

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL**  
**CAMPUS DE LARANJEIRAS DO SUL**  
**CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**BRUNA VIEIRA**

**GREGARINAS DO FILO APICOMPLEXA ENCONTRADAS PARASITANDO**  
*Gryllus Assimilis*

**LARANJEIRAS DO SUL**

**2024**

**BRUNA VIEIRA**

**GREGARINAS DO FILO APICOMPLEXA ENCONTRADAS PARASITANDO**  
*Gryllus assimilis*

Trabalho de conclusão de curso apresentado para obtenção de título de Licenciatura em Ciências Biológicas pela instituição da Universidade Federal da Fronteira Sul – UFFS.

Orientador: Prof. Dr. Carlos José Raupp Ramos.

**LARANJEIRA DO SUL**

**2024**

BRUNA VIEIRA

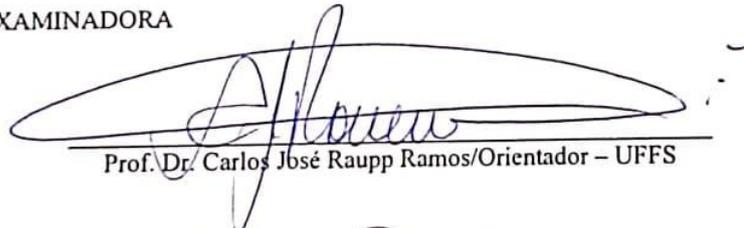
GREGARINAS DO FILO APICOMPLEXA ENCONTRADAS PARASITANDO *Gryllus*  
*Assimilis*

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado como requisito para a obtenção do grau de Licenciada em Ciências Biológicas da Universidade Federal da Fronteira Sul - *Campus* Laranjeiras do Sul.

Orientador: Carlos José Raupp Ramos

Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e aprovado pela banca em: 04/07/2024.

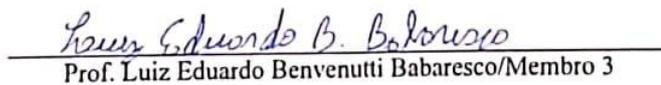
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Carlos José Raupp Ramos/Orientador – UFFS



Profa Dra Silvia Romão/Membro 2 - UFFS



Prof. Luiz Eduardo Benvenuto Babaresco/Membro 3

**Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS**

Vieira, Bruna  
GREGARINAS DO FILO APICOMPLEXA ENCONTRADAS  
PARASITANDO Gryllus Assimilis / Bruna Vieira, Maria  
Olivia de Abreu Oliveira. -- 2024.  
35 f.:il.

Orientador: Carlos José Raupp Ramos

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) -  
Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de  
Licenciatura em Ciências Biológicas, Laranjeiras do  
Sul, PR, 2024.

1. Gryllus assimilis. 2. Gregarinas do Filo  
Apicomplexa. I. Oliveira, Maria Olivia de Abreu II.  
Ramos, Carlos José Raupp, orient. III. Universidade  
Federal da Fronteira Sul. IV. Título.

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente, agradeço a Deus por iluminar meus passos e me fortalecer durante esse período que cursei o curso de Licenciatura em Ciências Biológicas na Universidade Federal da Fronteira Sul, campus Laranjeiras do Sul.

Aos meus pais, minha família e amigos que compartilhamos a sala de aula por esse período, alegrias e frustrações, foi uma honra conhece-los, principalmente ao Luiz Eduardo Benvenuti Babaresco e a Maria Olivia de Abreu Oliveira. Que me incentivaram e me deram apoio para que fosse possível concluir a graduação da melhor forma. A meu namorado Victor Thiago Estegue Gonçalves que desde o início esteve ao meu lado, me apoiando e contribuindo para a realização dos trabalhos, e, em especial a minha filha Luna Vieira, que grande parte desse esforço eu dedico a ela.

Aos meus orientadores e membros da banca examinadora, obrigado por aceitarem o convite e pelas contribuições para o presente trabalho. Ao professor Dr. Carlos José Raupp Ramos, professora Dra. Silvia Romão e professora Dra. Aline Pomari Fernandes, agradeço pela paciência, companheirismo e aos conhecimentos transmitidos. E a todos os que não citei, mas rezaram e torceram por mim. Muito obrigado!

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. **A:** *Gryllus assimilis* **B:** *Gryllus assimilis* abatidos em um recipiente com algodão umedecido de éter para posterior dissecação e extração de hemolinfa.....15
- Figura 2. Dissecação de Grilos (*Gryllus assimilis*) **A e B:** com retirada de hemolinfa e preparo de lâmina para observação em microscopia óptica.....15
- Figura 3. Grilos (*Gryllus assimilis*) **A e B:** Lâmina de grilos esmagados com lamínula da fase N1 e N2; **C, D, E, F e G:** Grilos dissecados e com a hemolremovidas.....16
- Figura 4. Tabela com os dados de cada fase de muda dos *Gryllus assimilis*; lâminas preparadas e positivadas com parasitas Gregarinas filo Apicomplexa.....17
- Figura 5. Tabela com os dados de cada fase de mudas de *Gryllus assimilis*, somente não tendo dados da fase N2; lâminas preparadas e positivadas com parasitas Gregarinas filo Apicomplexa.....18
- Figura 6. Gregarinas (Apicomplexa); Família Leidymanidae; Género *Leidyana*; relatado nos seguintes grilos: *Acheta domesticus*, *Gryllus campestris*, *Gryllus assimilis*, *Nemobius fasciatus*, *Nemobius sylvestris*, *Phaeophilacris pilipennis* e *Phaeophilacris sp.*.....19
- Figura 7. Gregarinas (Apicomplexa); Família Gregarinidae ; Género *Gregarina*; (Fig. 2) *Gregarina ovata*, relatado em *Forficula auricularia*; (Fig. 4) *Gregarina acridiorum*, relatado em *Decticus verrucivorus*; (Fig. 24) *Hyalospora psocorum*, Género *Hirmocystis*, relatado em *Graphopsocus cruciatus*.....20
- Figura 8. Fase N1 - grupo 1; Gregarina ( Apicomplexo) no trato digestório encontrado em necropsia de *Grillus assimilis*; observação em microscopia óptica; (**Figura A**) trofozoíto.....21
- Figura 9. Fase N1 – grupo 2; Gregarina (Apicomplexa) no trato digestório encontrado em necropsia de *Gryllus assimilis*, observado em microscópio óptico; (**Figura A**) trofozoíto; (**Figura B**) trofozoítos.....21
- Figura 10. Fase N2 – grupo 1; Gregarina (Apicomplexa) no trato digestório encontrado em necropsia de grilo (*Gryllus assimilis*); observado em microscópio óptico; (**Figura A e B**) trofozoíto.....22
- Figura 11. Fase N3 – grupo 1; Gregarina (Apicomplexa) no trato digestório encontrado em necropsia de grilo (*Gryllus assimilis*); observado em microscópio óptico; (**Figura A, B**) Individuo solitário; (**Figura C**) trofozoítos.....22
- Figura 12. Fase N3 – grupo 2; Gregarina (Apicomplexa) no trato digestório encontrado em necropsia de grilo (*Gryllus assimilis*); observado em microscópio óptico; (**Figura A, B e C**) trofozoíto.....23

Figura 13. Fase N4 – grupo 1; Gregarina (Apicomplexa) no trato digestório encontrado em necropsia de grilo ( <i>Gryllus assimilis</i> ); observado em microscópio óptico; <b>(Figura A, B)</b> trofozoíto.....	23
Figura 14. Fase N4 – grupo 2; ; Gregarina (Apicomplexa) no trato digestório encontrado em necropsia de grilo ( <i>Gryllus assimilis</i> ); observado em microscópio óptico; <b>(Figura A, B, C, D, G, H, I e J)</b> trofozoítos; <b>(Figura E, F)</b> Gametocisto.....	24
Figura 15. Grupo 1 - Gregarina (Apicomplexa) no trato digestório encontrado em necropsia de grilo ( <i>Gryllus assimilis</i> ); fase N5; observado em microscópio óptico; <b>(Figura A, C, D, E, G e H)</b> Trofozoítos; <b>(Figura B)</b> trofozoíto.....	25
Figura 16. Grupo 2 – N5; Gregarina (Apicomplexa) no trato digestório encontrado em necropsia de grilo ( <i>Gryllus assimilis</i> ); observado em microscópio óptico; <b>(Figura A)</b> trofozoítos; <b>(Figura B)</b> Gametocisto; <b>(Figura C)</b> Trofozoítos; <b>(Figura D, E)</b> trofozoíto.....	26
Figura 17. Adultos fêmeas - grupo 1 - Gregarina (Apicomplexa) no trato digestório encontrado em necropsia de grilo ( <i>Gryllus assimilis</i> ); observado em microscópio óptico; <b>(Figura A, B e H)</b> trofozoíto; <b>(Figura C, D, E, F, G e I)</b> trofozoítos.....	27
Figura 18. Adultos machos - grupo 1 - Gregarina (Apicomplexa) no trato digestório encontrado em necropsia de grilo ( <i>Gryllus assimilis</i> ); observado em microscópio óptico; <b>(Figura A, B, E e H)</b> trofozoíto; <b>(Figura C, D, F e G)</b> trofozoítos.....	28
Figura 19. Adultos - grupo 2; Gregarina (Apicomplexa) no trato digestório encontrado em necropsia de grilo ( <i>Gryllus assimilis</i> ); observado em microscópio óptico; <b>(Figura A, D, F e G)</b> trofozoítos; <b>(Figura B, C)</b> Gametocisto; <b>(Figura E, H)</b> trofozoíto.....	29
Figura 20. Adultos fêmeas – grupo 1; Gregarina (Apicomplexa) no trato digestório encontrado em necropsia de grilo ( <i>Gryllus assimilis</i> ); observado em microscópio óptico; <b>(Figura A D e G)</b> trofozoítos; <b>(Figura B, C, E e F)</b> Gametocisto; <b>(Figura E, H)</b> trofozoíto.....	30
Figura 21. Adultos machos – grupo 1; Gregarina (Apicomplexa) no trato digestório encontrado em necropsia de grilo ( <i>Gryllus assimilis</i> ); observado em microscópio óptico; <b>(Figura A, B, C e D)</b> trofozoíto.....	31

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>10</b>
<b>MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>14</b>
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>17</b>
<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>33</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>34</b>

## RESUMO

As gregarinas (Protozoa: Apicomplexa) são parasitas comuns em muitos invertebrados, incluindo insetos, desempenhando um papel significativo na ecologia dos hospedeiros. Este estudo focou na presença de gregarinas em *Gryllus assimilis*, da criação já estabelecida do laboratório de entomologia da Universidade Federal da Fronteira Sul, campus Laranjeiras do Sul – PR, com o propósito para a produção de farinha e seus derivados que possam ser utilizados na alimentação animal e humana. Utilizando técnicas de dissecação e observação microscópica, investigamos a prevalência e distribuição das gregarinas em diferentes estágios de desenvolvimento do grilo, desde ninfas até adultos, comparados entre dois grupos. Os resultados revelaram que todas as fases de desenvolvimento estudadas (N1, N2 N3, N4, N5) e adultos, apresentaram a presença das gregarinas. No entanto, a detecção variou entre os estágios, sendo mais prevalente nos estágios mais avançados (N5 e adultos). A metodologia envolveu a coleta de *Gryllus assimilis* do laboratório de Entomologia da UFFS, seguida de dissecação, preparação de lâminas e observação sob microscópio óptico. A análise morfológica comparativa das gregarinas destacou a plasticidade fenotípica desses parasitas, evidenciando a complexidade de sua relação com o hospedeiro. Os resultados contribuem para o entendimento da biologia das gregarinas em artrópodes, além de fornecer uma compreensão sobre possíveis impactos ecológicos e implicações para o manejo de populações de insetos. Este estudo amplia o conhecimento sobre a interação entre parasitas protozoários e hospedeiros invertebrados, destacando a importância de investigações detalhadas para compreender a ecologia e a dinâmica de populações desses organismos em ambientes naturais e em cultivo.

Palavras-chave: Insetos; Invertebrados; Hospedeiro.

## Abstract

Gregarines (Protozoa: Apicomplexa) are common parasites in many invertebrates, including insects, playing a significant role in the ecology of their hosts. This study focused on the presence of gregarines in *Gryllus assimilis*, from the breeding already established in the entomology laboratory of the Federal University of Fronteira Sul, Laranjeiras do Sul campus – PR, with the purpose of producing flour and its derivatives that can be used in animal and human nutrition. Using dissection and microscopic observation techniques, we investigated the prevalence and distribution of gregarines in different cricket development projects, from children to adults, in comparison between two groups. The results revealed that all stages of developed development (N1, N2 N3, N4, N5) and adults had the presence of gregarines. However, detection varies between advances, being more prevalent in more advanced advances (N5 and adults). The methodology involves collecting *Gryllus assimilis* from the UFFS Entomology Laboratory, followed by dissection, slide preparation and observations under an optical scope. A comparative morphological analysis of gregarines highlighted the phenotypic plasticity of these parasites, highlighting the complexity of their relationship with the host. The results are positive for understanding the biology of gregarines in arthropods, as well as providing an understanding of possible ecological impacts and implications for insect landscape management. This study expands knowledge about the interaction between protozoan parasites and invertebrate hosts, highlighting the importance of investigations designed to understand the ecology and population dynamics of these organisms in natural and cultivated environments.

Keywords: Insects; Invertebrates; Host.

## INTRODUÇÃO

Muitas doenças humanas, bem como de animais e vegetais dos quais dependemos, são causadas por invertebrados, direta ou indiretamente, e eles exercem papéis cruciais na maioria das teias alimentares em todo os habitats (PECHENIK, 2016). Estudos sobre invertebrados proporcionaram conhecimentos sobre expressão gênica, mitose, meiose, regeneração, transmissão de impulsos nervosos, aprendizagem, memória, biologia da visão e predisposição genética a doenças (PECHENIK, 2016). Os invertebrados são um grupo taxonômico evolutivamente exitoso, que alcançou um grande número de espécies, se for comparado com outros táxons (CORONADO-BLANCO, 2024).

Destacam-se como uma promissora fonte de recursos ecológicos e econômicos (MARTINEZ; LIMA, 2020). O filo Arthropoda abrange cerca de 85% de todas as espécies animais conhecidas, tornando-se o filo mais representado no reino animal. Os artrópodes passam por mudas para crescerem, pois ficam presos em suas armaduras até que a cutícula seja descartada e uma nova seja endurecida para se adequar ao corpo maior. Isso inclui o revestimento do intestino, que também é revestido por cutícula (PECHENIK, 2016).

Insetos pertencem ao filo Arthropoda, que inclui todos os animais com exoesqueleto e corpo segmentado (LEMES, 2021). Eles podem ser encontrados em quase todos os lugares (TRIPLEHORN; JONNISON, 2011). No cenário atual, marcado pela constante evolução tecnológica e pela crescente conscientização ambiental, a busca por soluções sustentáveis e inovadoras tem ganhado destaque em diversos campos de estudo. Esses organismos desempenham importante papel na natureza, tendo na Entomologia a ciência que os estuda sob todos os aspectos, estabelecendo as relações com os seres humanos, plantas e animais (GALLO et al., 2002). A adaptação dos insetos é notável, isso inclui a ingestão de detritos, materiais em decomposição, madeira viva e morta, fungos, filtração aquática, alimentação de fitoplâncton, herbívora (incluindo sucção de seiva) e até mesmo predação e parasitismo (TRIPLEHORN; JONNISON, 2011). A sua diversidade morfológica levou vários autores a utilizá-la como uma forma sistemática e caráter filogenético em vários grupos (MORTINER, 1965; SINGH & JUDD, 1966; GRANT & RENTZ, 1967; DELIGNE, 1971; BORDAS, 1896, 1898). O ciclo biológico anual dos insetos, que inclui hibernação das ninfas após cinco mudas até a maturação sexual completa, é marcado pela postura de ovos em galerias subterrâneas por fêmeas fecundadas, preferencialmente em locais com umidade moderada. O ciclo é mais curto durante

o verão, com duração de até três meses, enquanto no inverno é mais longo (GRODZKI, 1972; GALLO et al., 2002).

Dentro desse contexto, os grilos, pertencentes à ordem Orthoptera, destacam-se como agentes essenciais para a manutenção da biodiversidade e o equilíbrio ambiental. Desempenham um papel crucial na cadeia alimentar, servindo como fonte de alimento para diversos animais, incluindo aves, répteis, mamíferos e outros insetos predadores. Como podemos constatar na natureza. Quando o seu grau de infestação é elevado, toda e qualquer vegetação é destruída por ele, desde que esteja ao seu alcance (GRODZKI, 1972; GALLO et al., 2002). Atualmente, tem-se discutido a utilização de insetos na alimentação animal e humana devido ao seu potencial para substituir as fontes tradicionais de proteína utilizadas (FIALHO et al., 2021). Além disso, sua atividade de decomposição contribui para a reciclagem de nutrientes no solo, promovendo a saúde dos ecossistemas terrestres (KRAAIJEVELD et al., 2007). O grilo de campo jamaicano, *Gryllus assimilis* (Fabricius), foi descrito pela primeira vez na Jamaica e é amplamente difundido nas Índias Ocidentais. Pode ter se estabelecido pela primeira vez no sul da Flórida no início dos anos 1950 (WALKER, 2019). Seu nome científico (*Gryllus assimilis*, ou anteriormente *Acheta assimilis*) foi aplicado a todos os grilos de campo do Novo Mundo até 1957 (WALKER, 2019). Os grilos provavelmente ocorrem em todos os estágios em todas as épocas do ano. Apoiando essa conjectura está a origem tropical da espécie e seu desenvolvimento rápido e sincronizado em colônias de laboratório. (WALKER, 2019). Seu tamanho relativamente grande e facilidade de criação podem torná-lo competitivo com o grilo doméstico como uma espécie a ser criada e vendida como ração para animais de estimação. (WALKER, 2019). O *G. assimilis* é a espécie mais citada na bibliografia brasileira. Durante o dia, pode ser encontrado na superfície do solo, sob restos culturais (SALVADORI; PEREIRA; CORRÊA-FERREIRA, 2007).

Os parasitas exercem uma influência profunda sobre as populações de insetos, podendo modular sua densidade populacional e dinâmica demográfica (LEFÈVRE et al., 2009). Os protozoários absolutamente desafiam uma categorização organizada, demonstrando uma tremenda gama de tamanhos, morfologias, características de ultraestrutura, modos nutricionais, diversidade fisiológica e comportamental e diversidade genética. (PECHENIK, 2016). Eles também têm proporcionado aos biólogos excelente material para estudos genéticos, fisiológicos, de desenvolvimento e ecológicos. Muitos vivem em associação com outros protozoários, com animais ou com plantas, como comensais ou como parasitos (PECHENIK, 2016). Para um parasita, hospedeiros diferentes representam ambientes diferentes. Na verdade,

todo grande grupo de protozoários contém pelo menos algumas espécies parasíticas (PECHENIK, 2016). Podem também, alterar o comportamento do hospedeiro por meio de mecanismos diretos e indiretos. Um exemplo disso é a secreção ou extração de substâncias neuroativa por parte do parasita, levando a alterações no comportamento (THOMAS; ADAMO; MOORE, 2005).

O filo Apicomplexa é composto por protozoários unicelulares parasitas que infectam uma ampla variedade de organismos do reino animal (Metazoa). O contágio ocorre quando o inseto ingere acidentalmente o oocisto, gerando a infecção via intestinal. (PECHENIK, 2016). Por volta da virada do século, os Apicomplexa e alguns outros grupos eram chamados de Sporozoa. Com o advento do microscópio eletrônico, percebeu-se que a maioria dos “Sporozoa” possui complexo apical; aqueles que não o fazem (Microspora, Myxozoa e Ascetospora) foram removidos e o nome Apicomplexa foi apresentado pelo Dr. Levine em 1970 (LEVINE, 2018). Todos os mais de 6 mil membros do filo Apicomplexa são endoparasitos de animais. Esses parasitos enfrentam desafios comuns a todos os parasitos, como a necessidade de perpetuar a espécie de um hospedeiro para outro (PECHENIK, 2016). Geralmente, eles atingem o estágio adulto em um único tipo de hospedeiro, chamado hospedeiro definitivo, mas precisam de ajuda para transportar seus descendentes entre hospedeiros (PECHENIK, 2016). Protozoários do filo Apicomplexa são distribuídos mundialmente e com capacidade de infectar animais endotérmicos (MOURA et al., 2023).

O parasita gregarino septado *Leidyana subramanii* (Apicomplexa: Eugregarinorida) pode infectar pelo menos 17 espécies de gafanhotos (HUSSAIN et al., 2013). Gregarines (Apicomplexa: Eugregarinorida) são protozoários parasitas relativamente grandes dos intestinos e cavidades corporais de invertebrados, incluindo anelídeos, tunicados, sipunculídeos e especialmente artrópodes (DEVETAK; OMERZU; CLOPTON, 2013). A maioria das espécies eugregarinas são relatadas em insetos (CLOPTON; COOK; COOK, 2009). O conhecimento da sua ocorrência é pobre; gregarines foram relatadas em menos de um por cento das espécies de insetos nomeadas (DEVETAK; OMERZU; CLOPTON, 2013). Embora chaves taxonômicas, desenhos de figuras e micrografias de muitas espécies de gregarinas europeias sejam fornecidos nas monografias de Lipa (1967), a identificação dos gêneros ainda é difícil (SIENKIEWICZ; LIPA, 2008). Tal plasticidade raramente é discutida na literatura científica, apesar do fato de que a variabilidade intraespecífica do parasita, incluindo a plasticidade fenotípica, pode confundir a identificação das espécies e confundir a remediação (HUSSAIN et al., 2013). As gregarinas são provavelmente altamente específicas do hospedeiro em

invertebrados terrestres (CLOPTON, R; GOLD, 1996). Prejudicam artrópodes e podem ser agentes causadores de doenças humanas e animais. Isso ocorre porque são extremamente comuns em ambos artrópodes de campo e de laboratório (JOHNY, et al., 1999). Desde a década de 1950, os gregarinos foram separados em três grupos principais: eugregarinas, arquigregarinas e neogregarinas (GRASSÉ, 1953; LEVINE, 1971; LEANDER, 2008).

As gregarinas são geralmente transmitidas a novos hospedeiros pela ingestão oral de oocistos em ambientes aquáticos e terrestres. Alguns oocistos gregarinos são transmitidos com gametas hospedeiros durante a cópula (por exemplo, *Monocystis*) (LEANDER, 2008). Embora as taxas de mortalidade tenham sido baixas em gafanhotos infectados com gregarinas, o parasita reduziu consideravelmente o consumo de alimentos, bem como o peso corporal dos insetos em comparação com o controle, indicando uma possível significância a longo prazo (JOHNY; MURALIRANGAN; SANJAYAN, 2000).

Diante do exposto, este estudo teve como objetivo verificar a presença dos protozoários Gregarinas (Apicomplexa) em *Gryllus assimilis* e identificação de gênero.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos são realizados nos laboratórios de Bioquímica e Genética e Entomologia da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), (Campus) Laranjeiras do Sul – PR. Este projeto utiliza ninfas e adultos de grilos (*G. assimilis*), provenientes de uma população estabelecida no laboratório de Entomologia da UFFS. Os insetos são mantidos em uma sala climatizada com temperatura de  $28\pm 2^{\circ}\text{C}$ , umidade relativa de  $70\pm 10\%$  e fotoperíodo de 12 horas, para o seu desenvolvimento. A criação dos grilos, realizada em gaiolas confeccionadas com caixas plásticas de 50 litros, cujas tampas perfuradas e recobertas com tela antimosquitos para permitir trocas gasosas, contendo caixas de ovo para os grilos se esconderem. E pequenas caixas com substratos para a oviposição. A alimentação consistirá em uma dieta balanceada, composta por farelo de milho, gérmen de trigo, óleo de milho, sal, fosfato bicálcico, carbonato de sódio e com algodão humedecido de água, tendo manutenções 2 vezes na semana para a limpeza e organização das gaiolas. A população inicial de *G. assimilis* foi obtida através da compra de matrizes, que serviram como base para a criação e manutenção das colônias no laboratório.

### **Dissecação de *Gryllus assimilis* e obtenção de Gregarinas (Protozoa: Apicomplexa)**

A dissecação dos *G. assimilis*, realizada no laboratório de Bioquímica e Genética da UFFS. Mantidos em dieta hídricas por 24 horas antes de seu abate; examinados utilizando microscopia óptica. Para cada estágio de desenvolvimento, 15 insetos coletados nos estágios N1 e N2, enquanto 10 insetos coletados nas demais fases, selecionados aleatoriamente em cada lote. Os estágios de desenvolvimento incluem cinco instars, até alcançarem a fase adulta, onde machos e fêmeas serão separados para o sacrifício. As amostras serão designadas como (N1, N2, N3, N4, N5) e adultos com replicação das amostras.

Os grilos nos estágios N1 e N2 são de menor tamanho, portanto, após o sacrifício, serão posicionados individualmente em lâminas utilizando uma pinça metálica; macerados em TNE e solução salina 0,9% estéril, observando os sob uma lupa da marca Olympus. Os estágios N3, N4, N5 e adultos são fixados em placas de isopor utilizando alfinetes para facilitar a dissecação. Utilizando pinças metálicas esterilizadas em álcool 70%, retirando o tubo digestório dos *Gryllus assimilis*, removendo todo o conteúdo presente, e colocado em uma lâmina. Uma gota de solução salina 0,9% estéril será adicionada entre a lâmina e a lamínula para observação das

Gregarinas (Protozoa: Apicomplexa) sob microscopia óptica. As imagens são registradas utilizando a câmera de um celular da marca A30S para análise morfológica comparativa.



Figura 1. **A:** *Gryllus assimilis* **B:** *Gryllus assimilis* abatidos em um recipiente com algodão umedecido de éter para posterior dissecação e extração de hemolinfa.

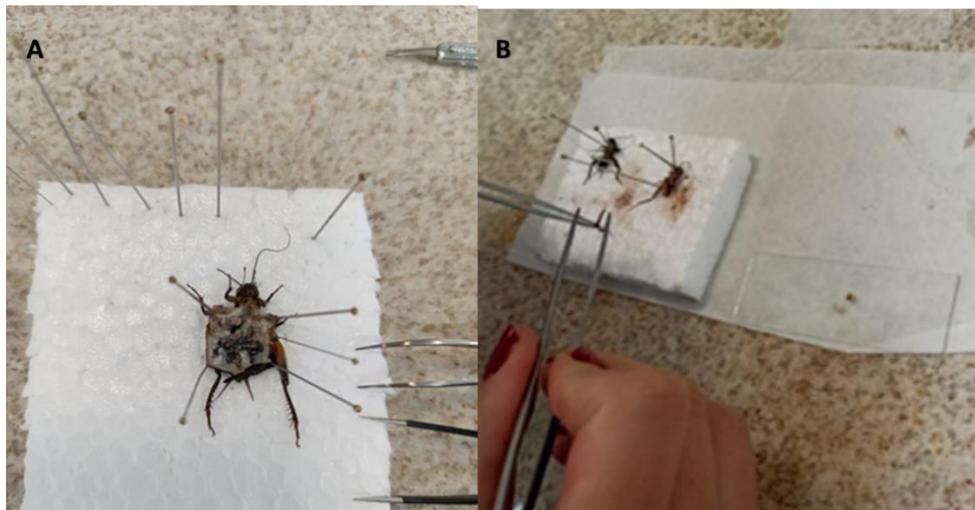


Figura 2. Dissecação de grilos (*Gryllus assimilis*) **A e B:** com retirada de hemolinfa e preparo de lâmina para observação em microscopia óptica.

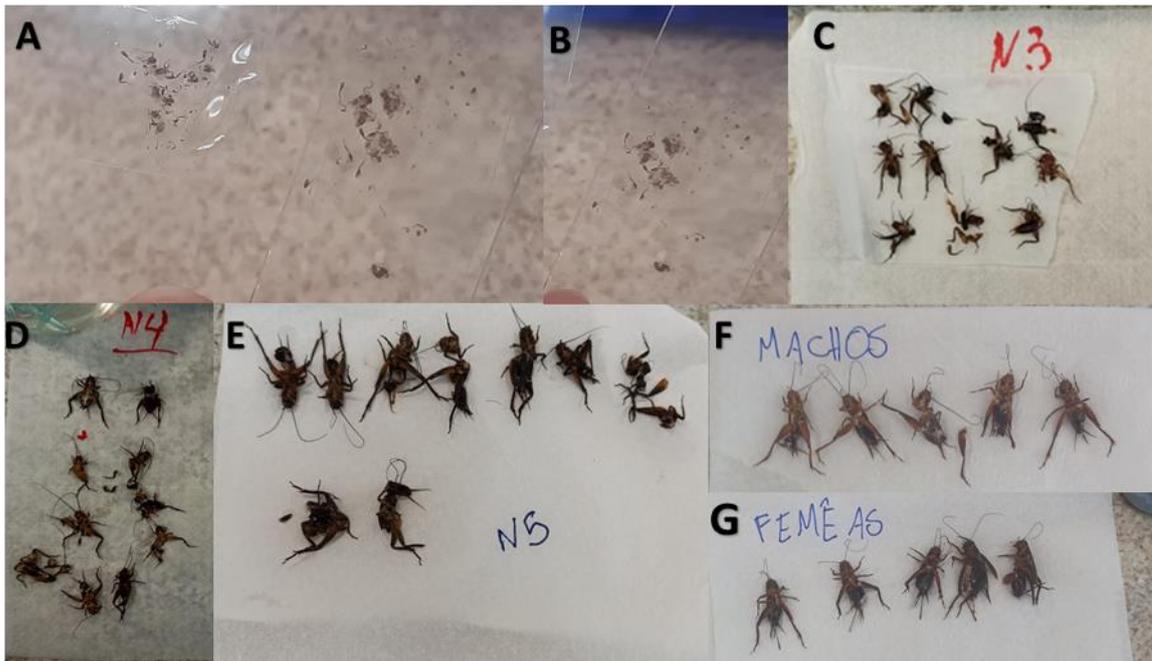


Figura 3. Grilos (*Gryllus assimilis*) A e B: Lâmina de grilos esmagados com lamínula da fase N1 e N2; C, D, E, F e G: Grilos dissecados e com a hemolinfa removidas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Este estudo teve como objetivo investigar a prevalência e distribuição de parasitas do gênero Gregarina do filo Apicomplexa em *G. assimilis*, em diferentes fases de desenvolvimento, desde ninfas até adultos. A importância deste estudo reside na contribuição para o entendimento da biologia das gregarinas em artrópodes, além de fornecer uma compreensão sobre possíveis impactos ecológicos e implicações para o manejo de populações de insetos.

Os resultados obtidos revelaram a presença de gregarinas em todas as fases de desenvolvimento estudadas (N1, N2, N3, N4, N5) e adultos. No entanto, a detecção variou entre os estágios, sendo mais presente nos estágios mais avançados (N5 e adultos), como mostra na figura 4 do grupo 1.

Podemos comparar os resultados obtidos com o trabalho realizado pelos professores Dr. Carlos José Ramos Raupp e Dra. Aline Pomari Fernandes no laboratório de Bioquímica e Genética da UFFS no ano de 2022, o qual chamaremos de grupo 2. Com isso, verificamos a presença de parasitas em *G. assimilis* em diferentes fases de ninfa (N1, N2, N3, N4, N5) e adultos, no entanto, no grupo 2, não foi analisada a fase ninfa “N2”. Podemos observar em ambos os estudos que nas fases finais, houve maior presença de Gregarinas, como mostra a figura 4 e figura 5.

Gregarinas filo Apicomplexa em <i>G. assimilis</i> - Grupo 1			
Instar	Nº de <i>G. assimilis</i>	Nº de lâminas	Lâminas positivadas com Gregarinas (Apicomplexa)
N1	29	7	1
N2	15	4	3
N3	20	10	3
N4	10	10	2
N5	20	20	10
Adultos fêmeas	20	20	15
Adultos machos	20	20	12
Total	134	90	46

Figura 4. Tabela com os dados de cada fase de mudas de *G. assimilis*; lâminas preparadas e positivadas com Gregarinas filo Apicomplexa.

Gregarinas filo Apicomplexa em <i>G. assimilis</i> - Grupo 2			
Instar	Nº de <i>G. assimilis</i>	Nº de lâminas	Lâminas positivadas com Gregarinas (Apicomplexa)
N1	50	9	1
N2	0	0	0
N3	12	6	3
N4	11	11	7
N5	11	11	7
Adultos	25	25	15
Adultos fêmeas	6	6	1
Adultos machos	4	4	3
Total	119	72	37

Figura 5. Tabela com os dados de cada fase de mudas de *G. assimilis*, somente não tendo dados da fase N2; lâminas preparadas e positivadas com Gregarinas filo Apicomplexa.

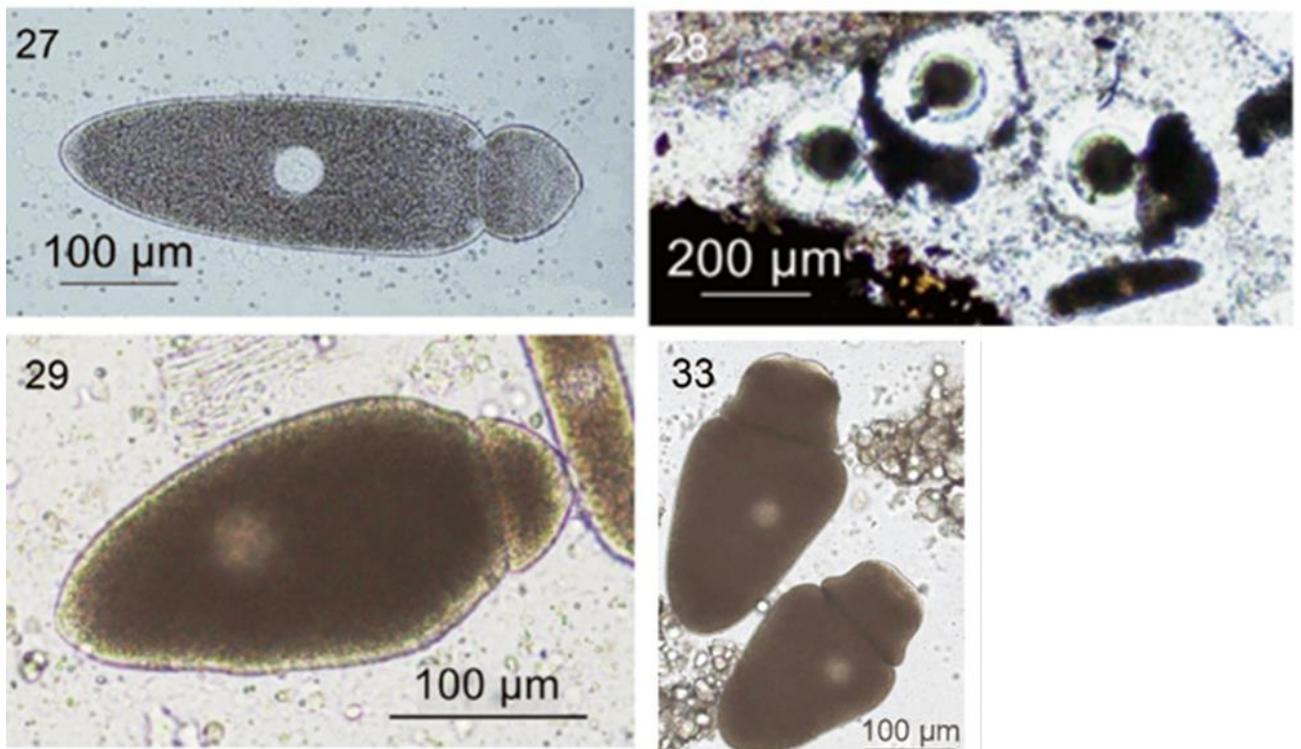
A análise dos dados do grupo 1 coletados revela que aproximadamente 34,33% da população de *G. assimilis* observada está contaminada com parasitas, enquanto 65,67% dos indivíduos não apresentaram contaminação. Grupo 2 os resultados indicam que 31,09% da população de grilos está contaminada, enquanto 68,91% dos indivíduos não apresentam contaminação. Embora a taxa de infecção observada neste grupo seja ligeiramente menor que a do primeiro, ela ainda representa uma preocupação significativa para a criação e a pesquisa com grilos. O monitoramento contínuo e a aplicação de medidas preventivas são essenciais para controlar a prevalência de parasitas e garantir a saúde e o bem-estar das colônias de grilos. Este resultado é significativo e proporciona uma visão clara da presença de parasitas nesta população específica de grilos.

Um estudo destaca que insetos comestíveis, incluindo grilos, frequentemente são infestados por patógenos e parasitas como *Nosema* spp. e *Gregarine* spp., que podem causar perdas significativas na produção e representar ameaças indiretas para humanos e animais. A falta de protocolos robustos de saúde e segurança em muitas operações de pequena escala aumenta o risco de transmissão de doenças (THE CRITTER DEPOT, 2024).

A superlotação em criações de grilos aumenta o estresse dos insetos, o que os torna mais suscetíveis a doenças e parasitas. A densidade elevada facilita a disseminação de patógenos entre os indivíduos, comprometendo a saúde geral da colônia. Estudos indicam que práticas de criação intensiva elevam o risco de infecção devido ao estresse e à alta densidade populacional (ANOMALY, 2015).

A fase N4, N5 e os adultos mostraram maior presença de parasitas, possivelmente devido a um maior consumo alimentar, aumentando a exposição a alimentos contaminados. Além disso, o comportamento de canibalismo, que pode ocorrer em condições de estresse no ambiente de laboratório, onde estar facilitando a transmissão direta do parasita entre os indivíduos. Estes fatores combinados, parecem resultar em uma maior taxa de infecção nos adultos em comparação com os estágios iniciais de desenvolvimento.

### Comparação morfológica dos parasitas Gregarinas (Apicomplexa)



Fonte: (DEVETAK; OMERZU; CLOPTON, 2013).

Figura 6. Gregarinas (Apicomplexa); Família Leidyaniidae; Género *Leidyana*; relatado nos seguintes grilos: *Acheta domesticus*, *Gryllus campestris*, *Gryllus assimilis*, *Nemobius fasciatus*, *Nemobius sylvestris*, *Phaeophilacris pilipennis* e *Phaeophilacris sp.*

Segundo Clopton (2002), a família Leidyidae apresenta características semelhantes às Gregarinidae, como epimerita simples e desenvolvimento inicial intracelular. No entanto, difere por ser solitária, possuir epimerita em forma de botão, gametocistos com múltiplos esporodutos, e oocistos alongados ou cilíndricos de forma claramente simétrica. Este grupo contém apenas um gênero, *Leidyana*, com 29 espécies descritas. Todos os membros dessa família são parasitas de insetos, especialmente de lepidópteros e ortópteros.



Fonte: (DEVETAK; OMERZU; CLOPTON, 2013).

Figura 7. Gregarinas (Apicomplexa); Família Gregarinidae ; Gênero *Gregarina*; (Fig. 2) *Gregarina ovata*, relatado em *Forficula auricularia*; (Fig. 4) *Gregarina acridorum*, relatado em *Decticus verrucivorus*; (Fig. 24) *Hyalospora psocorum*, Género *Hirmocystis*, relatado em *Graphopsocus cruciatus*.

Segundo Clopton (2002), o gênero *Gregarina* apresenta epimerita cônica, em forma de botão, globular ou cilíndrica, com associação precoce no intestino dos insetos, e oocistos doliformes, naviculares ou esféricos. Já o gênero *Hirmocystis* possui epimerita em forma de botão ou papila cônica, lábil, com trofozoítos frequentemente associados em cadeias, e oocistos ovóides, elipsoidais ou cilindróides, também encontrados em insetos. Há um total de 37 espécies nomeadas dentro desses gêneros.



Figura 8. Fase N1 - grupo 1; Gregarina ( Apicomplexo) no trato digestório encontrado em necropsia de grilo (*Grillus assimilis*); observação em microscopia óptica; **(Figura A)** trofozoito.

De acordo com a figura 6 retirada do trabalho de DEVETAK; et al. 2013, a comparação morfológica nos indica que o parasita poderia ser do Gênero *Leidyana*.

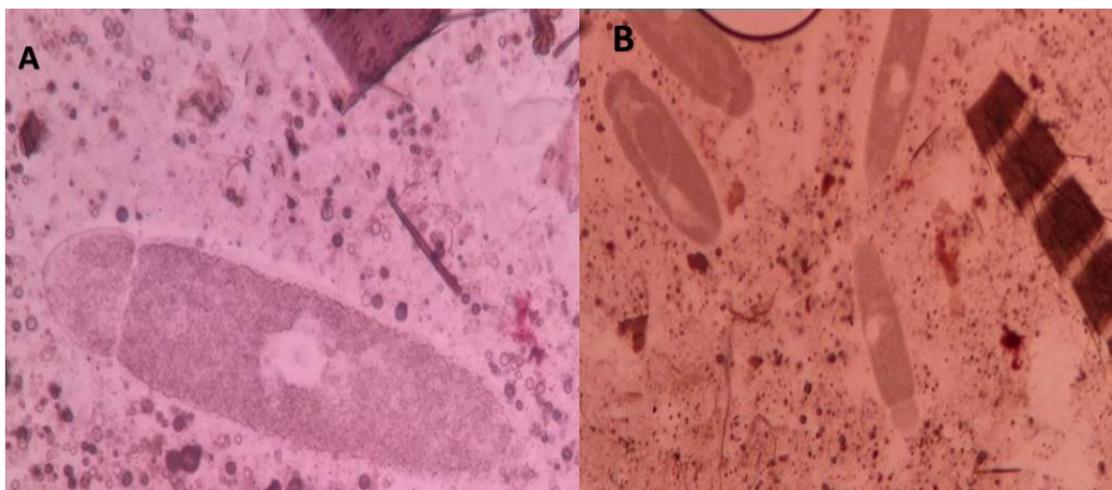


Figura 9. Fase N1 – grupo 2; Gregarina (Apicomplexa) no trato digestório encontrado em necropsia de grilo (*Gryllus assimilis*), observado em microscópio óptico; **(Figura A)** trofozoito; **(Figura B)** trofozoítos.

De acordo com a figura 6 e figura 7 retirada do trabalho de DEVETAK; et al. 2013, a comparação morfológica nos indica que o parasita poderia ser do Gênero *Leidyana*, Gênero *Gregarina*. e Gênero *Hyalospora*.

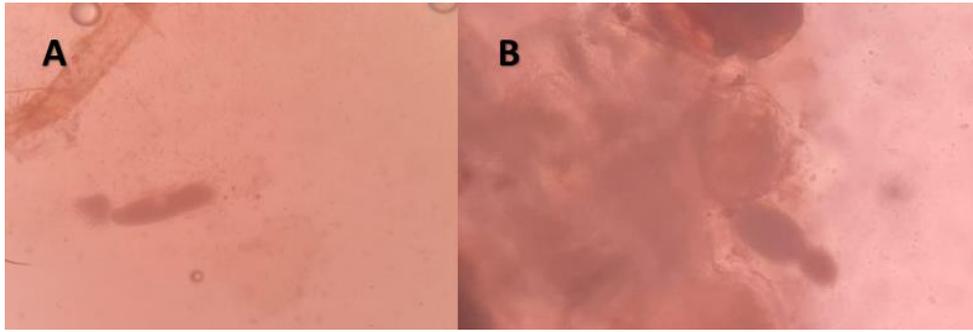


Figura 10. Fase N2 – grupo 1; Gregarina (Apicomplexa) no trato digestório encontrado em necropsia de grilo (*Gryllus assimilis*); observado em microscópio óptico; (**Figura A e B**) trofozoíto.

De acordo com a figura 6 e figura 7 retirada do trabalho de DEVETAK; et al. 2013, a comparação morfológica nos indica que o parasita poderia ser do Gênero *Leidyana*, Gênero *Gregarina*. e Gênero *Hyalospora*.

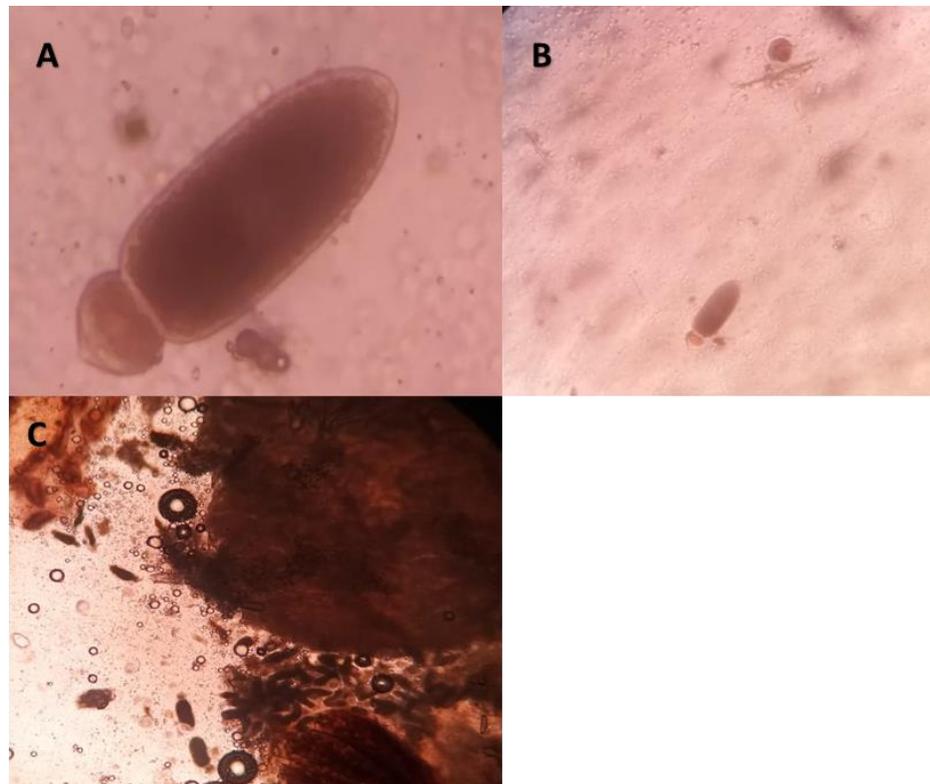


Figura 11. Fase N3 – grupo 1; Gregarina (Apicomplexa) no trato digestório encontrado em necropsia de grilo (*Gryllus assimilis*); observado em microscópio óptico; (**Figura A, B**) Individuo solitário; (**Figura C**) trofozoítos.

De acordo com a figura 6 e figura 7 retirada do trabalho de DEVETAK; et al. 2013, a comparação morfológica nos indica que o parasita poderia ser do Gênero *Leidyana*, Gênero *Gregarina*. e Gênero *Hyalospora*.

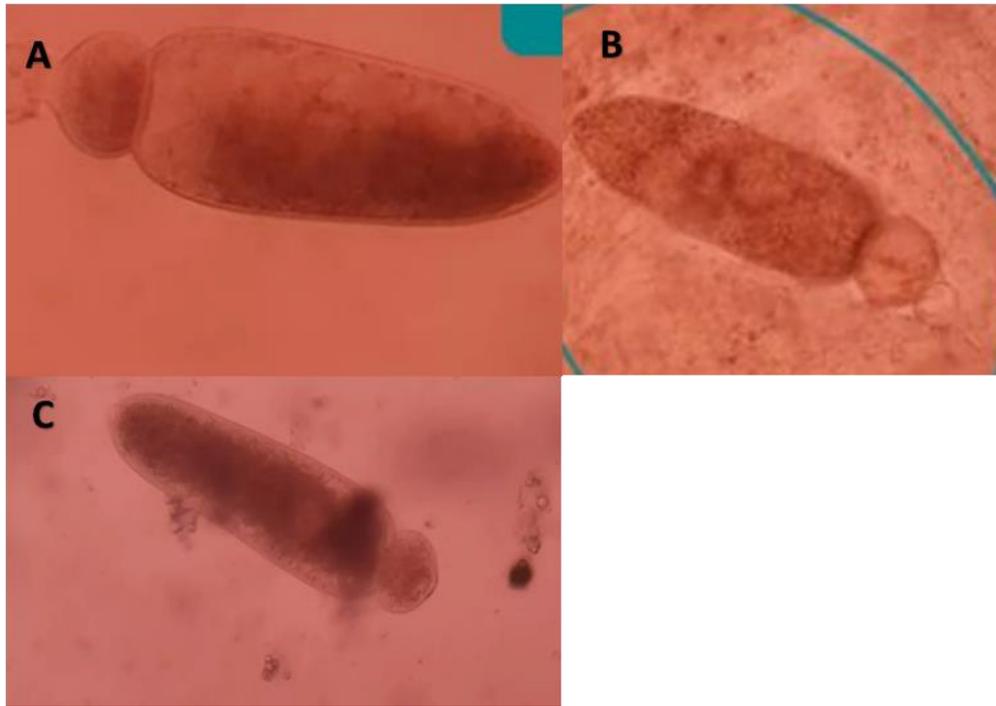


Figura 12. Fase N3 – grupo 2; Gregarina (Apicomplexa) no trato digestório encontrado em necropsia de grilo (*Gryllus assimilis*); observado em microscópio óptico; (Figura A, B e C) trofozoíto.

De acordo com a figura 6 e figura 7 retirada do trabalho de DEVETAK; et al. 2013, a comparação morfológica nos indica que o parasita poderia ser do Gênero *Leidyana*, Gênero *Gregarina*. e Gênero *Hyalospora*.

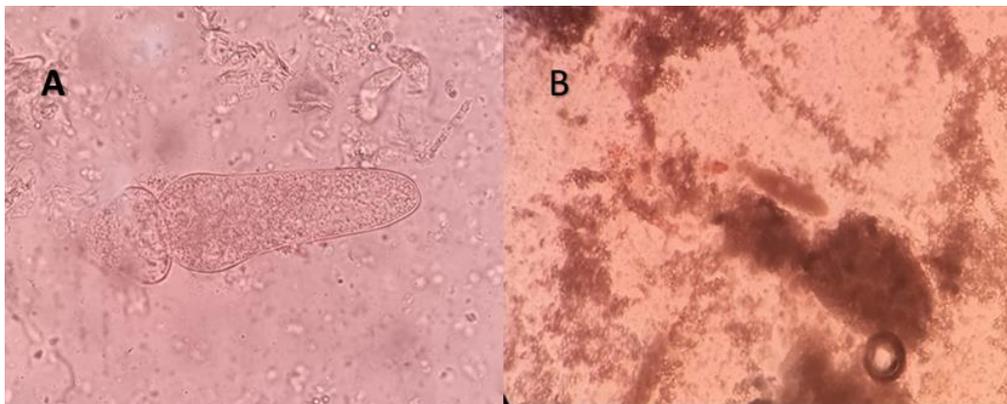


Figura 13. Fase N4 – grupo 1; Gregarina (Apicomplexa) no trato digestório encontrado em necropsia de grilo (*Gryllus assimilis*); observado em microscópio óptico; (Figura A, B) trofozoíto.

De acordo com a figura 6 e figura 7 retirada do trabalho de DEVETAK; et al. 2013, a comparação morfológica nos indica que o parasita poderia ser do Gênero *Leidyana*, Gênero *Gregarina*. e Gênero *Hyalospora*.

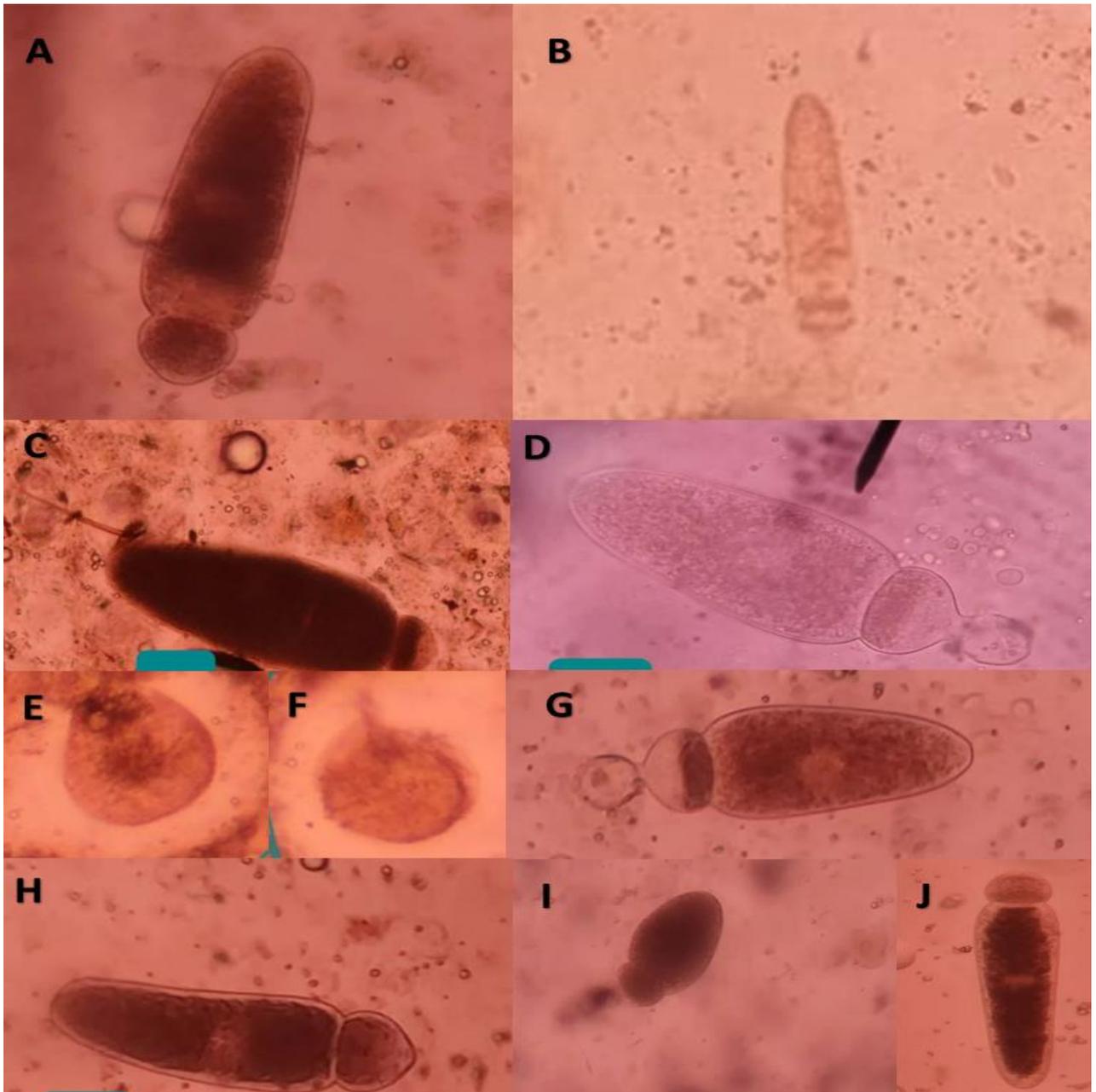


Figura 14. Fase N4 – grupo 2; ; Gregarina (Apicomplexa) no trato digestório encontrado em necropsia de grilo (*Gryllus assimilis*); observado em microscópio óptico; (Figura A, B, C, D, G, H, I e J) trofozoítos; (Figura E, F) Gametocisto.

De acordo com a figura 6 e figura 7 retirada do trabalho de DEVETAK; et al. 2013, a comparação morfológica nos indica que o parasita poderia ser do Gênero *Leidyana*, Gênero *Gregarina*. e Gênero *Hyalospora*.

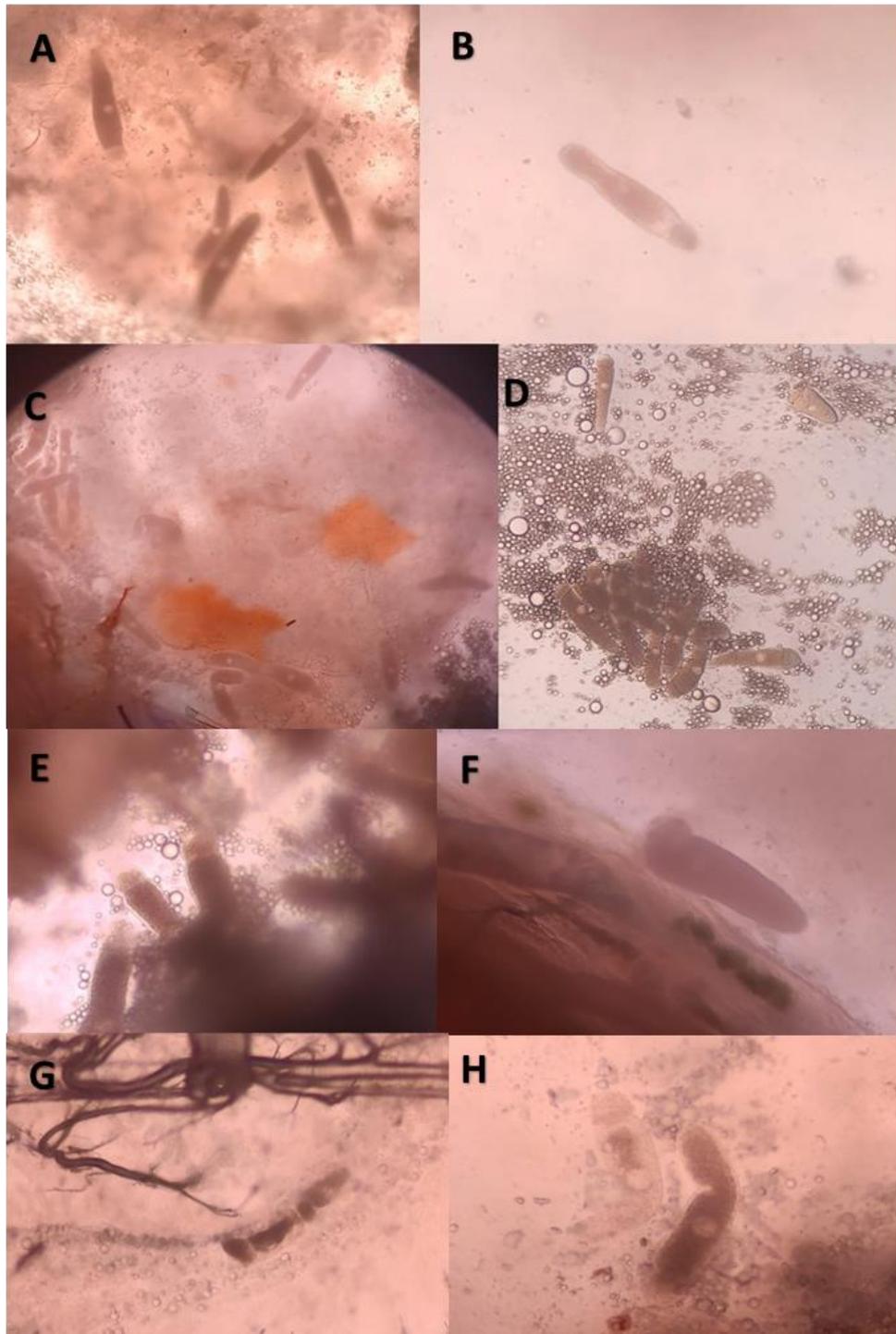


Figura 15. Grupo 1 - Gregarina (Apicomplexa) no trato digestório encontrado em necropsia de grilo (*Gryllus assimilis*); fase N5; observado em microscópio óptico; **(Figura A, C, D, E, G e H)** Trofozoítos; **(Figura B)** trofozoíto.

De acordo com a figura 6 e figura 7 retirada do trabalho de DEVETAK; et al. 2013, a comparação morfológica nos indica que o parasita poderia ser do Gênero *Leidyana*, Gênero *Gregarina*. e Gênero *Hyalospora*.

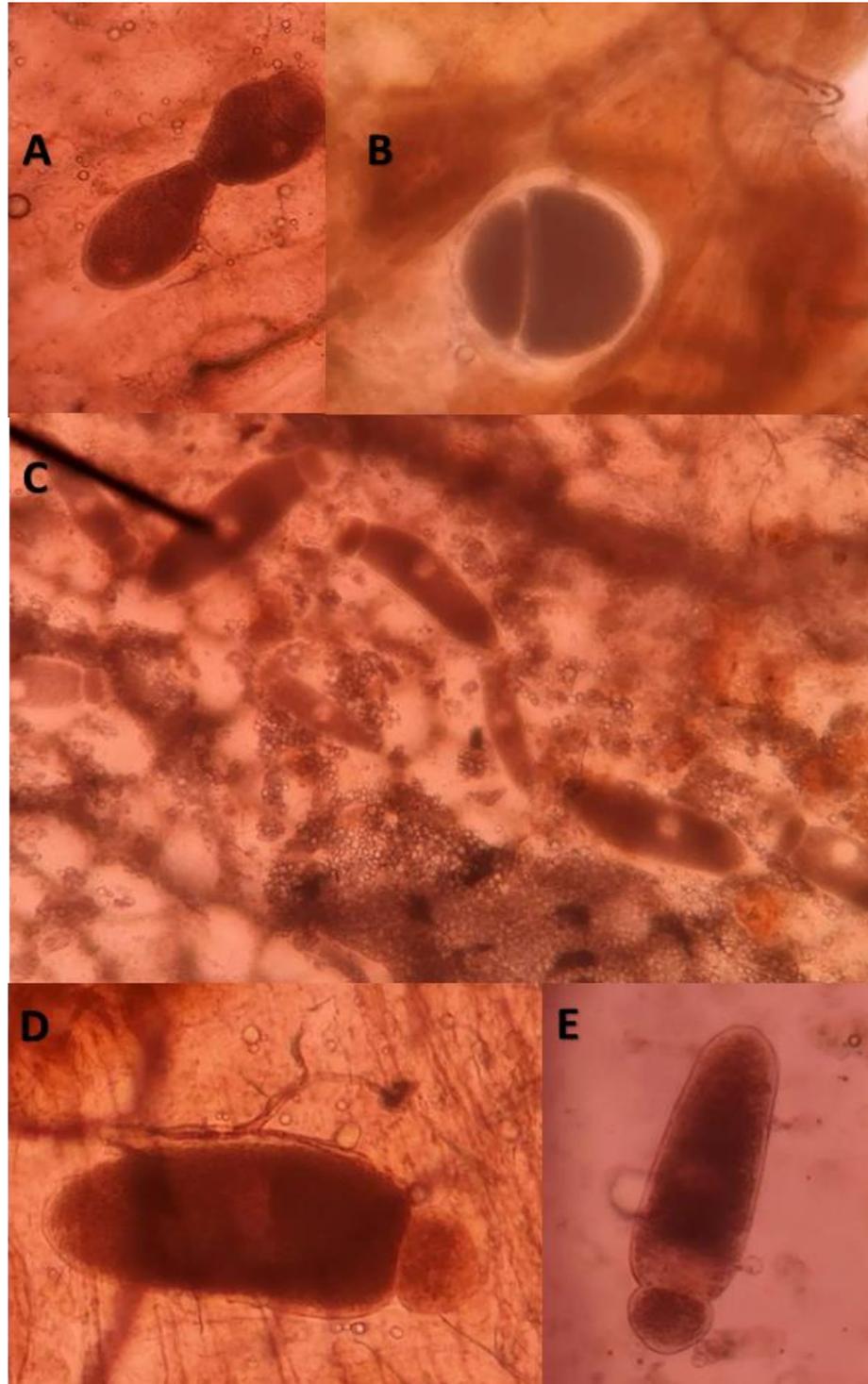


Figura 16. Grupo 2 – N5; Gregarina (Apicomplexa) no trato digestório encontrado em necropsia de grilo (*Gryllus assimilis*); observado em microscópio óptico; **(Figura A)** trofozoítos; **(Figura B)** Gametocisto; **(Figura C)** Trofozoítos; **(Figura D, E)** trofozoíto.

De acordo com a figura 6 e figura 7 retirada do trabalho de DEVETAK; et al. 2013, a comparação morfológica nos indica que o parasita poderia ser do Gênero *Leidyana*, Gênero *Gregarina*. e Gênero *Hyalospora*.

**Adultos De *Gryllus assimilis* com parasita gregarina do filo apicomplexa**

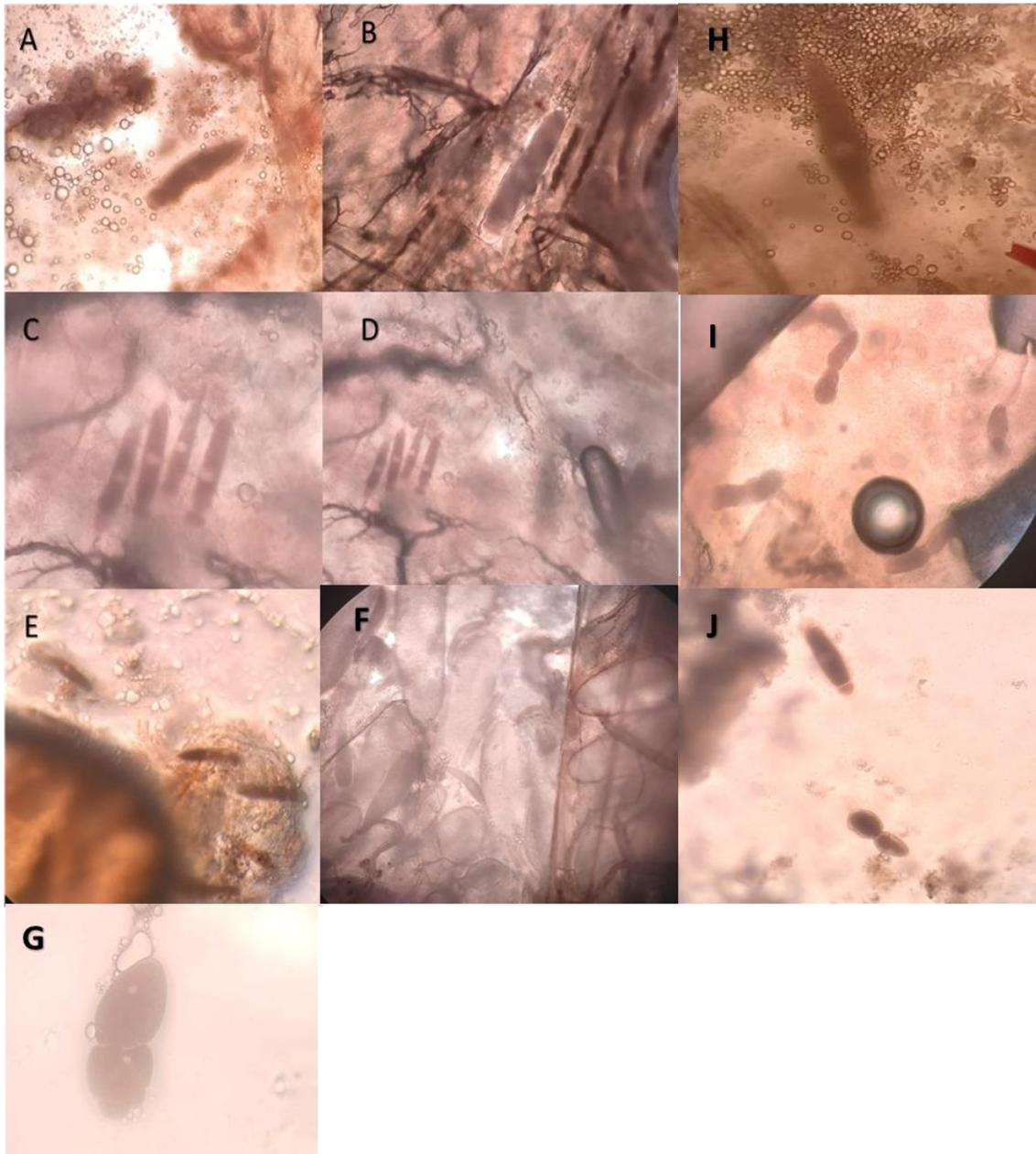


Figura 17. Adultos fêmeas - grupo 1 - Gregarina (Apicomplexa) no trato digestório encontrado em necropsia de grilo (*Gryllus assimilis*); observado em microscópio óptico; (**Figura A, B e H**) trofozoíto; (**Figura C, D, E, F, G e I**) trofozoítos.

De acordo com a figura 6 e figura 7 retirada do trabalho de DEVETAK; et al. 2013, a comparação morfológica nos indica que o parasita poderia ser do Gênero *Leidyana*, Gênero *Gregarina*. e Gênero *Hyalospora*.

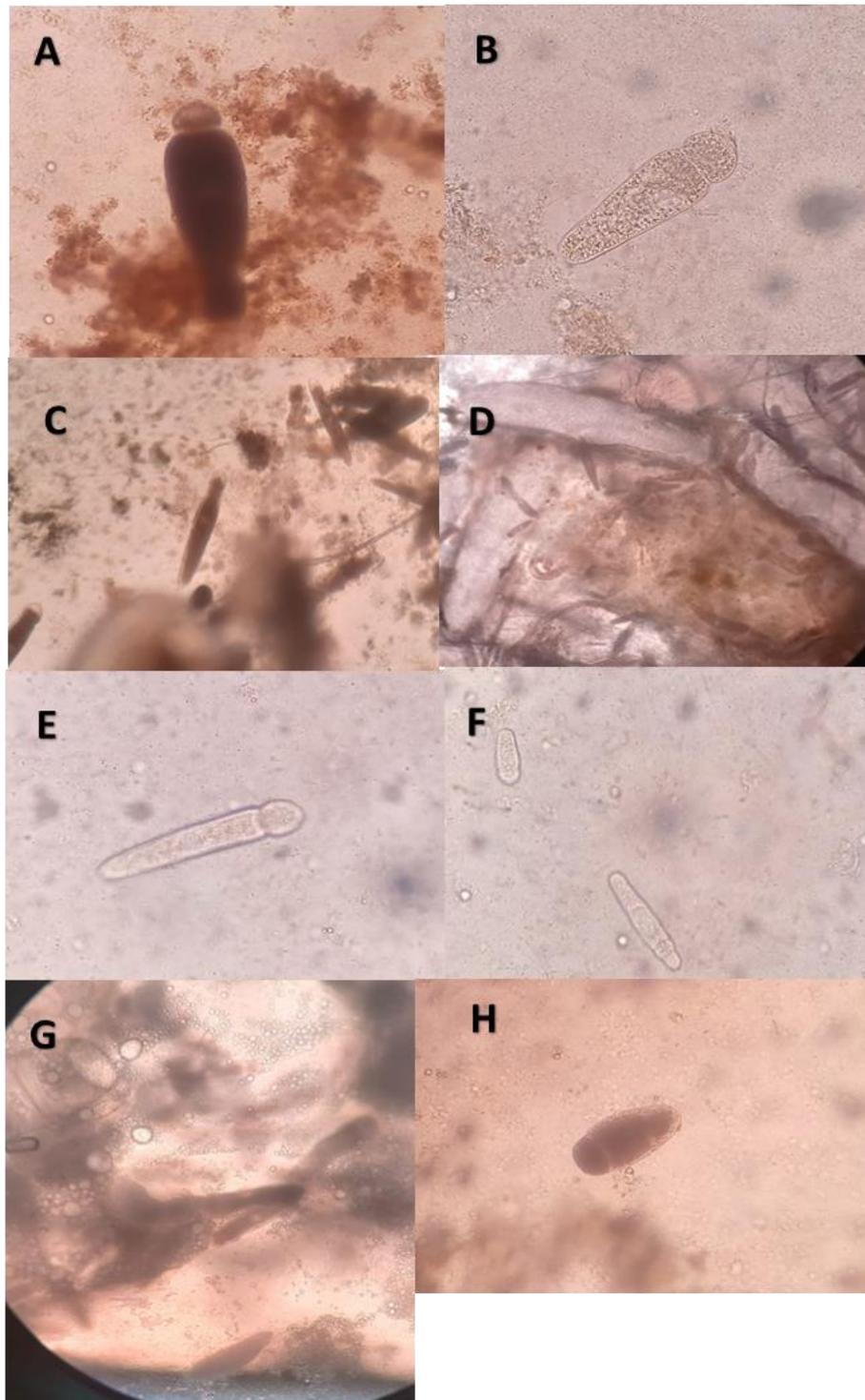


Figura 18. Adultos machos - grupo 1 - Gregarina (Apicomplexa) no trato digestório encontrado em necropsia de grilo (*Gryllus assimilis*); observado em microscópio óptico; (Figura A, B, E e H) trofozoíto; (Figura C, D, F e G) trofozoítos.

De acordo com a figura 6 e figura 7 retirada do trabalho de DEVETAK; et al. 2013, a comparação morfológica nos indica que o parasita poderia ser do Gênero *Leidyana*, Gênero *Gregarina*. e Gênero *Hyalospora*.

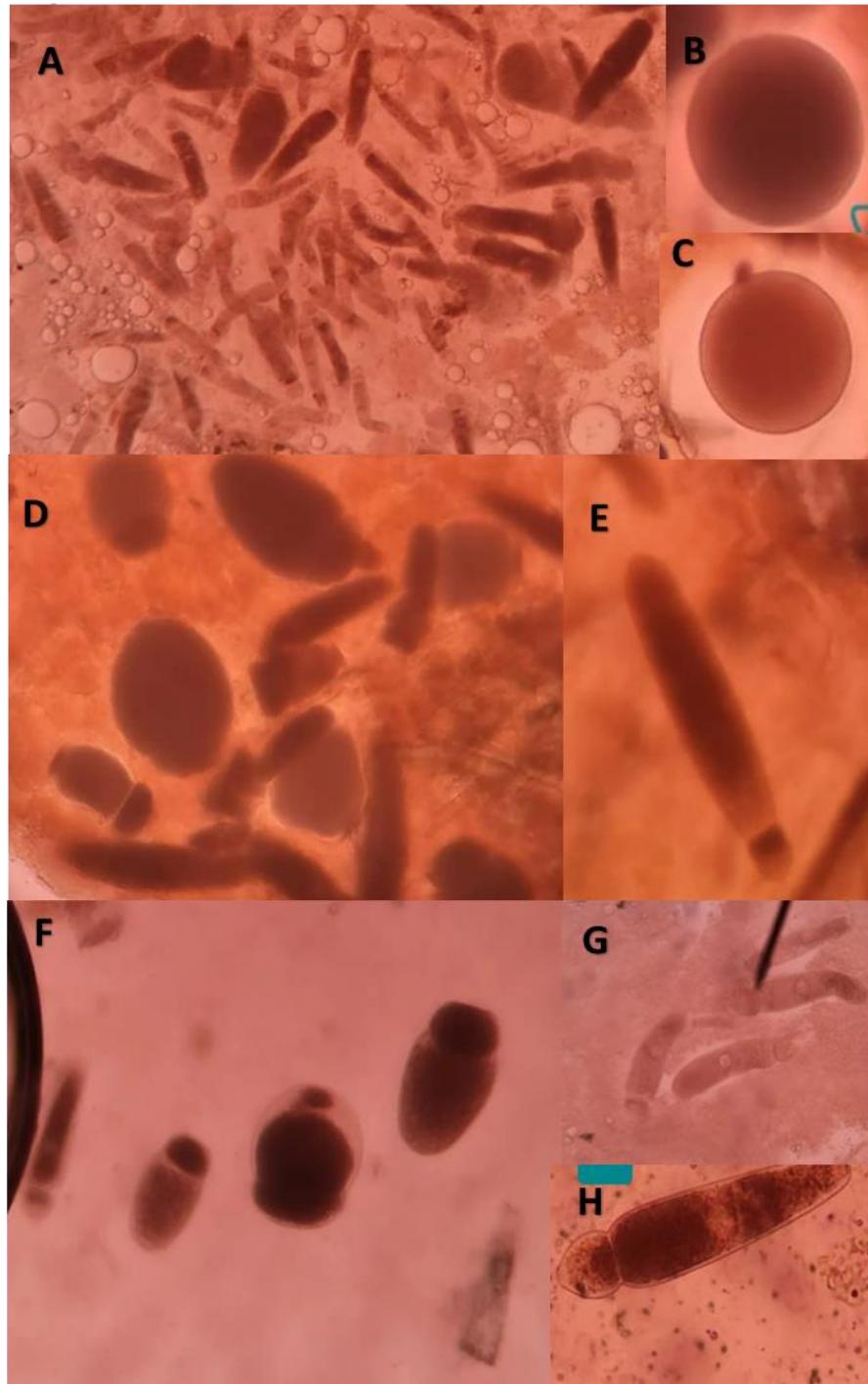


Figura 19. Adultos - grupo 2; Gregarina (Apicomplexa) no trato digestório encontrado em necropsia de grilo (*Gryllus assimilis*), observado em microscópio óptico; (Figura A, D, F e G) trofozoítos; (Figura B, C) Gametocisto; (Figura E, H) trofozoíto.

De acordo com a figura 6 e figura 7 retirada do trabalho de DEVETAK; et al. 2013, a comparação morfológica nos indica que o parasita poderia ser do Gênero *Leidyana*, Gênero *Gregarina*. e Gênero *Hyalospora*.

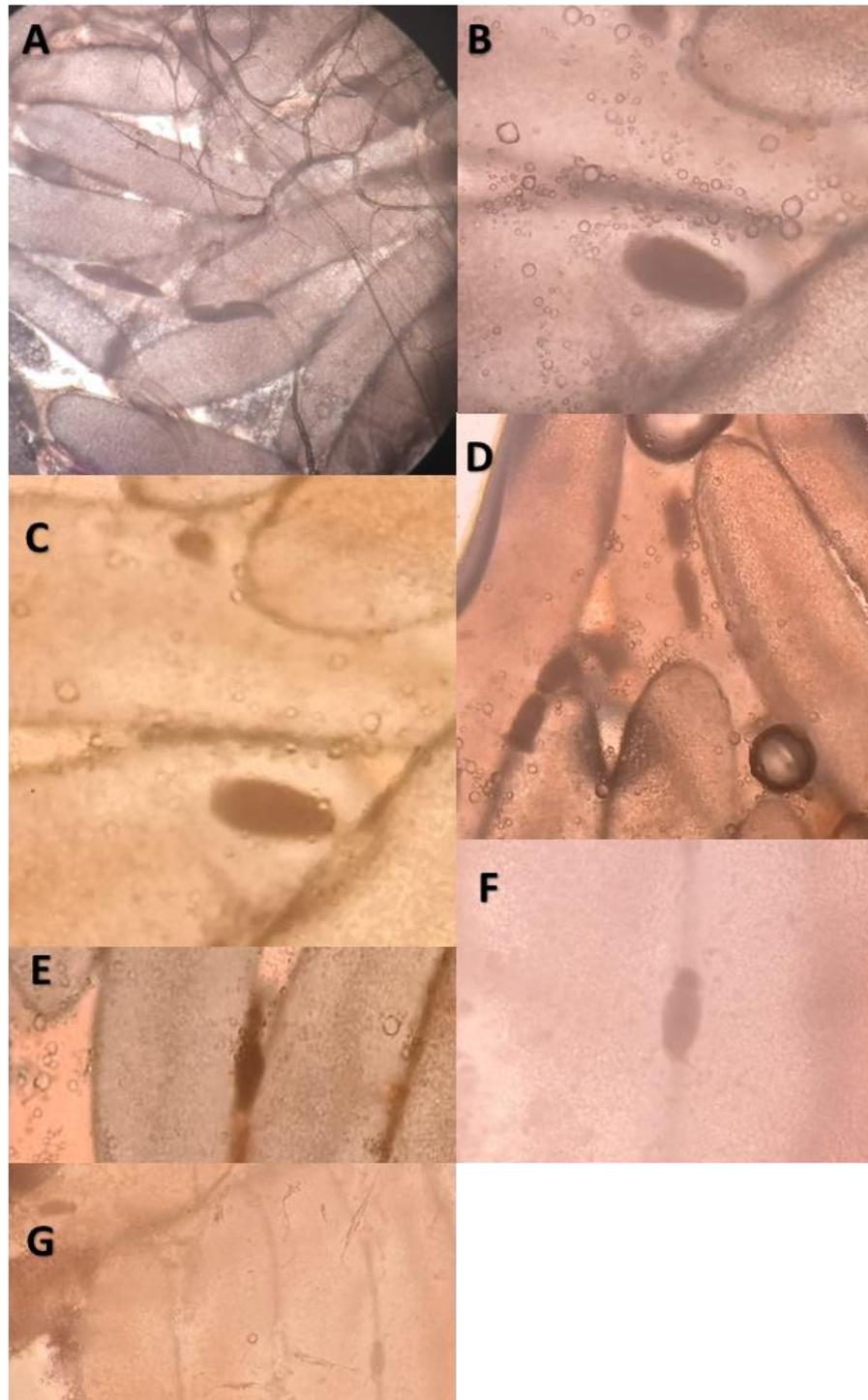


Figura 20. Adultos fêmeas – grupo 1; Gregarina (Apicomplexa) no trato digestório encontrado em necropsia de grilo (*Gryllus assimilis*), observado em microscópio óptico; **(Figura A, D e G)** trofozoítos; **(Figura B, C, E e F)** Gametocisto; **(Figura E, H)** trofozoíto.

De acordo com a figura 6 e figura 7 retirada do trabalho de DEVETAK; et al. 2013, a comparação morfológica nos indica que o parasita poderia ser do Gênero *Leidyana*, Gênero *Gregarina*. e Gênero *Hyalospora*.

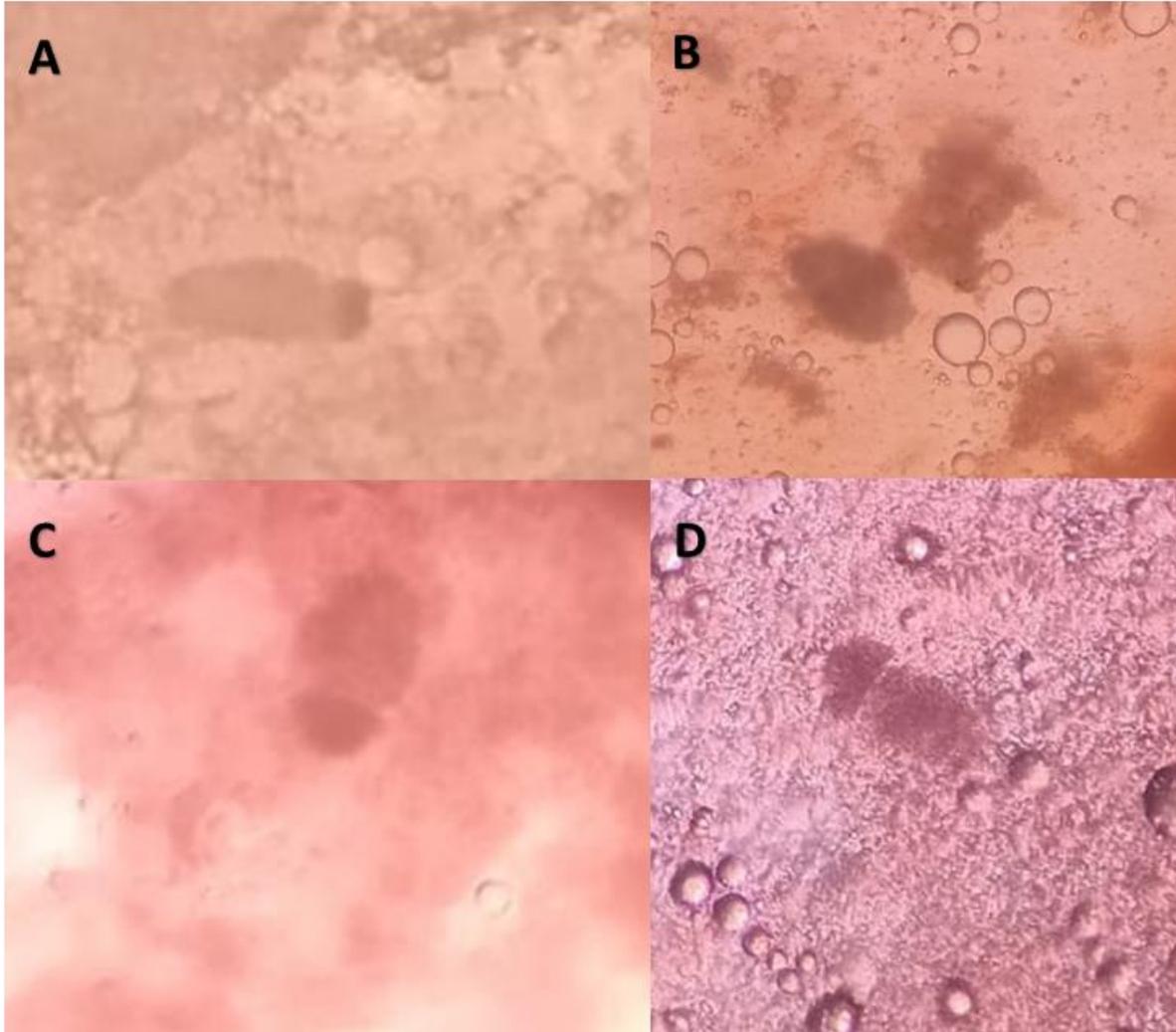


Figura 21. Adultos machos – grupo 1; Gregarina (Apicomplexa) no trato digestório encontrado em necropsia de grilo (*Gryllus assimilis*), observado em microscópio óptico; (**Figura A, B, C e D**) trofozoíto.

De acordo com a figura 6 e figura 7 retirada do trabalho de DEVETAK; et al. 2013, a comparação morfológica nos indica que o parasita poderia ser do Gênero *Leidyana*, Gênero *Gregarina*. e Gênero *Hyalospora*.

É notável que estudos como o apresentado neste trabalho ainda sejam escassos no Brasil como um todo e no mundo, e particularmente na região de Laranjeiras do Sul – PR. Isso ressalta a importância de pesquisas adicionais nessa área para ampliar nosso conhecimento sobre a epidemiologia e a ecologia dos parasitas em populações de insetos.

O levantamento epidemiológico desempenha um papel fundamental na compreensão da circulação de agentes patogênicos. Esta metodologia é crucial para a identificação de vetores de artrópodes, como o *Gryllus assimilis*, que são pouco explorados, mas possuem um grande

valor epidemiológico para a biologia e a parasitologia médica em geral. Isso evidencia a versatilidade e importância dessa ferramenta na pesquisa científica. A infecção por Gregarina pode ter diversos impactos, incluindo redução na eficiência alimentar, menor capacidade de locomoção e, em casos severos, mortalidade. Estes efeitos podem afetar tanto a viabilidade econômica da criação de grilos quanto a dinâmica populacional em ambientes naturais (DE SOUSA; CONTE, 2013).

## CONCLUSÃO

Foram detectados por comparação morfológica os gêneros *Leidyana*, *Gregarina*, *Hyalospora*. Houve uma porcentagem de 34,33% apresentando parasitas e 65,67% ausência no grupo 1 e 31,09% com a presença e 68,91% ausência no grupo 2 que mostram que matematicamente são muito semelhantes.

Estudos futuros com análises moleculares são necessários para complementar os dados obtidos e expandir o conhecimento sobre a interação entre gregarinas e grilos.

## REFERÊNCIAS

- ANOMALY, J. What's Wrong With Factory Farming? **Public Health Ethics**, v. 8, n. 3, p. 246–254, 1 nov. 2015.
- CLOPTON, R.; COOK, T.; COOK, J. **Gregarina tropica n. sp. (Apicomplexa: Eugregarinorida: Gregarinicae: Gregarinidae) Parasitizing the Brown-Winged Earwig, Vostox brunneipennis (Dermaptera: Labiidae), in the Texas Big Thicket**. *Comparative Parasitology*, v. 75, p. 215–227, 14 jan. 2009.
- CLOPTON, R.; GOLDR. **Host Specificity of Gregarina blattarum von Siebold, 1839 (Apicomplexa: Eugregarinorida) among Five Species of Domiciliary Cockroaches**. *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 67, p. 219–23, 1 jun. 1996.
- CORONADO-BLANCO, J. **Resumen ejecutivo. Invertebrados**. Em: [s.l: s.n.], p. 193–196, 2024.
- CRICKETS AS FOOD: A Closer Look at the Risks. Disponível em: <<https://www.thecritterdepot.com/blogs/news/crickets-as-food-a-closer-look-at-the-risks>>. Acesso em: 12 jul. 2024.
- WALKER, Thomas J.; CHOATE, Paul M.; WEIGEL, Kay. **Jamaican Field Cricket, Gryllus assimilis (Fabricius) (Insecta: Orthoptera: Gryllidae)**. Gainesville: University of Florida, 1999. EENY-69. Revisão mais recente: setembro 2019.
- DE SOUSA, G.; CONTE, H. Midgut morphophysiology in Sitophilus zeamais Motschulsky, 1855 (Coleoptera: Curculionidae). **Micron**, v. 51, p. 1–8, ago. 2013.
- DEVETAK, D.; OMERZU, M.; CLOPTON, R. **Notes on the gregarines (Protozoa: Apicomplexa: Eugregarinorida) of insects in Slovenia**. *Annales Series Historia Naturalis*, v. 23, p. 73–89, 1 jan. 2013.
- FIALHO, A. T. S. et al. **Nutritional composition of larvae of mealworm (Tenebrio molitor L.) and crickets (Gryllus assimilis) with potential usage in feed**. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 73, p. 539–542, 5 maio 2021.
- GALLO, D. et al. **Manual de entomologia agrícola**. São Paulo: agrônoma ceres, 2002
- GRODZKI, R. M. **Gryllus assimilis: Danos Causados e Métodos de Combate**. *Revista Floresta. Universidade Federal do Paraná - UFPR*. 1972. Disponível em: <<https://revistas.ufpr.br/floresta/article/view/5754/0>>. Acesso em: 20 mai. 2023.
- HUSSAIN, J. et al. **Phenotypic Plasticity in a Gregarine Parasite (Apicomplexa: Eugregarinorida) Infecting Grasshoppers**. *Comparative Parasitology*, v. 80, p. 233–239, 1 jul. 2013.
- JOHNY, S.; MURALIRANGAN, M.; SANJAYAN, P. **Parasitization Potential of Two Cephaline Gregarines, Leidyana subramanii Pushkala and Muralirangan and Retractocephalus dhawanii sp. n. on the Tobacco Grasshopper, Atractomorpha crenulata (Fab.)**. *Journal of Orthoptera Research*, v. 9, p. 67, 1 nov. 2000.
- KRAAIJEVELD, K.; KRAAIJEVELD-SMIT, F. J. L.; KOMDEUR, J. **The evolution of mutual ornamentation**. *Animal Behaviour*, v. 74, n. 4, p. 657–677, out. 2007.

- LEANDER, B. **Marine gregarines: Evolutionary prelude to the apicomplexan radiation?** Trends in Parasitology, v. 24, p. 60–7, 1 mar. 2008.
- LEFÈVRE, T. et al. **The ecological significance of manipulative parasites.** Trends in Ecology & Evolution, v. 24, n. 1, p. 41–48, jan. 2009.
- LEMES, P. G. **Novo manual de pragas florestais brasileiras.** Montes Claros, MG: Instituto de Ciências Agrárias - Universidade Federal de Minas Gerais, 2021.
- LEVINE, N. D. **The protozoan phylum apicomplexa.** [s.l: s.n.]. v. 2p. 154, 2017.
- MARTINEZ, N.; LIMA, A. B. **A importância dos insetos e as suas principais ordens.** v. 9, p. 1–13, 1 mar. 2020.
- MOURA, G. et al. **Occurrence of Apicomplexa protozoa in wild birds in the Northeast region of Brazil.** Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, v. 32, 1 abr. 2023.
- PECHENIK, J. A. **Biologia dos Invertebrados 7ed.** [s.l.] McGraw Hill Brasil, 2016.
- SALVADORI, J.; PEREIRA, P.; CORRÊA-FERREIRA, B. **Pragas ocasionais em lavouras de soja no Rio Grande do Sul, 2007.**
- SIENKIEWICZ, P.; LIPA, J. **Gregarina Vizri Lipa, 1968 (Apicomplexa: Eugregarinida) Recorded in Poland in an Expansive Plant Pest the Cereal Ground Beetle Zabrus Tenebrioides (Goeze) (Coleoptera: Carabidae).** Journal of Plant Protection Research, 2008.
- THOMAS, F.; ADAMO, S.; MOORE, J. **Parasitic manipulation: where are we and where should we go?** Behavioural Processes, v. 68, n. 3, p. 185–199, 31 mar. 2005.
- TRIPLEHORN, C. A.; JOHNSON, N. F. **Estudos dos insetos: Tradução de Borror and Delong's introduction to the study of insects.** 7. ed. São Paulo, SP: Cengage Learning, 809 p, 2011.