

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E CONSERVAÇÃO DA
NATUREZA

Arthur Aguiar Oliveira

Microeucariotos ciliados do gênero *Lambornella* Keilin, 1921 (Ciliophora, Tetrahymenidae): análise cienciométrica e investigação sobre a sistemática e evolução de *Lambornella trichoglossa* Foissner, 2003

Juiz de Fora
2025

Arthur Aguiar Oliveira

Microeucariotos ciliados do gênero *Lambornella* Keilin, 1921 (Ciliophora, Tetrahymenidae): análise cienciométrica e investigação sobre a sistemática e evolução de *Lambornella trichoglossa* Foissner, 2003

Dissertação apresentada ao Programa de Pós- graduação em Biodiversidade e Conservação da Natureza da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Biodiversidade e Conservação da Natureza, Área de Concentração: Comportamento, Ecologia e Sistemática.

Orientador: Dr. Roberto Júnio Pedroso Dias

Coorientadora: Dra. Mariana Fonseca Rossi

Juiz de Fora
2025

Aguiar Oliveira, Arthur.

Microeucariotos ciliados do gênero Lambornella Keilin, 1921
(Ciliophora, Tetrahymenidae) : análise cienciométrica e investigação
sobre a sistemática e evolução de Lambornella trichoglossa Foissner,
2003 / Arthur Aguiar Oliveira. -- 2025.

93 p.

Orientador: Roberto Júnio Pedroso Dias

Coorientadora: Mariana Fonseca Rossi

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Juiz
de Fora, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de
Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação da Natureza,
2025.

1. Ciliophora. 2. Lambornella. 3. Análise Cienciométrica. 4.
Sistemática Integrativa. 5. Filogenia. I. Júnio Pedroso Dias, Roberto,
orient. II. Fonseca Rossi, Mariana, coorient. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada através do programa de

geração automática da Biblioteca Universitária da

UFJF,

com os dados fornecidos pelo autor.

Arthur Aguiar Oliveira

Microeucariotos ciliados do gênero *Lambornella* Keilin, 1921 (Ciliophora, Tetrahymenidae): análise cienciométrica e investigação sobre a sistemática e evolução de *Lambornella trichoglossa* Foissner, 2003

Dissertação apresentada ao Programa de Pós- graduação em Biodiversidade e Conservação da Natureza, da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial a obtenção do grau de Mestre em Biodiversidade e Conservação da Natureza, Área de Concentração: Comportamento, Ecologia e Sistemática.

Aprovada em 29 de agosto de 2025

BANCA EXAMINADORA

Dr. Roberto Júnio Pedroso Dias – Orientador
Universidade Federal de Juiz de Fora

Dra. Mariana Fonseca Rossi – Coorientadora
Universidade Federal de Juiz de Fora

Dra. Sthefane D'ávila de Oliveira e Paula
Universidade Federal de Juiz de Fora

Dr. Roberto de Oliveira Marchesini
Instituto Federal de Roraima

AGRADECIMENTOS

A minha eterna gratidão a todos que contribuíram ao longo dessa jornada na minha formação.

Agradeço ao que rege o universo, ao invisível que habita o tempo e me sustentou nas horas mais difíceis.

Agradeço aos familiares que ofereceram todo o apoio para que este processo acontecesse. À minha mãe Gilmara, que sempre esteve lá, ouvindo e aconselhando. Ao meu pai Ibrahim, que não mediou esforços para ajudar. À minha irmã Agatha que estava disposta a auxiliar a todo momento.

Minha eterna gratidão ao professor Roberto, o orientador dessa jornada e grande mentor nesse processo. Obrigado pela oportunidade de finalmente poder viver a ciência e por não ter desistido. Agradeço a fé depositada e por todas as conversas e conselhos que vão muito além da carreira de um cientista.

Aos meus amigos que estiveram juntos nos momentos de alegria e tristeza, comemorando as vitórias e ouvindo as lamúrias de cada dia. Minha gratidão para Lívia, que comemorou cada pequena vitória e acompanhou cada detalhe. Meu sincero agradecimento à Laís, que esteve comigo nos altos e baixos, expandindo minha visão de mundo. Muito obrigado ao Flávio, que apareceu como um irmão da maneira mais improvável e agora segue junto para mais além. Muito obrigado ao Igor, que conseguia achar beleza em tudo e sempre com grande entusiasmo. Ao Pietro a minha gratidão por estar lá, aconselhando e ouvindo. Ao Daniel, pelo café filosófico e por ser presente sem precisar de uma palavra.

Ao Laboratório de Protozoologia, à profa. Mariana Rossi e aos colegas que trouxeram luz a cada dia vencido. Agradeço à Mylena pela companhia incansável e por toda a disposição em ajudar nesse tempo. Agradeço à Fabiola por toda a paciência em ensinar e todo o empenho em não ser uma pesquisadora fantástica, mas uma pessoa incrível. Agradeço ao Pedro por também guiar no caminho da protozoologia com sua ajuda nas técnicas e nas discussões.

Agradeço a Olga por existir e ser a eterna companheira de todas as horas porque amor tem quatro letras e cachorros tem quatro patas.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação da Natureza pela oportunidade de garantir o aperfeiçoamento para formar um cientista de ponta.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa ofertada durante o período de formação.

RESUMO

Esta dissertação é composta por três capítulos que, em conjunto, abordam aspectos históricos, cienciométricos e moleculares dos ciliados do gênero *Lambornella* Keilin, 1921 (Ciliophora, Tetrahymenidae), buscando integrar informações dispersas e contribuir para a compreensão sistemática e evolutiva do grupo. O primeiro capítulo apresenta uma revisão histórica e taxonômica sobre o gênero *Lambornella*, analisando a produção científica acumulada desde a descrição original do gênero em 1921. Foram revisadas as principais áreas temáticas exploradas ao longo das décadas, com ênfase nas descrições morfológicas e em aspectos controversos da classificação taxonômica. Esta abordagem destacou lacunas de conhecimento e inconsistências na literatura, além de fornecer um panorama atualizado sobre o estado da arte do gênero, identificando pontos-chave que requerem maior investigação. No segundo capítulo, foi realizada uma análise cienciométrica da literatura sobre *Lambornella* entre 1921 e 2024, com o objetivo de mapear a dinâmica e as tendências das publicações científicas relacionadas ao grupo. Os resultados revelaram uma distribuição desigual dos esforços de pesquisa, evidenciando uma escassez de estudos sobre *Lambornella stegomyiae*, em contraste com a ampla investigação da relação parasito-hospedeiro envolvendo *Lambornella clarki*. Observou-se ainda que *Lambornella trichoglossa* possui uma descrição morfológica detalhada, mas carece de análises ecológicas e moleculares mais aprofundadas. O terceiro capítulo apresenta dados sobre *Lambornella trichoglossa*, coletada em fitotelmos de *Portea petropolitana* na Zona da Mata de Minas Gerais, Brasil. Foram utilizadas sequências moleculares (18S-rDNA e COI) do banco de dados GenBank para análises filogenéticas e de delimitação computacional de espécies. Os resultados confirmaram *L. trichoglossa* como uma linhagem evolutiva independente e forneceram evidências robustas sobre seu estado ancestral simbionte, contribuindo para uma melhor compreensão da evolução dentro da família Tetrahymenidae. Além disso, as análises moleculares suscitaram reflexões sobre a validade do gênero *Lambornella*, abrindo caminhos para revisões taxonômicas futuras. Assim, esta dissertação reúne abordagens complementares na forma de revisão histórica, cienciométrica e dados moleculares que, integradas, oferecem novas perspectivas para a sistemática e evolução de *Lambornella*, bem como para o entendimento dos ciliados de ambientes fitotelmais.

Palavras-chave: *Lambornella*, diversidade genética, evolução, fitotelmo, taxonomia.

ABSTRACT

This dissertation is composed of three chapters that collectively address historical, scientometric and molecular aspects of ciliates of the genus *Lambornella* Keilin, 1921 (Ciliophora, Tetrahymenidae), aiming to integrate dispersed information and contribute to a systematic and evolutionary understanding of the group.

The first chapter presents a historical and taxonomic review of the genus *Lambornella*, analyzing the scientific output accumulated since the original description of the genus in 1921. The major thematic areas explored over the decades were examined, with emphasis on morphological descriptions and on controversial aspects of taxonomic classification. This approach highlighted knowledge gaps and inconsistencies in the literature, while providing an updated overview of the state of the art of the genus, identifying key points that require further investigation. In the second chapter, a scientometric analysis of the literature on *Lambornella* between 1921 and 2024 was conducted, with the aim of mapping the dynamics and trends of scientific publications related to the group. The results revealed an uneven distribution of research efforts, showing a scarcity of studies on *Lambornella* stegomyiae in contrast to the extensive investigation of the parasite–host relationship involving *Lambornella clarki*. It was also observed that *Lambornella trichoglossa* has a detailed morphological description but lacks deeper ecological and molecular analyses. The third chapter presents data on *Lambornella trichoglossa*, collected from phytotelmata of *Portea petropolitana* in the Zona da Mata of Minas Gerais, Brazil. Molecular sequences (18S rDNA and COI) from the GenBank database were used for phylogenetic analyses and computational species delimitation. The results confirmed *L. trichoglossa* as an independent evolutionary lineage and provided robust evidence of its ancestral symbiotic condition, contributing to a better understanding of evolution within the family Tetrahymenidae. Moreover, the molecular analyses raised considerations regarding the validity of the genus *Lambornella*, opening avenues for future taxonomic revisions. Thus, this dissertation brings together complementary approaches, historical review, scientometrics, and molecular data that, when integrated, offer new perspectives for the systematics and evolution of *Lambornella*, as well as for understanding ciliates inhabiting phytotelmic environments.

Keywords: *Lambornella*, genetic diversity, evolution, phytotelma, taxonomy.

LISTRA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Linha temporal das publicações relativas das espécies do gênero <i>Lambornella</i>	21
Figura 2: Ilustração de <i>L. stegomyiae</i> vista em microscopia de luz.....	31
Figura 3. Ilustrações científicas de <i>L. stegomyiae</i> , evidenciando formas císticas e localização no hospedeiro.....	32
Figura 4. Registros fotográficos de <i>L. stegomyiae</i> representando a morfologia corporal.....	33
Figura 5. <i>L. clarki</i> impregnada pela prata evidenciando a ciliatura somática e oral.....	35
Figura 6. Fotomicrografias de <i>L. clarki</i> em contraste de fase.....	36
Figura 7. <i>L. trichoglossa</i> <i>in-vivo</i> , após impregnação com protargol e após impregnação com nitrato de prata segundo Chatton-Lwoff e Klein-Foissner.....	42
Figura 8: <i>L. trichoglossa</i> em micrografia eletrônica de varredura e após impregnação pela prata.....	43
Figura 9: Representação via ilustração científica em visão ventral das espécies do gênero <i>Lambornella</i> , realizados após técnica de impregnação por prata.....	53
Figura 10. Distribuição percentual de publicações científicas referente ao gênero <i>Lambornella</i> , com base nas correlações dos resultados obtidos nas bases de dados bibliográficas.....	55
Figura 11: Distribuição percentual do número total de publicações do gênero <i>Lambornella</i> ao longo do tempo.....	56
Figura 12. Comparativo percentual da participação de primeiros autores no total de publicações sobre o gênero <i>Lambornella</i>	57
Figura 13. Distribuição percentual das publicações sobre o gênero <i>Lambornella</i> em diferentes periódicos científicos.....	58
Figura 14: Distribuição percentual de publicações sobre o gênero <i>Lambornella</i> com base no país de origem do artigo científico.....	59
Figura 15: Distribuição geográfica das publicações sobre o gênero <i>Lambornella</i>	60
Figura 16: Razão relativa de publicações por espécie do gênero <i>Lambornella</i> , baseado no total de registros analisados até 2024.....	61
Figura 17: Distribuição percentual das publicações científicas por espécie do gênero <i>Lambornella</i> , categorizadas por século de publicação (século XX e século XXI), com dados coletados até 2024.....	62
Figura 18: Variação temporal do percentual de publicações científicas por espécie do gênero <i>Lambornella</i> , ao longo de intervalos de décadas entre os séculos XX e XXI.....	63
Figura 19. Fotomicrografias <i>in vivo</i> de <i>Lambornella trichoglossa</i> provenientes de tanques de bromélias (<i>Portea petropolitana</i>) do Jardim Botânico da Universidade Federal de Juiz de Fora	
77	
Figura 20. Árvore filogenética inferida pelo método de máxima verossimilhança (ML), baseada no marcador 18S-rRNA de representantes dos gêneros <i>Tetrahymena</i> e <i>Lambornella</i>	82
Figura 21. Árvore filogenética inferida pelo método de máxima verossimilhança (ML), usando COI de representantes dos gêneros <i>Tetrahymena</i> e <i>Lambornella</i>	85
Figura 22. Reconstrução do estado ancestral de hábito de vida para <i>Lambornella trichoglossa</i> e linhagens relacionadas, baseada na topologia da árvore filogenética inferida a partir do gene	

mitocondrial citocromo c oxidase subunidade I (cox-1).....88

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	11
Referências Bibliográficas	14
CAPÍTULO 1	17
Resumo	17
Introdução	19
Revisão Histórica (1921-2024)	21
Revisão Taxonômica	27
<i>Lambornella stegomyiae</i> Keilin, 1921	29
<i>Lambornella clarki</i> Corliss e Coats, 1976	34
<i>Lambornella trichoglossa</i> Foissner, 2003	37
Referências Bibliográficas	44
CAPÍTULO 2	50
Resumo	50
Introdução	51
Metodologia	53
Resultados	54
Discussão	63
Referências Bibliográficas	66
CAPÍTULO 3	72
Resumo	72
Introdução	73
Metodologia	75
Local de coleta, identificação do ciliado, extração de DNA e PCR	75
Análise filogenética e datação molecular	78
Métodos coalescentes de delimitação de espécies	79
Reconstrução do estado ancestral do hábito	80
Resultados	80
Posição filogenética	80
Delimitação de espécies coalescentes	84
Reconstrução do estado ancestral do hábito	84
Discussão	86
Referências Bibliográficas	88
CONSIDERAÇÕES FINAIS	92
APÊNDICE A	94

INTRODUÇÃO GERAL

O filo Ciliophora (Alveolata) Doflein, 1901 apresenta uma grande diversidade de microeucariotos unicelulares com diferentes morfologias corporais que evoluíram há pelo menos 2 bilhões de anos. Eles diferem-se dos demais microeucariotos unicelulares heterótrofos por possuírem uma peculiar ciliatura corporal (infraciliatura), estruturas que atuam em funções locomotivas e alimentares (Lynn, 2017). Os ciliados se reproduzem via processo de conjugação, movimento em que ambos os organismos passam por uma fusão temporário para efetuar a troca de material nuclear gamético (Lynn, 2008). De igual importância, vemos também o dimorfismo nuclear, com a presença de um macronúcleo com funções somáticas, e um micronúcleo, estrutura de reserva germinativa (Ahsan; Blanche; Katz, 2022). Estes três atributos, infraciliatura, conjugação e dois tipos de núcleos, constituem as autoapomorfias do grupo. Com cerca de 8.000 espécies descritas (Lynn, 2008), acredita-se que isto represente apenas 10% da biodiversidade total de ciliados no mundo (Foissner; Chao; Katz, 2008).

Os ciliados são encontrados nos mais diversos habitats e com variados modos de vida. Sendo majoritariamente heterótrofos, os ciliados classificados como de vida livre se alimentam de bactérias e de microeucariotos unicelulares e multicelulares (Lynn, 2017). Inúmeros são os representantes com associação simbiótica com hospedeiros, seja por relações mutualísticas ou parasitárias (Mayén-Estrada et al., 2022). Os parasitos são relatados em ampla gama de metazoários, como em insetos, peixes ou moluscos (Corliss e Coats, 1976; Haites et al., 2021; Liu et al., 2017). Há ainda um representante de importância de saúde humana, no caso da balantidíase (Oliveira; Gómez-Hernández; Rezende-Oliveira, 2021). O estado parasitário evoluiu de maneira independente dentro do filo Ciliophora, fato que contribuiu para a ampliação da biodiversidade do grupo (Costa; Dias; Rossi, 2021).

Os ciliados de vida livre são encontrados em diversos ecossistemas terrestres e aquáticos. No habitat terrestre são designados como potenciais bioindicadores da qualidade do solo (Foissner et al., 2005). No ambiente aquático, podem ser vistos em água doce ou marinha, contemplando os mais variados gêneros dentro de Ciliophora (Liu et al., 2017; Wang et al, 2022). Há ainda ciliados em ambientes de condições extremas, como em locais altamente ácidos ou alcalinos (Hu, 2014) e em regiões de

baixíssima temperatura, relatado na região antártica (Mieczan et al., 2014). Além destes ambientes, estes organismos são encontrados em habitats planctônicos, desempenhando funções essenciais nas relações tróficas (Velho et al., 2013). Os ciliados são igualmente relatados em ambientes altamente complexos, como visto no caso dos fitotelmos. Nos fitotelmos bromelícolas repara-se um espaço de alto endemismo, abrigando um local que abrange espécies específicas e condições ambientais próprias (Foissner et al., 2003; Dunthorn et al., 2012).

Dentro dessa diversidade funcional e ecológica, destaca-se a família Tetrahymenidae Corliss, 1952. A família Tetrahymenidae apresenta baixa variabilidade morfológica e ausência de características sinapomórficas evidentes entre seus integrantes, fato este que dificulta o entendimento claro dos processos de delimitação taxonômica do grupo (Simon; Nanney; Doerder, 2008; Xiong et al., 2019). Em função da relativa homogeneidade morfológica, mecanismos complementares têm sido empregados para a distinção das espécies e gêneros do grupo via análises a nível molecular. (Chantangsi et al., 2007; Cassidy-Hanley et al., 2023). Os ciliados tetrahymenídeos são encontrados predominantemente em ambientes de água doce e em habitats terrestres úmidos, apresentando tanto formas de vida livre quanto representantes com hábito parasitário, o qual pode ser obrigatório ou facultativo. Nos casos parasitários, observam-se hospedeiros variados, incluindo lesmas, caracóis, vermes, mosquitos, girinos e peixes (Lynn e Doerder, 2012). A família Tetrahymenidae é, atualmente, dividida em três gêneros reconhecidos: *Lambornella* Keilin, 1921; *Tetrahymena* Furgason, 1940; e *Deltopylum* Fauré-Fremiet e Mugard, 1946 (Lynn, 2008).

O gênero *Lambornella* foi proposto em 1921, por Keilin, após análise de material encontrado por Lamborn em sua pesquisa feita na Malásia, que a época não pode identificar o protozoário que parasitava o interior de larvas de mosquitos culicídeos. (Lamborn, 1921; Keilin, 1921). O nome do grupo é uma homenagem ao pesquisador que encontrou o primeiro relato de *Lambornella stegomyiae* Keilin, 1921, um parasito facultativo de mosquitos culicídeos, em especial *Aedes (Stegomyia) scutellaris* Walker, 1859. Com a inédita capacidade de gerar cistos cuticulares no hospedeiro, Keilin propôs a criação de um gênero próprio para este ciliado. As descrições morfológicas escassas do representante único do grupo levantaram inquietações, visto a dificuldade na identificação de *L. stegomyiae*

(Muspratt, 1945; Muspratt, 1957; Corliss; 1953). A lacuna de dados relevantes ao grupo guiou para a extinção do gênero por Corliss, sinonimizando *Lambornella* com *Tetrahymena* (Corliss, 1960). Este movimento foi desfeito após a descrição de *Lambornella clarki* Corliss e Coats, 1976, a qual revalidou o gênero *Lambornella* ao encontrarem um novo ciliado parasito de *Aedes sierrensis* Ludlow, 1905. Novamente a característica do encistamento cuticular foi reforçada como diagnose, além da ontogenia e morfologia da ciliatura oral destas duas espécies (Corliss e Coats, 1976). Um novo alerta sobre a validade do gênero ocorreu via uso de técnicas moleculares, incitando maiores investigações quanto ao grupo (Strüde-Kypke et al., 2001). Com a descrição de *Lambornella trichoglossa* Foissner, 2003, novas informações morfológicas foram adicionadas, fomentando a validade do grupo. Diferentemente das espécies irmãs, *L. trichoglossa* é um ciliado exclusivamente de vida livre, mas que compartilha o aparelho tetrahimenídeo diferenciado e é endêmico de fitotelmos bromelícolas (Foissner, 2003).

Focando na compreensão da trajetória científica envolvendo o gênero *Lambornella*, utilizou-se da ferramenta de revisão histórica e análise cienciométrica das publicações realizadas desde a primeira descrição da espécie. Identificando pontos fortes e lacunas a serem respondidas, o processo de traçar novos objetivos para aprofundar o conhecimento do grupo torna-se mais claro. Por intermédio da revisão histórica é possível ter o panorama qualitativo das produções e via cienciometria, obtém-se resultados quantitativos das publicações científicas. O que se sabe de antemão é a fragilidade dos argumentos que sustentam *Lambornella*, focados principalmente em caracteres morfológicos (Kotyk et al., 2023).

As classificações baseadas exclusivamente em morfologia enfrentam desafios para sua efetividade. Além das inúmeras espécies com baixa distinção morfológica, há o obstáculo das espécies crípticas (Warren et al., 2017). Dado a fragilidade dos processos baseados apenas em características morfológicas, se faz necessário o uso de técnicas moleculares que, através de sequenciamentos genéticos e reconstruções filogenéticas, auxiliam na classificação dos ciliados (Kumar e Foissner, 2015; Gao et al., 2016). Essa fragilidade taxonômica é vista com os ciliados do gênero *Tetrahymena*, dada a presença de complexo de espécies no grupo (Kher et al., 2011). Entre os ciliados, o gene mitocondrial citrocromo oxidase subunidade I mostrou-se com alta variabilidade e acurácia suficiente para delimitação das espécies de vários

grupos de ciliados (Strüder-Kypke e Lynn, 2010). Dada a grande sensibilidade para delimitar espécies e reconhecer suas relações filogenéticas, o gene COI tem sido empregado com sucesso entre ciliados (Greczek-Stachura, Rautian e Tarcz, 2021).

As pesquisas envolvendo o gênero *Lambornella* mostram fragilidades quanto à sua sustentação taxonômica, o que envolve classificação com base em morfologia. Dada a proximidade morfológica de ciliados, decisões baseadas exclusivamente em morfologia podem não ser conclusivas. O histórico científico do grupo revela lacunas do conhecimento a respeito destes ciliados que carecem de melhor entendimento e análise. A aplicação da revisão histórica e da análise cienciométrica permitem o entendimento geral do estado do conhecimento científico e a identificação de tais pontos. Com tais métodos, é possível orientar os esforços para melhor elucidar quais lacunas ainda necessitam de investigação e quais pontos fortes devem ser utilizados, garantindo robustez nas classificações taxonômicas. Aliado a este movimento, as análises moleculares facilitam a compreensão sistemática de *Lambornella*. Essas ferramentas não dependem da morfologia, o que garante um novo panorama para ampliação sobre o entendimento do gênero. Para isso, diversos instrumentos podem ser utilizados, tal como na utilização do gene COI, reconhecido por sua alta variação genética e precisão na delimitação de espécies. Com a união de dados históricos, morfológicos e moleculares integralizados propomos um caminho promissor na ampliação do conhecimento sobre o gênero *Lambornella* na presente dissertação.

Referências Bibliográficas

AHSAN, R.; BLANCHE, W.; KATZ, L. A. Macronuclear development in ciliates, with a focus on nuclear architecture. *The Journal of Eukaryotic Microbiology*, v. 69, n. 5, p. e12898, 2022.

CASSIDY-HANLEY, D. M.; DOERDER, F. P.; HOSSAIN, M.; DEVINE, C.; CLARK, T. Molecular identification of *Tetrahymena* species. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, v. 70, n. 1, p. e12936, 2023.

CHANTANGSI, C.; LYNN, D. Phylogenetic relationships within the genus *Tetrahymena* inferred from the cytochrome c oxidase subunit 1 and the small subunit ribosomal RNA genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v. 49, n. 3, p. 979–987, dez. 2008.

CORLISS, J. O. Comparative studies on holotrichous ciliates in the Colpidium-Glaucoma-Leucophrys-Tetrahymena group: II. Morphology, life cycles and systematic status of strains in pure culture. *Parasitology*, v. 43, n. 1–2, p. 49–87, maio 1953.

CORLISS, J. O. *Tetrahymena chironomi* sp.nov., a ciliate from midge larvae, and the current status of facultative parasitism in the genus *Tetrahymena*. *Parasitology*, v. 50, n. 1–2, p. 111–153, maio 1960.

CORLISS, J. O.; COATS, D. W. A new cuticular cyst-producing tetrahymenid ciliate, *Lambornella clarki* n. sp., and the current status of ciliatosis in culicine mosquitoes. *Transactions of the American Microscopical Society*, v. 95, n. 4, p. 725, out. 1976.

COSTA, F. S.; DIAS, R. J. P.; ROSSI, M. F. Macroevolutionary analyses of ciliates associated with hosts support high diversification rates. *International Journal for Parasitology*, v. 51, n. 11, p. 967–976, out. 2021.

DUNTHORN, M.; STOECK, T.; WOLF, K.; BREINER, H.-W.; FOISSNER, W. Diversity and endemism of ciliates inhabiting Neotropical phytotelmata. *Systematics and Biodiversity*, v. 10, n. 2, p. 195–205, 2012.

FOISSNER, W. Morphology and ontogenesis of *Lambornella trichoglossa* nov. spec., a new tetrahymenid ciliate (Protozoa, Ciliophora) from Brazilian tank bromeliads (Bromeliaceae). *European Journal of Protistology*, v. 39, n. 1, p. 63–82, jan. 2003.

FOISSNER, W.; BERGER, H.; XU, K.; ZECHMEISTER-BOLTENSTERN, S. A huge, undescribed soil ciliate (Protozoa: Ciliophora) diversity in natural forest stands of Central Europe. *Biodiversity and Conservation*, v. 14, p. 617–701, 2005.

FOISSNER, W.; CHAO, A.; KATZ, L. A. Diversity and geographic distribution of ciliates (Protista: Ciliophora). *Biodiversity and Conservation*, v. 17, p. 345–363, fev. 2008.

FOISSNER, W.; STRÜDER-KYPKE, M.; VAN DER STAAY, G. W. M.; MOON-VAN DER STAAY, S.-Y.; HACKSTEIN, J. H. P. Endemic ciliates (Protozoa, Ciliophora) from tank bromeliads (Bromeliaceae): a combined morphological, molecular, and ecological study. *European Journal of Protistology*, v. 39, n. 4, p. 365–372, 2003.

GAO, F.; WARREN, A.; ZHANG, Q.; GONG, J.; MIAO, M.; SUN, P.; XU, D.; HUANG, J.; YI, Z.; SONG, W. The all-data-based evolutionary hypothesis of ciliated protists with a revised classification of the phylum Ciliophora. *Scientific Reports*, v. 6, art. 24874, 2016.

GRECZEK-STACHURA, M.; RAUTIAN, M.; TARCZ, S. *Paramecium bursaria*—A complex of five cryptic species: mitochondrial DNA COI haplotype variation and biogeographic distribution. *Diversity*, v. 13, n. 11, p. 589, nov. 2021.

HAITES, R. E.; WATT, A. E.; RUSSELL, D. A.; BILLMAN-JACOBE, H. Infection of slugs with theronts of the ciliate protozoan, *Tetrahymena rostrata*. *Microorganisms*, v. 9, n. 9, art.

1970, 2021.

HU, X. Ciliates in extreme environments. *The Journal of Eukaryotic Microbiology*, v. 61, n. 4, p. 410–418, jul./ago. 2014.

KEILIN, D. On a new ciliate: *Lambornella stegomyiae* n.g., n.sp., parasitic in the body-cavity of the larvae of *Stegomyia scutellaris* Walker (Diptera, Nematocera, Culicidae). *Parasitology*, v. 13, n. 3, p. 216–224, ago. 1921.

KHER, C. P.; DOERDER, F. P.; COOPER, J.; IKONOMI, P.; ACHILLES-DAY, U.; KÜPPER, F. C.; LYNN, D. H. Barcoding Tetrahymena: discriminating species and identifying unknowns using the cytochrome c oxidase subunit I (cox-1) barcode. *Protist*, v. 162, n. 1, p. 2–13, jan. 2011.

KOTYK, M.; BOURLAND, W. A.; SOVIŠ, M.; MÉNDEZ-SÁNCHEZ, D.; ŠKALOUD, P.; KOTYKOVÁ VARADÍNOVÁ, Z.; ČEPičKA, I. Morphology matters: congruence of morphology and phylogeny in the integrative taxonomy of Clevelandellidae (Ciliophora: Armophorea) with description of six new species. *Zoological Journal of the Linnean Society*, v. 202, p. 1–51, 2023.

KUMAR, S.; FOISSNER, W. High cryptic soil ciliate (Ciliophora, Hypotrichida) diversity in Australia. *European Journal of Protistology*, v. 53, p. 61–95, abr. 2016.

LAMBORN, W. A. A protozoon pathogenic to mosquito larvae. *Parasitology*, v. 13, n. 3, p. 213–215, ago. 1921.

LIU, W.; JIANG, J.; XU, Y.; PAN, X.; QU, Z.; LUO, X.; EL-SEREHY, H. A.; WARREN, A.; MA, H.; PAN, H. Diversity of free-living marine ciliates (Alveolata, Ciliophora): faunal studies in coastal waters of China during the years 2011–2016. *European Journal of Protistology*, v. 61, part B, p. 424–438, 2017.

LYNN, D. H.; DOERDER, F. P. The life and times of Tetrahymena. In: LYNN, D. H.; DOERDER, F. P. (Eds.). *Methods in Cell Biology*, v. 109. San Diego: Elsevier, 2012. p. 9–27.

LYNN, D. H. Ciliophora. In: ARCHIBALD, J. M.; SIMPSON, A. G. B.; SLAMOVITS, C. H.; MARGULIS, L.; MELKONIAN, M.; TAYLOR, M. F. J. R.; GRADSTEIN, S. R. (Ed.). *Handbook of the Protists*. Cham: Springer, 2017. p. 679–730.

LYNN, D. H. The ciliated protozoa: characterization, classification, and guide to the literature. New York: Springer, 2008.

MAYÉN-ESTRADA, R.; DIAS, R. J. P.; RAMÍREZ-BALLESTEROS, M.; ROSSI, M.; REYES-SANTOS, M.; DURÁN-RAMÍREZ, C. A.; CRUZ-JIMÉNEZ, G. Ciliates as symbionts. In: PEREIRA, L.; GONÇALVES, A. M. (Eds.). *Plankton Communities*. London: IntechOpen, 2022.

MIECZAN, T.; GÓRNIAK, D.; ŚWIĄTECKI, A.; ZDANOWSKI, M.; TARKOWSKA-KUKURYK, M. The distribution of ciliates on Ecology Glacier (King George Island, Antarctica): relationships between species assemblages and environmental parameters. *Polar Biology*, v. 36, p. 249–258, 2013.

MUSPRATT, J. Note on a ciliate protozoon, probably *Glaucoma pyriformis*, parasitic in culicine mosquito larvae. *Parasitology*, v. 38, n. 1–2, p. 107–110, jan. 1947.

MUSPRATT, J. Observation on the larvae of tree-hole breeding Culicini (Diptera: Culicidae) and two of their parasites. 2009.

OLIVEIRA, A. S.; GÓMEZ-HERNÁNDEZ, C.; REZENDE-OLIVEIRA, K. *Balantidium coli* infection, immune status and comorbidities: literature review. *Journal of Tropical Pathology*, v. 50, n. 4, p. 265–284, out./dez. 2021.

SIMON, E. M.; NANNEY, D. L.; DOERDER, F. P. The *Tetrahymena pyriformis* complex of cryptic species. *Biodiversity and Conservation*, v. 17, n. 2, p. 365–380, 2008.

STRÜDER-KYPKE, M. C.; WRIGHT, A. D. G.; JEROME, C. A.; LYNN, D. H. Parallel evolution of histophagy in ciliates of the genus *Tetrahymena*. *BMC Evolutionary Biology*, v. 1, n. 1, p. 5, 2001.

STRÜDER-KYPKE, M. C.; LYNN, D. H. Comparative analysis of the mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I (COI) gene in ciliates (Alveolata, Ciliophora) and evaluation of its suitability as a biodiversity marker. *Systematics and Biodiversity*, v. 8, n. 1, p. 131–148, 25 mar. 2010.

VELHO, L. F. M.; LANSAC-TÔHA, F. M.; BUOSI, P. R. B.; MEIRA, B. R.; CABRAL, A. F.; LANSAC-TÔHA, F. A. Structure of planktonic ciliates community (Protist, Ciliophora) from an urban lake of southern Brazil. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, v. 35, n. 4, p. 531–539, out./dez. 2013.

WANG, Z.; CHI, Y.; LI, T.; SONG, W.; WANG, Y.; WU, T.; ZHANG, G.; LIU, Y.; MA, H.; SONG, W.; AL-RASHEID, K. A. S.; WARREN, A.; LU, B. Biodiversity of freshwater ciliates (Protista, Ciliophora) in the Lake Weishan Wetland, China: the state of the art. *Marine Life Science & Technology*, v. 4, n. 4, p. 429–451, 2022.

XIONG, J.; YANG, W.; CHEN, K.; JIANG, C.; MA, Y.; CHAI, X.; YAN, G.; WANG, G.; YUAN, D.; LIU, Y.; BIDWELL, S. L.; ZAFAR, N.; HADJITHOMAS, M.; KRISHNAKUMAR, V.; COYNE, R. S.; ORIAS, E.; MIAO, W. Hidden genomic evolution in a morphospecies—The landscape of rapidly evolving genes in *Tetrahymena*. *PLOS Biology*, v. 17, n. 6, e3000294, 2019.

CAPÍTULO 1

Revisão histórica e taxonômica sobre ciliados do gênero *Lambornella* Keilin, 1921 (Ciliophora, Tetrahymenidae)

Resumo

A contínua produção de publicações científicas pode causar ruído no entendimento científico dos dados, gerando dúvidas consideráveis ao longo do tempo. Para identificar tais questões, é necessário movimentar-se em direção ao passado e investigar a literatura histórica. Seguir este caminho abre espaço para obter dados já estabelecidos e informações negligenciadas, como destacar os pontos que carecem de maior atenção. Com o objetivo de traçar o estado da arte sobre o conhecimento produzido para ciliados do gênero *Lambornella*, foi realizada uma revisão histórica sistemática da produção científica. A análise buscou identificar as principais áreas temáticas exploradas ao longo das décadas, com especial atenção às descrições morfológicas, a fim de contribuir para o esclarecimento da classificação taxonômica do gênero e identificar as principais temáticas exploradas ao longo que mais de 100 anos de estudos para o grupo.

Palavras-chave: Revisão Histórica, Revisão Morfológica, *Lambornella stegomyiae*, *Lambornella clarki*, *Lambornella trichoglossa*.

Introdução

A evolução científica é um processo histórico e inevitável diante do progresso da humanidade. Tal como a pressão seletiva do ambiente natural, inúmeros acontecimentos modularam a ciência ao longo da história, onde cada período remete as influências ali presentes. Assim, cada ideia, conceito e teoria passam por um processo de seleção conceitual, filtrados pelas demandas referentes ao momento vigente. A ciência é, a partir de tais conceitos, um conceito histórico, mutável e adaptativo. Todo o conteúdo gerado pelas indagações da comunidade científica pode ser sustentado diante de evidências aceitas pela unanimidade ou refutados de igual maneira, descartados em reflexo de uma incapacidade de se sustentar à luz das provas da realidade. Assim, o conhecimento científico, em sua totalidade, é produto de um processo dinâmico de seleção e variação, no qual novas proposições coexistem e competem com concepções estabelecidas. Para identificar as nuances explícitas e implícitas deste discurso, se faz necessário observar os critérios e circunstâncias através de trabalhos de investigação histórica a fim de compreender os significados atribuídos às teorias. Tomando parâmetro das influências conceituais envolvidas, é possível compreender abordagens, reinterpretar argumentos e discernir o que são fatores externos do conhecimento propriamente dito. Tal dinâmica é particularmente evidente nas discussões cladísticas e nas redefinições taxonômicas dos seres vivos, campo no qual a constante consulta aos referenciais históricos se articula às tendências metodológicas contemporâneas, compondo um ambiente de permanente revisão e reconstrução conceitual (Hull, 1990).

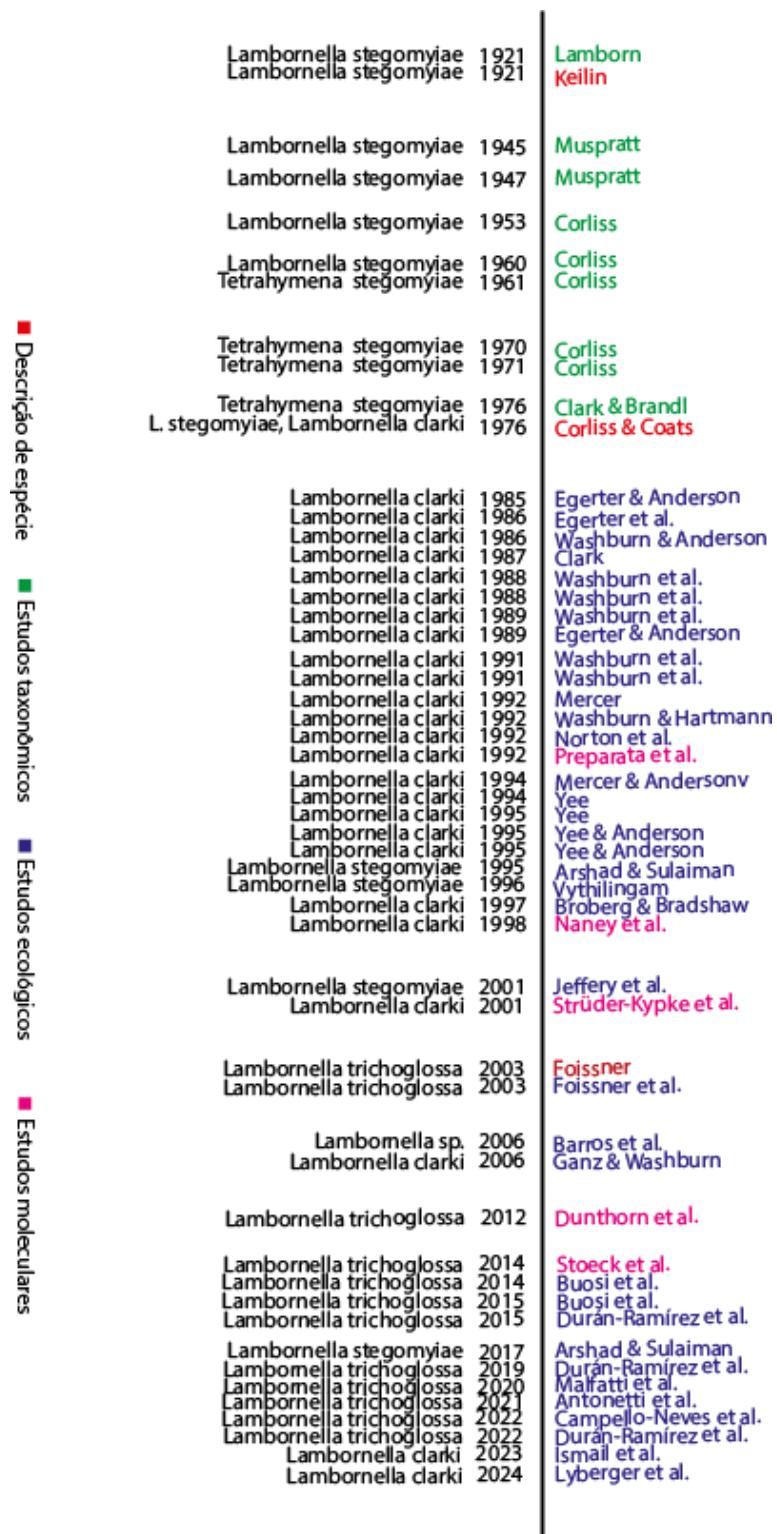
Tais reflexões mostram-se ainda mais impactantes diante da ótica das ciências naturais, em que continuamente as teorias são questionadas, interpretadas e propostas. Para a protozoologia este fenômeno é ainda mais notório, visto que o conhecimento destes microrganismos está sempre diante de indagações na medida em que as novidades tecnológicas surgem. Vemos claramente este movimento com as ciências moleculares, que trouxeram uma nova visão sobre o que se entendia pelas relações filogenéticas (Warren et al., 2017). Assim, ao encarar o passado nesta investigação crítica e histórica, é possível analisar e compreender a evolução das hipóteses e os contextos nela inseridas (Gao et al, 2016). Juntamente a tal proposta, a natureza dos fenômenos observados pode ter uma nova interpretação, de forma a avaliar a robustez e a replicabilidade dos fatos (Cleland, 2011; Page et al., 2020). A

compreensão do embasamento da comunidade científica diante dos acontecimentos no meio natural evidencia, de mesmo modo, as lacunas conceituais e limitações metodológicas que fornecem informações valiosas para adotar novos mecanismos de investigação e pesquisa (Zammito, 2011).

Com uma visão amplificada pela investigação prévia, a ciência como um todo assume um papel heurístico, acompanhada de um senso crítico aprimorado pela compreensão do discurso envolvido no desenvolvimento do conhecimento científico. Na prática, essa articulação entre o conhecimento histórico e os avanços técnico-científicos contemporâneos revela-se indispensável, sobretudo em áreas caracterizadas por grande diversidade taxonômica e complexidade metodológica. Ao adotar a revisão histórica além de um simples exercício acadêmico e colocá-la em um patamar metodológico aplicado, permite-se adquirir uma visão estratégica capaz de organizar questões taxonômicas complexas e ampliar o entendimento dos fatos em grande profundidade analítica. (Cedrola et al., 2020; Cedrola et al., 2021; Kotyk et al., 2023).

Nesse cenário, o presente trabalho propôs-se a realizar uma revisão abrangente sobre o gênero *Lambornella* Keilin, 1921, cuja trajetória histórica e produção científica permanecem consideravelmente restritas. Além da revisão histórica, apresentamos uma revisão taxonômica contendo dados da morfologia e sistemática do gênero. Trata-se de um gênero descrito há pouco mais de um século e, ainda assim, carente de investigações sistemáticas e atualizações conceituais. A escassez de estudos dedicados a *Lambornella*, associada à persistência de lacunas relevantes quanto à biologia, ecologia, distribuição e posicionamento filogenético de suas três espécies reconhecidas, torna indispensável a retomada crítica de sua literatura. Partindo desta lógica, os trabalhos produzidos referentes ao gênero *Lambornella* até o ano de 2024 foram analisados e categorizados, conforme mostra a ilustração adiante. Os artigos científicos disponíveis foram alocados em três grandes áreas (estudos taxonômicos, estudos ecológicos e estudos moleculares), além de devidamente explorados quanto aos métodos empregados (**Figura 1**).

Figura 1: Linha temporal das publicações relativas das espécies do gênero *Lambornella*. A linha do tempo foi categorizada por cores, indicando a natureza do trabalho. O nome do autor principal é evidenciado logo após o ano e a espécie analisada. Em vermelho, artigo referente à descrição de espécie. Em verde, trabalhos referentes à taxonomia do grupo. Em azul, produções de teor ecológico. Em rosa, publicações de análises moleculares. Dados referentes da primeira publicação até 2024.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Revisão Histórica (1921-2024)

O gênero *Lambornella* foi proposto no estudo de Keilin (1921). O nome do gênero foi escolhido em homenagem ao Dr. W. A. Lamborn. No mesmo ano, mas anteriormente à publicação do gênero, Lamborn (1921) registrou um protozoário patogênico em larvas de mosquitos na Malásia, após o autor constatar larvas de mosquitos da espécie *Stegomyia scutellaris* (Diptera, Nematocera, Culicidae), atualmente descrito como *Aedes (Stegomyia) scutellaris* Walker, 1859, em tons pálidos, diferente do habitual. Keilin (1921) descreve o novo gênero e sua espécie representante, *Lambornella stegomyiae*, na cavidade corporal de larvas de *A. scutellaris*, apresentando descrições morfológicas e modo de reprodução do ciliado.

Não ocorreram publicações no período de 1921 à 1944. Muspratt (1945) investigou a composição dos fitotelmos da árvore mongongo, no território da Zâmbia. Ele apresenta um protozoário parasito, a qual suspeita ser *L. stegomyiae*. Além de relatar a mortalidade de larvas de mosquito, o autor propõe o método de infecção por ingestão ou acesso pela papila anal. Muspratt (1947) em seguida apresenta o mecanismo de saída deste parasito via rompimento da papila anal em larvas de mosquitos culicídeos.

Para o período da década de cinquenta, Corliss (1953) propõe a organização taxonômica de ciliados himenostomados holótricos e reforça a necessidade do gênero *Lambornella*, visto a peculiaridade da formação de cistos cuticulares. Já em 1960, Corliss afirma que os ciliados vistos por Muspratt (1945; 1947) são a mesma espécie. Ademais, o autor discute que o gênero *Lambornella* não é válido, incorporando-o ao gênero *Tetrahymena* e transformando *Lambornella stegomyiae* em *Tetrahymena stegomyiae*. Corliss (1970) segue com seus trabalhos, organizando gênero *Tetrahymena* em quatro grupos, onde a então nomeada *T. stegomyiae* enquadraria-se no complexo piriforme. Um ano mais tarde Corliss (1971) executa técnicas de impregnação por prata em representantes tetrahimenídeos, a qual demonstra os ciliados apresentados por Keilin (1921) e Muspratt (1945; 1947) são *Tetrahymena stegomyiae*, portanto organismos cogenéricos.

Após identificarem processos de melanização em mosquitos de *Aedes sierrensis* Ludlow, 1905, Clark e Brandl (1976) apresentam um ciliado que se

encontrava dentro do corpo destes insetos, a qual não foram capazes de identificar. Posteriormente, Corliss e Coats (1976) identificaram este organismo como *Lambornella clarki*, e revalidaram o gênero *Lambornella* dado a capacidade do encistamento cuticular e a habilidade de penetrar a hemocele destes hospedeiros culicídeos.

Egerter e Anderson (1985) relataram infecções de *L. clarki* e evidenciaram a capacidade de castração do trato reprodutivo de fêmeas de *A. sierrensis*. No ano seguinte, Egerter, Anderson e Washburn (1986) notificaram a dispersão deste ciliado por oviposição de fêmeas infectadas e pela morte do mosquito em corpos d'água, além de apresentaram a perda de longevidade dos hospedeiros quando infectados.

Washburn e Anderson (1986) mostraram que a distribuição de *L. clarki* não é limitada por condições ambientais dos seus habitats fitotelmais e tampouco por atributos de geolocalização e que sua presença ocorre pela oportunidade de colonização. Na ausência de condições adversas, o ciliado apresenta um hábito de vida-livre, porém segue altamente patogênica quando em contato com seu hospedeiro. Em estudo que analisava a infecção simultânea de *L. clarki* e *Pythiaceae*, um fungo parasito oportunista, Washburn et al. (1988a) comprovaram que os danos gerados pela invasão do ciliado servem de abertura para o fungo e, quando em ação conjunta, aumenta a fatalidade de maneira significativa. Os autores também levantaram a hipótese do hábito parasitário de *L. clarki* como resposta evolutiva da pressão predatória das larvas de mosquitos culicídeos, organismos estes que consomem ativamente microrganismos em seus habitats aquáticos (Washburn et al., 1988b).

Quando infectados por *L. clarki*, os mosquitos da espécie *A. sierrensis* tem seu comportamento alterado. Egerter e Anderson (1989) demonstraram a lentidão no manejo do fascículo perfurante na alimentação e na redução da agressividade de fêmeas fertilizadas. No mesmo ano Washburn, Anderson e Mercer (1989) revelaram que a taxa de dispersão e sobrevivência deste ciliado está diretamente ligada no percentual de disseminação dos mosquitos, visto que as chances de alcançar novos habitats está diretamente ligado na movimentação dos hospedeiros.

A dinâmica populacional de *A. sierrensis* sofre efeito na presença do parasitismo causado por *L. clarki*, onde o ciliado aumenta a mortalidade em pequenas

populações. Washburn, Anderson e Mercer (1991) demonstraram que em populações de alta densidade, *Lambornella* se favorece pelas proporções aumentada de seu hospedeiro, ao passo que é desfavorecida pela alta taxa predatória das larvas de mosquito. Esta taxa predatória foi investigada no mesmo ano, em que os autores indicaram que quanto maior a predação feita pelas larvas de mosquitos culicídeos, maior será a presença do ciliado na forma de vida parasitária (Washburn, Mercer e Anderson, 1991).

Ao isolarem o protozoário, Norton, Washburn e Omi (1992) relataram que *Lambornella clarki* mostrou-se como um organismo cabível de manutenção em meios de cultivo, podendo estabelecido em meio axênico e, com melhores resultados, em meio monoxênico. No trabalho realizado por Washburn e Hartmann, descobriu-se que o parasito consegue penetrar o corpo do hospedeiro, porém é incapaz de finalizar seu ciclo de vida (1992). No mesmo ano Preparata e colaboradores (1992) trouxeram a primeira sequência da região D2 do gene 23s de *Lambornella clarki*, bem como outros protistas. Ao realizarem árvores de reconstrução filogenética, *Lambornella* posicionou-se próxima de *Tetrahymena*, sendo distinto o suficiente para reforçar sua posição como um gênero.

Referente ao controle químico de taninos nos fitotelmhos de árvores, Mercer e Anderson (1994) mostraram que grandes doses deste componente são fatais para a forma de vida livre de *L. clarki*, que adota sua forma parasitária como forma de defesa e sobrevivência. No ano seguinte, Yee (1995) apresenta como este ciliado, na sua forma parasitária, alteram o comportamento de fêmeas fertilizadas de *A. sierrensis*. Estes mosquitos não mais exploram o ambiente no período anterior à ovoposição, não fazem manutenção das patas e abdômen e tem a velocidade de ovoposição acelerada quando infectados. O comportamento de voo de fêmeas também tem seu tempo total reduzido em decorrência da ação do parasito, fenômeno visto por Yee e Anderson (1995a), onde também apresentaram que, embora este tempo total de voo entre fêmeas infectadas e não infectadas exista, não é possível afirmar ser uma consequência direta da ação do ciliado. Aponta-se que *Lambornella* possa consumir nutrientes de seu hospedeiro, mas não aqueles relativos a sua necessidade de dispersão através do voo (Yee e Anderson, 1995b).

Ao investigar o potencial controle biológico de *Lambornella clarki*, Washburn

(1995) analisou a mortalidade de mosquitos emergentes de *A. sierrensis* diante do impacto de *L. clarki* sobre sua população. Este impacto depende do nível de recursos do habitat que, quando abundante, o ciliado atua de forma aditiva na taxa de mortalidade e causa a redução do número de mosquitos. Já nos espaços com recursos limitados, o parasito pode exercer função compensatória ou depensatória, a depender das variáveis locais.

Diferentemente da relação de especificidade de *Lambornella clarki* com seu hospedeiro, *L. stegomyiae* revelou alta adaptabilidade ao atacar, de maneira fatal, as espécies de mosquito *Aedes albopictus* e *Aedes aegypti*. Em ensaio produzido por Ashard e Sulaiman (1995), observou-se ainda que este ciliado, quando na forma parasitária, mata seu hospedeiro larval ainda nos primeiros estágios de vida.

Broberg e Bradshaw (1997) investigaram a variação genética de *A. sierrensis* para avaliar possíveis resistentes adquiridas diante de seu parasito oportunista, *L. clarki*. Os resultados mostraram que não há correlação entre resistência e exposição ao longo das gerações.

Em 1998, Naney e colaboradores trouxeram novas sequências da região D2 do gene 23s de *Lambornella clarki* e outros protistas, buscando relevar espécies crípticas. As reconstruções filogenéticas mostraram esta sequência associada à *Tetrahymena corlissi*, além de proximidade entre os grupos *Glaucoma* e *Colpidium*. Seguindo os estudos de reconstruções filogenéticas, Strüder-Kypke et al. (2001), usando o marcador 18Sr-DNA, evidenciamram que a histofagia no gênero *Tetrahymena* ocorreu várias vezes e de maneira independente ao longo da evolução dos Tetrahymenidae. Nesse estudo um novo sequenciamento para *Lambornella sp.* foi apresentado, tendo se agrupado como espécie irmã de *Tetrahymena empidokyria*.

O gênero *Lambornella* teve sua terceira espécie descrita em 2003. Foissner (2003) descreveu *Lambornella trichoglossa*, com uma minuciosa caracterização morfológica e ressaltou que o novo táxon difere das espécies congêneres por não apresentar hábito parasitário em nenhum momento do ciclo de vida e viver exclusivamente em fitotelmos bromelícolas. Foissner et al. (2003), em estudo mais amplo sobre ciliados bromelícolas, apontou que há um forte indício de correlação evolutiva entre espécies fitotelmais e o surgimento das bromélias.

O trabalho de Ganz e Washburn (2006) relatou a adaptação local de *L. clarki*,

influenciada por sua alta virulência e ciclo de vida adaptável. Apresenta-se uma taxa de migração do ciliado menor que a de seu hospedeiro, possibilitando ajustes diante das condições locais. Em estudo que buscou compreender a influência da verticalização fêmeas fertilizadas de *A. sierrensis*, Mercer, Washburn e Anderson (2010) constaram homogeneidade nos estratos e ausência de influência de *L. clarki* para os mosquitos, com prevalência de apens 23,3% do ciliado nos hábitats.

Retomando ao estudo dos endemismos, Dunthorn et al. (2012) analisaram o ambiente fitotelmal bromelícola a nível molecular utilizando sequências do marcador 18Sr-DNA para realizar reconstruções filogenéticas. Tal como *Lambornella trichoglossa*, organismos que se estabelecerem neste habitat passam por intenso efeito de especiação por influência das peculiaridades do ambiente.

Ao utilizar de sequenciamento das regiões D1-D2 do gene LSU-rDNA, Stoeck, Przybos e Dunthorn (2014) mostraram que este método apresenta baixa variação intraespecífica e alta variação interespecífica para ciliados, a qual se insere os dados de *Lambornella* sp.

Partindo de um viés mais ecológico, Buosi et al. (2014) mostraram que há maior diversidade de ciliados fitotelmais em estação de estiagem e que bromélias próximas do rio apresentam espécies deste habitat, aplicando a mesma lógica para as plantas próximas ao solo.

L. trichoglossa demonstra potencial de bioindicador das condições ambientais, dada sua relação com a quantidade de água e nutrientes. No ano seguinte, os mesmos autores observaram efeito contrário: a maior diversidade deste estudo ocorreu em estação chuvosa, revelando a dependência do fator hídrico para a comunidade fitotelmal. Entre os organismos citados, notifica-se *L. trichoglossa*. Ainda em 2015, Durán-Ramírez et al. (2015) apresentaram o levantamento de ciliados fitotelmais bromelícolas do México via identificação morfológica, onde *L. trichoglossa* foi encontrada em diferentes espaços amostrais. Assumindo a heterogeneidade destas comunidades, a presença desta *Lambornella* sugere forte tolerância ambiental. Novos registros fotográficos de *Lambornella stegomyiae* foram apresentados por Sulaiman e Arshad (2017), juntamente do relato de uma forma ameboide no desenvolvimento deste ciliado.

Em novo trabalho realizado no México, Durán-Ramírez et al. (2019)

realizaram o levantamento de ciliados bromelícolas por técnicas morfológicas, encontrando *Lambornella* sp. na maioria dos ambientes amostrais. A composição das espécies não ocorre de maneira aleatória, sendo modulada pelas características ambientais do fitotelmo.

Ao avaliar a influência da altitude em comunidades eucarióticas fitotelmais, Malfatti, Ferreira e Utz (2020) mostram maior riqueza e diversidade alfa em comunidades de elevação intermediária, com diversidade beta com maior taxa de substituição em altitudes inferiores e homogeneidade em superiores. *Lambornellha trichoglossa* foi mais abundante em altitudes mais baixas, o que sugere maior complexidade ecológica para espécies especializadas.

Em 2021, Antonetti, Malfatti e Utz analisaram novas comunidades de fitotelmos bromelícolas identificaram correlação positiva entre a riqueza de espécies com a temperatura da água e quantidade de bromélias. *L. trichoglossa* foi encontrada em diversos extratos, sugerindo ampla tolerância ecológica e capacidade de dispersão.

Um amplo levantamento de ciliados foi feito por Campello-Nunes et al. (2022) no território do Chile, utilizando de técnicas morfológicas para a identificação destes organismos. Representantes de *Lambornella* sp. foram encontradas. No mesmo ano, Durán-Ramírez et al. (2022) retornam com seus estudos na região do México, onde informaram maior riqueza de ciliados em regiões montanhosas nebulares. O gênero *Lambornella* foi registrado com representante *Lambornella* sp. e visto em área de floresta montanhosa nebulosa e floresta tropical semidecídua.

Após ensaios com controle de temperatura, Ismail et al. (2023) confirmaram que *L. clarki* possui adaptação térmica local, mostrando pico de infecção com temperatura inferior ao seu padrão de crescimento livre. Ao correlacionar esta informação com o cenário de mudanças climáticas, a interação ciliado-temperatura deve ser investigada mais a fundo. Lyberger e colaboradores (2024) aprofundam nesta questão e encontra a mesma situação em seu ensaio. Adicionalmente, relatou que a forma parasitária não apresenta adaptação térmica local, fenômeno visto pela forma de vida-livre.

Revisão Taxonômica

Conforme visto anteriormente na revisão histórica, o gênero *Lambornella* ainda se mostra como um grupo que necessita maior investigação em diversos aspectos, tal como o universo taxonômico. A escassez de estudos morfológicos mais detalhados das espécies *L. stegomyiae* e *L. clarki* dificulta o processo de delimitação morfológica para o gênero, bem como sua validade taxonômica. Entretanto, com base nas descrições de Keilin (1921) e Corliss e Coats (1976), juntamente com os esforços de Foissner (2003), existe uma diagnose que diferencia *Lambornella* dos outros gêneros que compõe a família Tetrahymenidae.

As espécies do gênero *Lambornella*, em particular *Lambornella trichoglossa*, apresentam um conjunto distintivo de características morfológicas e estruturais que as interconectam. Um dos aspectos mais notáveis é a estrutura do aparato oral, que segue o padrão clássico dos ciliados da ordem Tetrahymenida. Este aparato é composto por três membranelas adorais: a membranela 1, que se destaca por ser mais longa e curva; a membranela 2, que possui uma curvatura sigmoidal notável; e a membranela 3, que é reduzida e apresenta apenas alguns corpos basais dispersos.

Adicionalmente, a membrana paraoral no gênero é contínua e ciliada, consistindo em uma única fila de cílios que contribui para a funcionalidade alimentar do organismo. Quando se examina o padrão ciliar, *Lambornella trichoglossa* se distingue por ter um número elevado de cinéias, geralmente cerca de 47, das quais algumas estão dispostas de forma pós-oral. Tal configuração é importante para a locomoção e alimentação do indivíduo, facilitando o seu desempenho em ambientes aquáticos.

Do ponto de vista morfológico, essas espécies geralmente apresentam um formato fusiforme ou claviforme, com o corpo se alargando na região pós-oral, onde se localiza um evidente elevado ventral. O vacúolo contrátil é frequentemente encontrado na parte média do corpo, refletindo a adaptação da célula a seu ambiente aquático.

Outro ponto crucial a ser destacado é a capacidade das *Lambornella* de produzir cistos de resistência, o que revela uma adaptação significativa para a sobrevivência sob condições adversas. Embora *Lambornella trichoglossa* não

produza cistos cuticulares característicos das espécies-irmãs, suas características morfológicas e funcionais sugerem uma boa capacidade de sobrevivência em meios de cultura, mesmo sem a presença de hospedeiros.

O ciclo de desenvolvimento das espécies do gênero *Lambornella* envolve a reorganização do aparato oral parental durante a divisão celular. Durante a divisão, as células formam *proter* e *opisthe*, e o aparato oral original passa por reestruturação. Em comparação com outras espécies do gênero *Lambornella*, esse processo resulta em fases não estomatosas, onde as novas células, como os terontes, não possuem um aparato oral completamente desenvolvido. Essa reorganização assegura que cada nova célula desenvolva seu próprio aparato oral funcional, permitindo a adaptação e alimentação em seu ambiente após a divisão, o que pode diferir em velocidade e complexidade em relação a outras espécies do gênero.

Essas semelhanças, tanto morfológicas quanto funcionais, desempenham um papel fundamental na compreensão da sistemática e evolução dentro do grupo, estabelecendo *Lambornella* como um gênero que, apesar de algumas divergências, mantém uma relação estreita com outras espécies em sua família.

A inserção de *Lambornella* dentro da família Tetrahymenidae é justificada pela presença de características morfológicas e ontogenéticas que alinham essa espécie com outras representantes do grupo. Primeiramente, *Lambornella trichoglossa* e seus congêneres compartilham uma estrutura oral típica da família Tetrahymenidae, a qual é composta por um aparelho oral ciliado, caracterizado pela organização específica das membranelas adorais, a presença de dicinéias e uma configuração complexa que permite suas interações com ambientes aquáticos.

Além disso, *Lambornella* apresenta um padrão de cinéias somáticas que é semelhante ao de outros membros da família, com um número elevado de cinéias pós-orais e um arranjo específico que sustenta a classificação entre os Tetrahymenidae. A ecologia de *Lambornella*, que inclui a habilidade de parasitar larvas de mosquito, também está alinhada com comportamentos observados em algumas espécies de *Tetrahymena*, que embora principalmente livres, têm também representantes com modos de vida parasitários.

A justificativa para a inclusão de *Lambornella* na família Tetrahymenidae é

ainda reforçada pela análise filogenética e pela morfologia do ciclo de vida, que apresenta sincronia na substituição do aparelho oral parental, um aspecto que foi observado nas outras espécies do grupo. Isso implica que, embora existam diferenças manifestas entre os gêneros, como a produção de cistos e o tipo de relação com seus hospedeiros, os traços fundamentais de morfologia e ciclo de vida sustentam a classificação de *Lambornella* dentro da família Tetrahymenidae.

Assim sendo, a combinação de características morfológicas, a similaridade funcional e as adaptações ecológicas observadas em *Lambornella* corroboram sua colocação na família Tetrahymenidae, refletindo tanto a diversidade quanto a complexidade evolutiva dentro das linhagens de ciliados. Assim, *Lambornella* representa uma variante que, apesar de suas especificidades, segue as diretrizes taxonômicas estabelecidas para os membros da Tetrahymenidae.

Apresentaremos as descrições de cada uma das três espécies do gênero *Lambornella*: *Lambornella stegomyiae* Keilin, 1921; *Lambornella clarki* Corliss e Coats 1976; *Lambornella trichoglossa* Foissner, 2003.

***Lambornella stegomyiae* Keilin, 1921**

A descrição a seguir é a compilação de dados taxonômicos descritos por Keilin, na publicação da apresentação da espécie, e a redescrição de Corliss e Coats, ao analisarem novos materiais deste ciliado.

Diagnose: Ciliado parasitário tetrahimenídeo. Corpo fusiforme (50 µm a 78 µm de comprimento, 20 µm a 30 µm de largura), com extremidade anterior conicamente mais acentuada. Ciliatura holótrica densa, com cerca de 30 cinéias e 3-5 meridianos pós-orais. Citóstoma pequeno, ventral, em formato de losango/levemente alongado. Macrônúcleo esférico (10 µm a 15 µm de diâmetro), com micronúcleo (2 µm a 4 µm) situado em uma depressão periférica. Protoplasma granular, com 1 a 4 vacúolos, apresentando tipicamente 2 poros de vacúolos contráteis subequatoriais. Reprodução por fissão transversal simples (mitose micronuclear seguida de amitose macronuclear). Estágio encistado cuticular hemisférico (30 µm a 40 µm de diâmetro) presente em larvas de mosquitos, notavelmente *Aedes* e *Culex* de orifícios de árvores na Malásia, Rodésia e África do

Sul.

Morfologia: Corpo de formato fusiforme quando vivo, apresentando-se oval e alongado após fixação. A extremidade anterior é mais fortemente cônica que a posterior. O comprimento corporal varia entre 50 μm e 78 μm (média de 78 μm) e a largura máxima entre 20 μm e 30 μm (média de 22 μm). A superfície corporal é uniformemente coberta por cílios dispostos densamente e arranjados longitudinalmente em estrias paralelas (cinéncias), com número modal de cinéncias em torno de 30. O ectoplasma não é claramente definido, e o endoplasma é muito granular. Possui 3-5 meridianos pós-oraís, com a sutura pré-oral à esquerda da linha central do corpo. Cílios caudais ou corpos basais polares nunca foram encontrados e/ou descritos.

O citóstoma é pequeno, de formato losango ou levemente mais longo que largo, localizado na posição ventral, interrompendo as estrias longitudinais da superfície do corpo, e aparece mais facilmente em visão de perfil. As bases das membranelas ciliares estão arranjadas predominantemente na parede posterior anterior da cavidade bucal.

O macronúcleo é esférico, com diâmetro variando entre 10 μm e 15 μm (diâmetro de cerca de 15 μm), e impregna-se profundamente com corantes básicos. O micronúcleo, com diâmetro entre 2 μm e 4 μm (cerca de 4 μm), aparece como um pequeno grânulo cromático, situado em uma depressão ou ranhura periférica do macronúcleo, podendo variar de uma posição marginal para uma central, embora sempre na região superficial.

O protoplasma é granular, contendo vacúolos basófilos que se impregnam com corantes básicos. O número de vacúolos varia entre 1 a 4. Tipicamente, apresenta 2 poros de vacúolos contráteis (alcance de 1-3), geralmente na meridiana do número 8 ou 9, com um localizado imediatamente acima do outro, encontrado geralmente a um nível subequatorial acima do terço inferior do corpo.

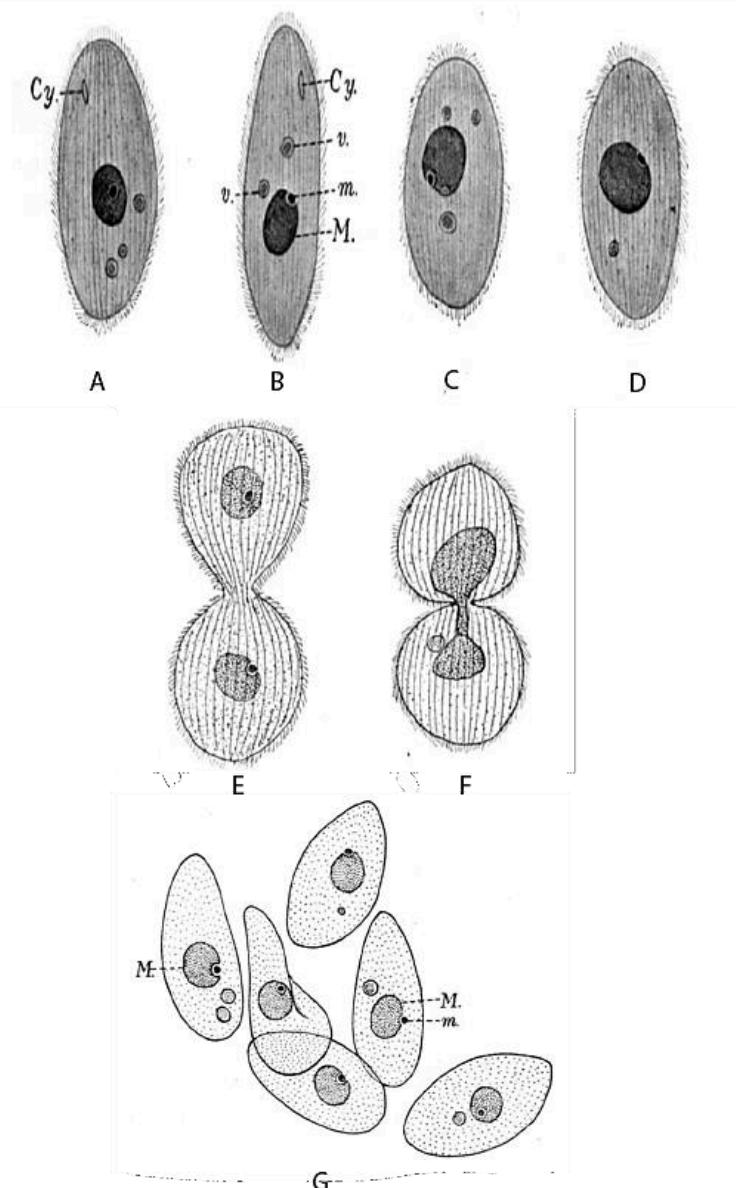
A reprodução ocorre por fissão transversal simples, dividindo o corpo em duas partes iguais. O micronúcleo se divide mitoticamente primeiro, e quando os micronúcleos filhos surgem, o macronúcleo sofre uma divisão amitótica, acompanhada por uma constrição do corpo e fissão do protoplasma. Conjugação não foi relatada.

O estágio encistado é visto na superfície externa da cutícula de larvas de

mosquitos. O cisto cuticular apresenta-se como uma pequena vesícula hemisférica e transparente, com diâmetro entre 30 μm e 40 μm e altura de cerca de 20 μm . A parede do cisto é fina, sem estruturas definidas. A massa protoplásrica, com diâmetro entre 22 μm e 32 μm , contém um macronúcleo contraído, com diâmetro de 8 μm a 10 μm , e uma depressão periférica onde se encontra o micronúcleo. Pode conter de 1 a 2 vacúolos basófilos de 3 μm a 8 μm de diâmetro.

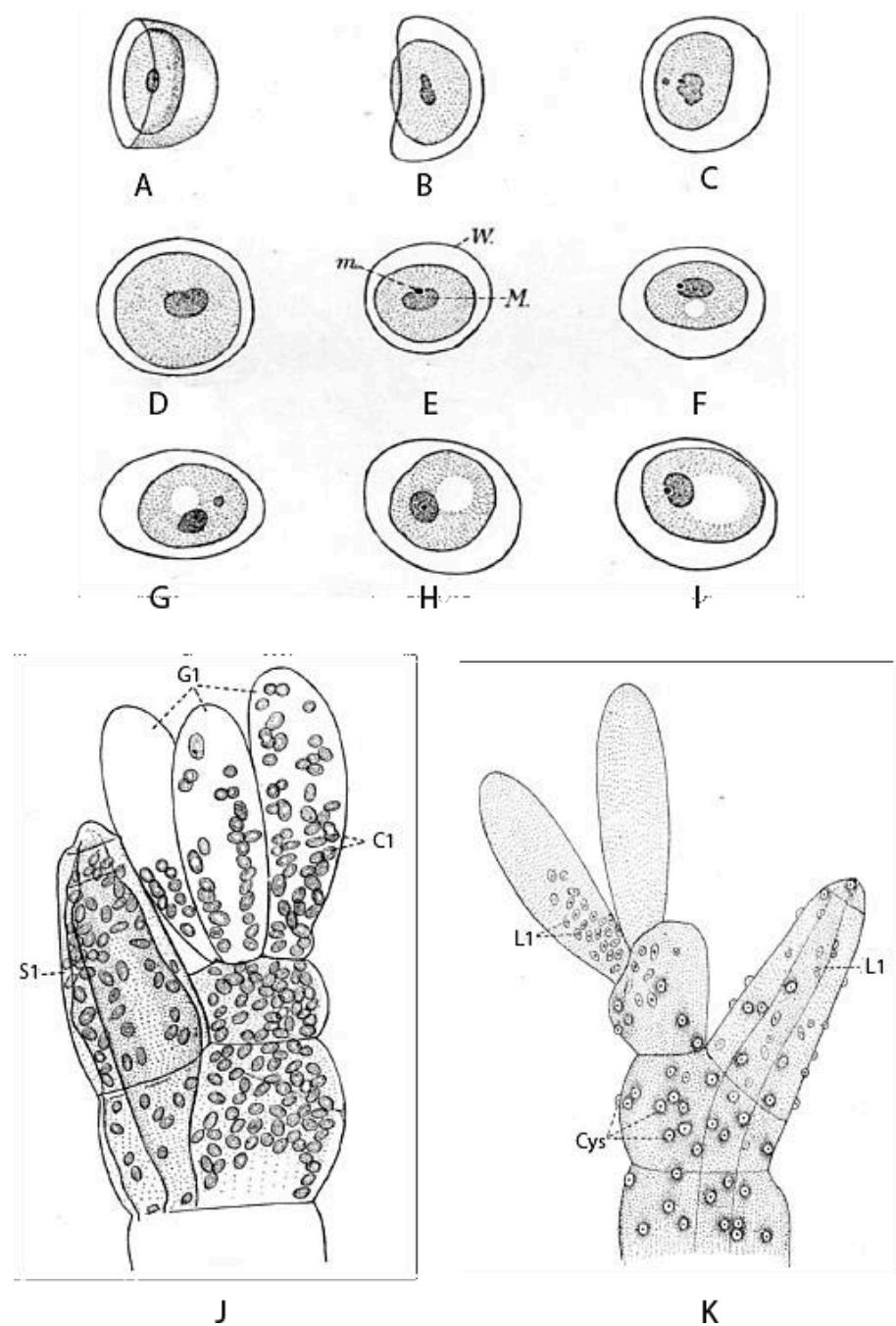
A espécie é encontrada parasitando instares larvais de mosquitos de orifícios de árvores tropicais, pertencentes a subgêneros como *Stegomyia*, e outras espécies de *Aedes* e *Culex* na Malásia, Rodésia e África do Sul. A infecção ocorre em diversas fases do desenvolvimento das larvas.

Figura 2 (A- G): Ilustração de *L. stegomyiae* vista em microscopia de luz. A-D: In vivo. E- F: Fissão binária ou divisão transversal. G: Macro e micronúcleos. Cy: citóstoma, m: micronúcleo, M: macronúcleo, v: vacúolo alimentar.



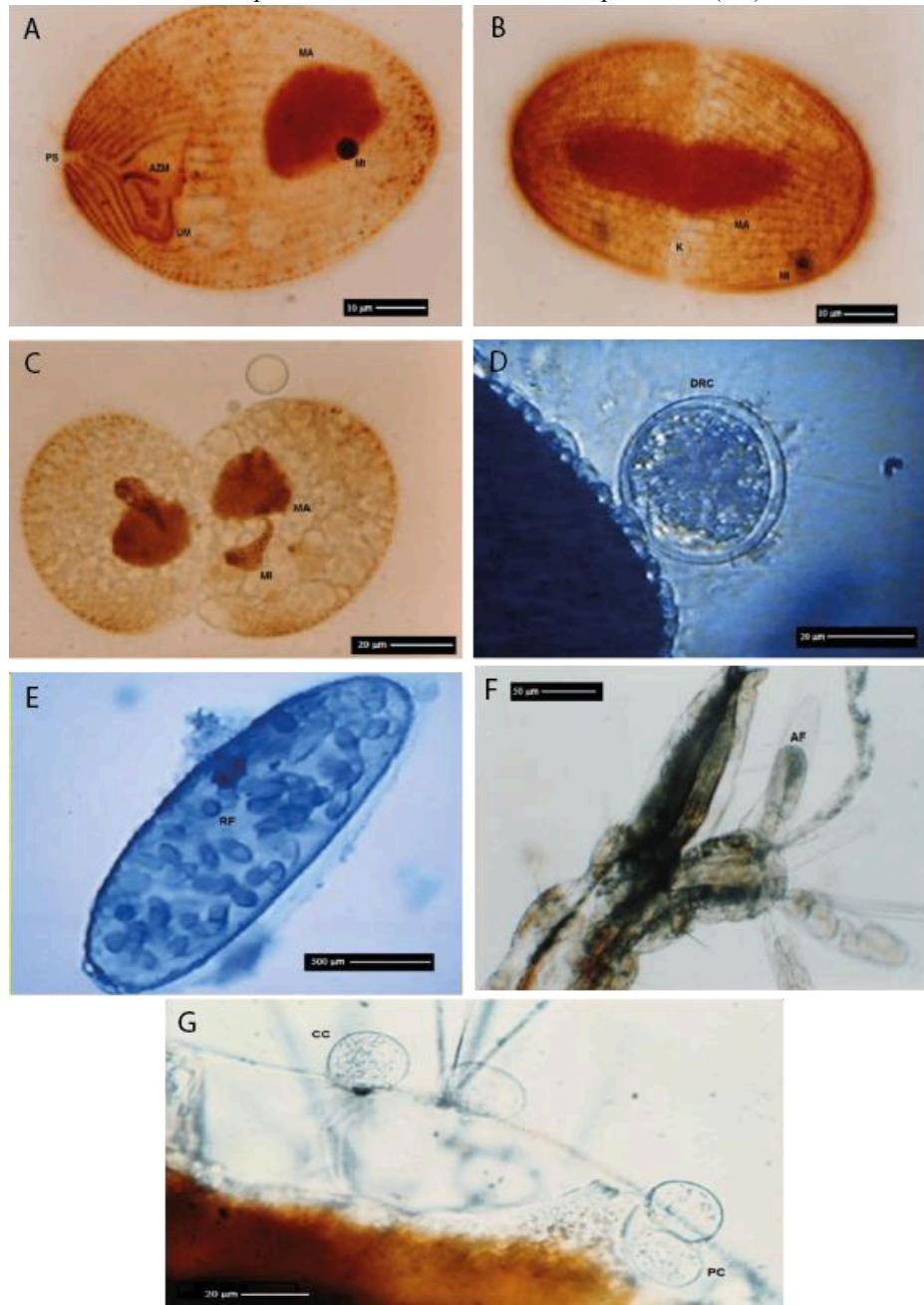
Fonte: adaptado de Keilin, 1921.

Figura 3. Ilustrações científicas de *L. stegomyiae*, evidenciando formas císticas e localização no hospedeiro. A-I: Diferentes formas dos cistos cuticulares de *L. stegomyiae*. J: Larva de *Stegomyia scutellaris* - extremidade posterior do corpo, sifão e brânquias mostrando, por transparência, um grande número de *L. stegomyiae*. Os contornos da larva são representados esquematicamente, todos os órgãos acessórios e pelos sensoriais sendo omitidos. K: Larva de *S. scutellaris* - extremidade posterior do corpo mostrando, por transparência, vários espécimes dos estágios ativos de *L. stegomyiae*. L: ciliado *L. stegomyiae* ativo, Cys: cisto, C1: cisto, L1: ciliado ativo, G1: branquia, S1: sifão, m. micronúcleo; M. macronúcleo; W. parede do cisto.



Fonte: adaptado de Keilin, 1921.]

Figura 4. Registros fotográficos de *L. stegomyiae* representando a morfologia corporal. A: Preparação de carbonato de prata de *L. stegomyiae*. Observa-se a membrana ondulante (UM), a zona adoral tripartida de membranelas (AZM), sutura pré-oral (PS), macronúcleo (MA) e micronúcleo (MI). B: Preparação de carbonato de prata de um trofone de *Lambornella stegomyiae* em processo de fissão binária. A fissão começou com a divisão do micronúcleo (MI) e foi seguida pela divisão do macronúcleo (MA). O plano de fissão corta transversalmente as cinéias (K). C: Preparação de carbonato de prata de um par de *L. stegomyiae* em conjugação. Observe os macronúcleos (MA) e os micronúcleos em divisão (MI). D: Cisto resistente à dessicção (DRC) de *L. stegomyiae* ao lado de um ovo de *A. albopictus*. E: Formas arredondadas (RF) de *L. stegomyiae* em um ovo de *A. albopictus*. F: Formas ameboides (AF) de *L. stegomyiae* na papila anal da larva de *A. albopictus*. G: Cistos cuticulares (CC) de *L. stegomyiae* na cutícula de uma larva de primeiro instar de *A. albopictus*. Observe o ciliado recém-penetrado (PC).

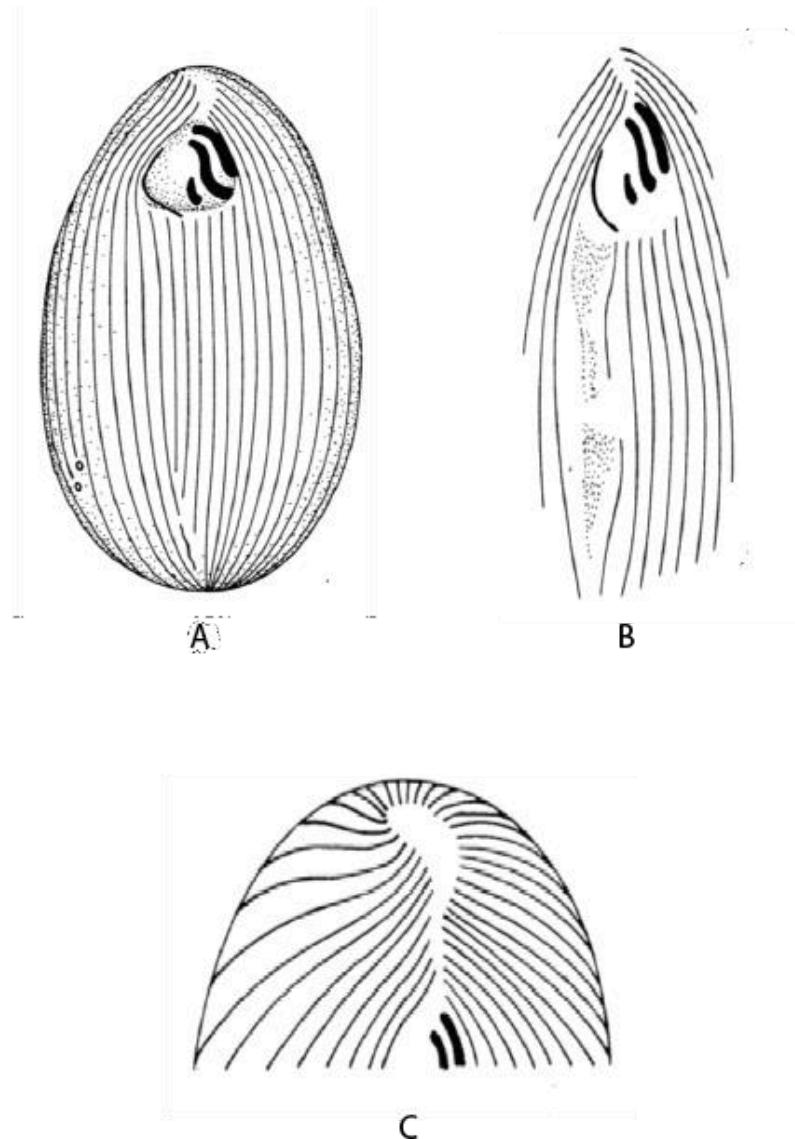


Fonte: adaptado de Sulaiman e Arshad, 2017.

***Lambornella clarki* Corliss e Coats, 1976**

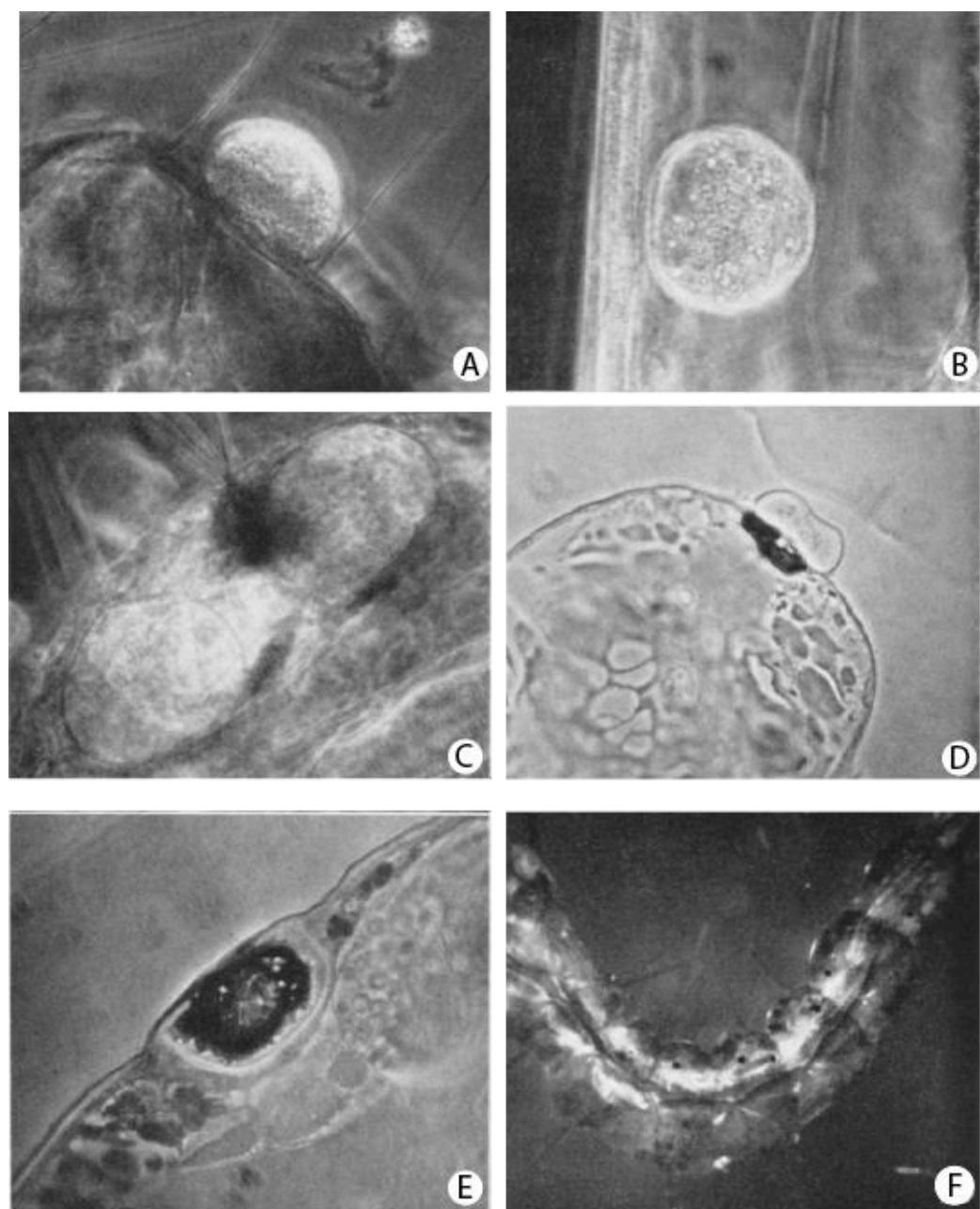
Diagnose: Corpo com tamanho médio de 71x45 μ m e geralmente de formato piriforme, embora ocasionalmente com cauda, número modal de cinéias 46, com alcance de 44-52; 6-9 meridianos pós-oraís, sendo 7 o número mais comum; sutura pré-oral diretamente no eixo corporal; usualmente 2-3 poros de vacúolos contráteis (alcance de 1-5), envolvendo meridianos 6-7, 7-8 ou 8-9, nenhum acima do outro ou paralelo, tipicamente no quarto inferior do corpo, abertura bucal com largura tão comprida quanto larga, especialmente evidente nos espécimes arredondados, com as bases das membranelas bucais mais ou menos paralelas umas com as outras, geralmente ligeiramente inclinado para o eixo do corpo e em maioria à esquerda da linha medial; cílio caudal nunca notificado, mas complexo do corpo basal polar é claramente presente em espécies impregnados por prata; diâmetro do macronúcleo cerca de 18 μ m, micronúcleo cerca de 5 μ m; cisto cuticular hemisférico com 46-60 μ m de diâmetro e 25-40 μ m de altura quando alojado no mosquito; numerosos pontos escuros (locais de melanização do tecido hospedeiro danificado e/ou ciliados mortos no ato da invasão) entre a cutícula e a epiderme, particularmente proeminente no pós-segundo instar larval (de *A. sierrensis* de orifícios no tronco de carvalho) característica de hospedeiros infectados; encontrado em hospedeiro de dois municípios não adjacentes da Califórnia.

Figura 5. A-C: *L. clarki* impregnada pela prata evidenciando a ciliatura somática e oral.. A: Vista ventral. B: Vista polar anterior revelando o padrão de convergência das cinéias somáticas na extremidade anterior do organismo. C. Estágio inicial de divisão do ciliado mostrando a estomatogênese paracinética no presumido opisthe e a substituição oral no proter. Campos de cinetossomos "erráticos" parecem, em ambos os casos, ter sido derivados de porções da cinécia estomatogenética.



Fonte: adaptado de Corliss e Coats, 1976.

Figura 6. A-F. Fotomicrografias de *L. clarki* em contraste de fase. A: Indivíduo recém-cistificado assentado sobre a cutícula do tórax de larvas de segundo instar do hospedeiro, *A. sierrensis*. B: Ciliado imediatamente após a penetração da cutícula da larva de segundo instar do hospedeiro mosquito. C: Produtos da divisão de um ciliado aparentemente preso entre a nova e a antiga cutícula na larva de mosquito em processo de muda. D: Contraste de fase de seção de material não corado, mas fixado, revelando cisto vazio na parte externa da cutícula do hospedeiro e o corpo melanizado, por baixo, do ciliado, que nunca conseguiu penetrar pela epiderme até a hemocele. E: Contraste de fase de seção de material não corado, mas fixado, mostrando o ciliado morto e melanizado logo abaixo da cutícula do hospedeiro (cisto vazio, normalmente na parte externa, perdido nesta seção específica). F: Fotografia de larva de quarto instar do mosquito hospedeiro *A. sierrensis* mostrando manchas negras (melanizadas) indicando os locais de tentativas de invasão mal-sucedidas pelo ciliado endoparasita *L. clarki* n. sp. Escalas: A: 440x, B: 550x, C: 550x, D: 280x, E: 550x, F: 20x.



Fonte: adaptado de Corliss e Coats, 1976.

***Lambornella trichoglossa* Foissner, 2003**

Diagnose: Tamanho em torno de 200x50 μm *in vivo*. Indistintamente fusiforme, geralmente ligeiramente sigmoidal e mais largo posturalmente devido a uma protuberância ventral. Aparelho nuclear pós-oral no segundo quarto da célula. Vacúolo contrátil próximo ao meio do corpo, geralmente 2 poros excretores ao fim da cinécia 6. Extrusos em formato de bastão, com dimensão média de 2.5x0.25 μm . Em média 47 linhas ciliares, a qual 8 são pós- orais, os outros encontram-se preoralmente ao longo de uma sutura espatular; distância entre cinécias 1 e n aumentado distintamente pós-oralmente; 1 cílio caudal; Membranelas adorais 1 curvada, membranelas 2 sigmoidal e direcionada para a direita, membranelas 3 diminuta. Linhas de prata projetando-se em loop entre os corpos basais.

Descrição: Espécies cultivadas 120-250x30-70 μm *in vivo*, geralmente próximo de 200x50 μm . Células impregnadas com protargol são cerca de 18% menores do que os espécimes impregnados com prata de Chatton-Lwoff, provavelmente devido a algum encolhimento durante a preparação; espécimes provenientes de culturas em declínio e do material transportado para Salzburgo são consideravelmente menores, a saber, 100–150 \times 25–35 μm *in vivo*. A vista lateral da forma é altamente característica, ou seja, ligeiramente sigmoidal e fusiforme, até distintamente claviforme devido a uma saliência pós-oral conspícuia; assim, a parte mais larga está no segundo quarto, estreitando-se gradualmente na região anterior e especialmente na posterior, formando uma cauda mais ou menos distinta; ambas as extremidades são estreitamente arredondadas; não achatadas. O aparato nuclear está invariavelmente localizado no segundo quarto da célula, ou seja, entre o aparato oral e a região média do corpo. O macrônúcleo é globular a ligeiramente elipsoidal, contendo um nucléolo reticulado *in vivo*, enquanto muitos nucléolos globulares, conectados por finos filamentos, são reconhecíveis em colorações com prata. O micronúcleo geralmente está em uma pequena indentação, raramente até 10 μm distante do macrônúcleo, medindo cerca de 5 μm de diâmetro *in vivo*. O vacúolo contrátil está ligeiramente acima ou distintamente acima da região média do corpo, em média 46% distante da extremidade anterior do corpo. Ele se forma a partir de pequenos vacúolos que se fundem durante a diástole; possui de um a três, em média dois, poros excretores minúsculos na extremidade de uma, raramente duas, fileiras

ciliares encurtadas, ou seja, nas cinéncias 5-7, geralmente na ciência 6, cuja linha meridiana de prata continua posteriormente. Os poros geralmente estão dispostos um após o outro, raramente em linha oblíqua ou transversal, ou dispersos. CórTEX liso, exceto na área oral direita e pré-oral, onde as cinéncias se estendem em sulcos superficiais. Extrusomos, provavelmente mucocistos, fixados ao córtex, numerosos, formam uma faixa densa entre cada duas fileiras ciliares e as mitocôndrias alongadas dispostas seriamente à direita das cinéncias; em forma de bastão com extremidades arredondadas, cerca de $2,5 \times 0,25 \mu\text{m}$ *in vivo*; ocasionalmente impregnados com protargol. O citopígeo é subterminal no terço posterior da célula, na extremidade da cinécia encurtada 1, aparece como uma linha argirofílica em preparações com nitrato de prata e como uma área ligeiramente alargada e incolor em espécimes impregnados com carbonato de prata e protargol. O citoplasma é incolor, espécimes bem alimentados, no entanto, aparecem escuros em baixa magnificação ($\leq \times 100$) devido a vacúolos alimentares e muitas gotículas lipídicas altamente refrativas de até $10 \mu\text{m}$ de diâmetro. Alimenta-se de rotíferos grandes, tanto na amostra nativa quanto nas culturas brutas, digeridos em vacúolos de até $100 \times 50 \mu\text{m}$ de tamanho. Em culturas de grãos de trigo, também ingere bactérias, flagelados (Peranema sp., Polytomella sp.) e grãos de amido. Nada rapidamente por rotação em torno do eixo principal do corpo; nunca repousa.

Cílios cerca de $8\mu\text{m}$ de comprimento *in vivo*, que forma ondas metacronais bastante proeminentes na metade anterior densamente ciliada do corpo, dispostas em uma média de 47 fileiras equidistantes, na maioria meridionais, que se curvam distintamente ao longo da margem direita da abertura oral, semelhante ao *Colpidium* (Ganner e Foissner, 1989); muito mais próximas entre si na região anterior do que na posterior, onde algumas fileiras são encurtadas, e o padrão das fileiras torna-se indistinto devido ao espaçamento mais amplo dos corpos basais. As linhas ciliares começam ao longo de uma reta, conspicuamente espatuladas e levemente projetado para sutura pré-oral com dicinécia ciliada, exceto por uma média de oito cinéncias pós-orais, linhas de dois a seis a direita da abertura oral, e a primeira linha a esquerda da abertura oral. Dicinéncias distintas apenas em preparações especialmente favoráveis. As cinéncias pós-orais e as localizadas à direita do aparelho oral frequentemente apresentam pequenas irregularidades, como interrupções mínimas e corpos basais espaçados de forma irregular; uma ou várias fileiras são

ocasionalmente levemente encurtadas na região anterior e, especialmente, na posterior, onde terminam nos poros excretores, de forma subterminal e/ou encurtam gradualmente ao longo das margens direita e esquerda da citopíge, formando uma sutura mais ou menos distinta. Cinécia pós-oral 1 e n curvados anteriormente, produzindo uma área em formato de V que ocasionalmente contém alguns corpos basais alinhados ou dispersos, semelhantes a remanescentes da última estomatogênese. Cílio caudal levemente inserido dorsalmente, sitiado por uma pequena área lisa, originando de um poço ciliar distinto, com cerca de 25 μ m de comprimento e disperso dorsal obliquamente *in vivo*, terço distal bastante fino e facilmente ignorado; corpo basal não alargado em preparações de nitrato de prata, na qual alargava-se distintamente em espécimes impregnadas por protargol e carbonato de prata, indicando o complexo de cílio caudal, como definido por Corliss (1952). Cinéias somáticas comuns compostas de dois (três em dicinéias anteriores) grânulos obliquamente orientados, cercados por uma linha tênue e associado com uma curta fibra anteriormente estendida ao lado direito da cinécia; grânulo anterior geralmente levemente largo e impregnado profundamente do que as ciliatura posteriores; cinéias anteriores 10-15 das cinéias pós-orais associam-se com um sistema especial de fibras, reconhecidas ocasionalmente em espécimes impregnados por protargol.

O aparelho oral está subterminal na primeira sexta parte da célula, em média, pequeno (cerca de 15x15 μ m) quando comparado ao tamanho da célula (cerca de 200x50 μ m). Abertura oral arredondada e triangular, parte posterior e margem esquerda bem definida e ligeiramente espessada, a direita se funde gradualmente ao córtex somático. A cavidade bucal é apenas ligeiramente maior que a abertura oral e bastante plana, expondo a membrana adoral 1 quase completamente. Fibras faringianas com cerca de 20 μ m de comprimento, O funil oral é pouco conspícuo e estende-se obliquamente dorsal e posterior. Invariavelmente três membranelas adorais, cada qual composta por três linhas de corpos basais, a linha direita acompanhada por uma linha impregnada clara e granular (sacos parassomáticos). Membrana 1 ancorada na parede bucal esquerda, orientada para o eixo central do corpo e ligeiramente a distintamente convexo, conspícuo por sua composição de três fileiras não encurtadas de cílios de cerca de 10 μ m de comprimento, formando um feixe espesso e em forma de língua, invariavelmente direcionado para a direita em

micrografias de eletrônica de varredura, cobrindo assim as membranelas 2 e 3. A membranelas 2, no meio da cavidade bucal, é distintamente sigmoidal e direcionada obliquamente para a direita, formando um padrão triangular com a membranelas 1. Membranelas 2 no meio da cavidade bucal, distintamente sigmoidal e direcionada obliquamente para a direita, formando um padrão triangular com a membranelas 1; linhas de corpos basais individuais levemente encurtados anteriormente com o final membranelar anterior composto de apenas uma ou duas linhas. Membranelas 3 próxima da extremidade proximal da membranelas 2, diminuta, a qual consiste algumas vezes de alguns, ou levemente espaçados, corpos basais. Membrana paraoral à metade posterior direita da abertura oral com o terço proximal estendido para a cavidade bucal, levemente curvado (distintamente em preparações comprimidas, provavelmente devido à distorção dos sistemas fibrilares que conferem forma), em preparações de protargol compostas de dicinéias muito estreitamente espaçadas, provavelmente possuindo cílios apenas no corpo basal direito (externo), enquanto o esquerdo (interno) está associado a uma fibra que se estende para a parede bucal; as fibras da parede bucal formam uma estrutura estriada em forma de prato, projetando-se do corpo em cerca de 3 μ m.

Os padrões de linha de prata são simples devido à ausência de meridianos secundários. Os meridianos primários apresentam-se em forma de loop, projetando-se para a esquerda entre as cinéias, especialmente no quartil médio da célula, onde os loops são mais frequentemente associados a acumulação de grânulos de prata, provavelmente marcando os locais de fixação dos extrusomas. Os loops de linha de prata tornam-se menores anteriormente e posteriormente, onde os meridianos se encontram em uma linha de prata circular que circunda o complexo do cílio caudal, associado com uma, raramente duas ou três, linhas de prata que atravessam a área lisa.

A ontogênese de *Lambornella trichoglossa* é homotetogênica e ocorre em condição livre e motil (não encistada). A estomatogênese é paracinetal e o aparelho oral parental é completamente reorganizado. Basicamente, o processo se assemelha ao de *Tetrahymena*, exceto que as estruturas orais parentais (proter) são substituídas de forma síncrona com a produção do novo aparelho oral opisthe, e uma quarta membranelas adoral, que desaparece em divisores médios, é gerada durante a

estomatogênese precoce. Essas peculiaridades são novas e características principais do gênero.

A divisão começa com a formação do primórdio oral do opisthe, ou seja, a produção de corpos basais dispersos na parte média, próximos à esquerda da cinética 1. Um pouco depois, a estomatogênese do proter começa com a formação de um campo anárquico de corpos basais sob o aparelho oral parental na área alargada entre a cinética 1 e n. Essa curta pausa na estomatogênese do proter é reconhecível durante todo o processo. Além disso, a estomatogênese é monoparacinetal, ou seja, envolve apenas a cinética 1, enquanto os corpos basais na extremidade anterior das possíveis cinéticas pós-orais à esquerda da cinética 1 são ou reabsorvidos ou incorporados ao primórdio oral em crescimento.

O primórdio oral logo cresce para um grande campo, tanto no proter quanto no opisthe, composto de monocinétias dispersas e dicinétias indistintas. Ocorre uma intensa proliferação de corpos basais dentro das cinéticas somáticas. Em seguida, as membranelas adorais se montam na área anterior esquerda do campo anárquico, deixando para trás numerosas cinétias dispersas na área direita e posterior. As membranelas consistem em pequenos fragmentos dicinetais que se alinham as protomembranelas curvadas ao longo da margem anterior e esquerda do primórdio oral.

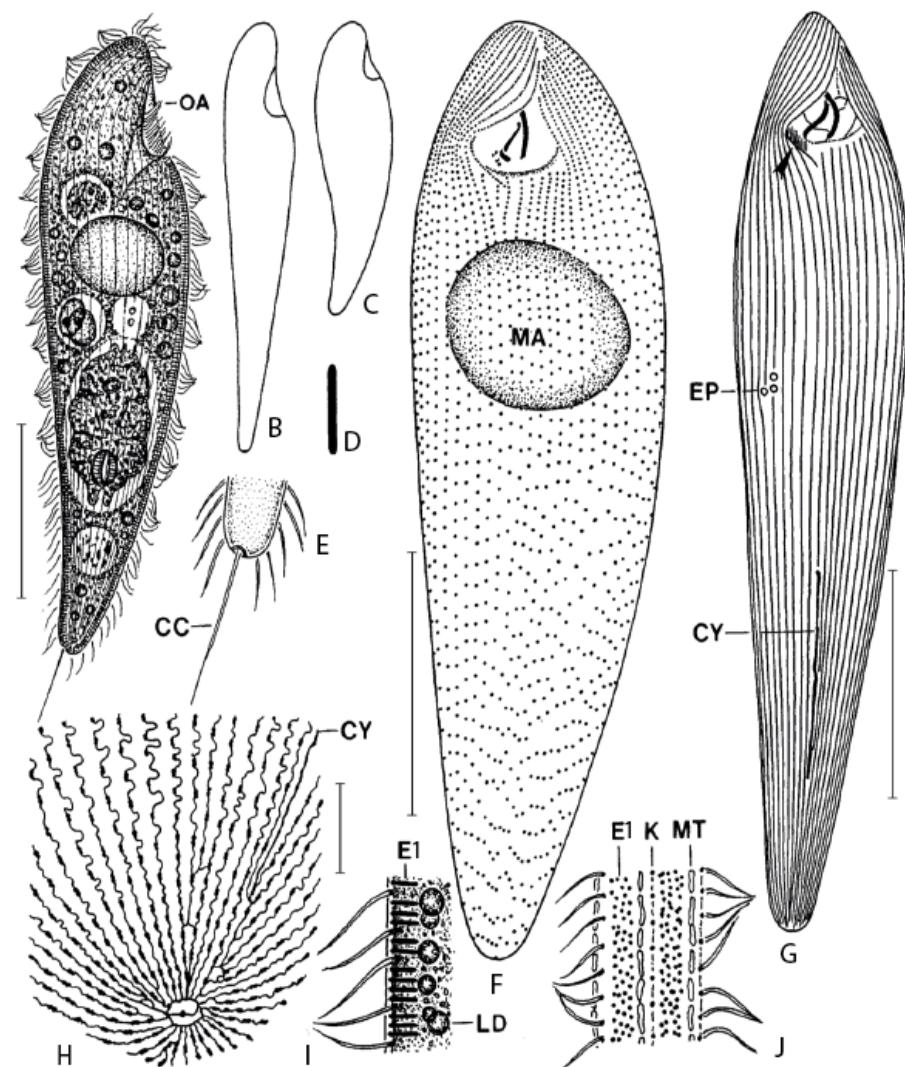
Concomitantemente, a reabsorção do aparelho oral parental começa. A cavidade bucal se achata e a membrana ondulante se desorganiza, enquanto as membranelas adorais ainda estão intactas. As cinéticas somáticas começam a se separar na área de fissão prevista, com possibilidade de haver reconhecimento prévio da separação em alguns espécimes. O micronúcleo começa a se dividir.

Os próximos eventos estomatogênicos são a montagem da membrana paroral e a reabsorção das estruturas orais parentais. Assim como as membranelas adorais, a membrana paroral se monta a partir de pequenos fragmentos dicinetais formados a partir das dicinétias dispersas na área direita e posterior do primórdio oral. Algumas cinétias supernumerários permanecem na extremidade posterior da nova membrana paroral por um tempo; eventualmente, eles são reabsorvidos ou, possivelmente, se organizam na curta linha ciliar encontrada em alguns espécimes em intervalo entre a porção anterior das cinétias 1 e n. Concomitantemente, as recém-formadas

membranelas adorais se tornam de três filas e uma pequena quarta membranelas é gerada tanto no proter quanto no opisthe, ou em ambos, em metade dos 12 divisores apropriados encontrados. Claramente, esta quarta membranelas, que é uma estrutura bastante transitória, não é parte da paroral, mas localizada à direita da membranelas 3 e à esquerda da nova paroral. A área oral parental se achata e as membranelas adorais se desorganizam lentamente e começam a migrar anteriormente para a sutura preoral alargada. A divisão micronuclear está quase completa e o macronúcleo começa a se dividir.

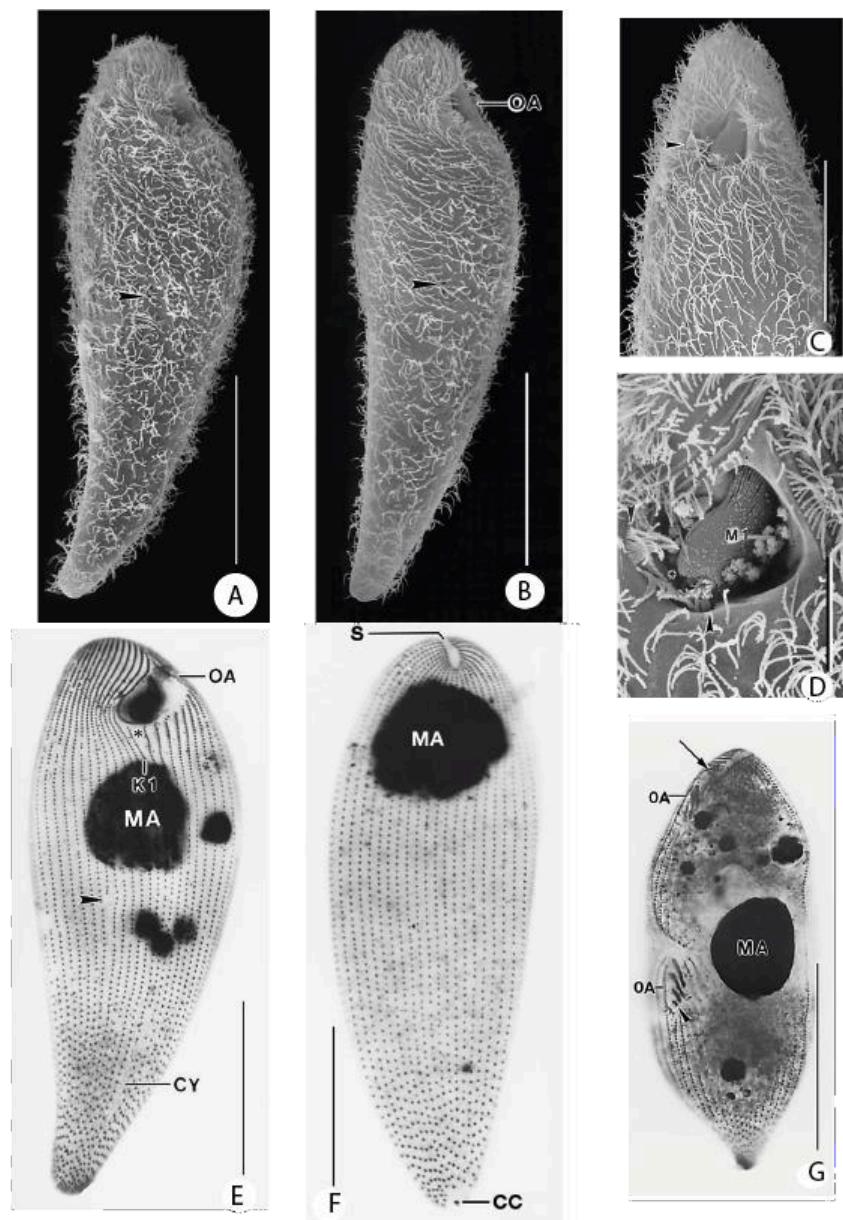
Quando a fissão celular começa, a divisão nuclear e a estomatogênese estão quase completas em ambos, proter e opisthe, e as estruturas orais parentais foram reabsorvidas. A membrana paroral agora consiste em cinétias muito espaçadas que perderam a aparência dicinetal das etapas anteriores; preparações de protargol indicam que seguem como em dicinétias, onde apenas o corpo basal ciliar direito (externo) impregna distintamente. A sutura preoral parental ainda está alargada. Os primeiros pós-divisores são fusiformes e ainda têm uma cavidade bucal bastante achatada, com membranelas adorais dispostas obliquamente e em paralelo, mostrando que o padrão final ocorre apenas em pós- divisores tardios.

Figura 7: A-J. *L. trichoglossa* *in-vivo* (A-E, I, J), após impregnação com protargol (F) e após impregnação com nitrato de prata segundo Chatton-Lwoff (G) e Klein-Foissner (H). A: Vista lateral direita de um espécime representativo que ingeriu um grande rotífero. B, C: Variantes de forma esguia e robusta. D: Extrusoma, com comprimento de 2,5 μm . E: Extremidade posterior do corpo com cílio caudal de 25–30 μm de comprimento. F: Padrão ciliado do lado ventral do espécime holótipo. G: Vista ventral de um espécime bem preservado. A seta marca a parede direita estriada da cavidade bucal. H: Padrão de linha prateada na região do polo posterior mostrando o cílio caudal dentro e cercado por uma linha prateada. I, J: Seção ótica e vista da superfície do córtex. CC – cílio caudal, CY – citopígeo, E1 – extrusomas, EP – poros excretores, K – cinéias, LD – gotas lipídicas, MA – macronúcleo, MT – mitocôndrias, OA – aparato oral. Escalas: 50 μm (A, F, G) e 10 μm (H).



Fonte: adaptado de Foissner, 2003.

Figura 8: *L. trichoglossa* em micrografia eletrônica de varreadura (A-D) e após impregnação pela prata (E-G). A: Vistas ventrolaterais com poros excretores. B: Vista lateral direita. C-D: Vistas ventrais mostrando a abertura oral triangular arredondada e a membranela adoral 1 conspícuia em forma de língua inserindo-se na parede bucal esquerda; as membranelas 2 e 3 estão cobertas pela membranela 1. As setas marcam a membrana paroral pouco visível, composta por uma única fileira de cílios com o mesmo comprimento que os cílios somáticos. O asterisco denota fibras ligeiramente projetadas na parede bucal direita; essas fibras formam uma estrutura estriada *in vivo* e em preparações de nitrato de prata. E-F: Padrão ciliado do lado ventral e dorsal. O asterisco denota um alargamento entre a cinécia 1 e n. A seta marca os poros de excreção. G: Visão ventral das populações da República Dominicana em preparações permanentes de carbonato de prata. Visão geral e detalhes do opisthe de um divisor, cujo opisthe possui uma quarta membranela adoral supernumerária (setas). A seta marca as membranelas adorais parentais em reabsorção. A membrana paroral consiste em dicinéias claramente reconhecíveis. OA - aparelho oral, MA - macronúcleo, M1 - membranela adoral, S - pré-sutura oral, CY - citopígeo, K1 - cinécia 1. Barras de escala: 50 µm (A-B, E-F), 40 µm (C), 10 µm (D), 60 µm (G).



Fonte: adaptado de Foissner, 2003.

Referências Bibliográficas

- ANTONETTI, D. A.; MALFATTI, E.; UTZ, L. R. P. Influence of environmental and morphological parameters on the microfauna community present in phytotelmata of a bromeliad in a fragment of Atlantic Forest, southern Brazil. *Neotropical Biology and Conservation*, v. 16, n. 1, p. 59–70, 19 jan. 2021.
- ARSHAD, H. H.; SULAIMAN, I. Infection of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) and *Ae. aegypti* with *Lambornella stegomyiae* (Ciliophora: Tetrahymenidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 66, p. 303-306, 4 mai. 1995.
- BROBERG, L. E.; BRADSHAW, W. E. *Lambornella clarki* (Ciliophora: Tetrahymenidae) Resistance in *Aedes sierrensis* (Diptera: Culicidae): Population Differentiation in a Quantitative Trait and Allozyme Loci. *Journal of Medical Entomology*, v. 34, n. 1, p. 38–45, 1 jan. 1997.
- BUOSI, P. R.; CABRAL, A. F.; UTZ, L. R.; VIEIRA, L. C.; VELHO, L. F. Effects of Seasonality and Dispersal on the Ciliate Community Inhabiting Bromeliad Phytotelmata in Riparian Vegetation of a Large Tropical River. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, v. 62, n. 6, p. 737–749, nov. 2015.
- BUOSI, P. R. B.; UTZ, L. R. P.; MEIRA, B. R. de; SILVA, B. T. S. da; LANSAC-TÔHA, F. M.; LANSAC-TÔHA, F. A.; VELHO, L. F. M. Rainfall influence on species composition of the ciliate community inhabiting bromeliad phytotelmata. *Zoological Studies*, v. 53, n. 1, dez. 2014.
- CAMPELLO-NUNES, P. H., WOELFL, S., da SILVA-NETO, I. D., PAIVA, T. D. S., FERNÁNDEZ, L. D. Checklist, diversity and biogeography of ciliates (Ciliophora) from Chile. *European Journal of Protistology*, v. 84, p. 125892, jun. 2022.
- CEDROLA, F., SENRA, M. V. X., FAULHABER, F. R., D'AGOSTO, M., & DIAS, R. J. P. Disentangling the family Blepharocorythidae (Ciliophora, Entodiniomorphida): a molecular assessment of morphological classification. *Systematics and Biodiversity*, v. 19, n. 5, p. 426–437, 4 jul. 2021.
- CEDROLA, F., SENRA, M. V. X., ROSSI, M. F., FREGULIA, P., D'AGOSTO, M., DIAS, R. J. P. Trichostomatid ciliates (Alveolata, Ciliophora, Trichostomatia) systematics and diversity: past, present, and future. *Frontiers in Microbiology*, v. 10, art. 2967, jan. 2020. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02967>.
- CLARK, T. B.; BRANDL, D. G. Observations on the infection of *Aedes sierrensis* by a tetrahymenine ciliate. *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 28, n. 3, p. 341–349, nov. 1976.
- CLELAND, C. E. Prediction and Explanation in Historical Natural Science. *The British Journal for the Philosophy of Science*, v. 62, n. 3, p. 551–582, 1 set. 2011.
- CORLISS, J. O. Comparative studies on holotrichous ciliates in the

Colpidium-Glaucoma- Leucophrys-Tetrahymena group: II. Morphology, life cycles and systematic status of strains in pure culture. Parasitology, v. 43, n. 1-2, p. 49-87, maio 1953.

CORLISS, J. O. *Tetrahymena chironomi* sp. nov., a ciliate from midge larvae, and the current status of facultative parasitism in the genus *Tetrahymena*. Parasitology, v. 50, n. 1-2, p. 111-153, maio 1960.

CORLISS, J. O. The Comparative Systematics of Species Comprising the Hymenostome Ciliate Genus. The Journal of Protozoology, v. 17, n. 2, p. 198-209, maio 1970.

CORLISS, J. O. Type-Specimens for the Ten Species of Tetrahymena (Protozoa: Ciliophora). Transactions of the American Microscopical Society, v. 90, n. 2, p. 243, abr. 1971.

CORLISS, J. O.; COATS, D. Wayne. A New Cuticular Cyst-Producing Tetrahymenid Ciliate, *Lambornella clarki* n. sp., and the Current Status of Ciliatosis in Culicine Mosquitoes. Transactions of the American Microscopical Society, v. 95, n. 4, p. 725, out. 1976.

CORLISS, J. O. Tetrahymena and Some Thoughts on the Evolutionary Origin of Endoparasitism. Transactions of the American Microscopical Society, v. 91, n. 4, p. 566- 573, 1972.

DUNTHORN, M., STOECK, T., WOLF, K., BREINER, H. W., FOISSNER, W. Diversity and endemism of ciliates inhabiting Neotropical phytotelmata. Systematics and Biodiversity, v. 10, n. 2, p. 195-205, jun. 2012.

DURÁN-RAMÍREZ, C. A., GARCÍA-FRANCO, J. G., FOISSNER, W., MAYÉN-ESTRADA, R. Free-living ciliates from epiphytic tank bromeliads in Mexico. European Journal of Protistology, v. 51, n. 1, p. 15-33, fev. 2015.

DURÁN-RAMÍREZ, C. A.; MAYÉN-ESTRADA, R.. Ecological Study of the Active Ciliate Community from Bromeliads during the Humid Season in Different Types of Forests of the Mexican Neotropics. Diversity, v. 14, n. 2, p. 122, 8 fev. 2022.

EGERTER, D. E.; ANDERSON, J. R.; WASHBURN, J. O. Dispersal of the parasitic ciliate *Lambornella clarki*: implications for ciliates in the biological control of mosquitoes. Proceedings of the National Academy of Sciences, v. 83, n. 19, p. 7335-7339, out. 1986.

EGERTER, D. E.; ANDERSON, J. R. Blood-Feeding Drive Inhibition of *Aedes sierrensis* (Diptera: Culicidae) Induced by the Parasite *Lambornella clarki* (Ciliophora: Tetrahymenidae). Journal of Medical Entomology, v. 26, n. 1, p. 46-54, 1 jan. 1989.

EGERTER, D. E.; ANDERSON, J. R. Infection of the western treehole mosquito, *Aedes sierrensis* (Diptera: Culicidae), with *Lambornella clarki* (Ciliophora: Tetrahymenidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 46, n. 3, p. 296–304, nov. 1985.

FOISSNER, W., STRÜDER-KYPKE, M., VAN DER STAAY, G. W., MOON-VAN DER STAAY, S. Y., & HACKSTEIN, J. H. Endemic ciliates (Protozoa, Ciliophora) from tank bromeliads (Bromeliaceae): a combined morphological, molecular, and ecological study. *European Journal of Protistology*, v. 39, n. 4, p. 365–372, jan. 2003.

FOISSNER, W. Morphology and ontogenesis of *Lambornella trichoglossa* nov. spec., a new tetrahymenid ciliate (Protozoa, Ciliophora) from Brasilian tank bromeliads (Bromeliaceae). *European Journal of Protistology*, v. 39, n. 1, p. 63–82, jan. 2003.

GANZ, H. H.; WASHBURN, J. O. Relative migration rates and local adaptation in a mosquito-protozoan interaction. *Journal of Evolutionary Biology*, v. 19, n. 3, p. 816–824, 1 maio 2006.

GAO, F.; WARREN, A.; ZHANG, Q.; GONG, J.; MIAO, M.; SUN, P.; XU, D.; HUANG, J.; YI, Z.; SONG, W. The all-data-based evolutionary hypothesis of ciliated protists with a revised classification of the phylum Ciliophora. *Scientific Reports*, London, v. 6, art. 24874, 2016. DOI: 10.1038/srep24874.

HULL, D. L. *Science as a Process: an evolutionary account of the social and conceptual development of science*. Chicago: University of Chicago Press, 1990. 600 p.

ISMAIL, S., FARNER, J., COUPER, L., MORDECAI, E., & LYBERGER, K. Temperature and intraspecific variation affect host–parasite interactions. *Oecologia*, v. 204, n. 2, p. 389–399, fev. 2024.

KEILIN, D. On a New Ciliate: *Lambornella stegomyiae* n.g., n.sp., Parasitic in the Body- Cavity of the Larvae of *Stegomyia scutellaris* Walker (Diptera, Nematocera, Culicidae). *Parasitology*, v. 13, n. 3, p. 216–224, ago. 1921.

KOTYK, M., BOURLAND, W. A., SOVIŠ, M., MÉNDEZ-SÁNCHEZ, D., ŠKALOUD, P., KOTYKOVÁ VARADÍNOVÁ, Z., & ČEPIČKA, I. Morphology matters: congruence of morphology and phylogeny in the integrative taxonomy of Clevelandellidae (Ciliophora: Armophorea) with description of six new species. *Zoological Journal of the Linnean Society*, v. 202, n. 1, p. zlad154, 2 set. 2023.

LAMBORN, W. A. A Protozoon Pathogenic to Mosquito Larvae. *Parasitology*, v. 13, n. 3, p. 213–215, ago. 1921.

LYBERGER, K., FARNER, J., COUPER, L., & MORDECAI, E. A. A Mosquito Parasite Is Locally Adapted to Its Host but Not Temperature. *The American Naturalist*, v. 204, n. 2, p. 121–132, 1 ago. 2024.

MALFATTI, E.; FERREIRA, P. M. A.; UTZ, L. R. P. Eukaryotic Communities in Bromeliad Phytotelmata: How Do They Respond to Altitudinal Differences? *Diversity*, v. 12, n. 9, p. 326, 28 ago. 2020.

MERCER, D. R.; ANDERSON, J. R. Tannins in Treehole Habitats and Their Effects on *Aedes sierrensis* (Diptera: Culicidae) Production and Parasitism by *Lambornella clarki* (Ciliophora: Tetrahymenidae). *JOURNAL OF MEDICAL ENTOMOLOGY*, v. 31, n. 1, 1994.

MERCER, D. R.; WASHBURN, J. O.; ANDERSON, J. R. Vertical oviposition and *Lambornella clarki* (Ciliophora: Tetrahymenidae) dispersal by *Aedes sierrensis* (Diptera: Culicidae) in California. *Journal of Vector Ecology*, v. 35, n. 1, p. 20–27, 25 jun. 2010.

MUSPRATT, J. Note on a ciliate protozoon, probably *Glaucoma pyriformis*, parasitic in culicine mosquito larvae. *Parasitology*, v. 38, n. 1–2, p. 107–110, jan. 1947.

MUSPRATT, J. Observation on the larvae of tree-hole breeding Culicini (Diptera: Culicidae) and two of their parasites. 1945.

NANNEY, D. L.; PARK, C.; PREPARATA, R.; SIMON, E. M. Comparison of Sequence Differences in a Variable 23S rRNA Domain among Sets of Cryptic Species of Ciliated Protozoa. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, v. 45, n. 1, p. 91–100, jan. 1998.

NORTON, A. P.; WASHBURN, J. O.; OMI, E. M. Axenic culture of *Lambornella clarki* (Ciliophora: Tetrahymenidae), an endoparasite of *Aedes sierrensis* (Diptera: Culicidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 60, n. 2, p. 164–170, set. 1992.

PAGE, M. D. The Role of Historical Science in Methodological Actualism. *Philosophy of Science*, v. 88, n. 3, p. 461–482, jul. 2021.

PREPARATA, R. M.; BEAM, C. A.; HIMES, M.; NANNEY, D. L.; MEYER, E. B.; SIMON, E. M. *Crypt hedcodinium* and *Tetrahymena*: An exercise in comparative evolution. *Journal of Molecular Evolution*, v. 34, n. 3, p. 209–218, mar. 1992.

STOECK, T.; PRZYBOS, E.; DUNTHORN, M. The D1-D2 region of the large subunit ribosomal DNA barcode for ciliates. *Molecular Ecology Resources*, v. 14, n. 3, p. 458–468, maio 2014.

STRÜDER-KYPKE, M. C.; WRIGHT, A. D. G.; JEROME, C. A.; LYNN, D. H. Parallel evolution of histophagy in ciliates of the genus *Tetrahymena*. *BMC Evolutionary Biology*, v. 1, n. 1, p. 5, 2001.

WARREN, A.; PATTERSON, D. J.; DUNTHORN, M.; CLAMP, J. C.; ACHILLES-DAY, U. E. M.; AESCHT, E.; AL-FARRAJ, S. A.; AL-QURAISHY, S.; AL-RASHEID, K.; CARR, M.; DAY, J. G.; DELLINGER, M.; EL-SEREHY, H. A.; FAN, Y.; GAO, F.; GAO, S.; GONG, J.; GUPTA, R.; HU, X.; KAMRA, K.;

LANGLOIS, G.; LIN, X.; LIPSCOMB, D.; LOBBAN, C. S.; LUPORINI, P.; LYNN, D. H.; MA, H.; MACEK, M.; MACKENZIE-DODDS, J.; MAKHIJA, S.; MANSERGH, R. I.; MARTÍN-CERECEDA, M.; MCMILLER, N.; MONTAGNES, D. J. S.; NIKOLAEVA, S.; ONG'ONDO, G. O.; PÉREZ-UZ, B.; PURUSHOTHAMAN, J.; QUINTELA-ALONSO, P.; ROTTEROVÁ, J.; SANTOFERRARA, L.; SHAO, C.; SHEN, Z.; SHI, X.; SONG, W.; STOECK, T.; LA TERZA, A.; VALLESI, A.; WANG, M.; WEISSE, T.; WIACKOWSKI, K.; WU, L.; XU, K.; YI, Z.; ZUFALL, R.; AGATHA, S. Beyond the —Code: a guide to the description and documentation of biodiversity in ciliated protists (Alveolata, Ciliophora). *Journal of Eukaryotic Microbiology*, Hoboken, v. 64, n. 4, p. 539–554, 2017.

WASHBURN, J. O.; EGERTER, D. E.; ANDERSON, J. R.; SAUNDERS, G. A. Density Reduction in Larval Mosquito (Diptera: Culicidae) Populations by Interactions between a Parasitic Ciliate (Ciliophora: Tetrahymenidae) and an Opportunistic Fungal (Oomycetes: Pythiaceae) Parasite. *Journal of Medical Entomology*, v. 25, n. 5, p. 307–314, 1 set. 1988.^a,

WASHBURN, J. O.; GROSS, M. E.; MERCER, D. R.; ANDERSON, J. R. Predator-induced trophic shift of a free-living ciliate: parasitism of mosquito larvae by their prey. *Science*, New York, v. 240, n. 4856, p. 1193–1195, 27 maio 1988b.

WASHBURN, J. O. Regulatory factors affecting larval mosquito populations in container and pool habitats: implications for biological control. *Journal of the American Mosquito Control Association-Mosquito News*, v. 11, n. 2, p. 279–283, 1995.

WASHBURN, J. O.; ANDERSON, J. R. Distribution of *Lambornella clarki* (Ciliophora: Tetrahymenidae) and other mosquito parasites in California treeholes. *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 48, n. 3, p. 296–309, nov. 1986.

WASHBURN, J. O.; ANDERSON, J. R.; MERCER, D. R. Emergence Characteristics of *Aedes sierrensis* (Diptera: Culicidae) from California Treeholes with Particular Reference to Parasite Loads. *Journal of Medical Entomology*, v. 26, n. 3, p. 173–182, 1 maio 1989.

WASHBURN, J. O.; ANDERSON, J. R.; MERCER, David R. Parasitism of newly-hatched *Aedes sierrensis* (Diptera: Culicidae) larvae by *Lambornella clarki* (Ciliophora: Tetrahymenidae) following habitat flooding. *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 58, n. 1, p. 67–74, jul. 1991.

WASHBURN, J. O.; HARTMANN, E. U. Could *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) Become Established in California Tree Holes? *Journal of Medical Entomology*, v. 29, n. 6, p. 995–1005, 1 nov. 1992.

WASHBURN, J. O.; MERCER, D. R.; ANDERSON, John R. Regulatory Role of

Parasites: Impact on Host Population Shifts with Resource Availability. *Science*, v. 253, n. 5016, p. 185–188, 12 jul. 1991.

YEE, W.. L. Behaviors Associated with Egg and Parasite Deposition by Gravid and *Lambornella clarki*-Infected *Aedes sierrensis*. *The Journal of Parasitology*, v. 81, n. 5, p. 694, out. 1995.

YEE, W. L.; ANDERSON, J. R. Free flight of *Lambornella clarki*-Infected, Blood-Fed, and Gravid *Aedes sierrensis* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, v. 32, n. 4, p. 407-412, 1995.

YEE, W. L.; ANDERSON, J. R. Tethered Flight Capabilities and Survival of *Lambornella clarki*-Infected, Blood-Fed, and Gravid *Aedes sierrensis* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, v. 32, n. 2, p. 153-160, 1995.

ZAMMITO, J. H. History/Philosophy/Science: Some Lessons for Philosophy of History.

History and Theory, v. 50, n. 3, p. 390–413, out. 2011.

CAPÍTULO 2

Caminhos da literatura sobre ciliados do gênero *Lambornella* Keilin, 1921 (Ciliophora, Tetrahymenidae): uma análise cienciométrica

Resumo

A quantidade de material científico produzido não acompanha a capacidade científica de analisar este material publicado. Com o auxílio da tecnologia e da formação contínua de novos cientistas, as publicações de produções acadêmicas são alocadas nas mais diferentes revistas e relativos assuntos. Este conteúdo muitas vezes é negligenciado, visto a alta demanda de informações disponíveis. A cienciometria surge como uma ferramenta capaz de elencar essas informações, oferecendo uma análise quantitativa dos dados. Esta forma de interpretação permite observar pontos fortes dos dados, bem como aqueles que carecem de maiores investigações. Tal cenário é visto dentro do universo dos ciliados, que segue deficiente de uma análise aprofundada de suas publicações. Esta realidade se aplica a um grupo específico destes microrganismos, o gênero *Lambornella*. Com o objetivo de analisar a dinâmica das pesquisas realizadas desde a sua descrição original, uma análise cienciométrica foi realizada no período de 1921 até 2024. Os resultados possibilitaram identificar uma defasagem geral nos estudos de *Lambornella stegomyiae*, ao ponto que *Lambornella clarki* foi contemplada por extensa investigação da sua relação parasito-hospedeiro. Embora a descrição morfológica de *Lambornella trichoglossa* seja detalhada e completa, o conhecimento sobre sua biologia é limitado, exigindo estudos urgentes em áreas como ecologia e genética.

Palavras-chave: cienciometria, *Lambornella*, *Lambornella stegomyiae*, *Lambornella clarki*, *Lambornella trichoglossa*.

Introdução

A produção acadêmica tem crescido de forma exponencial, impulsionada por inovações tecnológicas e pelo aumento do número de pesquisadores em diversas áreas do conhecimento. Como resultado, os produtos da investigação científica se acumulam em grande escala (Leonelli, 2019). Além das publicações contemporâneas, há um vasto acervo de trabalhos do passado, ampliando ainda mais o volume de informações disponíveis. No entanto, essa abundância de dados frequentemente carece de curadoria, o que gera lacunas devido à ausência de análises aprofundadas (Fan, Han e Liu, 2014; Cai e Zhu, 2015).

Diante desse cenário, a cienciometria surge como uma abordagem promissora para a compreensão quantitativa da ciência. Aplicada na análise de citações e padrões de publicação na literatura acadêmica, essa área interpreta as publicações como um sistema de comunicação e oferece meios para mensurar e avaliar o desempenho da pesquisa científica. Por meio de suas métricas, a cienciometria quantifica a qualidade e o impacto da produção científica, contribuindo para a organização e o aprimoramento da investigação acadêmica (Mingers et al., 2015).

Além disso, a análise cienciométrica desempenha um papel crucial na compreensão do desenvolvimento da ciência e da tecnologia ao longo do tempo, fornecendo indicadores essenciais para a avaliação dessas dinâmicas (Van Raan, 1997). Sua aplicação permite ainda elucidar redes de colaboração, identificar agrupamentos temáticos de pesquisa e mapear padrões de evolução histórica, oferecendo uma visão mais abrangente sobre os rumos da produção científica (Li et al., 2023). Assim, a cienciometria se consolida como uma ferramenta indispensável para compreender as transformações do conhecimento, facilitando a interpretação das dinâmicas de pesquisa e orientando novas direções para os campos de investigação e análise (Wani et al., 2019).

A cienciometria tem se mostrado uma ferramenta eficaz em diversas áreas de pesquisa, especialmente em análises voltadas à biodiversidade e às ciências da natureza (Gupta e Singh, 2023; Ali e Kumari, 2018; Filho et al., 2022), tendo sido aplicada em estudo envolvendo ciliados (Moraes et al., 2017).

O filo Ciliophora Doflein compreende um grupo altamente diverso de

microrganismos unicelulares ciliados que ocupam uma ampla variedade de nichos ambientais, desde habitats terrestres (Barti et al., 2024; Huang et al., 2024) seja em ecossistema aquático de água doce (Abraham et al., 2024; Oliveira et al., 2024) ou marinho (Malfatti et al., 2024; Liu et al., 2017). Além da diversidade de habitats, os ciliados desempenham papel fundamental nas interações ecológicas, sendo elementos-chave nas cadeias tróficas dos ecossistemas em que ocorrem. Sua atuação abrange processos como a decomposição da matéria orgânica e o controle populacional de outros microrganismos e pequenos invertebrados (Kamiyama et al., 2015; Weisse et al., 2017).

Adicionalmente, os ciliados podem estabelecer relações simbióticas com ampla gama de organismos, característico ao longo da evolução do grupo (Costa; Dias; Rossi, 2021). Essas interações simbióticas também influenciam diretamente as dinâmicas ecológicas dos habitats onde esses protozoários são encontrados, impactando a estrutura e o funcionamento dos ecossistemas (Gao et al., 2016). Dentro dessa diversidade funcional e ecológica, destaca-se o gênero *Lambornella* Keilin 1921, cujas espécies apresentam características particulares que refletem a complexidade das interações destes ciliados nos ambientes naturais. Com características morfológicas peculiares ao grupo, o gênero *Lambornella* consolidou-se com suas três espécies de ciliados tetrahimenídeos: *Lambornella stegomyiae* Keilin, 1921; *Lambornella clarki* Corliss e Coats, 1976; e *Lambornella trichoglossa* Foissner, 2003. Esses três representantes compartilham traços distintivos, incluindo uma grande porção de suas cinéias somáticas organizadas predominantemente como dicinetídeas, a presença de um aparelho oral caracterizado por uma membrana paraoral ciliada e contínua, além de membranelas adorais dispostas em policinéias organizadas em três fileiras ciliares (Foissner, 2003).

Além dessas particularidades morfológicas, o gênero *Lambornella* inclui espécies de hábito parasitário facultativo em mosquitos culicídeos, demonstrando a capacidade de formar cistos cuticulares invasivos (Foissner, 2003; Lynn, 2008). Essas interações parasitárias conferem grande relevância ecológica ao grupo, influenciando a dinâmica populacional de seus hospedeiros invertebrados (Ismail et al., 2024; Lyberger et al., 2024) e levantando discussões sobre seu papel nos ecossistemas em que ocorrem (Simão et al., 2017; Antonetti, Malfatti e Utz, 2021, 2021).

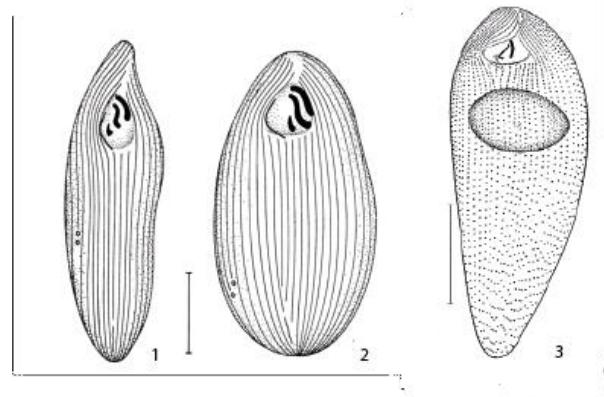
Apesar dos avanços no conhecimento sobre *Lambornella*, ainda persistem lacunas significativas que exigem investigação mais aprofundada para compreender quanto aos aspectos que refletem a validação do gênero. A necessidade de estudos abrange tanto abordagens individuais, voltadas para a biologia e os processos específicos de cada espécie, quanto perspectivas mais amplas, que englobam o grupo como um todo. A exploração de diferentes aspectos desse clado é essencial para ampliar nosso entendimento sobre sua diversidade, evolução e papel ecológico.

Diante do contexto das pesquisas sobre o gênero *Lambornella*, este estudo teve como objetivo analisar a dinâmica das investigações realizadas desde a sua descrição original, em 1921, até 2024, período final das análises. Por meio da abordagem cienciométrica, buscou-se traçar um panorama quantitativo da produção científica sobre o grupo, mapeando a publicação de artigos e as redes de comunicação estabelecidas ao longo do tempo. Essa abordagem permitiu compreender a evolução dos estudos sobre *Lambornella*, oferecendo uma visão ampliada do desenvolvimento do conhecimento científico nesse campo.

Metodologia

Este estudo utilizou dados bibliométricos para ciliados do gênero *Lambornella* de publicações de 1921 a 2024 extraídos das plataformas Web of Science, Scielo, PubMed, Scopus e Google Acadêmico, por meio de pesquisas utilizando o nome das espécies como palavras-chave fundamentais, ou seja, as buscas foram feitas com (I) *Lambornella stegomyiae*, (II) *Lambornella clarki* e (III) *Lambornella trichoglossa* (ver **Figura 9**). Na busca de sinonímias (propostas por alguns autores) com o gênero *Tetrahymena*, também se buscou por *Tetrahymena stegomyiae*, *Tetrahymena clarki* e *Tetrahymena trichoglossa*, extraíndo toda produção encontrada.

Figura 9: Representação via ilustração científica em visão ventral das espécies do gênero *Lambornella*, realizados após técnica de impregnação por prata. A morfologia corporal é ilustrada, com enfoque na disposição da ciliatura somática, no formato do corpo e na posição e formato da abertura oral. 1. *Lambornella stegomyiae*; 2. *Lambornella clarki*; 3. *Lambornella trichoglossa*. Escalas: 1 e 2 = 20 μ m; 3 = 50 μ m.



Fonte: Ilustrações 1 e 2: adaptado de Corliss e Coats 1976; e Ilustração 3: adaptado de Foissner, 2003.

Especificamente, neste estudo realizou-se (1) A identificação das publicações originais dos trabalhos realizados do gênero de protozoários ciliados *Lambornella* Keilin de 1921 a 2024; (2) Extração de variáveis dos trabalhos supracitados; (3) Análise bibliométrica do conjunto de dados. Com a base montada, foram aplicados critérios de exclusão para garantir trabalhos relevantes, sendo eles: (1) Não ser apenas citação; (2) Não ser artigo de revisão e (3) Não ser trabalho duplicado.

Para a montagem do banco de dados para análise, organizou-se: Ano, Autor, Título, Plataforma Científica, Palavras-chave, Revista, País e Laboratório. O software e os pacotes utilizados no presente estudo foram Rstudio: Language and Environment for Statistical Computing, versão 4.4.2, Tidyverse para manipulação dos dados e plotagem dos gráficos.

Resultados

Entre 1921 e 2024, a busca pelos termos *Lambornella stegomyiae*, *Lambornella clarki* e *Lambornella trichoglossa* nas plataformas Scopus, Google Scholar, Web of Science (WoS), PubMed e SciELO resultou em 215 publicações. Dentre esses trabalhos, 140 correspondiam a citações (42 para *L. stegomyiae*, 84 para *L. clarki* e 12 para *L. trichoglossa*), enquanto 19 eram duplicatas (11 de *L. stegomyiae* e 8 de *L. clarki*), sendo estas últimas excluídas conforme os critérios estabelecidos. Assim, foram identificados 56 estudos originais e únicos sobre

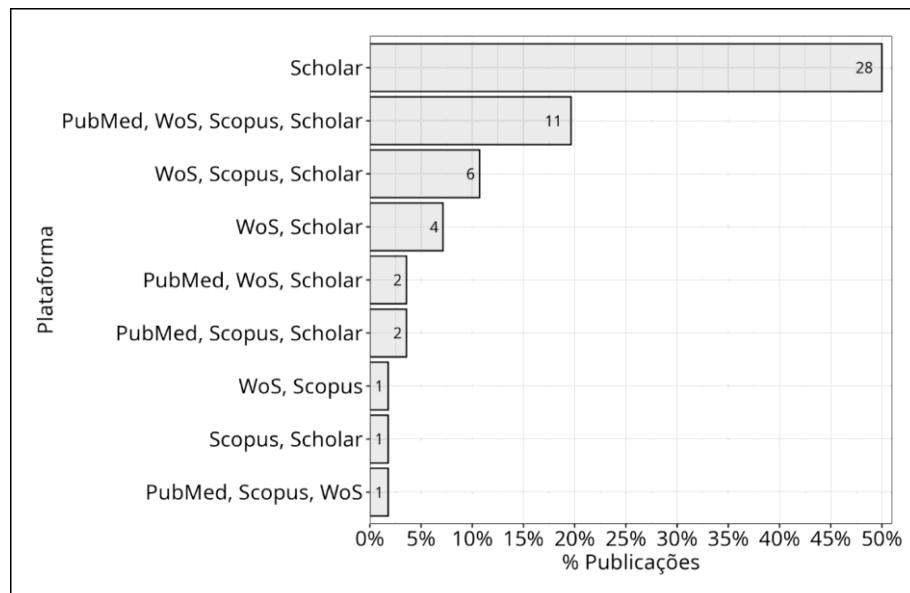
protozoários ciliados do gênero *Lambornella* Keilin, sendo a primeira publicação referente à descrição de *L. stegomyiae*.

Observou-se que 71,4% (40) dos trabalhos foram publicados no século XX, e 46,4%

(26) antes de 1991, evidenciando a predominância de estudos com pelo menos 34 anos. A recuperação de informações completas e padronizadas sobre esses trabalhos mais antigos mostrou-se desafiadora, sobretudo no caso de manuscritos ou documentos datilografados que foram posteriormente digitalizados, muitas vezes com perda de dados essenciais.

Após a seleção dos trabalhos, as informações das variáveis definidas na metodologia foram extraídas das cinco plataformas mencionadas, visando maximizar a completude e a qualidade dos dados. Em 40% dos casos, foi necessário recorrer a pelo menos três plataformas para obter todas as variáveis, enquanto 50% dos trabalhos tiveram seus dados completamente extraídos a partir de uma única fonte. A **Figura 10** representa a distribuição percentual dos trabalhos identificados em cada plataforma, sendo possível a ocorrência de registros em múltiplas bases de dados.

Figura 10. Distribuição percentual de publicações científicas referente ao gênero *Lambornella*, com base nas correlações dos resultados obtidos nas bases de dados bibliográficas. As plataformas investigadas foram Google Scholar, Web of Science (WoS), Scopus e PubMed. O eixo horizontal apresenta o percentual de publicações, baseado no número total de artigos. O eixo vertical apresenta as combinações exclusivas ou conjuntas dos bancos de dados.



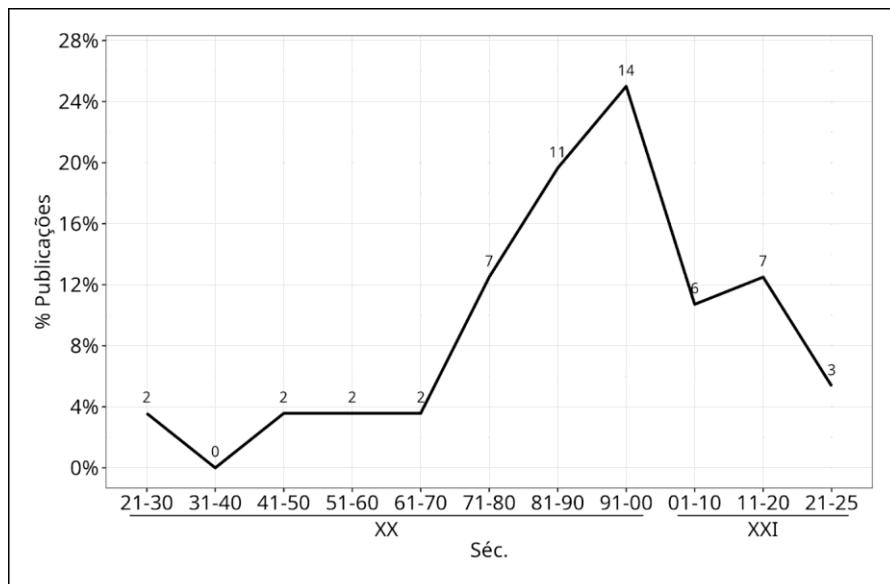
Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Embora todas as plataformas consultadas com os mesmos parâmetros, o

Google Scholar contribuiu, ao menos parcialmente, para a obtenção de informações em 97% dos artigos, sendo a plataforma com maior número de registros encontrados. Ainda que haja compartilhamento de publicações entre as plataformas analisadas, uma proporção elevada de trabalhos foi encontrada apenas no Google Acadêmico. Nenhum resultado foi obtido nas buscas na plataforma SciElo.

Com a base completa, observou-se a frequência absoluta e relativas das publicações ao longo dos anos, como já comentado, a grande maioria dos trabalhos foram publicados no século passado, com destaque para sua última década, onde foi observado o pico de publicações e subsequente uma queda considerável dos estudos, onde houve apenas um crescimento pequeno nos anos de 2011 a 2020. Na **Figura 11** constam as frequências das publicações ao longo das décadas.

Figura 11: Distribuição percentual do número total de publicações do gênero *Lambornella* ao longo do tempo. O eixo horizontal apresenta a linha do tempo separada por décadas e subdividida entre o século XX e o século XXI. O percentual de publicações é indicado no eixo vertical, seguindo progressão ao longo do tempo.

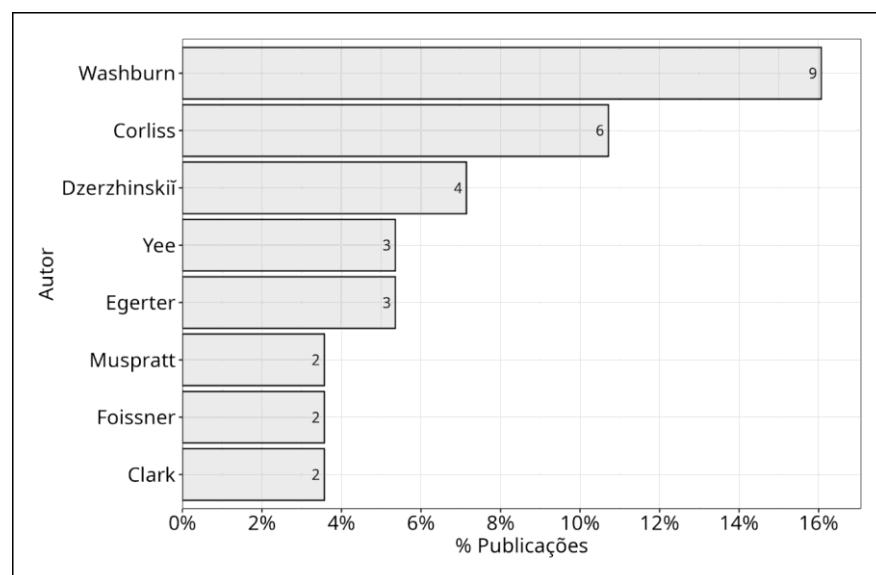


Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Dentre os oito autores com maior contribuição no número de trabalhos publicados, destacam-se os três primeiros mais influentes: Washburn, com 16% do total de artigos do banco de dados; Corliss, com 11%; e Dzerzhinsky com 7%. Percebe-se que os trabalhos relacionados às espécies *L. stegomyiae* e *L. clarki* contam com maior número de pesquisadores envolvidos. Não obstante, ambas as

espécies são as mais antigas quando comparadas com *L. trichoglossa*. Cerca de 75% dos primeiros autores publicaram apenas uma vez sobre os ciliados do gênero *Lambornella*, independente da espécie.

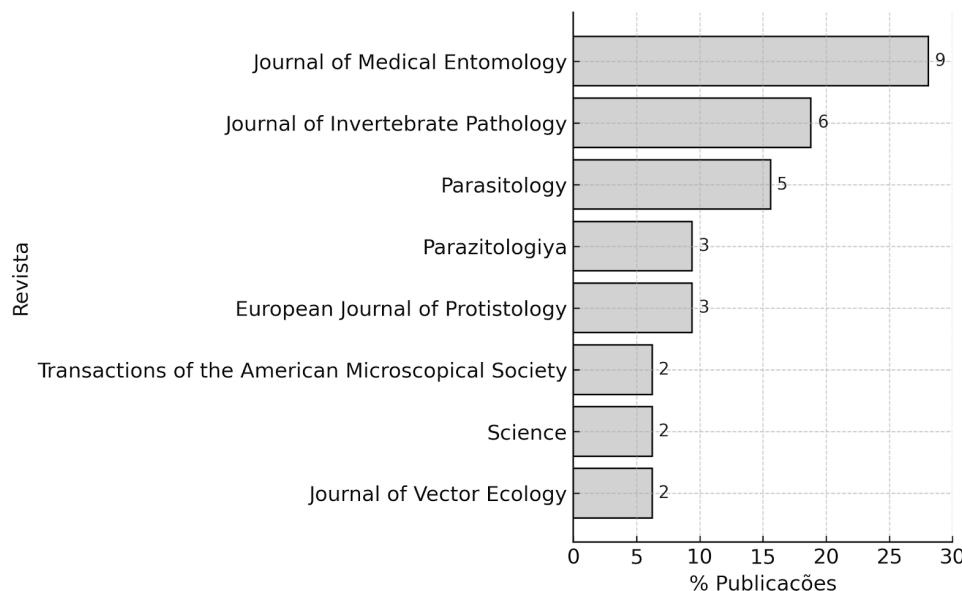
Figura 12. Comparativo percentual da participação de primeiros autores no total de publicações sobre o gênero *Lambornella*. O eixo horizontal mostra o percentual total e o eixo vertical lista os primeiros autores e sua contribuição. Apenas autores com duas ou mais publicações estão representados no gráfico.



Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Entre as revistas de publicação científica dos artigos encontrados, observa-se o predomínio de —Journal of Medical Entomology|| em primeira posição, seguido da —Parasitology|| em segundo e —Journal of Invertebrate Pathology|| em terceiro. Partindo da premissa que a maior parte dos artigos publicados são a respeito de *L. stegomyiae* e *L. clarki*, ambas espécies parasitárias de mosquitos culicídeos, é natural que as revistas alvo apresentem escopo principal relacionado com o modo de vida destes ciliados e seus hospedeiros. Outros 24 diferentes jornais apresentaram apenas uma publicação sobre o assunto. Na **Figura 13** constam as revistas como quantitativo de trabalhos publicados e sua frequência relativa dos estudos.

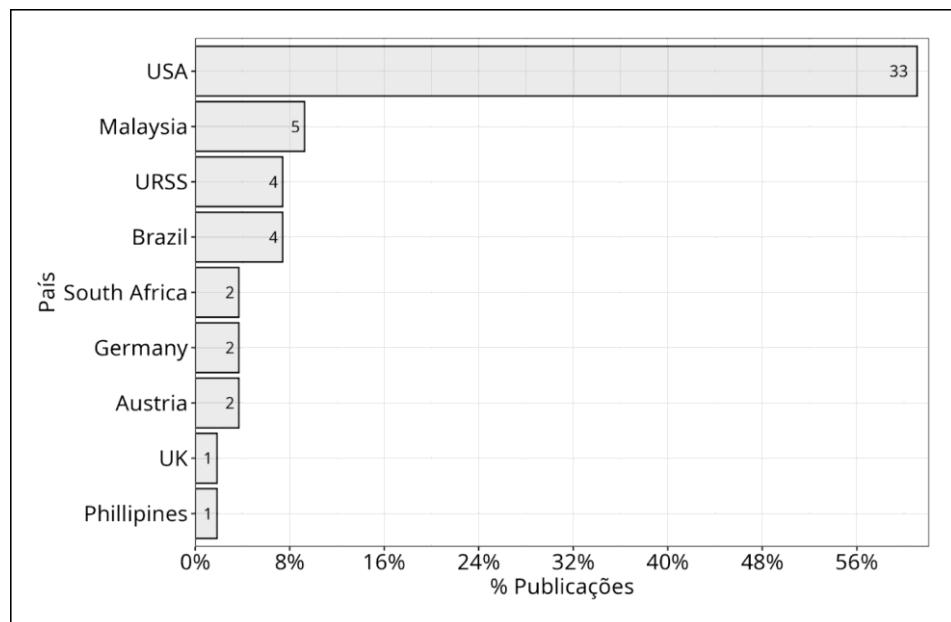
Figura 13. Distribuição percentual das publicações sobre o gênero *Lambornella* em diferentes periódicos científicos. O eixo vertical lista os periódicos, sendo selecionadas apenas aquelas com duas ou mais publicações. As barras mostram o número total de artigos para cada revista. O eixo horizontal apresenta o percentual em relação ao total de publicações.



Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Ao se debruçar diante do tema sobre países de origem, os produtos das análises apontam um valor dominante dos Estados Unidos em relação a todos as outras nações encontradas (Figura 14). Com 60% das publicações totais, os EUA assumem o posto de país com maior número de publicação, seguido da Malásia (9%) e um percentual igual para o Brasil e a extinta União Soviética (4%). A posição dos Estados Unidos aponta-se relacionada não apenas pelo fator de desenvolvimento científico, mas igualmente com o fato de que *L. clarki* é encontrada neste território. De igual modo, é observado os países que abrigam suas espécies nativas muito distantes dos EUA, o que levanta diversos questionamentos. Para a Malásia, país onde foi encontrado *L. stegomyiae* (Keilin, 1921), revela-se um número pequeno de publicações quando comparado com o primeiro lugar. O mesmo vale para o Brasil, que abriga uma diversidade de bromélias, hábitat de *L. trichoglossa* (Foissner, 2003). Os demais países encontrados, embora não haja relato preciso da presença dos ciliados em tais territórios, orientam a questão de se analisar materiais oriundos de outras nações.

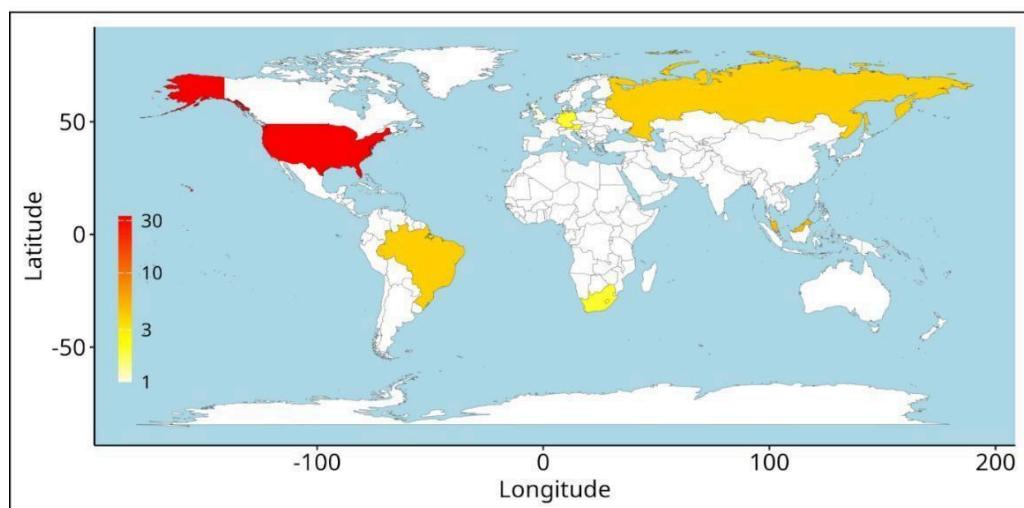
Figura 14: Distribuição percentual de publicações sobre o gênero *Lambornella* com base no país de origem do artigo científico. O eixo vertical lista os países e o eixo horizontal apresenta o percentual de publicações. Os números no topo das barras indicam o total de artigos para cada país..



Fonte: Elaborado pelo autor (2025)

Não existe um padrão geográfico nas publicações, o que pode ser explicado pela descrição das três espécies em locais muitos distintos e visto poucos registros para propiciar um estudo biogeográfico mais detalhado (**Figura 15**).

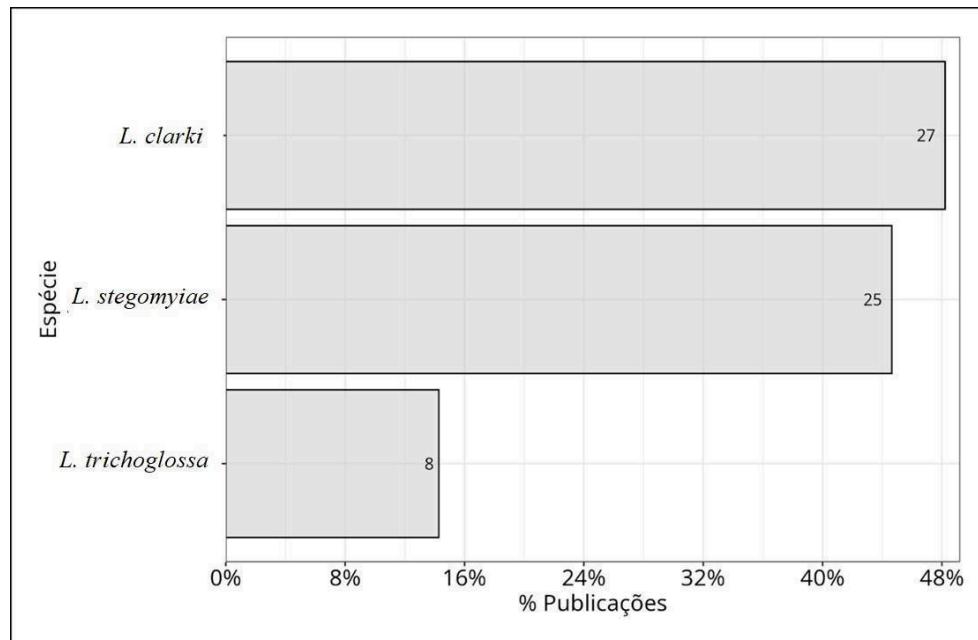
Figura 15: Distribuição geográfica das publicações sobre o gênero *Lambornella*. O mapa globo ilustra os países de origem dos artigos científicos, com categorização do percentual de trabalhos via escala de cor contínua: tons mais claros (amarelo) refletem ao menor número de registros, tons mais escuros (vermelho) conectam-se a maior volume de produção. O eixo X e Y correspondem à Longitude e Latitude, respectivamente.



Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Ao dividir-se o número total de trabalhos encontrados pelas espécies de *Lambornella*, encontramos um panorama em que *L. clarki* (48%) sendo o ciliado mais investigado, seguido de *L. stegomyiae* (45%) e *L. trichoglossa* (14%) (**Figura 16**). O país com maior número de publicações é os EUA, local onde foi encontrada *L. clarki*. Além disso, as ferramentas científicas, quando comparadas com aquelas na época da descrição de *L. stegomyiae*, podem ser um facilitador no processo de investigação. Quanto a *L. trichoglossa*, o baixo percentual total pode estar relacionado com sua descrição recente em 2003.

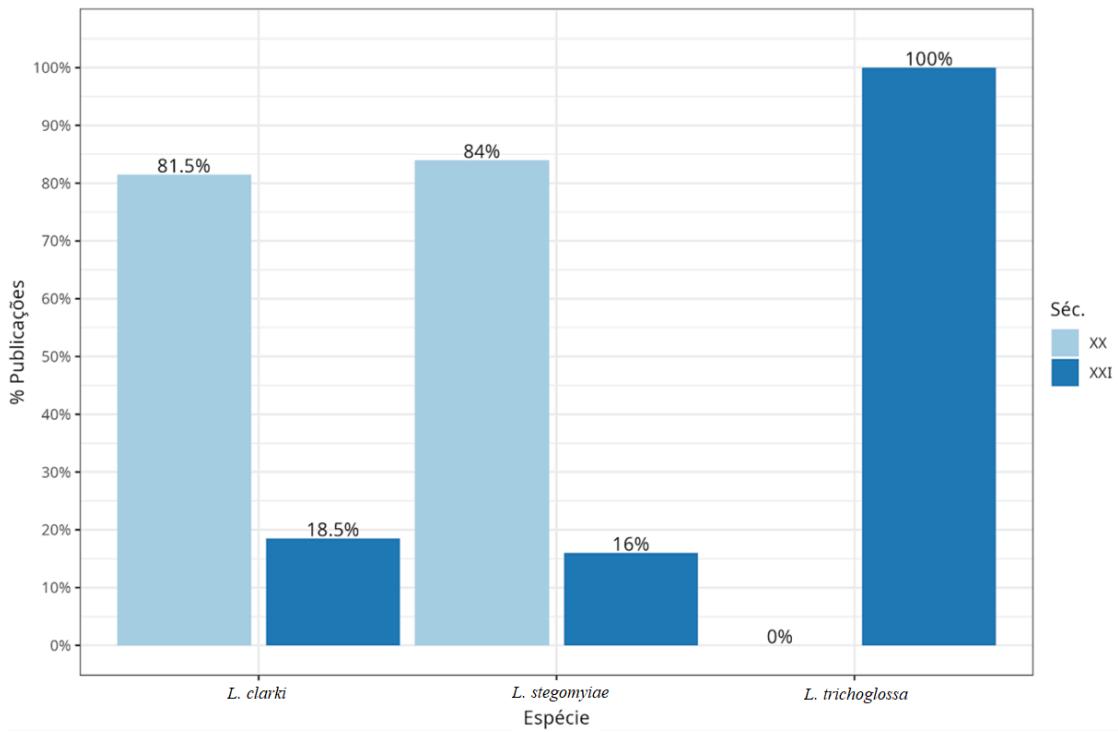
Figura 16: Razão relativa de publicações por espécie do gênero *Lambornella*, baseado no total de registros analisados até 2024. O eixo vertical lista as espécies, e o eixo horizontal apresenta o percentual de publicações. Os números no topo das barras indicam o total de artigos encontrados para cada espécie.



Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Para melhor compreender a relação entre os países de origem das publicações e as espécies investigadas, foi elaborada a **figura 17**. Como destacado anteriormente, a distribuição geográfica das *Lambornella* influencia diretamente a origem dos estudos. No entanto, colaborações institucionais e o interesse em avaliar os riscos e benefícios desses protozoários fora de suas áreas de ocorrência também resultam em publicações realizadas em países distintos de seu local original. Um exemplo disso é o estudo sobre *L. clarki* no Reino Unido, único caso identificado nessa região.

Figura 17: Distribuição percentual das publicações científicas por espécie do gênero *Lambornella*, categorizadas por século de publicação (século XX e século XXI), com dados coletados até 2024. O eixo horizontal indica as espécies e o eixo vertical apresenta a percentagem de publicações. A legenda de cores diferencia as publicações conforme o século (XX em azul claro e XXI em azul escuro).



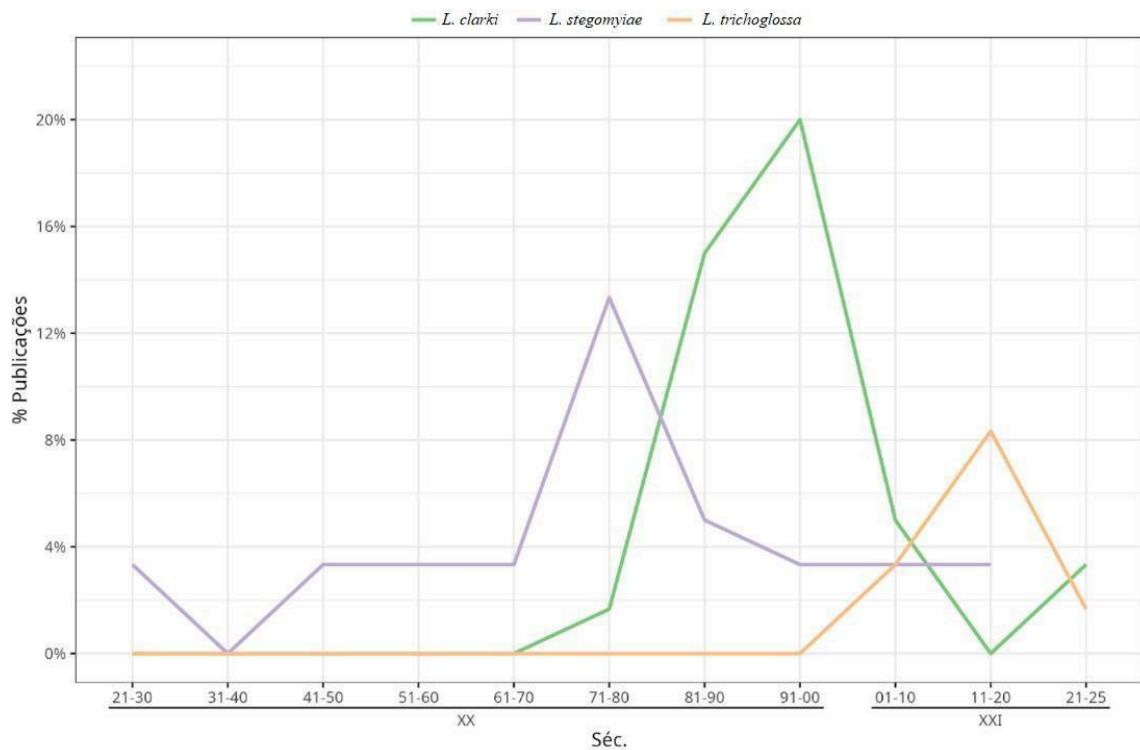
Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

É possível notar um fator interessante referente às primeiras duas espécies descritas do gênero. *L. stegomyiae* e *L. clarki* concentraram seus estudos principalmente no século XX, período do seu descobrimento, e com redução significativa de investigação no século seguinte. Mesmo já bem consolidadas, ambas as espécies não demonstraram grande enfoque por parte dos pesquisadores nos anos subsequentes. Visto que *L. trichoglossa* foi descrita em 2003, todos os trabalhos ocorrem no séc. XXI.

De forma a sumarizar os dados cienciométricos em um conjunto temporal comum, organizamos a progressão dos trabalhos ao decorrer das décadas. Embora *L. stegomyiae* tenha sido descrita na década de 20, apenas em 1960 que se registrou um pico de investigação científica, com maior pico na década de 70 e queda em 80. Por sua vez, desde o momento de sua descrição, em 1970, que os trabalhos de *L. clarki* foram crescendo progressivamente e com queda vertiginosa na mudança do milênio. Já *L. trichoglossa* apresenta um pico de produção notavelmente menor que suas espécies irmãs e mesmo no breve período de 20 anos já conta com perda de trabalhos

efetuados.

Figura 18: Variação temporal do percentual de publicações científicas por espécie do gênero *Lambornella*, ao longo de intervalos de décadas entre os séculos XX e XXI (dados até 2024). As espécies estão representadas por cores distintas: *L. clarki* (verde), *L. stegomyiae* (roxo) e *L. trichoglossa* (amarelo).



Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Discussão

O retorno gerado pelas buscas efetuadas nos bancos de dados do objeto amostral revelou Google Acadêmico como a plataforma com maior índice de resultados positivos e incidência de artigos exclusivos. Este resultado foi encontrado em outras pesquisas, com dados exclusivos e em maior quantidade. Em contrapartida, problemas semelhantes como resultados duplicados e respostas inválidas também são vistos. (Martín-Martín et al., 2018a; Martín-Martín et al., 2018b). O Google Acadêmico é um mecanismo de pesquisa de acesso gratuito e de fácil acesso. Apesar do seu método de pesquisa de alta sensibilidade, que acessa trabalhos publicados em ambientes de baixo impacto (Google Acadêmico, 2025),

muitos resultados negativos foram obtidos. A alta sensibilidade não exclui falsos positivos, resultados duplicados ou itens de citação, mesmo após a aplicação dos filtros de pesquisa. Embora de grande ajuda, ainda é extremamente necessária uma revisão minuciosa de dados a fim de eliminar possíveis erros amostrais.

O gênero *Lambornella* apresenta-se como um grupo com investigação científica fragmentada em diversos aspectos. Com ausência de linearidade na divulgação ao longo do tempo, repara-se no período de 1970 a 2000 grande aumento na publicação de trabalhos. Apesar da descrição de *L. trichoglossa* no início do séc. XXI, é visto a queda de pesquisas realizadas com o gênero. A diminuição pode estar associada nas dificuldades enfrentadas pelas barreiras geradas ao lidar com um grupo tão pequeno quanto *Lambornella*, tal como demais desafios vistos no estudo de ciliados. Embora tais adversidades possam comprometer o desenvolvimento científico, tais processos evidenciam a importância de buscar por novos meios de investigação (Rajter et al., 2022).

Há concentração notável de pesquisas realizadas nos Estados Unidos quando comparada com demais países. A descrição de *L. clarki* dentro do território americano, juntamente com sua ampla distribuição no território da Califórnia, fomenta os altos índices de trabalhos realizados (Corliss e Coats, 1976; Washburn, Mercer e Anderson, 1991; Washburn, Anderson e Mercer, 1991; Washburn, 1995; Yee, 1995; Yee e Anderson, 1995a e 1995b). A proximidade da região amostral facilita a metodologia, porém o método não pode resumir-se apenas a fatores espaciais. Obter amostras variáveis em ponto geograficamente estratégicos garante proximidade da realidade do objeto de pesquisa (Turner, 2019). Em contrapartida, a região neotropical não acompanha pontos de alta publicação ao analisar a proximidade do espaço amostral. O habitat de *L. trichoglossa*, que vive nos fitotelmhos de bromélias, se estende da região sul da América do Norte, América Central e América do Sul (Zizka et al., 2020). O Brasil, localizado em um território endêmico de espécies da família Bromeliaceae, consta com poucos trabalhos associados. Na Ásia, onde *L. stegomyiae* foi encontrada, as pesquisas são escassas, o que leva a questionar a ausência de tais investigações (Arshad e Sulaiman, 1995; Sulaiman e Arshad, 2017).

A discrepância do foco nas espécies do gênero *Lambornella* exige atenção. *L.*

stegomyiae possuí um percentual de publicações muito menor quando comparada com *L. clarki*, ciliado descrito cinquenta anos depois da catalogação da primeira espécie. Sendo ambos protozoários facultativos de mosquitos culicídeos, a diferença entre percentual de trabalhos traz uma visão curiosa dos fatos. *L. trichoglossa*, por sua vez, acompanha baixo interesse científico, visto o curto período desde sua descrição e menos trabalhos produzidos quando comparado com as espécies irmãs.

A natureza das publicações é, em sua maioria, focada na interação entre mosquito e hospedeiro ciliado, o que reflete diretamente nas revistas científicas em que tais trabalhos foram destinados. Com a maior concentração dos trabalhos encontrados em *Journal of Medical Entomology*, *Parasitology* e *Journal of Invertebrate Pathology*, estas revistas abrangem as áreas de entomologia e parasitologia, o que é um resultado natural diante do montante de artigos realizados até o momento. Os esforços para compreender tal relação entre

L. clarki e *Aedes sierrensis* Ludlow, 1905 são vários, porém sempre remetendo a especificidade entre os organismos (Corliss e Coats, 1976; Washburn e Anderson, 1986; Washburn, Mercer e Anderson, 1991; Washburn, Anderson e Mercer, 1991). Embora *L. clarki* fora investigada como possível controle biológico de insetos (Washburn, 1995), este ciliado mostra incapacidade de terminar seu ciclo de vida em espécies de mosquitos diferentes (Washburn et al., 1992). *L. stegomyiae* consta com trabalhos de natureza morfológica, com registros e observações ambientais (Muspratt, 1953 e 1955; Arshad e Sulaiman, 1995; Sulaiman e Arshad, 2017), além da discussão de sua validade taxonômica (Corliss, 1953 e 1960). Mesmo com alta taxa de infecção e mortalidade elevada, esta espécie não recebeu o devido esforço científico para analisá-la. Quanto à *L. trichoglossa*, os estudos são voltados para elaboração de *checklists* de ambientes fitotelmais bromelícolas (Durán-Ramírez et al., 2015; Durán-Ramírez e Mayén-Estrada, 2019; Durán-Ramírez e Mayén-Estrada, 2022; Campello-Nunez et al., 2022) ou relações ecológicas não específicas para o ciliado (Buosi et al., 2014; Buosi et al., 2015; Antonetti, Malfatti e Utz, 2021; Malfatti, Ferreira e Utz, 2020). Isso reflete em ampla deficiência nos estudos focados na interação da espécie com seu meio. Investigar a biodiversidade de protozoários reitera a importância da preservação da biodiversidade. A riqueza de espécies em micro habitats requer os devidos cuidados, especialmente em casos de alto endemismo fitotermal (Pearson e Neilan, 2022). Para *L. trichoglossa*, com alto

endemismo para o complexo ambiente de fitotelmos de bromélia, esta atenção à conservação da biodiversidade é ainda mais necessária (Foissner et al. 2003). Para todas as espécies do gênero *Lambornella* repara-se em uma abordagem escassa quanto ao uso de ferramentas modernas para análises moleculares. Com poucos trabalhos explorando este universo (Preparata et al., 1992; Naney et al., 1998; Strüder- Kypke et al., 2001; Foissner, 2003), o aprofundamento deste contexto metodológico para o gênero fornecerá dados relevantes para o melhor entendimento do gênero e esclarecer as relações filogenéticas das espécies de *Lambornella*.

Os resultados indicam baixa variabilidade de autores que atuaram nos estudos do gênero *Lambornella*, o que indica uma dependência de um núcleo específico de pesquisadores. A ausência de diversidade entre grupos de pesquisa limita a abrangência científica ao não permitir a interação entre diferentes olhos e interpretações dos objetos de pesquisa. Tal fenômeno leva a um processo de monopolização acadêmica, levando a um atraso no progresso científico (Zhang et al., 2025)

Os resultados da análise cienciométrica mostraram-se efetivos para a compreensão do estado da arte do gênero *Lambornella*, mostrando os pontos fortes dos trabalhos até então publicados e as fragilidades do processo histórico-científico. A diversificação de ideias mostra-se necessária e, para isso, deve-se buscar novas regiões de amostragem e inovar com contribuições de diferentes grupos de pesquisa. Garante-se, desse modo, um retrato fidedigno da realidade via processos amostrais, além de permitir visões únicas com a contribuição de novos cientistas sobre os mais diferentes temas que carecem de estudo dentro do grupo. Entre os aspectos pouco explorados, as ferramentas moleculares destacam-se como componentes fundamentais por contribuir para a clareza entre as relações filogenéticas de ciliados (Kher et al., 2011; Warren et al., 2017). Um novo escopo interpretativo se faz necessário para o gênero *Lambornella* de forma a solucionar dúvidas que ainda restam dos trabalhos atuais e complementar os resultados atuais, abrindo o horizonte para futuras pesquisas.

Referências Bibliográficas

ABRAHAM, J. S.; SRIPOORNA, S.; CHOUDHARY, A.; TOTEJA, R.; GUPTA, R.; MAKHIJA, S.; WARREN, A. Assessment of heavy metal toxicity in four species of

freshwater ciliates (Spirotrichea: Ciliophora) from Delhi, India. Current Science, v. 113, n. 11, p. 2141–2150, 10 dez. 2017.

ALI, H.; KUMARI, H. A. Scientometric analysis of world biodiversity literature. International Journal of Library and Information Studies, v. 8, n. 1, p. 261–271, 2018.

ANTONETTI, D. A.; MALFATTI, E.; UTZ, L. R. P. Influence of environmental and morphological parameters on the microfauna community present in phytotelmata of a bromeliad in a fragment of Atlantic Forest, southern Brazil. Neotropical Biology and Conservation, v. 16, n. 1, p. 59–70, 19 jan. 2021.

ARSHAD, H. H.; SULAIMAN, I. Infection of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) and *Ae. aegypti* with *Lambornella stegomyiae* (Ciliophora: Tetrahymenidae). Journal of Invertebrate Pathology, v. 66, p. 303-306, 4 mai. 1995.

BHARTI, D.; KUMAR, S.; BASURI, C. K.; LA TERZA, A. Ciliated protist communities in soil: contrasting patterns in natural sites and arable lands across Italy. Soil Systems, Basel, v. 8, n. 2, art. 64, 2024. DOI: 10.3390/soilsystems8020064.

BUOSI, P. R.; CABRAL, A. F.; UTZ, L. R.; VIEIRA, L. C.; VELHO, L. F. Effects of Seasonality and Dispersal on the Ciliate Community Inhabiting Bromeliad Phytotelmata in Riparian Vegetation of a Large Tropical River. Journal of Eukaryotic Microbiology, v. 62, n. 6, p. 737–749, nov. 2015.

BUOSI, P. R. B.; UTZ, L. R. P.; MEIRA, B. R. de; SILVA, B. T. S. da; LANSAC-TÔHA, F. M.; LANSAC-TÔHA, F. A.; VELHO, L. F. M. Rainfall influence on species composition of the ciliate community inhabiting bromeliad phytotelmata. Zoological Studies, v. 53, n. 1, dez. 2014.

CAI, L.; ZHU, Y.. The challenges of data quality and data quality assessment in the big data era. Data Science Journal, v. 14, art. 2, p. 1–10, maio 2015. DOI: <https://doi.org/10.5334/dsj-2015-002>

CAMPELLO-NUNES, P. H.; WOELFL, S.; DA SILVA-NETO, I. D.; PAIVA, T. D. S.; FERNÁNDEZ, L. D. Checklist, diversity and biogeography of ciliates (Ciliophora) from Chile. European Journal of Protistology, v. 84, p. 125892, jun. 2022.

CORLISS, J. O.; COATS, D. W. A New Cuticular Cyst-Producing Tetrahymenid Ciliate, *Lambornella clarki* n. sp., and the Current Status of Ciliatosis in Culicine Mosquitoes. Transactions of the American Microscopical Society, v. 95, n. 4, p. 725, out. 1976.

COSTA, F. S.; DIAS, R. J. P.; ROSSI, M. F. Macroevolutionary analyses of ciliates associated with hosts support high diversification rates. International Journal for Parasitology, v. 51, n. 11, p. 967–976, out. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2021.03.006>

DURÁN-RAMÍREZ, C. A.; GARCÍA-FRANCO, J. G.; FOISSNER, W.; MAYÉN-ESTRADA, R. Free-living ciliates from epiphytic tank bromeliads in Mexico. *European Journal of Protistology*, v. 51, n. 1, p. 15–33, fev. 2015.

DURÁN-RAMÍREZ, C. A.; MAYÉN-ESTRADA, R. Ecological Study of the Active Ciliate Community from Bromeliads during the Humid Season in Different Types of Forests of the Mexican Neotropics. *Diversity*, v. 14, n. 2, p. 122, 8 fev. 2022.

DURÁN-RAMIREZ, C. A.; MAYÉN-ESTRADA, R.; ROMERO-NIEMBRO, V. M. Ciliate Community Structure in Bromeliads of Different Types of Vegetation in Eastern Mexico. *Acta Protozoologica*, v. 58, n. 3, p. 155–165, 2019.

FAN, J.; HAN, F.; LIU, H. Challenges of Big Data analysis. *National Science Review*, v. 1, n. 2, p. 293–314, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1093/nsr/nwt032>.

LOPES FILHO, D. R.; MANTOVANO, T.; NEVES, G. P.; DA SILVA, N. J.; DOS SANTOS MIRANDA, V. B.; LANSAC-TÔHA, F. A. Bromeliad phytotelmata: the first scientometric study. *Limnetica*, v. 42, n. 1, p. 143–154, 2023. DOI: 10.23818/limn.42.11.

FOISSNER, W. Morphology and ontogenesis of *Lambornella trichoglossa* nov. spec., a new tetrahymenid ciliate (Protozoa, Ciliophora) from Brasilian tank bromeliads (Bromeliaceae). *European Journal of Protistology*, v. 39, n. 1, p. 63–82, jan. 2003.

FOISSNER, W.; STRÜDER-KYPKE, M.; VAN DER STAAY, G. W. M.; MOON-VAN DER STAAY, S. Y.; HACKSTEIN, J. H. P. Endemic ciliates (Protozoa, Ciliophora) from tank bromeliads (Bromeliaceae): a combined morphological, molecular, and ecological study. *European Journal of Protistology*, v. 39, n. 4, p. 365–372, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1078/0932-4739-00005> (https://doi.org/10.1078/0932-4739-00005)

GAO, F.; WARREN, A.; ZHANG, Q.; GONG, J.; MIAO, M.; SUN, P.; XU, D.; HUANG, J.; YI, Z.; SONG, W. The all-data-based evolutionary hypothesis of ciliated protists with a revised classification of the phylum Ciliophora. *Scientific Reports*, London, v. 6, art. 24874, 2016. DOI: 10.1038/srep24874.

GOOGLE ACADÊMICO. Diretrizes de inclusão para webmasters. [S. l.], [ano]. Disponível em: <https://scholar.google.com/intl/pt-BR/scholar/inclusion.html>. Acesso em: 21 jul. 2025.

GOOGLE ACADÊMICO. Sobre o Google Acadêmico. [S. l.], [ano]. Disponível em: <https://scholar.google.com/intl/pt-BR/scholar/about.html>. Acesso em: 21 jul. 2025.

GUPTA, H.; SINGH, N. K. Climate change and biodiversity synergies: a scientometric analysis in the context of UNFCCC and CBD. *Anthropogenic Science*, v. 2, p. 5–18, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/s44177-023-00046-4>.

ISMAIL, S., FARNER, J., COUPER, L., MORDECAI, E., & LYBERGER, K. Temperature and intraspecific variation affect host-parasite interactions. *Oecologia*, v. 204, n. 2, p. 389–399, fev. 2024.

KAMIYAMA, T. Planktonic ciliates: diverse ecological function in seawater. In: OHTSUKA, S.; SUZAKI, T.; Horiguchi, T.; SUZUKI, N.; NOT, F. (eds.). *Marine protists*. Tokyo: Springer, 2015. p. 277–309. DOI: 10.1007/978-4-431-55130-0_11.

KEILIN, D. On a New Ciliate: *Lambornella stegomyiae* n.g., n.sp., Parasitic in the Body- Cavity of the Larvae of *Stegomyia scutellaris* Walker (Diptera, Nematocera, Culicidae). *Parasitology*, v. 13, n. 3, p. 216–224, ago. 1921.

KHER, C. P.; DOERDER, F. P.; COOPER, J.; IKONOMI, P.; ACHILLES-DAY, U.; KÜPPER, F. C.; LYNN, D. H. Barcoding Tetrahymena: discriminating species and identifying unknowns using the cytochrome c oxidase subunit I (cox-1) barcode. *Protist*, [S.l.], v. 162, n. 1, p. 2–13, jan. 2011. DOI: 10.1016/j.protis.2010.03.004.

LEONELLI, S. Philosophy ofbiology: thechallenges ofbig databiology. *eLife*, v. 8, p.e47381, 2019. DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.47381>

LI, Y.; WANG, Z. Mapping the literature on academic publishing: a bibliometric analysis on WOS. *SAGE Open*, v. 13, n. 1, p. 1–16, 2023. DOI: 10.1177/21582440231158562.

LIU, W.; JIANG, J.; XU, Y.; PAN, X.; QU, Z.; LUO, X.; EL-SEREHY, H. A.; WARREN, A.; MA, H.; PAN, H. Diversity of free-living marine ciliates (Alveolata, Ciliophora): faunal studies in coastal waters of China during the years 2011–2017. *European Journal of Protistology*, v. 53, p. 61–95, out. 2017. DOI: 10.1016/j.ejop.2017.04.007.

LYBERGER, K., FARNER, J., COUPER, L., & MORDECAI, E. A. A Mosquito Parasite Is Locally Adapted to Its Host but Not Temperature. *The American Naturalist*, v. 204, n. 2, p. 121–132, 1 ago. 2024.

LYNN, D. H. *The Ciliated Protozoa: Characterization, Classification, and Guide to the Literature*. New York: Springer, 2008.

MALFATTI, E.; FERREIRA, P. M. A.; UTZ, L. R. P. Eukaryotic Communities inBromeliad Phytotelmata: How DoThey Respond to Altitudinal Differences? *Diversity*, v. 12, n.9, p.326, 28ago. 2020.

MARTÍN-MARTÍN, A.; ORDUNA-MALEA, E.; DELGADO LÓPEZ-CÓZAR, E. Coverage of highly-cited documents in Google Scholar, Web of Science, and Scopus: a multidisciplinary comparison. *Scientometrics*, Dordrecht, v.116, n. 3, p.2175–2188, 2018. DOI: 10.1007/s11192-018-2820-9.

MARTÍN-MARTÍN, A.; ORDUNA-MALEA, E.; THELWALL, M.; LÓPEZ-CÓZAR, E. Google Scholar, Web of Science, and Scopus: a systematic comparison of citations in 252 subject categories. *Journal of Informetrics*, [S.l.], v. 12, n. 4, p. 1160–1177, 2018. DOI:

10.1016/j.joi.2018.09.002.

MINGERS, J.; LEYDESDORFF, L. A review of theory and practice in scientometrics. *European Journal of Operational Research*, v. 246, n. 1, p. 1–19, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejor.2015.04.002>.

MORAES, R. T. A.; CARVALHO, P.; PEREIRA, D. G. Avanços no conhecimento ecológico de protozoários ciliados planctônicos de água doce: uma análise cienciométrica. *SaBios: Revista de Saúde e Biologia*, v. 12, n. 2, p. 33–42, maio/ago. 2017.

Disponível em:

<http://68.183.29.147/revista/index.php/sabios/article/view/2139.Acesso> em: 24 jul. 2025.

NANNEY, D. L.; PARK, C.; PREPARATA, R.; SIMON, E. M.. Comparison of Sequence Differences in a Variable 23S rRNA Domain among Sets of Cryptic Species of Ciliated Protozoa. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, v. 45, n. 1, p. 91–100, jan. 1998.

OLIVEIRA, F. R.; LANSAC-TÔHA, F. M.; MEIRA, B. R. Influence of ecological multiparameters on face of beta-diversity of freshwater plankton ciliates. *Microbial Ecology*, v. 87, art. 10, 2024. DOI: 10.1007/s00248-023-02312-9.

PEARSON, L. A.; NEILAN, B. A. Protozoan diversity and biogeography. eLS, Hoboken: Wiley, v. 2, n. 5, maio 2021. DOI: 10.1002/9780470015902.a0029329.

PREPARATA, R. M.; BEAM, C. A.; HIMES, M.; NANNEY, D. L.; MEYER, E. B.; SIMON, E. M. *Cryptocodinium* and *Tetrahymena*: An exercise in comparative evolution. *Journal of Molecular Evolution*, v. 34, n. 3, p. 209–218, mar. 1992.

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2020. Disponível em: <https://www.r-project.org>

RAJTER, L.; LU, B.; RASSOSHANSKA, E.; DUNTHORN, M. Future prospects for investigating ciliate biodiversity. *Acta Protozoologica*, [S.I.], v. 61, p. 35–46, 2022. DOI: 10.4467/16890027AP.22.005.16236.

SIMÃO, T. L. L.; BORGES, A. G.; GANO, K. A.; DAVIS-RICHARDSON, A. G.; BROWN, C. T.; FAGEN, J. R.; TRIPLETT, E. W.; DIAS, R.; MONDIN, C. A.; DA SILVA, R. M.; EIZIRIK, E.; UTZ, L. R. P. Characterization of ciliate diversity in bromeliad tank waters from the Brazilian Atlantic Forest. *European Journal of Protistology*, v. 61, p. 359–365, out. 2017.

STRÜDER-KYPKE, M. C.; WRIGHT, A. D. G.; JEROME, C. A.; LYNN, D. H. Parallel evolution of histophagy in ciliates of the genus *Tetrahymena*. *BMC Evolutionary Biology*, v. 1, n. 1, p. 5, 2001.

TURNER, D. P. Sampling Methods in Research Design. *Headache*, [S.I.], v. 60, n. 1,

p. 8– 12, jan. 2020. DOI: 10.1111/head.13707

VAN RAAN, A. F. J. Scientometrics: state-of-the-art. *Scientometrics*, v. 38, n. 1, p. 205– 218, jan. 1997. DOI: 10.1007/BF02461131.

WANG, Z.; CHI, Y.; LI, T.; SONG, W.; WANG, Y.; WU, T.; ZHANG, G.; LIU, Y.; MA, H.; SONG, W.; AL-RASHEID, K. A. S.; WARREN, A.; LU, B. Biodiversity of freshwater ciliates (Protista, Ciliophora) in the Lake Weishan Wetland, China: the state of the art. *Marine Life Science & Technology*, v. 4, n. 4, p. 429–451, 2022. DOI: 10.1007/s42995-022-00154-x.

WANI, Z. A.; ZAINAB, T. A review of eminence of scientometric indicators in scientific research productivity. *Collnet Journal of Scientometrics and Information Management*, v. 11, n. 2, p. 273–285, 3 jul. 2017. DOI: 10.1080/09737766.2017.1306179.

WARREN, A.; PATTERSON, D. J.; DUNTHORN, M.; CLAMP, J. C.; ACHILLES-DAY, U. E. M.; AESCHT, E.; AL-FARRAJ, S. A.; AL-QURAISHY, S.; AL-RASHEID, K.; CARR, M.; DAY, J. G.; DELLINGER, M.; EL-SEREHY, H. A.; FAN, Y.; GAO, F.; GAO, S.; GONG, J.; GUPTA, R.; HU, X.; KAMRA, K.; LANGLOIS, G.; LIN, X.; LIPSCOMB, D.; LOBBAN, C. S.; LUPORINI, P.; LYNN, D. H.; MA, H.; MACEK, M.; MACKENZIE-DODDS, J.; MAKHIJA, S.; MANSERGH, R. I.; MARTÍN-CERECEDA, M.; MCMILLER, N.; MONTAGNES, D. J. S.; NIKOLAEVA, S.; ONG'ONDO, G. O.; PÉREZ-UZ, B.; PURUSHOTHAMAN, J.; QUINTELA-ALONSO, P.; ROTTEROVÁ, J.; SANTOFERRARA, L.; SHAO, C.; SHEN, Z.; SHI, X.; SONG, W.; STOECK, T.; LA TERZA, A.; VALLESI, A.; WANG, M.; WEISSE, T.; WIACKOWSKI, K.; WU, L.; XU, K.; YI, Z.; ZUFALL, R.; AGATHA, S. Beyond the —Code: a guide to the description and documentation of biodiversity in ciliated protists (Alveolata, Ciliophora). *Journal of Eukaryotic Microbiology*, Hoboken, v. 64, n. 4, p. 539–554, 2017. DOI: 10.1111/jeu.12391.

WASHBURN, J. O. Regulatory factors affecting larval mosquito populations in container and pool habitats: implications for biological control. *Journal of the American Mosquito Control Association*, v. 11, n. 2, p. 279–283, 1995.

WASHBURN, J. O.; ANDERSON, J. R. Distribution of *Lambornella clarki* (Ciliophora: Tetrahymenidae) and other mosquito parasites in California treeholes. *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 48, n. 3, p. 296–309, nov. 1986.

WASHBURN, J. O.; ANDERSON, J. R.; MERCER, D. R. Parasitism of newly-hatched *Aedes sierrensis* (Diptera: Culicidae) larvae by *Lambornella clarki* (Ciliophora: Tetrahymenidae) following habitat flooding. *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 58, n. 1, p. 67–74, jul. 1991a.

WASHBURN, J. O.; HARTMANN, E. U. Could *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) Become Established in California Tree Holes? *Journal of Medical*

Entomology, v. 29, n. 6, p. 995–1005, 1 nov. 1992.

WASHBURN, J. O.; MERCER, D. R.; ANDERSON, J. R. Regulatory Role of Parasites: Impact on Host Population Shifts with Resource Availability. *Science*, v. 253, n. 5016, p. 185–188, 12 jul. 1991b.

ZHANG, C.; REN, Z.; XIANG, G.; YU, W.; XU, Z.; LIU, J.; CHEN, Y. A comprehensive comparative analysis of publication monopoly phenomenon in scientific journals. *Journal of Informetrics*, Amsterdam: Elsevier, v.19, n.1, p.101628, 2025. DOI:10.1016/j.joi.2024.101628.

HUANG, Q.; LI, M.; LI, T.; ZHU, S.; WANG, Z.; PU, B. Spatio temporal distribution patterns of soil ciliate communities in the middle reaches of the Yarlung Zangbo River. *Frontiers in Environmental Science*, v. 2024, p. 1360015, 2024. DOI: 10.3389/fenvs.2024.1360015.

ZIZKA, A.; AZEVEDO, J.; LEME, E.; NEVES, B.; COSTA, A. F.; CACERES, D.; ZIZKA, Georg. Biogeography and conservation status of the pineapple family (Bromeliaceae). *Diversity and Distributions*, [S.l.], v. 26, n. 2, p. 183– 195, 2019. DOI: 10.1111/ddi.13004

CAPÍTULO 3

Novos dados moleculares para o ciliado bromelícola *Lambornella trichoglossa* (Foissner, 2003) (Ciliophora, Tetrahymenidae) coletado no sudeste brasileiro, com novas perspectivas sobre sistemática e evolução

Resumo

As pesquisas em ambientes fitotelmais de bromélias revelam ecossistemas aquáticos complexos, com alta diversidade microbiana, incluindo ciliados (Alveolata, Ciliophora). Dentre os ciliados que vivem exclusivamente em fitotelmos de bromélias, destaca-se a espécie *Lambornella trichoglossa* Foissner, 2003. Nossa estudo inclui novas abordagens de dados moleculares de uma população de *L. trichoglossa* coletada em fitotelmos de *Portea petropolitana* na Zona da Mata de Minas Gerais, Brasil, bem como apresenta análises que trouxeram contribuições no campo da sistemática e evolução para tetrahimenídeos do gênero *Lambornella*. As principais contribuições e inovações do estudo foram: (i) discussão sobre a validade do gênero *Lambornella* baseado nas novas sequências de *Lambornella trichoglossa* (18S-rDNA e COI) apresentadas no prosente estudo; (ii) validação de *Lambornella trichoglossa* como uma linhagem evolutiva independente, usando delimitação computacional de espécies; e (iii) a forte evidência sobre o estado ancestral simbionte de *Lambornella trichoglossa*, ampliando os olhares para entendimento da origem e modo de evolução de Tetrahymenidae.

Palavras-chave: Brasil, Evolução, fitotelmo, Floresta Atlântica, *Lambornella*, Hymenostomatia.

Introdução

O filo Ciliophora (Alveolata) comprehende um grupo amplamente diversificado de microrganismos, com mais de 8.000 espécies formalmente descritas, distribuídas nos mais variados habitats, incluindo ambientes aquáticos, terrestres e como simbiontes de outros organismos (Lynn, 2008). Estima-se, contudo, que mais de 80% da diversidade real do grupo permaneça não descrita, especialmente em regiões de difícil acesso, como zonas abissais marinhas (Foissner; Chao; Katz, 2008). Esse grupo reúne impressionante diversidade, marcada por uma ampla variedade de formas e adaptações. Apesar dessa diversidade, seus representantes compartilham características essenciais, como a infraciliatura altamente especializada, responsável pela locomoção e alimentação, o dimorfismo nuclear, no qual um macronúcleo rege as funções vegetativas, enquanto o micronúcleo está associado à reprodução, e a reprodução por conjugação (Lynn, 2008).

Os representantes deste filo apresentam grande variedade de formas de vida, podendo ocorrer como organismos de vida livre ou parasitária, de maneira facultativa ou obrigatória (Luong e Mathot, 2019). Exercem funções ecológicas distintas nos ecossistemas onde estão inseridos, atuando como importantes componentes das cadeias tróficas, predominantemente como heterótrofos, embora haja registros de formas mixotróficas (Esteban, Fenchel e Finlay, 2010).

Apesar dos avanços na compreensão sobre a diversidade dos ciliados nos diferentes ecossistemas, ainda existem lacunas significativas, especialmente relacionadas ao reconhecimento de espécies crípticas e reorganização a sistemática do grupo. Nesse cenário, as ferramentas moleculares têm se mostrado fundamentais, proporcionando novas perspectivas sobre as relações evolutivas dos ciliados e refinando a compreensão de sua filogenia e sistemática (Gao et al., 2016; Gentaki et al., 2014; Pecina e Vd'ačný, 2020).

Os ciliados pertencentes à família Tetrahymenidae Corliss, 1952 são organismos menor que a média de tamanho dos ciliados ($>60\mu\text{m}$), geralmente com o corpo alongado, ovóide ou cilíndrico. São livre-natantes, com ciliatura somática densa, sendo que alguns representantes possuem, adicionalmente, um cílio caudal. Esses ciliados caracterizam-se pela presença de um aparelho bucal do tipo tetrahimenal. O aparelho bucal é composto por quatro membranelas localizadas na

região oral: uma membranelas paraoral situada à direita da cavidade bucal e três membranelas dispostas à esquerda, configuração considerada marcante entre os representantes desse grupo. (Lynn, 2008). Embora a maioria dos ciliados possua tanto macronúcleo quanto micronúcleo, algumas espécies da família Tetrahymenidae são desprovidas de micronúcleo, sendo, portanto, amicronucleadas. No geral, são organismos bacterívoros, capazes de apresentar plasticidade trófica por meio da transformação de formas micróstomas para macróstomas. Além disso, diversas espécies possuem capacidade de encistamento, que pode ocorrer em estágios reprodutivos e/ou de resistência (Lynn, 2008).

Os tetrahimenídeos são encontrados predominantemente em ambientes de água doce e em habitats terrestres úmidos, apresentando tanto formas de vida livre quanto representantes com hábito parasitário, o qual pode ser obrigatório ou facultativo. Nos casos parasitários, observam-se hospedeiros variados, incluindo lesmas, caracóis, vermes, mosquitos, girinos e peixes (Lynn, 2008).

A família Tetrahymenidae apresenta baixa variabilidade morfológica e ausência de características sinapomórficas evidentes entre seus integrantes, fato este que dificulta o entendimento claro dos processos de delimitação taxonômica do grupo. Em função da relativa homogeneidade morfológica, mecanismos complementares têm sido empregados para a distinção das espécies e gêneros do grupo, tais como a análise de padrões de isoenzimas, proteínas de superfície, elementos do citoesqueleto, além de hibridização de DNA e sequenciamento de genes nucleares e mitocondriais, bem como dados genômicos modernos. A família Tetrahymenidae é, atualmente, dividida em três gêneros reconhecidos: *Lambornella* Keilin, 1921; *Tetrahymena* Furgason, 1940; e *Deltopylum* Fauré-Fremiet e Mugard, 1946 (Lynn, 2008).

Dentre os tetrahimenídeos, *Lambornella* apresenta particularidades taxonômicas relevantes. O gênero foi criado em 1921, a partir da descrição de *Lambornella stegomyiae* Keilin, 1921. Apresenta características singulares dentro da família, como a formação de cistos cuticulares e hábito parasitário facultativo em mosquitos (Keilin, 1921, Muspratt, 1947; Corliss, 1953). Dentro da histórica taxonômica do grupo, houve a sinonimização temporária de *Lambornella* com *Tetrahymena*, com base em investigações morfológicas (Corliss, 1960). Entretanto, após a descrição de *Lambornella clarki* Corliss e Coats, 1976, houve a reversão desta

proposta, com a nova validação do gênero pela comunidade científica. Desde então, *Lambornella* passou a contar com duas espécies reconhecidas de ciliados parasitas facultativos de mosquitos culicídeos (Corliss e Coats, 1976). Apenas em 2003 uma terceira espécie foi acrescentada ao grupo: *Lambornella trichoglossa* Foissner, 2003, que se diferencia por apresentar hábito de vida livre e ocorrência restrita a fitotelmos de bromélias (Foissner, 2003).

Embora haja um número representativos de estudos sobre o gênero *Lambornella* na literatura, foram realizados poucos estudos sobre a caracterização molecular e filogenia para o gênero (Nanney et al., 1998; Strüder-Kypke et al., 2001; Dunthorn et al., 2012). *Lambornella trichoglossa* Foissner, 2003 é a única espécie de vida-livre do gênero, ocorrendo exclusivamente em ambientes fitotelmais (Foissner, 2003). Apesar dos registros recorrentes na região neotropical (Foissner et al., 2003; Foissner 2003; Buosi et al., 2014; Buosi et al., 2015; Durán-Ramirez et al., 2015), não há trabalhos que investiguem a posição filogenética de *L. trichoglossa* baseando-se em marcadores mitocondriais. Segundo Chantangsi e Lynn (2008), o gene mitocondrial Citocromo Oxidase subunidade I (COI) é eficaz para esclarecer eventos filogenéticos recentes no gênero *Tetrahymena*, sendo útil na delimitação de espécies dentro de Tetrahymenidae. Nesse cenário, o presente trabalho teve como objetivos: (i) investigar a posição filogenética de *Lambornella trichoglossa* com base nos marcadores 18S-rDNA e COI; (ii) realizar delimitação computacional das linhagens de Tetrahymenidae disponíveis nos bancos de dados (COI), de modo a investigar se *Lambornella trichoglossa* descrita nesse estudo é uma linhagem independente (espécie válida); e (iii) investigar o estado ancestral da hábito de vida (vida-livre e simbionte/parasito) das linhagens de Tetrahymenidae disponíveis nos bancos de dados, com foco em elucidar a origem do hábito de vida da espécie *Lambornella trichoglossa*.

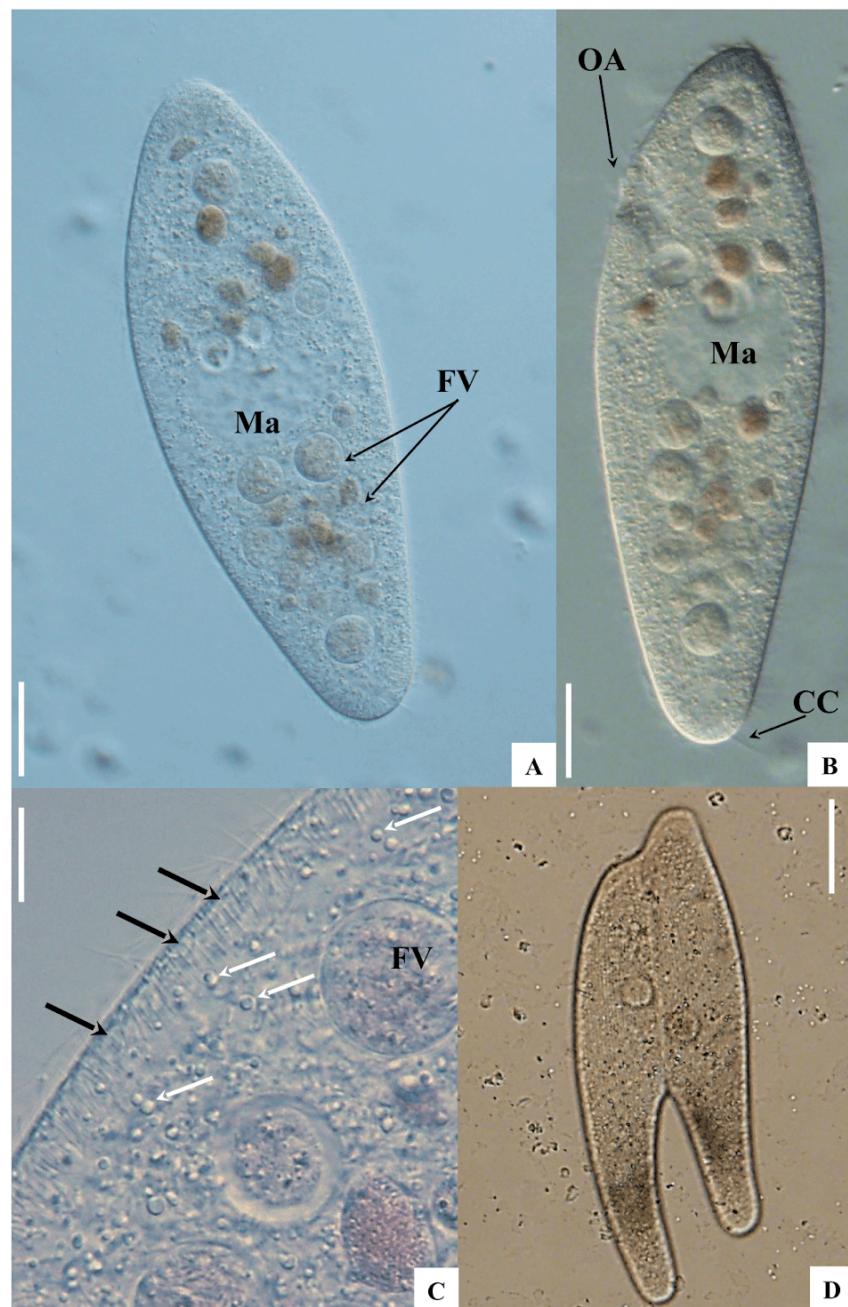
Metodologia

Local de coleta, identificação do ciliado, extração de DNA e PCR

A população de ciliado sequenciada nesse estudo foi coletada em tanques de bromélias (fitotelmos) da espécie *Portea petropolitana* no Jardim Botânico da

Universidade Federal de Juiz de Fora (21°43'74"S 43°22'06 "O), Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil. Os ciliados foram indentificados como *Lambornella trichoglossa* (Figura 19). Os dados moleculares disponíveis para essa espécie no GenBank seguiu o seguinte procedimento. Para a extração do DNA genômico, 30 indivíduos de *Lambornella trichoglossa* foram triados sob microscópio estereoscópio e, em seguida, fixados em etanol absoluto. A extração foi realizada utilizando o Kit *DNeasy Blood & Tissue* (QIAGEN), conforme o protocolo recomendado pelo fabricante. A amplificação dos genes 18S-rDNA e COI foi conduzida por meio de reação em cadeia da polimerase (PCR), em um termociclador —*Applied Biosystems GeneAmp PCR System 9700*®, utilizando microtubos com volume final de 25ml por reação. As condições das reações e PCR e os primers utilizados, para cada um dos marcadores, foram: COI (primers F388dT e R1184dT) segundo Strüder-Kypke e Lynn (2010), e 18S-rDNA (F9Euk e 18SR1513) segundo Schrallhammer et al. (2013). Os produtos amplificados foram confirmados por eletroforese em gel de agarose a 1% (Invitrogen, CA, EUA), e posteriormente purificados utilizando o kit QIAquick PCR Purification (QIAGEN), seguindo as recomendações do fabricante. O material purificado foi então submetido ao sequenciamento, em ambas as direções, pelo método Sanger, em reações de 7ml, utilizando os primers 18S R536, 18S F783, 18S F919 e 18S R1052 (Modeo et al., 2006) para o marcador 18S-rDNA, e primers específicos para o gene COI, a saber: LambCOI 23F (5'–ACAGCTGCTGCTAATACAGG–3') e LambCOI638R (5'–TGGTTTTGATACAGCCTGTGG–3').

Figura 19. Fotomicrografias in vivo de *Lambornella trichoglossa* provenientes de tanques de bromélias (*Portea petropolitana*) do Jardim Botânico da Universidade Federal de Juiz de Fora, mostrando a morfologia geral do corpo, a abertura oral (OA) na porção anterior do corpo, o macronúcleo (Ma), os vacúolos alimentares (FV) e localização do cílio caudal na porção posterior do corpo (CC). A e B: Morfologia geral in vivo. C. Detalhes da região cortical, mostrando os extrusomas (setas pretas) e os grânulos corticais (setas brancas). D. Conjugação. Barras: A: 55 μ m; B: 35 μ m; C: 12 μ m; D: 40 μ m.



Fonte: Imagens do banco digital da coleção do Laboratório de Protozoologia da

Análise filogenética e datação molecular

As análises propostas por este estudo utilizaram de sequências moleculares oriundas da plataforma Genbank (Benson et al., 2013), anexadas em dois *datasets* distintos. O primeiro *dataset* constitui-se por todas as sequências disponíveis para o gene 18S-rDNA de ciliados tetrahimenídeos, enquanto o segundo incluiu todas as sequências disponíveis do gene citocromo oxidase subunidade I (COI) para representantes da família Tetrahymenidae. Além disso, para compor o grupo externo, foram utilizadas sequências de *Icthyophthirius multifiliis* para o *dataset* 1 (18Sr-DNA), e sequências de *Tetrahymena paravorax*, *Tetrahymena unionis*, *Tetrahymena pennsylvaniensis*, *Tetrahymena glochidiophila* e *Tetrahymena nigricans* para o *dataset* 2 (COI). Ambos os *datasets* tiveram as sequências alinhadas através do algoritmo MAFFT v.7.0 (Katoh e Standley, 2013), com a seleção dos parâmetros padrões do programa. Seguido por uma inspeção visual no algoritmo Seaview v. 5.0.4 (Gouy et al., 2010), e uma edição através do GBLOCKS (Castresana, 2002), para a remoção dos sítios pobremente alinhados. Após a edição, os alinhamentos foram submetidos ao programa IQ-TREE (Nguyen et al., 2015) para estimar o melhor modelo de substituição de nucleotídeos, com base no critério de informação Bayesiano, obtendo o GTR+I+G4+F como melhor modelo para a evolução das sequências. As inferências filogenéticas baseadas em máxima verossimilhança (MV), bem como as estimativas dos valores de suporte, foram desenvolvidas através do programa IQ-TREE (Nguyen et al., 2015) na plataforma online do IQ-TREE (<http://iqtree.cibiv.univie.ac.at/>) (Trifinopoulos et al., 2016).

A filogenia de máxima verossimilhança inferida a partir do gene COI foi utilizada para estimar o tempo de divergência dos tetrahimenídeos, inclusive o gênero *Lambornella*. Para isso, utilizamos o programa Reltime na plataforma MEGA 11 (Tamura et al., 2021), com um ponto de calibração primário, proveniente do registro fóssil disponível para os ciliados do gênero *Tetrahymena*, com intervalo de 93-99 milhões de anos (Schonborn, 1999, corrigido por Schmidt et al., 2001).

Métodos coalescentes de delimitação de espécies

Para investigar a validação da espécie *Lambornella trichoglossa* como um clado independente, foram empregados distintos métodos computacionais de delimitação de espécies, incluindo o algoritmo Poisson Tree Processes (PTP; Zhang et al., 2013), o multi- rate Poisson tree process (mPTP; Kapli et al., 2016) e o Generalized Mixed Yule-Coalescent (GMYC; Pons et al., 2006) considerando ambos os modelos disponíveis, "single" e "multiple". Esses métodos fundamentam-se na teoria de coalescência para detectar diferenças estatisticamente significativas entre os clados recuperados na topologia. Além disso, baseiam- se no conceito filogenético de espécies, no qual os limites específicos são estabelecidos a partir da identificação de agrupamentos de organismos que compartilham padrões de ancestralidade e descendência, os quais se diferem de outros grupos (Eldredge e Cracraft, 1980).

As principais diferenças entre esses métodos estão relacionadas à forma como cada um modela os processos de especiação. O algoritmo PTP baseia-se no número de substituições acumuladas durante os eventos de especiação para modelar os processos de ramificação, assumindo que cada substituição possui uma baixa probabilidade de gerar um novo evento de ramificação. Ademais, pressupõe-se que os eventos de ramificação ocorrem com maior frequência dentro das espécies do que entre elas, uma vez que o número de substituições até o próximo evento de especiação segue uma distribuição exponencial.

O mPTP, uma versão aprimorada do PTP, em contrapartida considera que os eventos de ramificação de cada espécie delimitada sigam uma distribuição exponencial distinta, tornando mais robusta as estimativas baseadas em filogenias que apresentam táxons com diferentes taxas intra e interespecíficas. Já o GMYC assume que os processos de ramificação intra e interespecíficos são moldados por diferentes modelos. Presupõe-se que o modelo Yule molda os eventos de ramificação interespecíficos, considerando constantes as taxas de especiação e inexistentes os eventos de extinção. Enquanto o modelo de coalescência neutro modela os eventos de ramificação intraespecíficos.

Ambos os métodos de Poisson, PTP e mPTP, foram desenvolvidos com a topologia de máxima verossimilhança estimada anteriormente com base no gene

COI, e foram implementados na plataforma online (<https://mptp.h-its.org/#/tree>), com a seleção dos parâmetros padrões. Em contrapartida, o GMYC foi desenvolvido com a topologia datada, a qual foi submetida ao pacote splits no programa RStudio (R Core Team, 2020).

Reconstrução do estado ancestral do hábito

A fim de melhorar a compreensão sobre a origem e a evolução do gênero *Lambornella* e da espécie *Lambornella trichoglossa*, investigamos as mudanças de hábito ao longo da filogenia estimada dos tetrahimenídeos, por meio da reconstrução do estado ancestral. Para essa análise, a topologia datada foi submetida ao pacote MrBayes Ancestral states with R (MBASR; Heritage, 2021) com "n.samples = 10,000" e o "número de gerações = 1,000,000". O programa foi conduzido no ambiente Rstudio (R Core team, 2020), com o auxílio dos pacotes "ape", "phytools" e "pdfTools" e o software MrBayes 3.2.7 (Ronquist et al., 2012). Além da topologia, o programa MBASR requer um arquivo com o estado atual de cada sequência incluída no conjunto de dados utilizado. Assim, cada sequência foi categorizada de acordo com seu hábito, podendo ser classificadas como de "vida livre" ou "simbionte". As informações utilizadas para essa classificação foram obtidas a partir dos artigos de descrição de espécies ou dos estudos responsáveis pelo registro das sequências analisadas.

Resultados

Posição filogenética

Nossas análises geraram duas novas sequências, as quais após o devido processamento e edição, foram nomeadas e depositadas no banco de dados NCBI - Genbank sob os seguintes códigos de acesso MN567691.1 e MN477017.1, correspondentes aos marcadores moleculares 18S-rDNA e COI, respectivamente. A sequência de 18S-rDNA apresenta 1712 pares de bases, sendo 27,2% adenina; 24,59% citosina, 18,1% guanina e 30,02% de timina. A sequência de COI, por sua vez, apresenta 774 pares de bases, dos quais 32,94% são adenina; 12,01% citosina, 13,43% guanina e 41,6% de timina. As sequências MN567691 e MN477017 não

apresentaram 100% de similaridade com nenhuma outra sequência previamente incluída no banco de dados genético, o que nos permite, junto aos dados morfológicos, considerar os indivíduos analisados como uma linhagem nova.

As inferências filogenéticas, mostraram que independente do gene, 18S-rDNA (Figura 20) ou COI (Figura 21), as sequências de *L. trichoglossa* agrupam-se com outras espécies do gênero *Tetrahymena*, sugerindo a necessidade de se coletar e sequenciar as duas outras espécies do gênero para se deliberar sobre a validade do gênero *Lambornella*. Esse padrão de agrupamento com outras espécies do gênero *Tetrahymena* ocorre também quando há mais de uma sequência do gênero *Lambornella*, tal como ocorrido para o marcador 18S-rDNA (ver Figura 2). Na topologia contendo linhagens do marcador 18S-rDNA foram inseridas três linhagens do gênero *Lambornella*, sendo que uma delas (*Lambornella* sp. – AF36043) se agrupou em um clado contendo *Tetrahymena engbergi* e *Tetrahymena tropicalis*. As duas outras linhagens do gênero *Lambornella* (MN567691 – presente estudo e JQ723971) se agruparam em um clado contendo *Tetrahymena corlissi*, *Tetrahymena acanthophora* e *Tetrahymena bergeri* (Figura 20). Na topologia contendo linhagens do marcador COI para tetrahimenídeos em geral, inferida por máxima verossimilhança, foi ampliado (zoom) um clado da árvore filogenética (ver Figura 21). Nesse clado foram recuperados três grupos/clados principais. O primeiro formado por quatro sequências de *T. wellsae*. O segundo formado por uma sequência de *Tetrahymena* sp. e uma de *Tetrahymena tropicalis*. E o terceiro formado por várias sequências de *T. corlissi*, *T. bergeri*, *T. acanthophora*, *T. scolopax*, *T. dugesiae*, *T. epidokyrea* e pela nova sequência de *L. trichoglossa* descrita no presente estudo. A sequência do gene COI de *L. trichoglossa* agrupou-se com um clado formado por duas espécies do gênero *Tetrahymena*, *T. corlissi* e *T. bergeri*, com alto valor de suporte (100) (Figura 21).

Figura 20. Árvore filogenética inferida pelo método de máxima verossimilhança (ML), baseada no marcador 18S-rRNA de representantes dos gêneros *Tetrahymena* e *Lambornella*. As novas sequências de *Lambornella* (presente estudo) estão destacadas em vermelho. Grupo externo: *Ichthyophthirius multifiliis*. Observa-se que as sequências de *Lambornella* se inserem dentro dos agrupamentos de *Tetrahymena*. *Lambornella trichoglossa* forma um clado com uma sequência de *Lambornella* sp., ambos posicionados internamente aos agrupamentos de *Tetrahymena corlissi* e *Tetrahymena acanthophora*. Externamente a este agrupamento, *Tetrahymena bergeri* aparece em posição basal, sem relação direta com os demais.

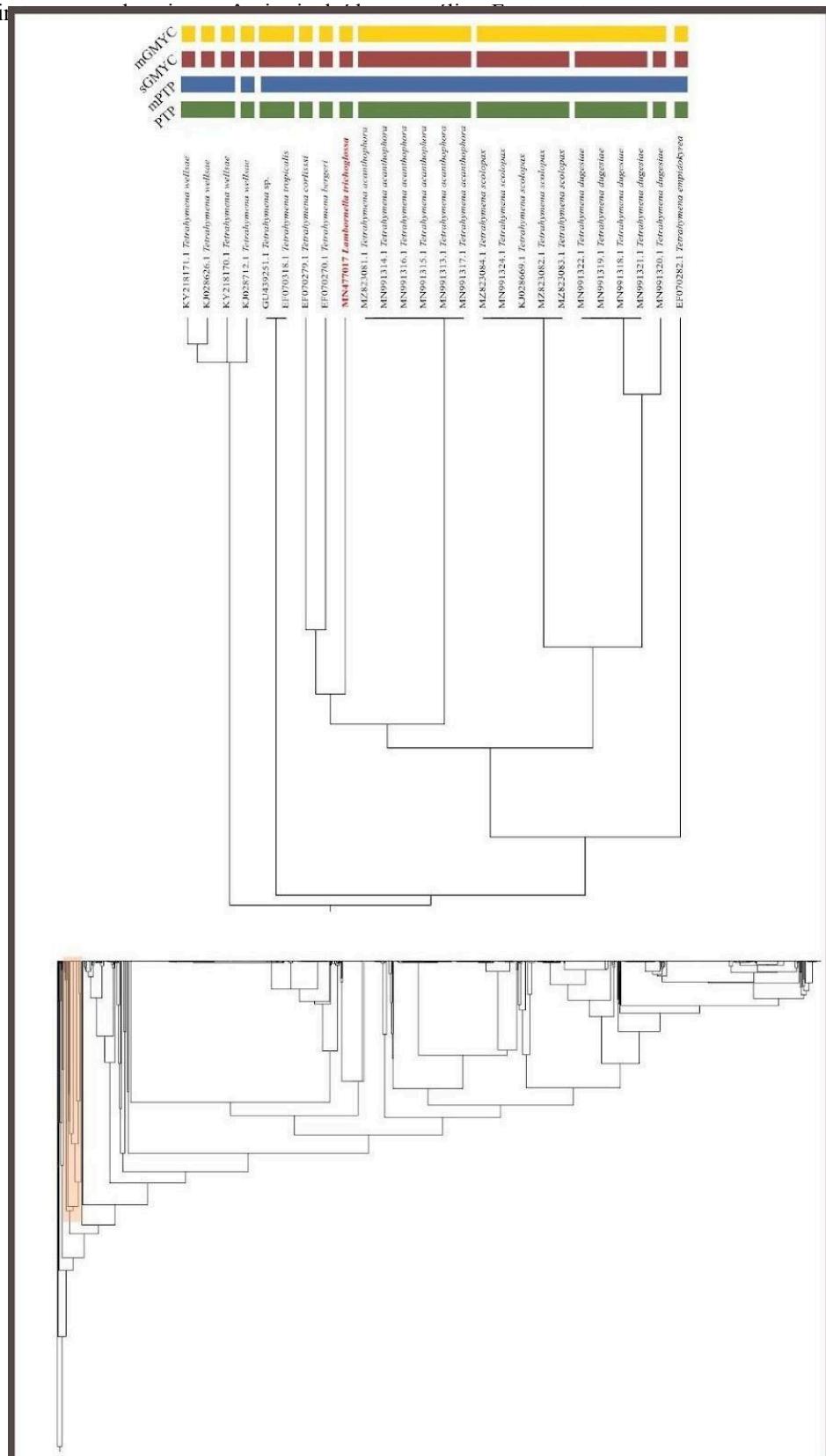
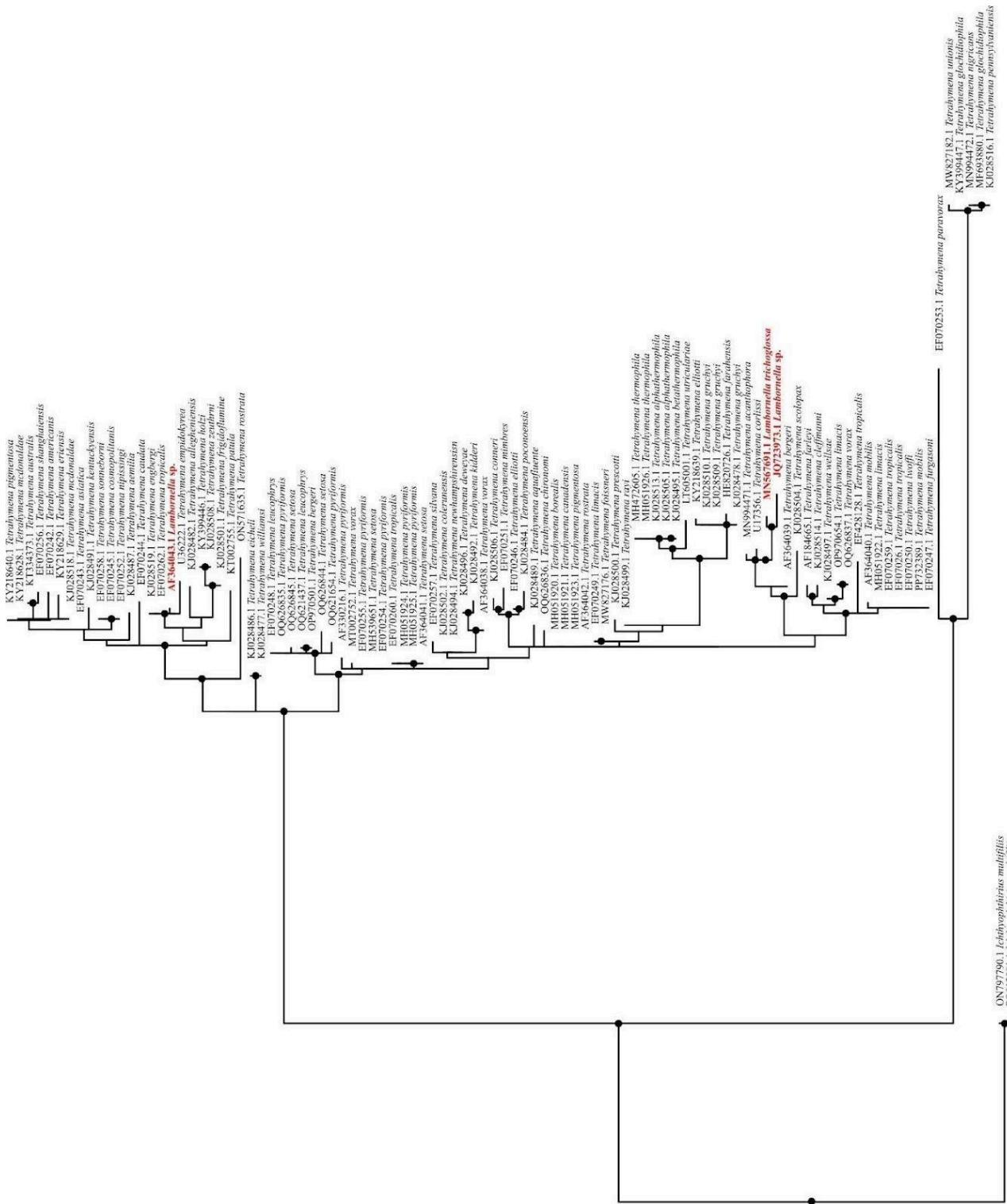


Figura 21. Árvore filogenética inferida pelo método de máxima verossimilhança (ML), usando COI de representantes dos gêneros *Tetrahymena* e *Lambornella*. Foram indicados os resultados da delimitação de espécies pelos métodos PTP (verde), mPTP (azul), sGMYC (vermelho) e mGMYC (amarelo), indicando as unidades delimitadas por cada algoritmo. A sequência de *Lambornella trichoglossa* está destacada em vermelho. Fonte: autores.



Delimitação de espécies coalescentes

Para identificar a diferença genética entre a sequência de *Lambornella* e outros tetrahymenídeos, submetemos nossa filogenia de máxima verossimilhança baseada no gene COI a diferentes métodos de coalescentes de delimitação de espécies. Os métodos foram divergentes quanto ao número total de ESUs. O PTP particionou o clado ampliado (ver item anterior) em 11 ESUs, o mPTP em 3 ESUs, o sGMYC em 13 ESUs e o mGMYC em 11 ESUs. Dos quatro métodos utilizados, PTP; sGMYC e mGMYC delimitaram a sequência de *L. trichoglossa* como uma unidade evolutiva significativa única, o que reforça e valida *L. trichoglossa* como uma espécie independente (Figura 21).

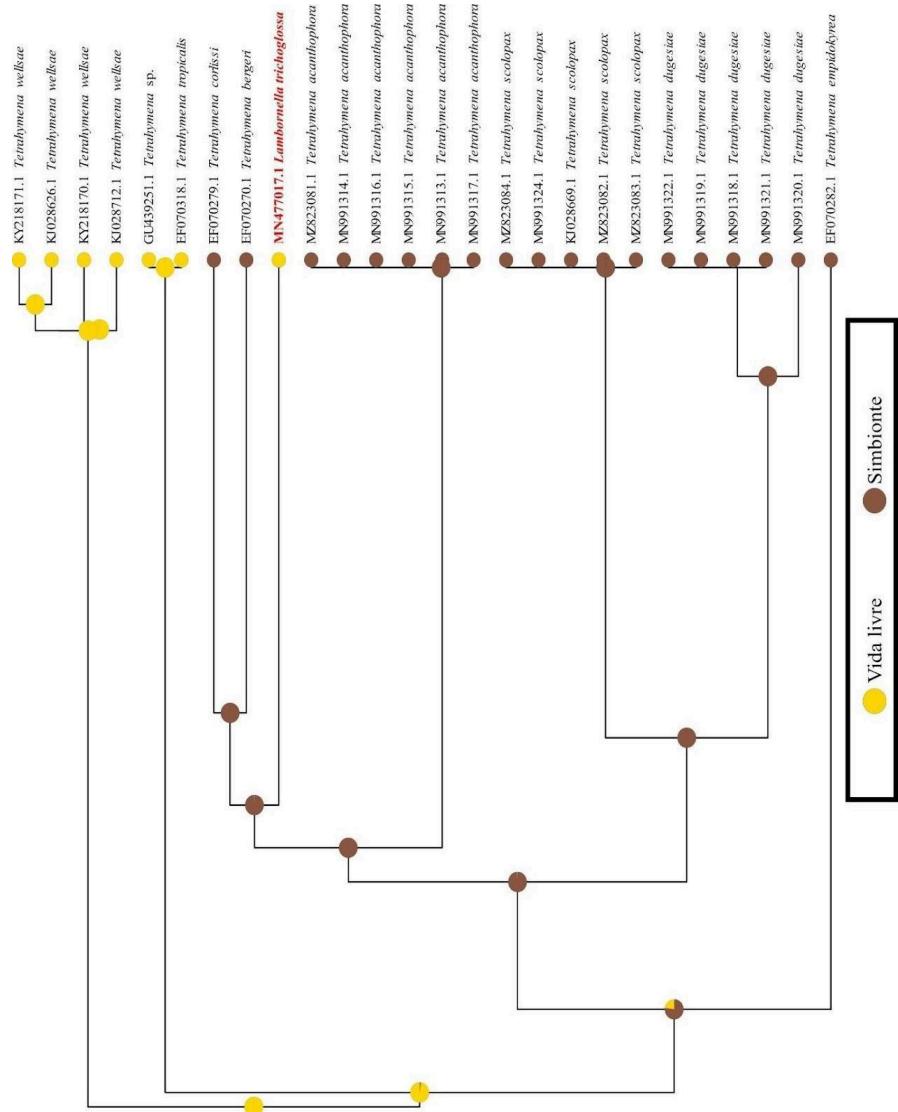
Reconstrução do estado ancestral do hábito

A reconstrução do estado ancestral do hábito sugere que o último ancestral comum da família Tetrahymenidae era, provavelmente, um organismo de vida livre. Contudo, em um intervalo relativamente curto no tempo evolutivo, parte dos ciliados tetrahymenídeos teriam se adaptado ao modo de vida simbótico, estabelecendo relações de menor ou maior dependência metabólica com diferentes organismos. Esse hábito se mostrou vantajoso para o grupo, uma vez que, após seu surgimento no interior da família, foi amplamente mantido por seus descendentes e permanece em grande parte dos seus representantes atuais.

Na topologia contendo linhagens do marcador COI, inferida por máxima verossimilhança, reconstruímos o estado ancestral das linhagens contidas no clado da árvore filogenética ampliado (ancestral de vida livre), e obtivemos que o grupo formado pelas quatro sequências de *T. wellsae* e aquele formado por *Tetrahymena* sp. + *Tetrahymena tropicalis* possuem, respectivamente, ancestrais de vida livre. Entretanto, o clado contendo sequências de *T. corlissi*, *T. bergeri*, *T. acanthophora*, *T. scolopax*, *T. dugesiae*, *T. epidokyrea* e *L. trichoglossa* possuem ancestral simbionte. Nesse clado, *L. trichoglossa* é a única linhagem de vida livre (Figura 22). A sequência do gene COI de *L. trichoglossa*, ciliado encontrado até o momento apenas em tanques de bromélias na América Latina, se insere agrupo com sequências de

ciliados simbiontes de larvas de insetos, *Tetrahymena corlissi* e *Tetrahymena bergeri* (Figura 22).

Figura 22. Reconstrução do estado ancestral de hábito de vida para *Lambornella trichoglossa* e linhagens relacionadas, baseada na topologia da árvore filogenética inferida a partir do gene mitocondrial citocromo c oxidase subunidade I (cox-1). A análise foi conduzida utilizando um número amostral de 10.000 repetições e 1.000.000 de gerações. O caractere evolutivo investigado corresponde ao hábito de vida livre ou simbionte/parasitário ao longo da história evolutiva do grupo. Os círculos amarelos indicam linhagens de vida livre, enquanto os círculos marrons representam simbiontes ou parasitos.



Fonte: Elaborado pelos autores.

Discussão

Visto a história taxonômica do gênero *Lambornella* Keilin, 1921 e a escassez de estudos morfológicos e moleculares, as novas análises moleculares apresentados (Figuras 20 e 21) fortalecem a proposta apresentada nos anos 60 de que o gênero *Lambornella* sinônimo do gênero *Tetrahymena* (Corliss, 1960; Corliss e Coats, 1976). Em ambas topologias apresentados (Figuras 20 e 21) representantes do gênero *Lambornella* se agruparam como grupo interno do gênero *Tetrahymena*.

Usando dados do marcador 18S-rDNA os representantes do gênero *Lambornella* (AF364043, MN567691 e JQ723971) se agruparam em dois clados distintos da árvore (Figura 20), o que ressalta a necessidade de ampliação de representantes desse gênero em futuras análises sobre filogenia da família Tetrahymenidae, principalmente das espécies do gênero *Lambornella* simbiontes das fases larvais de insetos dípteros. Com base no gene COI (Figura 21), a única sequência do gênero *Lambornella* (MN477017), se agrupara em um clado contendo duas espécies do gênero *Tetrahymena*, *T. corlissi* e *T. bergeri*, com alto valor de suporte. Segundo Chantangsi e Lynn (2008), o gene mitocondrial COI é eficaz para elucidar a filogenia recente de *Tetrahymena*, enquanto o marcador 18S-rDNA é mais adequado a avaliações sobre a filogenia profunda do gênero. A manutenção da topologia nas reconstruções realizadas com ambos marcadores demonstra que *L. trichoglossa*, *T. corlissi* e *T. bergeri* compartilham longa história evolutiva, sendo a diferenciação das espécies pertencentes ao gênero *Lambornella* algo recente dentro da filogenia do gênero *Tetrahymena*. A posição filogenética de *L. trichoglossa* demonstrada também pelo gene COI reforça as propostas de sinonimização dos gêneros *Lambornella* e *Tetrahymena*.

No presente estudo não propusemos a sinonimização dos gêneros *Lambornella* e *Tetrahymena* e nova combinação de *Lambornella trichoglossa* para o gênero *Tetrahymena* visto alguns pontos a serem previamente elucidados para que a nova proposta tenha estabilidade e coerência. Segundo Lynn (1994) e Lynn e Small (2002) os três gêneros da família Tetrahymenidae se distinguem pelo formato das membranelas adorais e pelo estilo de vida, a saber: *Tetrahymena* (três policinéias

orais lineares, nunca sendo sigmóides); Lambornella (apenas as policinéias orais 2 são sigmóides; extremidade anterior da policinéias 1 curvada para a direita; parasitos na cutícula de larvas de mosquito); e Deltopylum (policinéias orais 1 e 2 sigmóides). Segundo essa organização, *Lambornella trichoglossa* não se enquadra em nenhum dos gêneros por não ser um organismo parasito, entretanto, seu padrão de membranelas orais indicam estar inserida no gênero *Lambornella*. Assim sendo, se realizássemos a combinação de *Lambornella trichoglossa* para o gênero *Tetrahymena* não haveria a possibilidade de ampliação da atual da diagnose do gênero *Tetrahymena* sem incluir as duas outras espécies do gênero *Lambornella*: *Lambornella stegomyiae* e *Lambornella clarki*. Como não há dados moleculares para *Lambornella stegomyiae* e *Lambornella clarki* e, decidimos de forma parcimoniosa não propor essa sinonimização por hora, sendo clara necessidade de obter sequências para essas espécies simbiontes de insetos.

Os diferentes métodos de coalescentes de delimitação de espécies utilizados no estudo foram claros em validar *L. trichoglossa* como uma espécie independente. Dos quatro métodos utilizados, PTP; sGMYC e mGMYC delimitaram a sequência de *L. trichoglossa* como uma unidade evolutiva significativa única. Como o método mPTP possui tendência a unir mais sequências em uma mesma SEU (*lumper*), era esperado que *L. trichoglossa* formasse uma ESU contendo linhagens do gênero *Tetrahymena*. As espécies de tetrahimenídeos, em geral, não apresentam caracteres morfológicos facilmente distinguíveis, além de exibirem significativa plasticidade fenotípica, o que dificulta a delimitação taxonômica com base apenas em características morfológicas e ecológicas. Diante dessa complexidade, a utilização de abordagens moleculares tornou-se indispensável para a identificação precisa dessas espécies, tal como proposto em nosso estudo (Lynn, 2008). Segundo Foissner (2003) as características morfológicas de *Lambornella trichoglossa* eram claramente distinguíveis de qualquer espécie conhecida para a família Tetrahymenidae, e continuam sendo até o momento. Dessa forma o estudo de delimitação computacional constitui mais uma evidência da validade de *L. trichoglossa*. Os dados da delimitação validaram ainda as espécies *T. corlissi* e *T. bergeri* como ESUs independentes de *L. trichoglossa* nos mesmos três delimitadores, PTP; sGMYC e mGMYC. Dados morfológicos, hospedeiros e moleculares (COI) corroboram a separação das espécies *T. corlissi* e *T. bergeri* (Lynn, 1975; Chantangsi e Lynn, 2008;

Pan et al., 2020). Segundo Pan et al. (2020) *T. corlissi* são comumente encontrados em peixes e *T. bergeri* larvas de insetos, girinos e espécimes de peixes.

A diversidade de hábitos de vida dentre os representantes da família Tetrahymenidae levanta questionamentos sobre sua trajetória evolutiva. Com variações notáveis entre seus representantes, que transitaram o modo de vida ao longo do tempo, há um recente interesse em investigar o estado ancestral do hábito de vida para esse grupo (Rataj e Vd'ačný, 2020). Da mesma forma em que o hábito histofágico já foi abordado, como um processo de evolução convergente no grupo, compreender a trajetória do modo de vida dos ciliados tetrahimenídeos trará esclarecimentos sobre a origem e modo de vida de Tetrahymenidae (Strüder-Kypke et al., 2001; Rataj e Vd'ačný, 2020).

Nosso estudo deixa claro que *L. trichoglossa* possui um ancestral simbionte, o que nos revelam uma possível rota evolutiva para ciliados tetrahimenídeos bromelícolas, bem como a refletir sobre os agentes moduladores da especiação para o grupo (Corliss, 1972). Em nossas análises, *L. trichoglossa*, agrupada como espécie irmã do grupo *T. bergeri* + *T. corlissi*, retoma o hábito de vida-livre anterior a diversificação destas espécies irmãs. Rataj e Vd'ačný (2020) realizaram a reconstrução do modo de vida (vida livre ou parasitário) para representantes do gênero *Tetrahymena*, e demonstraram ser o hábito de vida livre o ancestral e, ainda que, o hábito de vida simbionte/parasitário evoluiu e ocorreu de forma independente em vários clados dentro da evolução do gênero.

Uma das hipóteses de colonização e chegada de ciliados nos fitotelmos, com base em nosso estudo, poderia estar relacionada com insetos que utilizam tanques de bromélias e possuíam algum tetrahimenídeo simbionte. Segundo Costa et al. (2024) a colonização dos ciliados exclusivos de bromélias (tal como *L. trichoglossa*) é recente e ocorreu inúmeras vezes e de forma independente ao longo do tempo evolutivo para Ciliophora, sendo a origem dos ciliados exclusivos de bromélias surgiram após a datação para origem de Bromeliaceae. Embora diversas hipóteses ecológicas, morfológicas e evolutivas ajudem a explicar o sucesso evolutivo desses ciliados bromelícolas, mais estudos com esse grupo são necessários para definir hipóteses complexas que expliquem tal processo (Costa et al., 2024).

Referências Bibliográficas

- BENSON, D. A. et al. GenBank. *Nucleic Acids Research*, v. 42, n. D1, p. D32–D37, jan. 2014.
- BUOSI, P. R.; CABRAL, A. F.; UTZ, L. R.; VIEIRA, L. C.; VELHO, L. F. Effects of Seasonality and Dispersal on the Ciliate Community Inhabiting Bromeliad Phytotelmata in Riparian Vegetation of a Large Tropical River. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, v. 62, n. 6, p. 737–749, nov. 2015.
- BUOSI, P. R. B.; UTZ, L. R. P.; MEIRA, B. R. de; SILVA, B. T. S. da; LANSAC-TÔHA, F. M.; LANSAC-TÔHA, F. A.; VELHO, L. F. M. Rainfall influence on species composition of the ciliate community inhabiting bromeliad phytotelmata. *Zoological Studies*, v. 53, n. 1, dez. 2014.
- CASTRESANA, J. Selection of Conserved Blocks from Multiple Alignments for Their Use in Phylogenetic Analysis. *Molecular Biology and Evolution*, v. 17, n. 4, p. 540–552, abr. 2000.
- CHANTANGSI, C.; LYNN, D. Phylogenetic relationships within the genus *Tetrahymena* inferred from the cytochrome c oxidase subunit 1 and the small subunit ribosomal RNA genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v. 49, n. 3, p. 979–987, dez. 2008.
- CORLISS, J. O. Comparative studies on holotrichous ciliates in the *Colpidium-Glaucoma- Leucophrys-Tetrahymena* group: II. Morphology, life cycles and systematic status of strains in pure culture. *Parasitology*, v. 43, n. 1–2, p. 49–87, maio 1953.
- CORLISS, J. O. *Tetrahymena chironomi* sp.nov., a ciliate from midge larvae, and the current status of facultative parasitism in the genus *Tetrahymena*. *Parasitology*, v. 50, n. 1–2, p. 111–153, maio 1960.
- CORLISS, J. O.; COATS, D. W. A New Cuticular Cyst-Producing Tetrahymenid Ciliate, *Lambornella clarki* n. sp., and the Current Status of Ciliatosis in Culicine Mosquitoes. *Transactions of the American Microscopical Society*, v. 95, n. 4, p. 725, out. 1976.
- CORLISS, J. O. *Tetrahymena* and Some Thoughts on the Evolutionary Origin of Endoparasitism. *Transactions of the American Microscopical Society*, v. 91, n. 4, p. 566- 573, 1972.
- COSTA, F. S.; DIAS, R. J. P.; ROSSI, M. F. Macroevolutionary analyses of ciliates associated with hosts support high diversification rates. *International Journal for Parasitology*, v. 51, n. 11, p. 967–976, out. 2021.
- DUNTHORN, Micah et al. Diversity and endemism of ciliates inhabiting Neotropical phytotelmata. *Systematics and Biodiversity*, v. 10, n. 2, p. 195–205, jun. 2012.

- DURÁN-RAMÍREZ, C. A.; GARCÍA-FRANCO, J. G.; FOISSNER, W.; MAYÉN-ESTRADA, R. Free-living ciliates from epiphytic tank bromeliads in Mexico. *European Journal of Protistology*, v. 51, n. 1, p. 15–33, fev. 2015.
- ELDREDGE, NILES; CRACRAFT, J. O. E. L. Phylogenetic patterns and the evolutionary process. *Method and Theory in Comparative Biology*, v. 8, p. 1-349, 1980.
- ESTEBAN, G. F.; FENCHEL, T.; FINLAY, B. J. Mixotrophy in Ciliates. *Protist*, v. 161, n. 5, p. 621–641, dez. 2010.
- FOISSNER, W.; STRÜDER-KYPKE, M.; VAN DER STAAY, G. W.; MOON-VAN DER STAAY, S. Y.; HACKSTEIN, J. H. Endemic ciliates (Protozoa, Ciliophora) from tank bromeliads (Bromeliaceae): a combined morphological, molecular, and ecological study. *European Journal of Protistology*, v. 39, n. 4, p. 365–372, jan. 2003.
- FOISSNER, W. Morphology and ontogenesis of *Lambornella trichoglossa* nov. spec., a new tetrahymenid ciliate (Protozoa, Ciliophora) from Brasilian tank bromeliads (Bromeliaceae). *European Journal of Protistology*, v. 39, n. 1, p. 63–82, jan. 2003.
- GAO, F.; WARREN, A.; ZHANG, Q.; GONG, J.; MIAO, M.; SUN, P.; XU, D.; HUANG, J.; YI, Z.; SONG, W. The all-data-based evolutionary hypothesis of ciliated protists with a revised classification of the phylum Ciliophora. *Scientific Reports*, London, v. 6, art. 24874, 2016. DOI: 10.1038/srep24874.
- GOUY, M.; GUINDON, S.; GASCUEL, O. SeaView Version 4: A Multiplatform Graphical User Interface for Sequence Alignment and Phylogenetic Tree Building. *Molecular Biology and Evolution*, v. 27, n. 2, p. 221–224, fev. 2010.
- HERITAGE, S. MBASR: Workflow-simplified ancestral state reconstruction of discrete traits with MrBayes in the R environment. *bioRxiv*, jan. 2021.
- KAPLI, P. et al. Multi-rate Poisson tree processes for single-locus species delimitation under maximum likelihood and Markov chain Monte Carlo. *Bioinformatics*, v. 33, n. 11, p. 1630–1638, jun. 2017.
- KATOH, K.; STANDLEY, D. M. MAFFT Multiple Sequence Alignment Software Version 7: Improvements in Performance and Usability. *Molecular Biology and Evolution*, v. 30, n. 4, p. 772–780, 1 abr. 2013.
- KEILIN, D. On a New Ciliate: *Lambornella stegomyiae* n.g., n.sp., Parasitic in the Body Cavity of the Larvae of *Stegomyia scutellaris* Walker (Diptera, Nematocera, Culicidae). *Parasitology*, v. 13, n. 3, p. 216–224, ago. 1921.
- LUONG, L. T.; MATHOT, K. J. Facultative parasites as evolutionary stepping-stones towards parasitic lifestyles. *Biology Letters*, v. 15, n. 4, p. 20190058, abr. 2019.
- LYNN, D. H. Ordre des Tetrahymenida Fauré-Fremiet in Corliss, 1956. *Traité Zool.* 2(2), 791–812, 1994.

LYNN, D. H.; SMALL, E. B. Phylum Ciliophora Doflein, 1901. In: LEE, J. J.; LEEDALE, G. F.; BRADBURY, P. (ed.). An illustrated guide to the protozoa. 2. ed. Lawrence: Society of Protozoologists, v. 1, p. 371–656, 2002.

LYNN, D. H. The Ciliated Protozoa: Characterization, Classification, and Guide to the Literature. New York: Springer, 2008.

MUSPRATT, J. Note on a ciliate protozoon, probably *Glaucoma pyriformis*, parasitic in culicine mosquito larvae. Parasitology, v. 38, n. 1–2, p. 107–110, jan. 1947.

NANNEY, D. L. et al. Comparison of Sequence Differences in a Variable 23S rRNA Domain among Sets of Cryptic Species of Ciliated Protozoa. Journal of Eukaryotic Microbiology, v. 45, n. 1, p. 91–100, jan. 1998.

NGUYEN, L. et al. IQ-TREE: A Fast and Effective Stochastic Algorithm for Estimating Maximum-Likelihood Phylogenies. Molecular Biology and Evolution, v. 32, n. 1, p. 268–274, jan. 2015.

PAN, X.; ZHANG, S.; PAN, M. et al. Taxonomy, diversity and diagnosis of Tetrahymenosis, and its recent identification measures in aquaculture inferred from infections in Northeastern China. Preprint, Research Square, mar. 2020.

PECINA, L.; VĚDČNÝ, P.. Morphological versus molecular delimitation of ciliate species: a case study of the family Clevelandellidae (Protista, Ciliophora, Armophorea). European Journal of Taxonomy, n. 697, ago. 2020.

PONS, J. et al. Sequence-based species delimitation for the DNA taxonomy of undescribed insects. Systematic Biology, v. 55, n. 4, p. 595–609, 2006.

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2020. Disponível em: <https://www.r-project.org>

RATAJ, M.; VĚDČNÝ, P. Multi-gene phylogeny of *Tetrahymena* refreshed with three new histophagous species invading freshwater planarians. Parasitology Research, mar. 2020.

RONQUIST, F. et al. MrBayes 3.2: Efficient Bayesian Phylogenetic Inference and Model Choice Across a Large Model Space. Systematic Biology, v. 61, n. 3, p. 539–542, maio 2012.

SCHMIDT, A. R.; VON EYNATTEN, H.; WAGREICH, M. The Mesozoic amber of Schliersee (southern Germany) is Cretaceous in age. Cretaceous Research, v. 22, n. 4, p. 423–428, ago. 2001.

SCHÖNBORN, W. et al. A Fossilized Microcenosis In Triassic Amber. Journal of Eukaryotic Microbiology, v. 46, n. 6, p. 571–584, nov. 1999.

SCHRALLHAMMER, M. et al. *Candidatus Megaira polyxenophila*’ gen. nov., sp. nov.: Considerations on Evolutionary History, Host Range and Shift of Early

Divergent Rickettsiae. PLoS ONE, v. 8, n. 8, p. e72581, 2013

STRÜDER-KYPKE, M. C. et al. Parallel evolution of histophagy in ciliates of the genus *Tetrahymena*. BMC Evolutionary Biology, v. 1, n. 1, p. 5, 9 out. 2001.

TAMURA, K.; STECHER, G.; KUMAR, S. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. Molecular Biology and Evolution, v. 38, n. 7, p. 3022–3027, jun. 2021.

TRIFINOPoulos, J. et al. W-IQ-TREE: a fast online phylogenetic tool for maximum likelihood analysis. Nucleic Acids Research, v. 44, n. W1, p. W232–W235, jul. 2016.

WEBER DE MELO, V. et al. Phenotypic responses to temperature in the ciliate *Tetrahymena thermophila*. Ecology and Evolution, v. 10, n. 14, p. 7616–7626, jul. 2020.

ZHANG, J. et al. A general species delimitation method with applications to phylogenetic placements. Bioinformatics, v. 29, n. 22, p. 2869–2876, nov. 2013.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presente dissertação apresentou um conjunto de abordagens complementares (revisão histórica, análise cienciométrica e dados morfológicos e moleculares inéditos) que, de forma integrada, avançam significativamente no conhecimento sobre os ciliados do gênero *Lambornella* Keilin, 1921.

O primeiro capítulo, ao revisitar a literatura histórica e taxonômica, revelou a trajetória de mais de um século de estudos sobre o gênero, destacando lacunas e inconsistências em aspectos morfológicos e taxonômicos. Essa análise permitiu identificar áreas que carecem de investigação, como a definição de limites taxonômicos e a necessidade de revisões críticas das descrições originais das três espécies reconhecidas (*L. stegomyiae*, *L. clarki* e *L. trichoglossa*), bem como sobre a validade do gênero.

O segundo capítulo utilizou a cienciometria para mapear, de 1921 a 2024, as tendências na produção científica sobre *Lambornella*. Os resultados indicaram um foco desproporcional em *L. clarki*, especialmente em sua interação parasito-hospedeiro, em contraste com a quase ausência de estudos sobre *L. stegomyiae* e a carência de análises ecológicas e moleculares de *L. trichoglossa*. Esta abordagem quantitativa evidenciou a urgência de novos esforços de pesquisa, particularmente no campo molecular e evolutivo.

O terceiro capítulo trouxe contribuições inéditas sobre a sistemática e evolução de *L. trichoglossa* coletada em fitotelmos de bromélias no Brasil, indicando-a como uma linhagem evolutiva independente.

De forma integrada, os resultados reforçam a importância de unir ferramentas históricas, cienciométricas e moleculares para resolver questões complexas de sistemática e evolução. As evidências apresentadas apontam para a necessidade de: (i) ampliar o banco de dados genômicos e moleculares para todas as espécies de *Lambornella*, (ii) revisar criticamente a validade taxonômica do gênero à luz de novas evidências filogenéticas e (iii) investigar aspectos ecológicos pouco explorados, como as relações parasitárias e simbióticas.

Assim, esta dissertação não apenas sistematiza o conhecimento existente sobre *Lambornella*, mas também fornece uma base sólida para estudos futuros, incentivando uma abordagem mais integrada entre ecologia e biologia molecular

para a compreensão da diversidade e evolução dos ciliados. Os resultados desta dissertação abrem um campo amplo para investigações futuras sobre a sistemática, ecologia e evolução do gênero *Lambornella*. Inicialmente, a inclusão de novos dados moleculares, como genomas mitocondriais completos e sequências multilocus, poderá fornecer uma base filogenômica robusta para revisar a posição do gênero dentro da família Tetrahymenidae, permitindo testar a monofilia de *Lambornella* e sua relação com os demais tetrahimenídeos. Além disso, estudos de metagenômica e metabarcoding em fitotelmos de bromélias e outros ambientes aquáticos podem revelar espécies ainda não descritas ou linhagens crípticas associadas ao gênero, aumentando a compreensão sobre sua diversidade global. Abordagens experimentais, como ensaios de infecção e análises ecofisiológicas, também se mostram promissoras para esclarecer a plasticidade de hábitos (vida livre vs. parasitária) e os fatores ambientais que modulam a transição entre modos de vida. Paralelamente, investigações sobre interações ecológicas como por exemplo, entre *Lambornella* e as comunidades microbianas nos fitotelmos, podem esclarecer o papel trófico e a contribuição do gênero para a dinâmica dos ecossistemas bromelícolas. Por fim, a criação de um banco de dados integrado, reunindo informações históricas, morfológicas e moleculares, facilitaria análises comparativas em larga escala, incentivando colaborações internacionais e permitindo a elaboração de um panorama mais abrangente da evolução dos ciliados.

APÊNDICE A

A: Tabela do ranqueamento de revistas científicas sem critério de exclusão. Indicativo em número de artigos e percentual total.

Porcentagem de participação nas publicações por revista

Revistas	% (n)
Journal of Medical Entomology	10.71% (6)
Parasitology	8.93% (5)
Journal of Invertebrate Pathology	7.14% (4)
European Journal of Protistology	5.36% (3)
Journal of medical entomology	5.36% (3)
Parazitologiya	5.36% (3)
Journal of Vector Ecology	3.57% (2)
Journal of invertebrate pathology	3.57% (2)
Science	3.57% (2)
Transactions of the American Microscopical Society	3.57% (2)
American Mosquito Control Association	1.79% (1)
BMC Evolutionary Biology	1.79% (1)
BioMed Research International	1.79% (1)
Diversity	1.79% (1)
Journal of Eukaryotic Microbiology	1.79% (1)
Journal of Evolutionary Biology	1.79% (1)
Journal of Molecular Evolution	1.79% (1)
Journal of Protozoology	1.79% (1)
Journal of the Entomological Society of Southern Africa	1.79% (1)
Kalikasan	1.79% (1)
Meditinskaya Parazitologiya i Parazitarnye Bolezni	1.79% (1)
Molecular Ecology Resources	1.79% (1)
Natural History	1.79% (1)
Nature	1.79% (1)
Neotropical Biology and Conservation	1.79% (1)
Oecologia	1.79% (1)
Proceedings of the National Academy of Sciences	1.79% (1)
Systematics and Biodiversity	1.79% (1)
The American Naturalist	1.79% (1)
The International Journal of Medicine and Sciences	1.79% (1)
The Journal of parasitology	1.79% (1)
Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene	1.79% (1)
Tropical Biomedicine	1.79% (1)
Zoological Studies	1.79% (1)
Total	100% (56)

Fonte: Produzido pelo autor.