As coordenadas geográficas de cada ponto de coleta serão obtidas com auxílio de aparelho

GPS (Garmin Etrex 10). Serão coletadas de 3 a 5 amostras de musgo ou líquen em cada local de coleta, totalizando de 9 a 15 por campanha amostral.

Em laboratório, as amostras serão colocadas em placas de Petri, hidratadas e deixadas em repouso a temperatura ambiente por 1-2 horas. Após este período, as amostras serão triadas sob microscópio estereoscópico, sendo os tardígrados coletados com o auxílio de micropipeta automática. Os espécimes serão colocados em estado de relaxamento pela exposição ao calor (Morek *et al.*, 2016a) e preparados de acordo com a técnica de microscopia a ser empregada (detalhes abaixo). As lâminas serão tombadas na coleção científica do Laboratório de Evolução de Organismos Meiofaunais (LEOM).

Quadro 1. Locais de amostragens na Ilha do Mel.

Local de Coleta	Coordenadas	Descrição
1 Fortaleza	25°30'38,74" S 48°18'41,32" O	Influenciado pela Floresta Ombrófila Densa das Terras Baixas
2 Farol	25°32'20,74" S 48°17'26,86" O	Influenciado pela planície costeira marítima
3 Gruta	25°34'30,19" S 48°18'45,16" O	Influenciado pela planície lagunar/estuarina

4.3 Sistemática e Diversidade

Este trabalho pretende aliar técnicas integrativas (microscopia óptica, eletrônica de varredura e confocal) para o estudo morfológico dos tardígrados, promovendo novas abordagens e visando esclarecer dúvidas surgidas a partir das análises tradicionais, ampliando a quantidade de caracteres analisada e servindo de suporte para futuras investigações.

Para a microscopia óptica, os tardígrados serão montados entre lâmina e lamínula com meio aquoso Fluoromount (Guidetti *et al.*, 2021) e observados sob o microscópio de luz ZEISS Axio Imager M2 equipado com Contraste de Interferência Diferencial (Differential Interference Contrast, DIC), câmera AxioCam MRC5 acoplada e com o programa AxioVision para obtenção das imagens com diferentes magnificações para que se possa fazer uma descrição morfológica detalhada. Para a realização das medidas morfométricas será utilizado o programa ZenBlue Weiss.

No caso da microscopia confocal, será empregada a técnica padrão, que consiste na fixação do material e posterior incubação de proteínas e marcadores fluorescentes que

destacam a estrutura que se deseja observar (p. ex. aparato buco-faríngeo, músculos, gânglios; ver Russel *et al.*, 2001; Mayer *et al.*, 2013; Guidetti *et al.*, 2015).

Na microscopia de varredura, já existem alguns protocolos estabelecidos para Tardigrada (Mitchell & Miller, 2008; Gomes Jr & Rocha, 2015). Os organismos considerados em bom estado após triagem e anestesiamento serão submetidos a uma série de desidratação consecutiva de água/etanol e etanol/acetona (Morek *et al.*, 2016b). Em seguida será feito o ponto crítico dentro de cestos confeccionados com tubos *ependorf* e malha de 20 μm de abertura, permitindo a passagem do líquido e impedindo a saída do animal durante o processo. Posteriormente os *stubs* serão montados e submetidos à metalização (*sputter*). A observação será realizada no microscópio eletrônico de varredura Jeol- JSM 5800LV no departamento de Microscopia Eletrônica do IB-Unicamp.

A identificação taxonômica ocorrerá através da análise comparativa dos espécimes amostrados, após criteriosa descrição dos espécimes, seguindo as chaves para gêneros e espécies de Ramazzotti & Maucci (1983) e Guidetti & Bertolani (2005), além de outras referências da literatura primária para validação dos táxons. Sempre que possível, *vouchers* moleculares serão vinculados aos *vouchers* morfológicos (Astrin *et al.*, 2013). Para tanto, espécimes inteiros de tardígrados serão preservados em álcool etílico 96% e refrigeração a -20°C (Hillis *et al.*, 1996). Esse biobanco molecular será utilizado para impulsionar estudos futuros de sistemática molecular.

Abundância e riqueza de espécies serão estimadas através do número de indivíduos e de espécies, respectivamente. Para a comparação da diversidade entre as áreas amostradas e entre as estações climáticas serão calculados os índices de diversidade de Simpson e de Shannon. O índice de diversidade de Simpson é particularmente sensível à riqueza de espécies e o índice de Shannon é sensível a espécies raras (Farina, 2006). Ambos os índices são comparáveis através do teste *t* de diversidade. O cálculo dos índices e a análise estatística serão realizados com o auxílio do programa PAST v. 2.17c (Hammer *et al.*, 2001).

5. Resultados e Desdobramentos

Serão feitos os primeiros registros de tardígrados para o litoral paranaense e de tardígrados terrestres insulares para o Brasil, o que certamente será digno de publicação. Além disso, devido às variações microclimáticas, é esperado que haja diferença de

abundância e riqueza entre as áreas amostradas. Por outro lado, devido à pouca oscilação pluviométrica, acredita-se que não haverá diferenças significativas na composição da fauna entre as estações climáticas. As informações produzidas embasarão outros projetos nos quais pretende-se estender a pesquisa para outras ilhas do litoral brasileiro. Outrossim, é real a possibilidade da descoberta de espécies de tardígrados terrestres ainda não descritas.

6. Orçamento

Para o desenvolvimento do projeto serão utilizados equipamentos e reativos principalmente alocados no Laboratório de Evolução de Organismos Meiofaunais, do Departamento de Biologia Animal, do Instituto de Biologia da Unicamp. O custeio do projeto (Tabela 1) será feito a partir de recursos de pesquisa do supervisor e também com recursos próprios do pesquisador colaborador.

Tabela 1. Relação de recursos materiais de consumo e despesas do projeto.

Descrição	Qtd.	Unt.	Total
Diária de coleta - Ilha do Mel, Paraná	2	R\$ 250,00	R\$ 500,00
Diária de pesquisa - Campinas, São Paulo	2	R\$ 700,00	R\$ 1400,00
Lâminas para microscopia, 26 x 76 mm, cx. 50 un.	2	R\$ 10,00	R\$ 20,00
Lamínulas para microscopia, 20 x 20 mm, cx. 100 un.	1	R\$ 5,00	R\$ 5,00
Álcool etílico P.A. 96%, 1000 ml	3	R\$ 15,00	R\$ 45,00
Microtubo 1,5 ml, pct.500 un., Kasvi	1	R\$ 90,00	R\$ 90,00
Rack 100 microtubos 1,5 ml, Kasvi	5	R\$ 40,00	R\$ 200,00
Ponteira 0,1-10 ml, sem filtro, rack 96 un., Kasvi	5	R\$ 40,00	R\$ 200,00
		Total	R\$ 2460,00

7. Cronograma

Etapas	2022				2023			
	1	2	3	4	1	2	3	4
Solicitação de licença de coleta - SISBIO/ICMBio	█							
Solicitação de licença de coleta - IAT		█						
Amostragem - período chuvoso			█					
Triagem e processamento dos espécimes - chuvoso				█				
Redação e apresentação do relatório parcial					█			
Amostragem - período seco						█		
Triagem e processamento dos espécimes - seco							█	
Descrições e comparações taxonômicas								█
Redação e apresentação do relatório final								█
Redação e submissão do artigo científico								█

8. Referências

- Aguinaldo, A. M.; Turbeville, J. M.; Linford, L. S.; Rivera, M. C.; Garey, J. R.; Raff, R. & Lake, J. A. 1997. Evidence for a clade of nematodes, arthropods, and other moulting animals. **Nature**, 387: 489-493.
- Astrin, J.J.; Zhou, X. & Misof, B. 2013. The importance of biobanking in molecular taxonomy, with proposed definitions for vouchers in a molecular context. **ZooKeys**, 365: 67-70.
- Barros, R. 1938. *Macrobiotus evelinae*, uma nova especie de tardígrados. **Boletim Biológico (Nova Série)**, 3: 52-54.
- Barros, R. 1939a. *Itaquascon umbellinae* gen. nov. sp. nov. (Tardigrada, Macrobiotidae). **Zoologischer Anzeiger**, 128: 106-109.
- Barros, R. 1939b. *Pseudobiotus juanita* nova especie de tardígrado. **Boletim Biológico (Nova Série)**, 4: 367-368.
- Barros, R. 1942a. Tardígrados do estado de São Paulo, Brasil. I. Introdução. Gêneros “*Echiniscus*” e “*Pseudechiniscus*”. **Revista Brasileira de Biologia**, 2: 257-269.
- Barros, R. 1942b. Tardígrados do estado de São Paulo, Brasil. II. Gênero **Macrobiotus**. **Revista Brasileira de Biologia**, 2: 373-386.
- Barros, R. 1943. Tardígrados do estado de São Paulo, Brasil. III. Gêneros *Hypsibius*, *Itaquascon* e *Milnesium*. **Revista Brasileira de Biologia**, 3: 1-10.
- Barros, R.C. 2020. Tardigrades Research in Brazil: an overview and updated checklist. **Arquivos de Zoologia**, 51(1): 1-11.
- Bartels, P.J.; Apodaca, J.J.; Mora, C. & Nelsom, D.R. 2016. A global biodiversity estimate of a poorly known taxon: phylum Tardigrada. **Zoological Journal of the Linnean Society**, 178: 730-736.
- Bertolani, R.; Altiero, T. & Nelson, D. 2009. Tardigrada (Water Bears). **Encyclopedia of Inland Waters**, 2: 443-455.
- Campbell, L.I.; Rota-Stabellia, O.; Edgecombe, G.D.; Marchioroc, T.; Longhorna, S.J.; Telford, M.J.; Philippe, H.; Rebecchic, L.; Peterson, K.J. & Pisania, D. 2011. MicroRNAs and phylogenomics resolve the relationships of Tardigrada and suggest that velvet worms are the sister group of Arthropoda. **Proceedings of National Academy of Science**, 108(38): 15920-15924.
- Degma, P. & Guidetti, R. 2007. Notes to the current checklist of Tardigrada. **Zootaxa**, 1579: 41-53.
- Degma, P.; Bertolani, R. & Guidetti, R. 2020. **Actual checklist of Tardigrada species**. Disponível: <https://iris.unimore.it/retrieve/358743/Actual%20checklist%20of%20Tardigrada%2040th%20Edition%2019-07-21.pdf>. Acessado: 07/12/2021.
- Doyère, L. 1840. Mémoire sur les Tardigrades. **Annales des Sciences Naturelles**, 2(14): 269-361.
- Du Bois-Reymond Marcus, E. 1944. Sobre Tardígrados Brasileiros. **Comunicaciones Zoologicas del Museo de Historia Natural de Montevideo**, 13: 1-28.
- Du Bois-Reymond Marcus, E. 1952. On South American Malacopoda. **Boletins da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Universidade de São Paulo - Zoologia**, 17: 189-209.
- Farina, A. 2006. **Principles and Methods in Landscape Ecology**. Netherlands: Springer, 537 p.
- Garey, J.; Krotec, M.; Nelson, D. R. & Brooks, J. 1996. Molecular analysis supports a tardigrade–arthropod association. **Invertebrate Biology**, 115: 79-88.

- Garey, J.; Nelson, D. R.; Mackey, L.Y. & Li, J. 1999. Tardigrade phylogeny: congruency of morphological and molecular evidence. **Zoologischer Anzeiger**, 238(3-4): 205-210.
- Garey, J.R.; McInnes, S.J. & Nichols, P.B. 2008. Global diversity of tardigrades (Tardigrada) in freshwater. **Hydrobiologia**, 595: 101-106.
- Giannini, P.C.F.; Angulo, R.J.; Souza, M.C.; Kogut, J.S. & Delai, M.S. 2004. A erosão na costa leste da ilha do Mel, baía de Paranaguá, estado do Paraná: modelo baseado na distribuição especial de formas deposicionais e propriedades sedimentológicas. **Revista Brasileira de Geociências**, 34(2): 231-242.
- Giribet, G.; Carranza, S.; Bagnà, J.; Riutort, M. & Ribera, C. 1996. First molecular evidence for the existence of a Tardigrada + Arthropoda clade. **Molecular Biology and Evolution**, 13: 76-84.
- Goeze, J.A.E. Uber den Kleinen Wasserbär. In: Bonnet, H. K. (Ed.). **Abhandlungen aus der Insectologie**, Ubers. Usw, 2. Beobachtg, 1773. 67 p.
- Gomes Júnior, E.L. & Rocha, C.M.C. 2015. Microscopia eletrônica de varredura com tardígrados (Filo Tardigrada): sugestão de protocolos adaptados às peculiaridades do grupo. **Revista Nordestina de Zoologia**, 9(2): 16-32.
- Guidetti R. & Bertolani R. 2005. Tardigrade taxonomy: an updated check list of the taxa and a list of characters for their identification. **Zootaxa**, 845: 1-46.
- Guidetti, R.; Altiero, T. & Rebecchi, L. 2011. On dormancy strategies in tardigrades. **Journal of Insect Physiology**, 57: 567-576.
- Guidetti, R.; Bonifacio, A.; Altiero, T.; Bertolani, R. Rebecchi, L. 2015. Distribution of Calcium and Chitin in the Tardigrade Feeding Apparatus in Relation to its Function and Morphology. **Integrative and Comparative Biology**, 55(2): 241-252.
- Guidetti, E.B.; Campos, A.; Batistão, A.R.; Silva, A.T.; Bilatto, C.G.; Salgado, K.A.; Araújo, T.Q. & Garraffoni, A.R.S. 2021. Gastrotrichs and tardigrades in a remnant of Atlantic Forest (Serra do Japi, SP, Brazil). **Biota Neotropica**, 21(2): e20201165.
- Guil, N.; Sánchez-Moreno, S. & Machordom, A. 2010. Local biodiversity patterns in micrometazoans: Are tardigrades everywhere? **Systematics and Biodiversity**, 7(3): 259-268.
- Hammer, Ø.; Harper, D.A.T. & Ryan, P.D. 2001. PAST: Paleontological Statistics package for education and data analysis. **Paleontologia Electronica**, 4(1): 1-9.
- Hengherr, S.; Brummer, B. & Schill, R.O. 2008. Anhydrobiosis in tardigrades and its effects on longevity traits. **Journal of Zoology**, 275: 216-220.
- Hengherr, S.; Worland, M.R.; Reuner, A.; Brümmer, F. & Schill, R.O. 2009. High-Temperature Tolerance in Anhydrobiotic Tardigrades Is Limited by Glass Transition. **Physiological and Biochemical Zoology**, 82(6): 749-755.
- Hillis, D.M.; Moritz, C. & Mable, B.K. (eds). 1996. **Molecular Systematics**. Massachusetts: Sinauer, 655 p.
- Jönsson, K.I. 2019. Radiation Tolerance in Tardigrades: Current Knowledge and Potential Applications in Medicine. **Cancers**, 11: 1333.
- Jönsson, K.I.; Rabbow, E.; Schill, R.O.; Harms-Ringdah, M. & Rettberg, P. 2008. Tardigrades survive exposure to space in low Earth orbit. **Current Biology**, 18(17): R729-R731.
- Kaczmarek, Ł.; Michalczyk, Ł. & McInnes, S.J. 2015. Annotated zoogeography of non-marine Tardigrada. Part II: South America. **Zootaxa**, 3923: 1-107.
- Kinchin, I.M. **The Biology of Tardigrades**. Londres: Portland Press, 1994. 186 p.
- Leatham, J.W.; McNary, T.J.; Dodd, J.L. & Lauenroth, W.K. 1982. Response of soil nematodes, rotifers and tardigrades to three levels of season-long sulfur dioxide exposures. **Water Air Soil Pollution**, 17: 343-356.

- Marcus, E. 1937. Sobre a anabiose dos Tardigrados, com descrição de uma nova espécie. **Boletim Biológico**, 3(5), 7-13.
- Mayer, G.; Kauschke, S.; Rüdiger, J. & Stevenson, P.A. 2013. Neural Markers Reveal a One-Segmented Head in Tardigrades (Water Bears). **PLOS ONE**, 8(3): e59090.
- Mitchell, C. & Miller, W.R. 2008. A simple SEM (Scanning Electron Microscope) preparation protocol for Tardigrades. **Journal of the Pennsylvania Academy of Science**, 8(2/3): 86-90.
- Mogle, M.J.; Kimball, S.A.; Miller, W.R. & McKown, R.D. 2018. Evidence of avian-mediated long distance dispersal in American tardigrades. **PeerJ**, 6: e5035.
- Morek, W.; Stec, D.; Gasiorek, P.; Schill, R.O.; Kaczmarek, L. & Michalczyk, L. 2016a. An experimental test of eutardigrade preparation methods for light microscopy. **Zoological Journal of the Linnean Society**, 178: 785-793.
- Morek, W.; Gasiorek, P.; Stec, D.; Blagden, B. & Michalczyk, L. 2016b. Experimental taxonomy exposes ontogenetic variability and elucidates the taxonomic value of claw configuration in Milnesium Doyère, 1840 (Tardigrada: Eutardigrada: Apochela). **Contributions to Zoology**, 85(2): 173-200.
- Morrone, J.J. 2014. Biogeographical regionalisation of the Neotropical region. **Zootaxa**, 3782: 1-110.
- Moura, J.R.; Verçosa, M.M.; Santos, E.C.L.; Santana e Silva, L.G.; Amaral, F.M.D. & Rocha, C.M.C. 2009. Ocorrência de *Parastygarcus sterreri* Renaud-Mornant, 1970 e *Halechiniscus perfectus* Schulz, 1955 (Tardigrada, Heterotardigrada) no Arquipélago de São Pedro e São Paulo, RN, Brasil. **Atlântica, Rio Grande**, 31(2): 213-216.
- Murray J. 1910. Tardigrada. **Reports of the scientific investigations of the British Antarctic Expedition 1907-1909**, 1(5): 159-185.
- Murray, J. 1913. **Notes on the natural history of Bolivia and Peru: including a report on the Rhizopoda** / by G.H. Wailes. Scottish, Edinburgh Oceanographic Laboratory.
- Nelson, D.R. 2002. Current Status of the Tardigrada: Evolution and Ecology. **Integrative and Comparative Biology**, 42, 652-659.
- Nelson, D.R.; Guidetti, R. & Rebecchi, L. 2015. Phylum Tardigrada. In: Thorp, J.H.; Covich, A.P. **Freshwater Invertebrates**. 4^a ed. Elsevier. p. 347-380.
- Nielsen, C.; Scharff, N. & Eibye-Jacobsen D. 1996. Cladistic analyses of the animal kingdom. **Biological Journal of the Linnean Society**, 57: 385-410.
- Paraná, 1995. **Plano de Manejo Estação Ecológica Ilha do Mel**. Governo do Estado do Paraná. Secretaria de Estado do Meio Ambiente e Recursos Hídricos. Disponível: <http://www.iat.pr.gov.br/Pagina/Plano-de-Manejo-Estacao-Ecologica-Ilha-do-Mel>. Acessado: 06/12/2021.
- Pilato, G. 2000. *Macrobiotus centesimus*, new species of eutardigrade from the South America. **Bollettino dell'Accademia Gioenia di Scienze Naturali di Catania**, 33, 97-101.
- Pilato, G.; Binda M.G.; Napolitano, A. & Moncada, E. 2004. Remarks on some species of tardigrades from South America with the description of two new species. **Journal of Natural History**, 38: 1081-1086.
- Rahm, G. 1931. Tardigrada of the South of America (esp. Chile). **Revista Chilena de História Natural**, 35: 118-141.
- Rahm, G. 1932. Freilebende Nematoden, Rotatorien und Tardigraden aus Südamerika (besonders aus Chile). C. Tardigrada. **Zoologischer Anzeiger**, 98: 113-128.
- Ramazzotti, G. & Maucci, W. 1983. Il Phylum Tardigrada. **Memorie dell'Istituto Italiano di Idrobiologia, Pallanza**, 41: 1-1012.
- Rebecchi, L.; Altiero, T. & Guidetti, R. 2007. Anhydrobiosis: the extreme limit of desiccation tolerance. **Invertebrate Survival Journal**, 4(2): 65-81.

- Reuner, A.; Hengherr, S.; Brümmer, F. & Schill, R.O. 2010. Comparative studies on storage cells in tardigrades during starvation and anhydrobiosis. **Current Zoology**, 56(2): 259-263.
- Rocha, C.M.C.; Fonsêca-Genevois, V. & Castro, F.J.V. 2000. Distribuição espaço-temporal de *Batillipes pennaki* Marcus, 1946 (Tardigrada, Heterotardigrada) na margem sul da Ilha de Itamaracá (Pernambuco - Brasil). **Tropical Oceanography**, 28: 35-46.
- Rocha, C.M.C.; Fonsêca-Genevois, V.; Victor-Castro, F.J.; Bezerra, T.N.C.; Venekey, V. & Botelho, A.P. 2004. Environmental interactions of *Batillipes pennaki* (Tardigrada, Heterotardigrada) in a tropical sandy beach (Itamaracá, Pernambuco, Brazil). **Meiofauna Marina**, 13: 79-86.
- Rocha, C.M.C.; Verçosa, M.M.; Santos, E.C.L.; Barbosa, D.F.; Oliveira, D.A.S. & Souza, J.R.B. 2009. Marine tardigrades from the coast of Pernambuco, Brazil. **Meiofauna Marina**, 17: 97-101.
- Roszkowska, M.; Wojciechowska, D.; Kmita, H.; Cerbin, S.; Dziuba, M.K.; Fialkowska, E.; Sobkowiak, R.; Szydło, W. & Kaczmarek, L. 2021. Tips and tricks how to culture water bears: simple protocols for culturing eutardigrades (Tardigrada) under laboratory conditions. **The European Zoological Journal**, 88(1): 449-465.
- Rota-Stabelli, O.; Kayal, E.; Gleeson, D.; Daub, J.; Boore, J.L.; Telford, M.J.; Pisani, D.; Blaxter, M. & Lavrov, D.V. 2010. Ecdysozoan Mitogenomics: Evidence for a Common Origin of the Legged Invertebrates, the Panarthropoda. **Genome Biology and Evolution**, 2: 425-440.
- Russel, P.M.; Marley, N.J. & Hockings, M.E. 2001. Do Confocal Microscopy and Tardigrades Have a Future Together? **Zoologischer Anzeiger**, 240: 543-548.
- Schill, R.O. 2010. Anhydrobiotic Abilities of Tardigrades. In: Lubzens, E.; Joan Cerdà, J.; Clark, M. **Dormancy and Resistance in Harsh Environments**, Berlin: Springer-Verlag, p. 133-146.
- Schill, R.O. (Ed.) 2018. **Water Bears: The Biology of Tardigrades**. Springer International Publishing, 419 p.
- Somme, L. 1996. Anhydrobiosis and cold tolerance in tardigrades. **European Journal of Entomology**, 93: 349-357.
- Spallanzani, L. 1776. Il tardígrado, le anguilline delle tegole e quelle del grano rachitico. **Opuscoli di Fisica Animale e Vegetabile**, 1(4): 524-556.
- Vargha, B.; Otvös, E. & Tuba, Z. 2002. Investigations on ecological effects of heavy metal pollution in Hungary by moss-dwelling water bears (Tardigrada), as bioindicators. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine**, 9: 141-146.
- Wright, J.C. 1989. Desiccation tolerance and water-retentive mechanisms in tardigrades. **Journal of Experimental Biology**, 142: 267-292.