



MANUAL DE TÉCNICAS
PARA A PREPARAÇÃO DE
COLEÇÕES ZOOLOGICAS

18. TARDIGRADA

DIVA DINIZ CORRÊA

Campinas, SP
1987

MANUAL DE TÉCNICAS PARA A PREPARAÇÃO DE
COLEÇÕES ZOOLOGICAS

Campinas, SP

1987

18. TARDIGRADA

DIVA DINIZ CORRÊA

Os tardígrados são animais diminutos, medindo de 50 μ m a cerca de 1 mm de comprimento, com exoesqueleto cuticular não quitinoso, dividido em placas segmentares em alguns e mudando, durante o crescimento, em todos. O corpo contém 4 segmentos (5 com a cabeça), cada um com um par de pernas não articuladas, terminando em garras cuticulares.

O aparelho bucal complexo, com estiletes afiados, é usado por todos os tardígrados para perfurar células de plantas e sugar o seu conteúdo. Alimentam-se também de animais como rotíferos e amebas. Os sexos são separados. A fecundação é interna e os ovos são relativamente grandes.

O número de espécies conhecidas, que vem aumentando muito nos últimos anos, é de cerca de 500, das quais cerca de 40 marinhas. Os tardígrados são animais cosmopolitas.

Os tardígrados são animais estritamente aquáticos, ocorrendo na água doce e no mar. As espécies de água doce podem ser comumente encontradas em finas películas ou gotículas de água existentes em plantas terrestres, como musgos de árvores, de paredes, de encanamentos úmidos, em líquenes, hepáticas e em algumas angiospermas. Ocorrem também em musgos e algas que vivem dentro da água, em plantas aquáticas com raízes e no lodo, areia e detritos de tanques e lagos e mesmo em água do solo. Apesar do seu hábito aquático, muitas espécies, especialmente as associadas com plantas terrestres, como musgos e líquenes, são capazes de sobreviver a longos períodos de condições desfavoráveis, como aridez, calor ou frio extremos. Nessas situações, eles podem encistar-se ou passar a um estado de vida latente, anabiótico, tornando-se enrugados e com tamanho reduzido. Seriam como um "relógio parado mas com corda". Esses períodos podem durar vários anos e se verificar várias vezes no decurso da vida do animal.

As espécies marinhas pertencem à meio-fauna bêntica, constituída por pequenos animais que vivem nos espaços intersticiais, microcavernas existentes entre os grãos de areia das praias em água rasa. Eles são suficientemente pequenos para se locomoverem através dos interstícios de um sedimento, sem perturbar as partículas desse sedimento.

O estudo da meio-fauna tem atraído muita atenção nos últimos anos, com o conseqüente desenvolvimento de métodos especializados de coleta. Um tratamento completo dos procedimentos e

técnicas do assunto é o de Hulings & Gray (1971), em um manual de meiobentologia. Esse manual foi compilado após a "Conferência Internacional sobre a Meio-Fauna", ocorrida na Tunísia em 1969 e cobre muitos aspectos da pesquisa nesse campo.

O excelente trabalho da presente série, nº 11, GASTROTRICHA, de Liliana Forneris, é bastante completo e, afora naturalmente os aspectos específicos para os gastrótricos, aplica-se totalmente aos tardígrados bênticos marinhos. Nesse fascículo o assunto é tratado em nível mais especializado e mais científico que as técnicas simples e rápidas que serão aqui descritas.

COLETA DAS FORMAS DE ÁGUA DOCE

A coleta das formas de água doce faz-se simplesmente lavando-se as plantas mencionadas e examinando pequenas porções dessa água em uma lupa binocular. Material seco, como musgos e líquenes, deve ser posto em água durante várias horas a vários dias e revolvido periodicamente. Havendo tardígrados, eles podem ser encontrados na água que continha as plantas à medida que saem da vida latente e começam a se locomover.

COLETA DAS FORMAS MARINHAS

Para a coleta das formas marinhas, cujo encontro é muito ocasional, devemos primeiro localizar uma praia com areia relativamente grossa, pois os grãos muito pequenos da areia fina não proporcionam interstícios suficientemente grande para conterem os animais. Várias amostras são retiradas da areia superficial molhada, ou mais profunda, da faixa entre-marés e levadas para o laboratório e aí deixadas a sedimentar, cobertas com cerca de 2 cm de água do mar. Dessas amostras são retiradas pequenas porções de areia superficial, colocadas em uma placa de vidro pequena, com pouca água do mar, e cuidadosamente feita a procura dos animais, entre os grãos de areia, com o auxílio de 2 agulhas finas e de uma lupa binocular. A experiência tem demonstrado que estes tardígrados são quase sempre encontrados por acaso, principalmente por pe^gsoas que trabalham com outros grupos de animais arenícolas, mais ricos em espécies e em espécimes. Assim, a técnica morosa de examinar amostras de areia sob a lupa constitui uma rotina diária e a possibilidade de encontrar tardígrados aumenta.

Tendo sido localizado um tardígrado, este deve ser retirado com o auxílio de um conta-gotas de abertura muito fina. Isto pode ser dificultado no caso dos tardígrados arenícolas, pois uma das reações naturais dos componentes da meio-fauna é se prenderem nos grãos de areia, usando vários meios, como enrolamento ou uso de placas adesivas. As espécies de *Batillipes*, tardígrado marinho típico, prendem-se aos grãos de areia, auxiliados pela conformação dos seus dedos, que funcionam como "ventosas". A coleta de animais que vivem em poças-de-maré é também ocasional, devendo-se lavar as algas e examinar a água em uma lupa binocular.

O animal isolado deve ser estudado imediatamente. Muitos tardígrados são transparentes e o estudo da anatomia interna pode ser feito colocando-se o animal em uma lâmina, em pequena gota de água e recobrimo-o com uma lamínula pequena. Havendo um microscópio com contraste de fase, o reconhecimento dos caracteres, tanto externos como internos, poderá ser feito com mais precisão. Todo o trabalho a ser realizado com estes animais exige muita habilidade e paciência, sempre feito sob a lupa para observação das

reações e para evitar que o animal se perca.

FIXAÇÃO

Os animais, apesar do seu tamanho diminuto, podem ser fixados, montados em lâminas com o animal total ou feitos cortes seriados com relativa facilidade.

A anestesia é dispensável e a fixação pode ser feita com formol 5% ou com álcool 70 a 80%, usando-se para isso uma lâmina escavada. O animal fixado deve ser corado com paracarmim, para não ser perdido e presta-se para montagem total ou ser incluído para microtomia. A inclusão faz-se com celoidina, bastante eficaz para objetos pequenos. Toma-se um fragmento de lâmina de vidro para microscopia, passando-o rapidamente em parafina líquida e deixando a parafina solidificar. Em seguida, coloca-se uma pequena gota do líquido que serviu para diafanização do animal, óleo de cravo ou creosoto, sobre a camada de parafina e nessa gota são postos os animais. Retira-se então todo o diafanizador com papel de filtro e pinga-se uma gota pequena de uma mistura de óleo de cravo e celoidina (1 parte de óleo de cravo e 1 parte de celoidina 8%; a mistura é estável e conserva-se durante muitos anos). Orientam-se os animais na posição desejada, com agulhas, sob a lupa e coloca-se o fragmento da lâmina em uma placa contendo clorofórmio. Este dissolve a parafina, solidifica a mistura de celoidina e os animais permanecem no pequeno bloco, que é então incluído em parafina para a confecção de cortes.

O gênero *Macrobiotus* tem sido constantemente usado como protótipo em livros de texto e em aulas sobre o assunto. Neste trabalho, será adotado como modelo um tardígrado marinho, *Batillipes pennaki* Marcus, 1946, mais raramente encontrado em livros didáticos.

Dos 12 gêneros marinhos conhecidos, 3 foram encontrados no Brasil: *Batillipes* (3 espécies), *Orzeliscus* (1 espécie) e *Echiniscoides* (1 espécie).

Batillipes pennaki Marcus, 1946 (Marcus, E., 1946), espécie da fauna arenícola (meio-fauna bêntica), foi encontrado na areia da Praia de Ipanema, Rio de Janeiro e numa praia do Guarujá, São Paulo.

Os animais (Fig. 1) medem, quando adultos, 200 μ m de comprimento. A cutícula, provida de grânulos finos e densos, é transparente, tornando visível o conteúdo intestinal (i), de cor variável, a faringe (f) e a gônada (g). As bordas laterais do corpo projetam duas dobras (d) em cada um dos segmentos e entre o terceiro e quarto pares de pernas a margem projeta-se com um lobo arredondado grande (l). A cutícula apresenta vários processos. Os processos cefálicos, todos com base cônica, são: uma cerda mediana (c) muito curta; um par externo (e) e um interno (n) de cirros medianos, ambos muito mais longos que a cerda mediana, sendo os internos inseridos acima e os externos na própria borda frontal, sem papila entre eles; a clava ou aurícula (a), com uma parte basal espessa e uma distal fina, separadas por uma constrição; e um cirro lateral (r) longo, inserido na mesma base que a clava. Na porção proximal de cada perna há um espinho curto (p) e atrás do lobo marginal e acima do quarto par de pernas há uma cerda forte mas sem espinhos. Há um espinho mediano-caudal (g), espesso e acuminado, com o dobro do comprimento dos cirros ântero-medianos, situado em uma base cilíndrica e larga. Olhos são ausentes. Há 4 pares de pernas, sendo 3 pares laterais e 1 posterior, todas providas de 6 dedos cada uma. O segundo dedo das pernas 1 a 3 e os dois dedos medianos das quartas pernas não são pedunculados. A boca é ventral

e conduz a uma faringe (f) curta e oval, provida de três saliências cuticulares, com base em forma de botão e possui também portadores de dentes.

As outras espécies marinhas que ocorrem no Brasil são: *Batillipes mirus* Richters, 1909 (Marcus, E., 1927; Epiphanio, E.H. 1972) e *Batillipes tubernatis* Pollock, 1971 (Epiphanio, E.H., 1972), ambas arenícolas, ocorrem em Ubatuba, São Paulo, *Orzeliscus belopus* du Bois-Reymond Marcus, 1952 (Marcus, E. du B.-R., 1952), também arenícola, da Ilha de São Sebastião, São Paulo e *Echiniscoides sigismundi* (M. Schultze, 1865) (Marcus, E., 1936; Marcus, E. du B.-R., 1952), coletado em Itanhaém, São Paulo, na zona superior das cracas, onde fios de algas verdes, diatomáceas e alguns grãos de areia retêm uma fina película de água durante as marés baixas.

REFERÊNCIAS

- Epiphanio, E.H., 1972. Ocorrência de *Batillipes mirus* Richters, 1909 e *B. tubernatis* Pollock, 1971 (Tardigrada) no litoral brasileiro. *Ciênc. e Cult.* 24(6): 358-359 (supl.).
- Forneris, L., 1985. Gastrotricha, 11. *Manual de Técnicas para a Preparação de Coleções Zoológicas*, 11.1-11.14.
- Hulings, N.C. & Gray, J.S. 1971. A manual for the study of meiofauna. *Smithson. Contrib. Zool.*, Washington, 78: 1-83 (de Forneris, 1985).
- Lincoln, R.J. & J.G. Sheals, 1979. *Invertebrate Animals. Collection and Preservation*. British Museum (Natural History). Cambridge University Press.
- Marcus, E. 1927. Zur Anatomie und Ökologie mariner Tardigraden. *Zool. Jahrb.* 53: 487-558.
- Marcus, E. 1936. Tardigrada. *Tierreich. Preuss. Akad. Wiss. Berlin* XVI + 340 pp. (W. de Gruyter & Co.).
- Marcus, E. 1946. *Batillipes pennaki*, a new marine tardigrade from the North and South American Atlantic coast. *Commun. Zool. Mus. Montev.* 11(33): 1-3.
- Marcus, E. du B.-R. 1952. On South American Malacopoda. *Bolm. Fac. Filos. Ciênc. Univ. S. Paulo (zool.)* 17: 189-209.

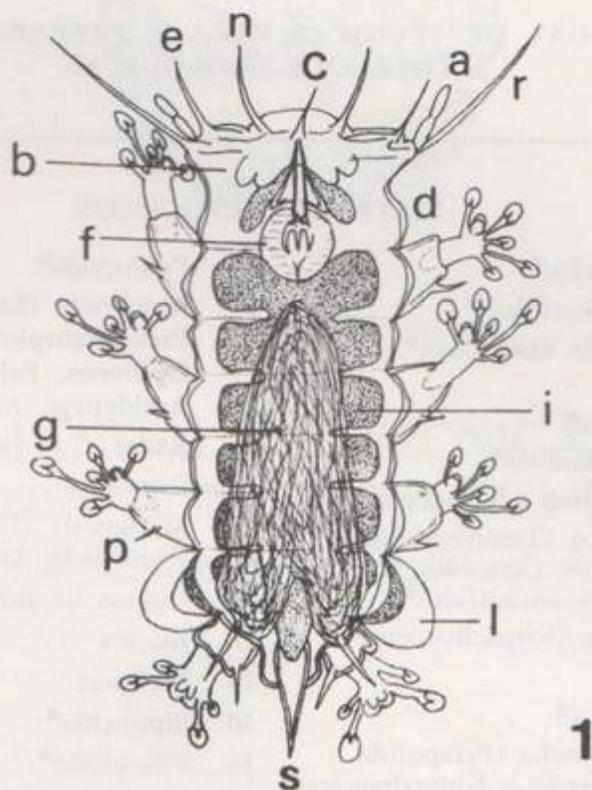


Fig. 1 - *Batillipes pennaki* Marcus, 1946 (de Marcus, E., 1946); **a**, clava. **b**, cérebro. **c**, cerda mediana ímpar. **d**, dobra dos segmentos. **e**, cirro mediano externo. **f**, faringe. **g**, gônada. **i**, intestino. **l**, lobo posterior. **n**, cirro mediano interno. **p**, espinho. **r**, cirro lateral. **s**, espinho mediano caudal.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOLOGIA
MANUAL DE TÉCNICAS PARA A PREPARAÇÃO DE
COLEÇÕES ZOOLOGICAS

LISTA DE FASCÍCULOS

- | | |
|--|--|
| 1. Generalidades* | 22. Pantopoda* |
| 2. Esponjas marinhas* | 23. Arachnida (Scorpionida, Solifugae,
Pseudoscorpiones, Ricinulei,
Opiliones, Palpigradi, Uropygi,
Amblypygi, Araneae) |
| 3. Esponjas de água doce* | 24. Acari |
| 4. Cnidaria | 25. Crustacea |
| 5. Ctenophora* | 26. Myriapoda (Chilopoda, Symphyla,
Pauropoda, Diplopoda) |
| 6. Gnathostomulida* | 27. Insetos imaturos* |
| 7. Plathelminthes (Turbellaria)* | 28. Insetos |
| 8. Platelmintos (Temnocefálidos,
Trematódeos, Cestóides, Cesto-
dários) e Acantocéfalos* | 29. Mollusca |
| 9. Nemertinea (Rhynchocoela)* | 30. Sipuncula* |
| 10. Rotifera* | 31. Phoronida* |
| 11. Gastrotricha* | 32. Brachiopoda |
| 12. Cephalorhyncha (Priapulida,
Nematomorpha e Kinorhyncha) | 33. Chaetognatha |
| 13. Nematoda | 34. Echinodermata* |
| 14. Entoprocta e Ectoprocta
(Bryozoa) | 35. Hemichordata, Urochordata e
Cephalochordata* |
| 15. Annelida (Polychaeta)* | 36. Peixes* |
| 16. Annelida (Oligochaeta) | 37. Anfíbios |
| 17. Annelida (Hirudinea) | 38. Répteis* |
| 18. Tardigrada* | 39. Aves |
| 19. Echiura* | 40. Mamíferos |
| 20. Onychophora | |
| 21. Pentastomida (Linguatulida) | |

* Já publicados.