

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
CAMPUS DE CAMPO GRANDE

MARIA EDUARDA FILGUEIRAS FERNANDES

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DE PHLOXINA-B E RIBOFLAVINA SOBRE ESTÁGIOS DE
VIDA DE *STOMOXYS CALCITRANS* (DIPTERA: MUSCIDAE)

CAMPO GRANDES-MS
2025

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
CAMPUS DE CAMPO GRANDE

MARIA EDUARDA FILGUEIRAS FERNANDES

Avaliação dos efeitos de Phloxina-B e Riboflavina sobre estágios de vida de *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae)

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Universidade Federal de
Mato Grosso do Sul, como parte dos
requisitos para obtenção do título de
Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof(a). Dr(a). Vagner Ricardo da Silva Fiúza
Co-Orientador: Prof(a) Dr(a) Paulo Henrique Duarte Cançado

CAMPO GRANDE-MS
2025

Dedico à minha mãe e à minha avó, exemplos de força e luta digna. Obrigada por tudo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha mãe por todo o apoio prestado nesses anos de estudo e pela sua luta constante para que eu concluisse minha formação. À minha avó, pelos conselhos maduros que me deu e pelo conforto oferecido em momentos difíceis.

Agradeço imensamente à Embrapa Gado de Corte pela infraestrutura adequada que me permitiu desenvolver esta pesquisa.

Ao Doutor Paulo Cançado, pela ajuda prestada durante todo o processo, pelos ensinamentos e orientações, e pelas oportunidades que me proporcionou como aluna ao longo desses três anos.

Ao Doutor Thadeu Barros, que, além de todo o aconselhamento profissional, mostrou-se um grande amigo e conselheiro. Agradeço imensamente por todas as conversas que tivemos.

Ao técnico Catarino, por toda a ajuda prestada durante os experimentos.

Ao João, que me instruiu no início do meu trabalho no laboratório e pela amizade construída durante as viagens para a usina.

Ao meu orientador Vagner Fiúza, pela dedicação e paciência.

RESUMO

A mosca-dos-estábulos, *Stomoxys calcitrans*, é um díptero com ampla distribuição, importância veterinária e impacto na produção animal de criação. O uso extensivo de inseticidas químicos tem contribuído para o aumento da resistência, destacando a necessidade de alternativas para o controle. Este estudo avaliou os efeitos das moléculas fotossensibilizadoras Phloxina-B e Riboflavina em diferentes estágios de desenvolvimento da *S. calcitrans*, incluindo ovos, larvas e adultos. Nos ensaios com ovos, ambas as moléculas apresentaram baixa penetração através do córion, resultando em altas taxas de eclosão e indicando potencial limitado para uso no controle de ovos. Nos testes com larvas, os compostos foram incorporados ao substrato de criação, mas nem a Phloxina-B nem a Riboflavina afetaram significativamente ($P>0,05$) a sobrevivência das larvas ou a emergência dos adultos, demonstrando baixa atividade larvicida nas concentrações avaliadas. Moscas adultas foram expostas às moléculas por meio de soluções açucaradas e sangue bovino citratado. Nas concentrações utilizadas, embora tenha havido elevada em comparação com o grupo controle, o efeito foi observado após alguns dias consecutivos de alimentação com os fotossensibilizadores, sugerindo que afetam a sobrevivência dos adultos. De modo geral, os resultados indicam que Phloxina-B e Riboflavina apresentam eficácia limitada como fotossensibilizadores para o controle populacional de *S. calcitrans* nas condições testadas. Esses achados reforçam a necessidade de novas investigações focadas em melhorar os métodos de utilização e explorar abordagens alternativas para potencializar o efeito fotodinâmico dessas moléculas no controle deste inseto.

Palavras-chave: Mosca-dos-estábulos; Controle; Fotossensibilizadores.

ABSTRACT

The stable fly, *Stomoxys calcitrans*, is a widely distributed dipteran of major veterinary importance and a significant impact on livestock production. The extensive use of chemical insecticides has contributed to increasing resistance, highlighting the need for alternative control strategies. This study evaluated the effects of the photosensitizing molecules Phloxine-B and Riboflavin on different developmental stages of *S. calcitrans*, including eggs, larvae, and adults. In the egg assays, both molecules showed low penetration through the chorion, resulting in high hatching rates and indicating limited potential for egg control. In the larval tests, the compounds were incorporated into the rearing substrate, but neither Phloxine-B nor Riboflavin significantly ($P>0.05$) affected larval survival or adult emergence, demonstrating low larvicidal activity at the tested concentrations. Adult flies were exposed to the molecules through sugar solutions and citrated bovine blood. At the concentrations used, although mortality was higher compared to the control group, the effect was only observed after several consecutive days of feeding on the photosensitizers, suggesting that they affect adult survival. Overall, the results indicate that Phloxine-B and Riboflavin show limited efficacy as photosensitizers for population control of *S. calcitrans* under the tested conditions. These findings reinforce the need for further investigations aimed at improving application methods and exploring alternative approaches to enhance the photodynamic effect of these molecules in the control of this insect.

Keywords: Stable fly; Control; Photosensitizers.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Moléculas de Phloxina-B (A) e Riboflavinas (B) utilizadas para os testes em moscas-dos-estábulos. Fonte: Sigma-Aldrich	17
Figura 2. Estágios de vida da <i>S. calcitrans</i> .	18
Figura 3. Gaiolas adaptadas para criação de <i>Stomoxys. calcitrans</i> .	18
Figura 4. Caixas adaptadas para acomodação dos ovos de <i>Stomoxys</i>	19
Figura 5. Umidificadores que ajudam a manter a umidade relativa do ar de $70 \pm 15\%$ (A); Aquecedores (B); Ar-condicionado inverter 18.000 BTUs (C); Painel de monitoramento e controle da temperatura e umidade relativa do ar da colônia de criação de moscas-dos-estábulos (D).	21
Figura 6. Câmara escura com sistema de ventilação (A, B e D); Bandeja de alumínio utilizada para comportar o meio de criação homogeneizado com as moléculas fotossensíveis(C).	24
Figura 7. Fezes em fase de descongelamento em temperatura ambiente.	25
Figura 8. Placas de ágar 2,5% em momento de secagem (A); Pastilha de ágar com corte de 1 x 1 cm com papel filtro (B).	26
Figura 9. Esquema ilustrativo para demonstrar como é a utilização das pastilhas de fezes ou ágar para hidratar o papel filtro.	27
Figura 10. Ilustração da montagem realizada no recipiente de alumínio.	28
Figura 11. Coleta de ovos para os testes com Phloxina-B e Riboflavina(A) e estereoscópio utilizado para fotografia (B).	28
Figura 12. Gaiolas projetadas com apoio para que permanecessem imóveis (A); Gaiola projetada para os testes com solução açucarada e moléculas fotossensíveis (B). foto de lado da gaiola Placas de Petri com pupas (C)	33
Figura 13. Caixa confeccionada para o experimento (A), devidamente forradas para manter a higiene do material (B).	34
Figura 14. Comparação da pigmentação dos ovos submersos em Phloxine-B em diferentes tempos. A: Controle; B: 1 minutos; C: 5 minutos; D: 10 minutos; E: 30 minutos e F: 60 minutos.	37
Figura 16. Fotografia dos ovos submersos em água destilada (A) e dos ovos submersos em Riboflavina durante 60 minutos (B).	38
Figura 17: Imagem do rompimento do córion do ovo que permaneceu submerso em Riboflavina durante 60 minutos	38
Figura 18. Gráfico comparativo da taxa de pupação entre os tratamentos realizados com Phloxina-B.	44
Figura 19. Gráfico comparativo da taxa de pupação entre os tratamentos Luz e Escuro.	45
Figura 20. Gráfico do percentual de mortalidade acumulativa diária feito a partir da Tabela 5	47
Figura 21: Gráfico do percentual de mortalidade acumulativa diária feito a partir da Tabela 6	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Resultado da taxa de eclosão após submersão de em diferentes tempos para cada tratamento	35
Tabela 2. Resultados do tratamento com Phloxina-B (Phl-) exposto à luz em tempo integral.....	40
Tabela 4. Resultado do tratamento com Phloxina-B (Phlo-B) sem exposição à luz..	42
Tabela 5. Percentual e mortalidade média de <i>S. calcitrans</i> ao longo do tempo após ingestão de soluções de açúcar contendo Riboflavina e Phloxina-B.	46
Tabela 6. Percentual e mortalidade média de <i>S. calcitrans</i> ao longo do tempo após ingestão de sangue bovino citratado contendo Riboflavina e Phloxina-B.	48

SUMÁRIO

1. Introdução	9
2. Objetivos Gerais	16
2.1. Objetivos Específicos	16
3. Materiais e Métodos	17
3.1. Fotossensibilizador	17
3.2. Moscas-dos-estábulos	17
3.3. Avaliar a penetração da Riboflavina e Phloxina-B em ovos de <i>S. calcitrans</i> e seus efeitos sobre a eclosão larvar.	21
3.4. Metodologia para testes com larvas de <i>S. calcitrans</i> em meio de criação.	22
3.4.1. Condições do ambiente	22
3.4.2. Recipiente de alumínio e Câmara escura	22
3.4.3. Papel de filtro	23
3.4.4. Utilização de disco de fezes bovinas e pastilhas de ágar.	24
3.4.5. Montagem dos recipientes de alumínio	26
3.5. Avaliar os efeitos da Riboflavina e Phloxina-B incorporadas ao meio de criação sobre a mortalidade de <i>Stomoxys calcitrans</i> em fase larval	27
3.6. Avaliar os efeitos da Phloxina-B incorporadas ao meio de criação, por diluição seriada, sobre a mortalidade de <i>Stomoxys calcitrans</i> em fase larval	29
3.7. Avaliar os efeitos da ingestão de soluções com açúcar contendo Riboflavina e Phloxina-B sobre a sobrevivência de adultos.	30
3.8. Investigar a mortalidade de adultos alimentados com sangue contendo Riboflavina e Phloxina-B.	32
3.10 Análise de Dados	33
4. Resultado e Discussão	34
4.1. Penetração da Riboflavina e Phloxina-B em ovos de <i>S. calcitrans</i> e seus efeitos sobre a eclosão larvar.	34
4.2 Eficácia da Riboflavina e Phloxina-B incorporadas ao meio de criação sobre a mortalidade de <i>Stomoxys calcitrans</i> em fase larval	38
4.2.1 Eficácia da Riboflavina e Phloxina-B na concentração de 20 mg.	38

4.2.2 Eficácia da Phloxina-B em diluição seriada	39
4.3 Efeitos da ingestão de soluções com açúcar contendo Riboflavina e Phloxina-B sobre a sobrevivência de adultos	45
4.4 Mortalidade de adultos alimentados com sangue contendo Riboflavina e Phloxina-B.	46
5. Conclusões	48
De modo geral os fotossensibilizadores testados, Riboflavina e Phloxina-B apresentaram efeitos importantes apenas na mortalidade de adultos, acelerando a mortalidade quando comparados com o grupo controle:	48
6. Referências Bibliográficas	49

1. Introdução

Comumente conhecida como mosca-dos-estábulos ou mosca-da-vinhaça, *Stomoxys calcitrans* (Linnaeus, 1758) (Diptera: Muscidae) é um artrópode hematófago que se assemelha à mosca doméstica. Faz uso de diferentes hospedeiros para alimentação, entre eles bovinos, aves, caprinos, cães e até mesmo o ser humano (Koller et al., 2009, p. 11; Bittencourt et al., 2002). Apresenta ampla distribuição cosmopolita e se reproduz em matéria orgânica em decomposição. Possui uma adaptação ecológica ao clima temperado e tropical, além de utilizar ampla variedade de substratos para oviposição e desenvolvimento, o que aumenta seu sucesso reprodutivo.

As moscas adultas podem chegar a até 7 mm de comprimento, com coloração cinza. Apresentam quatro faixas longitudinais escuras na região dorsal do tórax e três manchas escuras nos segundo e terceiro segmentos do abdome. Sua probóscide queratinizada é uma das principais características para a diferenciação entre a mosca doméstica e *S. calcitrans*, já que ambas apresentam grande similaridade na coloração e no tamanho corporal (Masmeatathip et al., 2006).

A *S. calcitrans* apresenta um ciclo biológico completo que pode variar de 12 a 60 dias, dependendo da temperatura e umidade regionais. Em locais mais frios, o ciclo tende a ser mais longo, já em regiões mais quentes, é geralmente mais curto. Um estudo realizado por Aguiar e Milward (1992) demonstrou que ovos submetidos a uma temperatura de 35°C apresentaram, 20 horas após o início do experimento, uma taxa de 82,8% de eclosão de larvas, enquanto a 20°C o pico de eclosão ocorreu por volta de 72 horas. Isso comprova que, quando submetidas a temperaturas mais baixas, há um atraso em seu ciclo. Após dois dias da postura, ocorre a eclosão da larva, iniciando assim as fases de L1, L2 e L3, que se alimentam de matéria orgânica até atingir a fase de pupa, a qual normalmente se desenvolve em áreas mais secas do substrato. Após quatro a seis dias, há a emergência da mosca adulta (Koller et al., 2009; Sutherland, 1978).

A dieta disponível para esses dípteros pode influenciar seu tamanho corporal. No trabalho realizado por Sutherland (1978), foi demonstrado que a disponibilidade de alimento influencia diretamente no tamanho das larvas que passam para a fase de pupa, resultando em pupas menores e, consequentemente, em adultos com tamanho

corporal reduzido. Quando a disponibilidade de alimento é insuficiente, tende-se a obter larvas mal nutridas e, como consequência, uma maior taxa de mortalidade das pupas. Entretanto, quando conseguem atingir a fase adulta, a falta de nutrição não exerce efeito significativo nem na proporção sexual dos adultos, nem na viabilidade de seus ovos.

Ao atingir a fase adulta, após aproximadamente seis horas, a mosca está apta a realizar sua primeira alimentação com sangue. Sua maturidade reprodutiva é alcançada logo após este processo, iniciando-se então a postura. Os ovos são depositados de forma aglomerada, com no mínimo 20 ovos por massa. Cada fêmea pode realizar a postura de aproximadamente 500 a 1.000 ovos (Koller et al., 2009). Quando expostas a diferentes tipos de sangue para alimentação, a produção de ovos pode ser afetada. Em dietas com sangue de bovinos ou de jumentos, a *S. calcitrans* apresenta produção significativamente maior de ovos. Já com sangue de ovelhas, cabras ou cães, a produtividade é reduzida (Sutherland, 1978).

Essas moscas apresentam preferência por regiões específicas do corpo dos bovinos para alimentação, como membros torácicos, membros pélvicos e pescoço, sendo o abdômen uma região de menor preferência. A predileção pelos membros torácicos pode ser explicada pela vasta rede de vasos sanguíneos e pela menor espessura da pele (Bittencourt et al., 2002). Essas moscas representam um risco para os produtores, devido aos efeitos negativos que causam no ganho de peso e na produtividade dos bovinos (Campbell et al., 1987).

As moscas-dos-estábulos são insetos de importância econômica e veterinária por serem vetores de diversas doenças. Em um estudo realizado em propriedades rurais no Rio de Janeiro, em 2008, Castro, Souza e Bittencourt identificaram 28 espécies distintas de enterobactérias associadas a essas moscas. Entre elas, destaca-se a *Enterobacter amnigenus*, de importância tanto veterinária quanto humana, sendo um agente oportunista responsável por casos de mastite bacteriana em bovinos e infecções hospitalares. Outro agente identificado foi a *Serratia odorifera*, que pode causar pneumonia, infecções urinárias e sepse em humanos.

Em estudos recentes realizados no campus de Seropédica na Universidade Rural do Rio de Janeiro, no estado de Rio de Janeiro, Araújo (2019) investigou a presença de *Trypanosoma vivax* e *Anaplasma marginale* em *S. calcitrans*, como

resultado do estudo foi mostrado nula a presença de *T. vivax* nas 165 amostras, já para a detecção de *A. marginale* em 8 amostras do intestino, 6 das peças bucais e 5 da carcaça do corpo, obtiveram a presença de 99,56% para *A. marginale* de acordo com Blast/NCBI.

Estudos realizados por Mellor, Kitching e Wilkinson (1987) comprovam que *S. calcitrans* é capaz de transmitir o vírus capiprox para hospedeiros suscetíveis dentro de uma hora após a ingestão, este vírus ainda pode persistir na mosca por mais de quatro dias, contudo sua carga viral tende a diminuir. Neste mesmo estudo foram realizados testes com moscas contaminadas com o vírus da febre suína e foi observado que a carga viral das *S. calcitrans* após 24 horas foi alta e mesmo depois de dois dias permaneceu com uma alta capacidade de contaminação.

Apesar de artigos relatarem a transmissão mecânica de agentes biológicos por *S. calcitrans*, a importância epidemiológica desta mosca como vetor parece estar superestimada (Campbell et al., 1987, Masmeatathip et al., 2006). Segundo Butler (1977), esta baixa importância epidemiológica poderia ser explicada em função do comportamento alimentar regurgitante não ser frequente.

Nas indústrias sucroalcooleiras, a presença de subprodutos do álcool, como a vinhaça, a torta de filtro e a palha da cana tem grande importância no contexto dos prejuízos econômicos causados por infestações de moscas (Mendes, 2016). Estes subprodutos estão diretamente relacionados à ocorrência de *S. calcitrans* e aos surtos registrados nessas indústrias, confirmando que a palha compactada em conjunto com a umidade do solo e o vinhoto utilizado para adubação desse solo são altamente favoráveis ao desenvolvimento do ciclo de vidas das *S. calcitrans* (Kaulz, Marciano, 2022; Corrêa., et al, 2013).

Nos últimos anos os relatos de infestações em regiões de canavieiros começaram a aumentar, em 2009 na região Sul de Mato Grosso do Sul, nas usinas e em fazendas com produção animal presenciaram picos de infestação. Os surtos de infestações por moscas-dos-estábulos duram em torno de três a quatro semanas, tendo seu pico durante uma semana seguida. Os animais das fazendas próximas às usinas acabam por sofrer as consequências, tendo irritabilidade, demonstram movimentos repetidos de bater cauda e patas, além diminuição da produção e peso. Um comportamento comum deles em meio aos surtos é não se alimentar e

permanecer aglomerados por longos períodos. Não foi relatada a morte de nenhum animal. Uma forma de evitar a irritabilidade e a diminuição da produção destes animais seria o uso de químicos para controle, entretanto o controle por meio de pour-on e brincos com inseticidas acabam por ser falhos e apresentam pequena ou quase nula eficiência (Koller et al., 2009; Barros et al., 2010; Barros et al., 2007).

O controle químico é considerado importante na pecuária, visto que normalmente faz parte da rotina de 97,5% das fazendas, o tratamento é aplicado de acordo com o nível de infestação e ao comportamento dos animais em conjunto às práticas de manejo e vacinação dos animais. Piretróides e cipermetrina são os mais usados no mercado. Contudo a suscetibilidade dessas moscas acabou diminuindo conforme os anos de uso, gerando assim indivíduos mais resistentes a essas moléculas, o que gera uma rotatividade de produtos pela falta de sucesso no uso, este fato pode ser um dos motivos para a resistência das moscas (Koller et al., 2009; Barros et al., 2007).

O controle químico quando usado de maneira exacerbada e contínua no solo de acordo com os surtos de moscas pode causar desastres ambientais, visto que estes químicos podem degradar populações de microrganismos que degradam a matéria orgânica do solo, impactando todo o equilíbrio e biodiversidade, manutenção da fertilidade e saúde do solo e plantas ali presentes (Rocha et al., 2020; Koller et al., 2009).

Os agroquímicos podem ser persistentes, tóxicos e móveis no solo já que se acumulam, gerando assim a contaminação. É possível identificar compostos ativos em silagem e palhas compactadas que ficam para a proteção do solo, isso resulta na resistência à penetração de próximos ativos. Por conta disso as práticas agrícolas orgânicas não garantem total ausência de resíduos eminentemente tóxicos, devido a sua capacidade de mobilidade em solos e na atmosfera (Amarante et al., 2019).

No estudo feito por Leok (1985), onde analisou a atividade biológica de dois inseticidas piretróides, o estudo provou que a classe de piretróides apresenta uma queda residual rápida nos primeiros dias após sua aplicação no solo, em condições laboratoriais semelhantes ao do campo, esta característica foi observada também no estudo de Chapman e Harris (1981), onde o químico teve uma queda de 50% primeiro mês, mas ainda há uma persistência residual no solo.

Os métodos de controle para as moscas-dos-estábulos podem variar entre químicos, biológicos e mecânicos. Os controles dos focos de criação têm um resultado de 90% de sucesso, o controle químico é eficiente quando aplicado em instalações rurais e em locais de abrigos de repouso. Quando o controle químico é feito diretamente nos animais as partes baixas são o foco de aplicação, contudo a movimentação dos animais no pasto acaba retirando o produto aplicado. Inibidores de crescimento e hormônios juvenis têm a necessidade de serem colocados no substrato para entrar em contato direto com as larvas, dependendo diretamente do manejo para uma maior eficácia. O inseticida cipermetrina é comumente utilizado no controle de surtos de moscas-dos-estábulos, entretanto este inseticida apresenta uma persistência de fragmentos no solo de 50% depois de 20 dias em teste laboratoriais semelhantes às do campo. Sua toxicidade é menor em solo orgânico, mas não nula, tem a capacidade de declinar as atividades biológicas em 3 semanas (Barros et al., 2019; Harris et al., 1981).

Alternativas orgânicas viáveis para o controle de surtos de moscas-dos-estábulos seria um avanço em potencial para melhoramento da contaminação em solo que pode enviesar as águas e até mesmo melhorar a exposição do homem a químicos. A aplicabilidade de corantes fotossensíveis orgânicos no controle de populações é viável pelo baixo nível de toxicidade no escuro para seres humanos, sendo tóxico apenas quando em contato com a luz, este fotossensível deve ser retido pelo tecido alvo, ser rapidamente excretado pelo corpo diminuindo a chances de toxicidade sistêmica e convenientemente ter um alto rendimento. Essas moléculas sofrem modificações nas estruturas facilmente quando são manipuladas corretamente podendo perder a conjugação química, dessa maneira o produto deixa de exercer a ação fototóxica, este fato é tido na literatura como favoráveis para aplicações terapêuticas, já que são eliminadas do organismo juntamente com os efeitos colaterais. Esse tipo de tratamento deve ser viável e para que isso aconteça os fotossensibilizadores devem ser de fácil acesso, bem como ter sua produção em larga escala, sua vida de prateleira deve ser estável para que sua conjugação não seja modificada facilmente, bem como sua solubilidade em meios aquoso atóxicos (Morro et al., 2021; Lima, 2016).

A Terapia Fotodinâmica (TFD) é a interação da luz de comprimento de onda adequado com um composto não-tóxico e oxigênio o que resulta na inviabilização de

células, causando a morte de organismos, isso é resultado da reação envolvida da excitação eletrônica do corante pela luz, onde ocorre a transferência de elétrons, um processo muito rápido, é seguido por dois mecanismos de reação, a contar do seu estado de excitação. O primeiro mecanismo é entre o fotossensibilizador e componentes do sistema, o que gera íons-radicais que reagem com o oxigênio no estado fundamental e assim resultam em um produto oxidado. O segundo mecanismo é a geração de oxigênio singlete (agente altamente citotóxico), este oxigênio causa a morte ou a inviabilização de células (Machado, 2000; Lima, 2016; Zollinger, 2003)

No estudo realizado por Lima (2016), mostrou que a terapia fotodinâmica é um alternativa de controle das populações de *Aedes aegypti*, o fotossensibilizador usado foi a eosina azul de metileno (EAM) C₁₄H₁₄CIN₃S e apresentou resultado favorável, foi feita a utilização de luz branca de LED's RGB, os resultados mostraram que a internalização do fotossensibilizante oferecido para as larvas no tratamento se mostraram presentes no trato digestório das larvas após 5 minutos de exposição ao EAM, apenas após a internalização do agente fotossensível as larvas foram expostas à luz, após 24 horas todas as larvas apresentaram uma mortalidade de 100%. Mesmo que a maioria dos organismos tenham desenvolvido mecanismos específicos de proteção para neutralizar a ação da luz, por este motivo técnicas terapêuticas foram desenvolvidas para aproveitar as propriedades cumulativas dos agentes fotossensibilizantes em tecidos doentes.

Os corantes em sua grande maioria não são produtos tóxicos, contudo quando em contato com energia luminosa podem iniciar uma cadeia de reações tóxicas contra insetos e até mesmo células. A Phloxina-B C₂₀H₂Br₄C₁₄Na₂ é um corante vermelho muito utilizado em medicamentos, cosméticos e comidas. (Malak, 1999). Vem sendo usada como fototoxina por seu grande potencial de controle de algumas espécies de moscas-da-frutas e até mesmo em moscas-dos-estábulos, no artigo de Filiberti et al. (2009) demonstrou a toxicidade até mesmo na menor concentração usada nos testes realizado com as larvas de *Haematobia irritans*, contudo em teste com os ovos e adultos deste indivíduo não houve resultados que comprovem a toxicidade da Phloxina-B.

A riboflavina se trata de uma vitamina hidrossolúvel, apresenta uma coloração amarelada, pode ser encontrada em alimentos comuns como a carne, peixe e leite. Esta vitamina apresenta um importante papel fotoquímico, quando esta molécula entra em contato com a luz entra em um processo de fotoxidação. Sua capacidade fotossensibilizadora está relacionada com um alto potencial de oxidação, apresentando um efeito citotóxico(Souza et al.,2009). Esta Molécula fotossensível já está sendo usada controle de populações de *Aedes aegypti*, no trabalho de Lima et al.(2022) demonstrou a eficácia de sua fototoxicidade por meio de testes

Os fotoInseticidas se tornam uma alternativa para os inseticidas tradicionais já existentes no mercado. Os componentes presentes neste inseticidas tradicionais podem ocasionar alguns problemas severos a animais, solo e até mesmo para o ser humano. Mesmo que a maioria dos organismos tenham desenvolvido mecanismos específicos de proteção para neutralizar a ação da luz, por este motivo técnicas terapêuticas foram desenvolvidas para aproveitar as propriedades cumulativas dos agentes fotossensibilizantes em tecidos doentes (Shiao et al. 2010).

Desta forma, deve-se buscar alternativas mais sustentáveis, econômicas para o controle da mosca-dos-estábulos. As moléculas Riboflavina e Phloxine-B se tornaram opções promissoras para tais alternativas.

2. Objetivos Gerais

Avaliar os efeitos de fotossensibilizantes orgânicos sobre as taxas de sobrevivência e mortalidade, em diferentes estágios do ciclo biológico de *S. calcitrans*.

2.1. Objetivos Específicos

- Avaliar a penetração da Riboflavina e Phloxina-B em ovos da espécie e seus efeitos sobre a eclosão larvar;
- Avaliar o efeito da Riboflavina e Phloxina-B incorporadas ao meio de criação sobre a mortalidade de *S. calcitrans* em fase larval;
- Avaliar o efeito da Phloxina-B incorporadas ao meio de criação, por diluição seriada, sobre a mortalidade de *S. calcitrans* em fase larval;
- Avaliar o efeito da ingestão de soluções com açucarada contendo Riboflavina e Phloxina-B sobre a sobrevivência de adultos;
- Avaliar o efeito da ingestão de sangue bovino citratado contendo Riboflavina e Phloxina-B sobre a sobrevivência de adultos.

3. Materiais e Métodos

3.1. Fotossensibilizador

Neste estudo foram utilizados dois tipos de fotossensibilizadores orgânicos: Phloxina-B C₂₀H₂Br₄Cl₄Na₂O₅ (Sigma-Aldrich) (Figura 1), com um grau de pureza de ≥80% e Riboflavina C₁₇H₂₀N₄O (Sigma-Aldrich) (Figura 1), com grau de pureza de ≥ 98%.

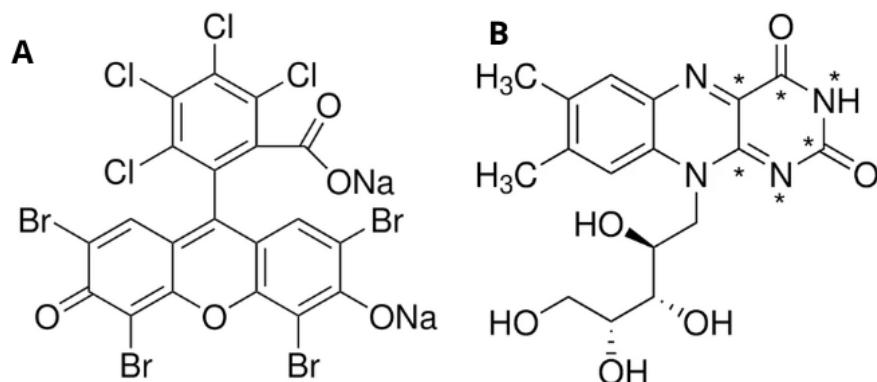


Figura 1. Moléculas de Phloxina-B (A) e Riboflavinas (B) utilizadas para os testes em moscas-dos-estábulos. Fonte: Sigma-Aldrich

3.2. Moscas-dos-estábulos

Para a realização deste estudo, foram utilizados ovos, larvas e moscas adultas (Figura 2) provenientes da colônia do Laboratório de Sanidade Animal da EMBRAPA Gado de Corte, localizado em Campo Grande, Mato Grosso do Sul. As colônias de moscas são mantidas em condições controladas, criadas em gaiolas adaptadas que permitem a adequada alimentação, higienização e coleta de ovos. As gaiolas são confeccionadas a partir de caixas plásticas modificadas, com aberturas vedadas por telas de nylon que possibilitam a troca de ar, garantindo ventilação adequada, e incluem sistemas específicos para oferta de alimento e coleta de espécimes adultos (Figura 3).

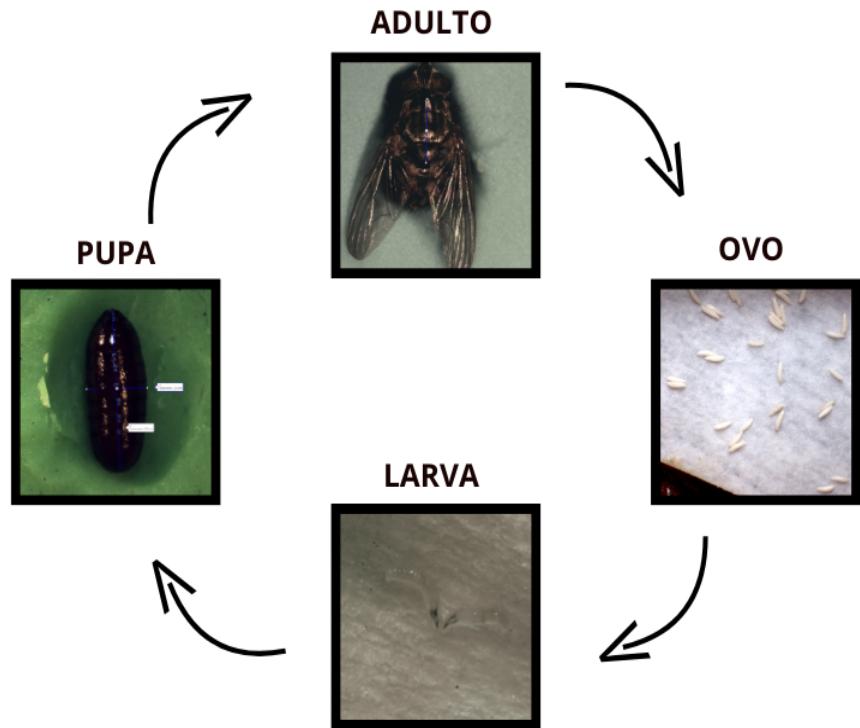


Figura 2. Estágios de vida da *S. calcitrans*.



Figura 3. Gaiolas adaptadas para criação de *Stomoxys. calcitrans*.

A coleta de ovos foi realizada por meio de um pano de algodão úmido colocado sobre a tela superior, onde as fêmeas de *S. calcitrans* efetuavam a oviposição. Para que a transição entre ovo, larva e pupa ocorresse de forma adequada, esses ovos

eram depositados em um meio de criação composto por uma mistura de cana-de-açúcar triturada (40%), farinha de carne e osso (5%), farelo de soja (15%) e água (40%). Essa mistura era preparada com três a cinco dias de antecedência, permitindo que passasse pelo processo de fermentação. O meio de criação era armazenado em uma caixa plástica adaptada, com a parte superior cortada e vedada com dupla camada de tecido tipo organza (Figura 4). Cada caixa recebia dois quilos de meio de criação para 0,2 mL de ovos, o que correspondia a aproximadamente 3 mil ovos.



Figura 4. Caixas adaptadas para acomodação dos ovos de *Stomoxys*

A coleta de pupas é realizada aproximadamente 15 dias após a oviposição. O processo de coleta é simples e feito de maneira manual, sendo separadas e limpas manualmente. Pode ser realizada a técnica de flotação para coleta das pupas (Berkebile et al. 2009) para facilitar a coleta. Após limpas e secas, foram separadas em placas de Petri e colocadas nas gaiolas adaptadas para moscas adultas (Figura 2).

A alimentação das moscas é realizada com sangue bovino adicionado de citrato (0,38%) como anticoagulante, fornecido duas vezes ao dia. O sangue utilizado é coletado em frigorífico, diretamente da sala de sangria, separado em alíquotas e congelado para armazenamento. No momento de alimentação o sangue é descongelamento em banho-maria a aproximadamente 40° C., a fim de preservar suas características nutricionais. As moscas são mantidas em ambiente climatizado, sob temperatura controlada de 27 ± 2 °C e umidade relativa do ar de $70 \pm 15\%$ (Figura

4), garantindo as condições necessárias para o desenvolvimento dos diferentes estágios do ciclo biológico do inseto.



Figura 5. Umidificadores que ajudam a manter a umidade relativa do ar de $70 \pm 15\%$ (A); Aquecedores (B); Ar-condicionado inverter 18.000 BTUs (C); Painel de monitoramento e controle da temperatura e umidade relativa do ar da colônia de criação de moscas-dos-estábulos (D).

3.3. Avaliar a penetração da Riboflavina e Phloxina-B em ovos de *S. calcitrans* e seus efeitos sobre a eclosão larvar.

Este ensaio teve como objetivo avaliar a penetração das moléculas fotossensibilizantes Riboflavina e Phloxina-B pela casca dos ovos de *S. calcitrans* e seu efeito sobre a eclosão larvar.

Ovos recém-postos pelas fêmeas da colônia foram coletados e contabilizados. Cada tubo do tipo Eppendorf (2 mL) recebeu 30 ovos (geração 30), que foram colocados com um pincel número 0, constituindo uma unidade experimental para cada tempo e tratamento. As soluções foram preparadas antes do início do experimento, visando minimizar processos de oxidação e degradação das moléculas. A concentração utilizada para ambas as substâncias foi de 20 mg em 10 mL de água destilada. A concentração utilizada foi escolhida com objetivo de garantir algum efeito, portanto foram utilizadas concentrações 200 vezes maior do que a utilizada no artigo de Lima, 2016, onde testou moléculas fotossensibilizadoras para o controle de

populações de *Aedes aegypti*. As moléculas foram previamente pesadas em balança analítica de precisão. O grupo controle foi submetido apenas à imersão em água destilada durante um período de 60 minutos, tempo máximo para os grupos tratados.

Os ovos foram submersos nas soluções contendo as moléculas fotossensibilizantes por diferentes intervalos de exposição: 1, 5, 10, 30 e 60 minutos. Após o período de exposição, todo o líquido foi retirado com ajuda de uma pipeta descartável, evitando o contato direto com os ovos decantados no fundo. Em seguida, os ovos foram lavados sucessivamente com água destilada até que a solução permanecesse límpida, garantindo a preservação do número inicial de ovos. Posteriormente, foram transferidos para placas de Petri descartáveis, previamente forradas com papel de filtro umedecido em água destilada.

Parte dos ovos foi utilizada para avaliação da penetração das moléculas. Com o auxílio de pinça de ponta fina, os ovos foram rompidos, possibilitando a observação da coloração do embrião e a verificação da eficácia da penetração das moléculas através da casca.

Outra fração dos ovos foi reservada para análise do desenvolvimento embrionário. As placas contendo os ovos foram acondicionadas em bandejas e mantidas na sala climatizada da colônia, sob as mesmas condições ambientais controladas. Após 72 horas, as placas foram analisadas quanto à presença de larvas e à coloração dos indivíduos, permitindo a avaliação da viabilidade embrionária e da ação potencial das moléculas testadas. todas as observações foram realizadas com auxílio de microscópio estereoscópico (Figura 11) acoplado a câmera para registro de imagens.

3.4. Metodologia para testes com larvas de *S. calcitrans* em meio de criação.

Os testes descritos nos itens 3.5, 3.6 e 3.7 seguiram a mesma metodologia, utilizando-se recipientes de alumínio padronizados. As etapas metodológicas apresentadas nesses itens são baseadas nos procedimentos empregados na colônia pertencente à Embrapa Gado de Corte.

Algumas adaptações foram realizadas ao longo dos experimentos devido à atualização do protocolo utilizado. Entre essas modificações, destaca-se a substituição da preservação da umidade dos ovos, anteriormente feita com discos de fezes e papel absorvente, pelo uso de pastilhas de ágar a 2,5%, conforme detalhado no item 3.3.4.

3.4.1. Condições do ambiente

As condições em que os indivíduos foram expostos seguiram a padronização já usada no laboratório. As moscas são mantidas em ambiente climatizado, sob temperatura controlada de $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa do ar de $70 \pm 15\%$ (Figura 4).

3.4.2. Recipiente de alumínio e Câmara escura

Para os testes realizados com as moléculas fotossensibilizadoras Riboflavina e Phloxina-B, optou-se por usar um recipiente de alumínio descartável com o intuito de evitar que a luz penetrasse com facilidade, como aconteceria caso os testes fossem feitos em recipientes de plásticos comuns. Portanto, o recipiente descartável de alumínio tem as dimensões de $9,9 \times 12,9 \times 3,4$ cm e capacidade de 250 mL, suficiente para armazenar as 85g de meio de criação para as larvas, padrão utilizado nos testes com meio de criação citado nos itens 3.5, 3.6 e 3.7 (Figura 6).

As câmaras escuras utilizadas para os experimentos com moléculas fotossensibilizadoras foram confeccionadas a partir de uma caixa grande de isopor de 120 litros, todas elas foram revestidas com papel alumínio, na parte interna foi feito uma prateleira para que uma maior área da caixa pudesse ser ocupada. Um sistema de ventilação foi acoplado na caixa na lateral inferior do recipiente.

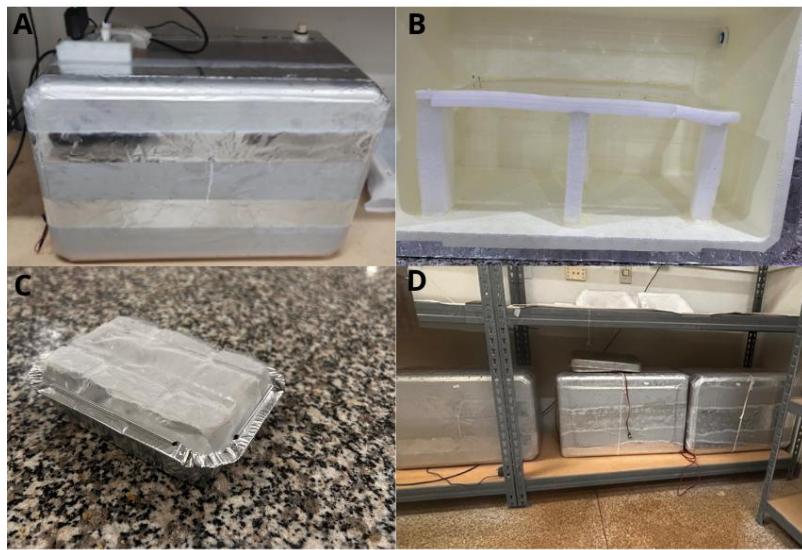


Figura 6. Câmara escura com sistema de ventilação (A, B e D); Bandeja de alumínio utilizada para comportar o meio de criação homogeneizado com as moléculas fotossensíveis(C).

3.4.3. Papel de filtro

O papel filtro é um elemento fundamental para a manutenção da qualidade dos embriões. Ele impede o ressecamento dos ovos, pois apresenta alta capacidade de absorver a umidade proveniente das pastilhas de ágar ou dos discos de fezes.

Além de preservar a umidade, o papel filtro também facilita a observação dos ovos em testes de taxa de eclosão. Isso ocorre porque ele evita que os ovos sejam depositados diretamente no meio de criação, o que dificultaria ou até impossibilitaria a visualização necessária para a contagem e acompanhamento do desenvolvimento embrionário.

3.4.4. Utilização de disco de fezes bovinas e pastilhas de ágar.

Na metodologia inicial do laboratório usava-se discos de fezes bovinas colhidas nas pastagens da Embrapa Gado de Corte. Após a coleta as fezes eram moldadas em porções fracionadas e envoltas por um papel filme e colocadas sobre uma forma forrada com papel alumínio, estas eram armazenadas em freezer à -18 °C específicos para evitar o ressecamento do material. Para a utilização das pastilhas era necessário que fossem colocadas para descongelamento em temperatura ambiente algumas

horas antes do início do experimento, desta forma poderiam ser moldadas manualmente.



Figura 7. Fezes em fase de descongelamento em temperatura ambiente.

Para a manutenção da umidade dos ovos de *S. calcitrans* sobre papel filtro, adotou-se uma nova rotina experimental baseada no uso de pastilhas de ágar, em substituição ao método tradicional dos discos de fezes. Essa metodologia apresenta maior praticidade, reduz o risco de contaminações e pode ser executada em até uma hora e meia antes da coleta dos ovos, mantendo a eficiência na manutenção da umidade necessária ao processo de eclosão.

Ensaios preliminares indicaram que a concentração ideal corresponde a 2,5% de ágar em 100 mL de água destilada, quantidade suficiente para manter as pastilhas úmidas por tempo adequado, evitando o ressecamento embrionário.

O preparo foi realizado em bêquer de 500 mL, foi pesado em uma balança 97,5 g de água destilada em temperatura ambiente. Em seguida, 2,5 g de ágar foram pesados em balança analítica e adicionados gradualmente ao bêquer, com agitação manual por meio de bastão de vidro, a fim de evitar a formação de grumos. Após

homogeneização inicial, a mistura foi submetida ao aquecimento em forno de micro-ondas, com interrupções a cada 15 segundos para agitação circular com o bastão de vidro, até que a solução apresentasse aspecto translúcido e levemente viscoso, indicando completa dissolução do ágar.

A solução ainda líquida foi vertida em placas de Petri de vidro, previamente destinadas a este procedimento, contendo marcações que auxiliam no corte das pastilhas de 1×1 cm. Para cada placa foram utilizados 30 mL da solução de ágar. As placas foram inicialmente mantidas em temperatura ambiente por 30 minutos e, em seguida, transferidas para refrigeração, permitindo o resfriamento completo e evitando rachaduras na estrutura das pastilhas.

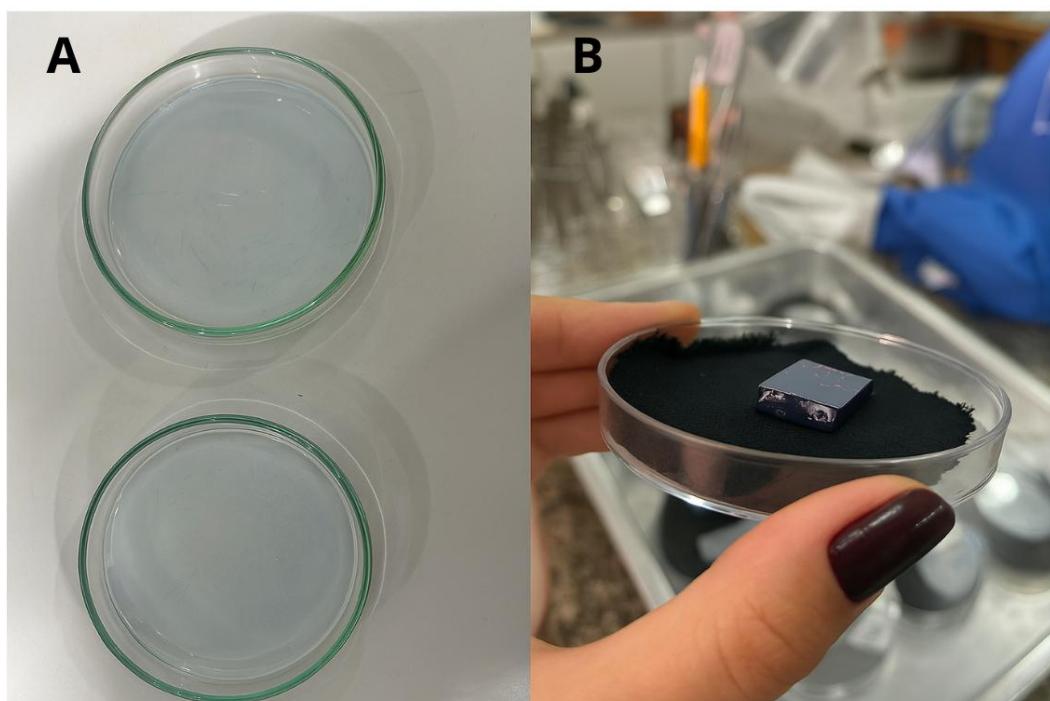


Figura 8. Placas de ágar 2,5% em momento de secagem (A); Pastilha de ágar com corte de 1×1 cm com papel filtro (B).

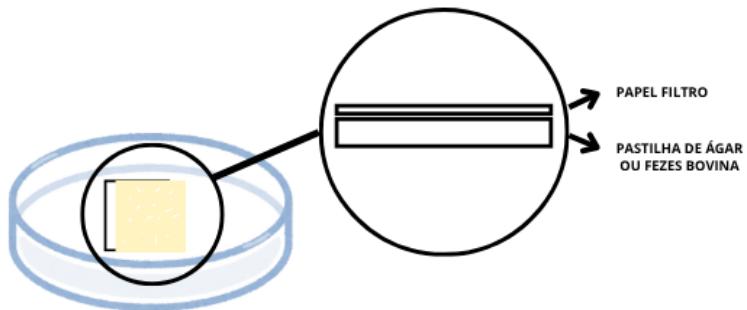


Figura 9. Esquema ilustrativo para demonstrar como é a utilização das pastilhas de fezes ou ágar para hidratar o papel filtro.

3.4.5. Montagem dos recipientes de alumínio

As montagens dos recipientes de alumínio seguiram um padrão uniforme. Cada recipiente recebeu 85 g de meio de criação, seguido pela adição de um disco de fezes ou de uma pastilha de ágar, sobre a qual foi posicionado um papel filtro de 1 × 1 cm. Sobre esse papel filtro foram depositados os ovos coletados diretamente da colônia.

A coleta dos ovos foi realizada com o auxílio de um pincel nº 1 de cerdas macias e de uma lupa. Os ovos foram coletados individualmente, evitando-se a transferência de agrupamentos. Esse procedimento assegura maior variabilidade e qualidade do material, uma vez que algumas posturas podem conter embriões inviáveis.

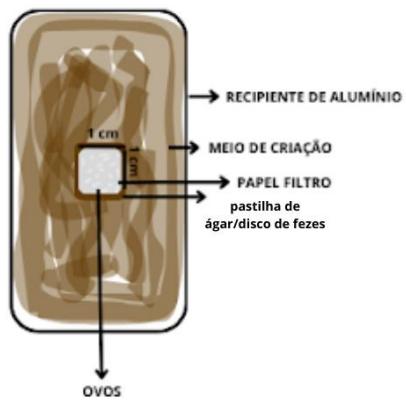


Figura 10. Ilustração da montagem realizada no recipiente de alumínio.

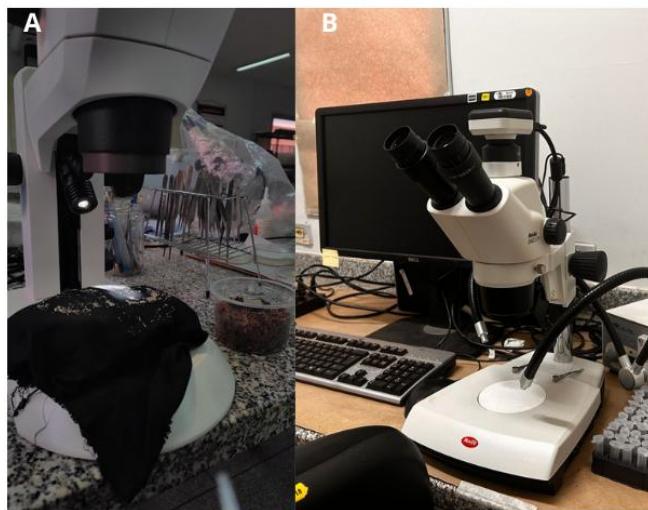


Figura 11. Coleta de ovos para os testes com Phloxina-B e Riboflavina(A) e estereoscópio utilizado para fotografia (B).

3.5. Avaliar os efeitos da Phloxina-B incorporadas ao meio de criação sobre a mortalidade de *Stomoxys calcitrans* em fase larval

O presente experimento teve como objetivo avaliar os efeitos da incorporação de moléculas fotossensíveis no desenvolvimento larval de *S. calcitrans*, por meio de sua introdução direta no meio de criação, com e sem exposição à luz. Essa abordagem visou assegurar a ingestão das substâncias durante a alimentação larval, permitindo a posterior análise da viabilidade de pupas e adultos emergidos.

As moléculas fotossensíveis testadas foram a Phloxina-B e a Riboflavina, estas foram pesadas em uma balança de precisão, podendo assim obter oito miligramas que foram do produto que foi guardado em um tubo de Falcon envolto de alumínio e postas em uma caixa isotérmica para evitar exposição à luz até que fossem diluídas em água destilada. A diluição em 10 mL de água destilada foi feita momentos antes de serem aplicadas e homogeneizadas no meio de criação diluídos em 10 mL de água destilada. Em um Becker foram homogeneizadas com a ajuda de um bastão de vidro.

Os tratamentos foram divididos em dois grupos: um exposto à luz ambiente do laboratório (grupo claro) e outro mantido em condições de ausência de luz, sendo este acondicionado em câmara escura (Figura 5).

Para a realização dos ensaios, foram utilizados recipientes descartáveis de alumínio, como citado detalhadamente no item 3.4.4 (Figura 6). Em cada recipiente foram adicionados 85 g do meio de criação. Cada bandeja recebeu 2 mL de solução, aplicada com uma pipeta de precisão de 1000 µl, que foi homogeneizada no meio para garantir maior chance das larvas terem contato com as moléculas. Em seguida, foram introduzidos 40 ovos (geração 28) recém-coletados da colônia de *S. calcitrans*, dispostos sobre papel filtro umedecido com um disco fecal.

Os tratamentos foram realizados em triplicata cada um deles recebeu dois mililitros das moléculas, assim como o controle recebeu apenas dois mililitros de água destilada.

As bandejas foram mantidas em ambiente climatizado, de acordo com os parâmetros ambientais padronizados na rotina da colônia. Após três semanas e meia, seu ciclo havia se completado e as moscas emergidas já estavam menos ativas.

Com as moscas todas mortas, a contagem se iniciou por um processo manual, onde todas as pupas foram coletadas, com o auxílio de uma pinça entomológica, do meio e verificadas uma por uma para analisar assim a taxa de emergência e de empupamento. Os adultos separados foram contabilizados e a sexagem de cada indivíduo foi feira com a ajuda de uma lupa.

A metodologia permitiu o acompanhamento do ciclo de vida dos insetos, desde a fase larval até a emergência dos adultos, com o intuito de observar possíveis efeitos tóxicos, alterações no desenvolvimento ou impactos na taxa de sobrevivência.

3.6. Avaliar os efeitos da Phloxina-B incorporadas ao meio de criação, por diluição seriada, sobre a mortalidade de *Stomoxys calcitrans* em fase larval

O experimento foi conduzido com o objetivo de avaliar os efeitos de diferentes concentrações da molécula fotossensível, Phloxina-B sobre o desenvolvimento larval de *S. calcitrans*, com foco na viabilidade do ciclo de vida e na emergência dos adultos.

As substâncias foram incorporadas ao meio de criação, permitindo sua absorção pelas larvas durante a alimentação.

As soluções experimentais foram preparadas a partir de uma solução-mãe de 40 mg em 10 mL de água destilada. As moléculas foram previamente pesadas em balança analítica de precisão, acondicionadas em tubos Falcon para minimizar processos oxidativos e mantidas em caixa isotérmica até o momento das diluições. A partir da solução-mãe, foram realizadas diluições seriadas, transferindo-se 5 mL da solução concentrada para 5 mL de diluente (água destilada) em bêquer estéril, obtendo-se assim a solução de 20 mg. O mesmo procedimento foi repetido sucessivamente até alcançar concentrações de 10 mg, 5 mg e 2,5 mg.

Dessa forma, foram obtidas cinco concentrações finais (40, 20, 10, 5 e 2,5 mg em 10 mL de água destilada) para ambas as moléculas. O grupo controle recebeu apenas 10 mL de água destilada, sem adição de substâncias. Cada tratamento foi testado em triplicata, subdividido em duas condições experimentais: claro (exposição à luz ambiente do laboratório) e escuro (ausência de luz).

O meio de criação seguiu o protocolo padrão da colônia, como citado no item 3.2. Para os bioensaios, utilizaram-se recipientes de alumínio (figura 6), contendo 85 g do meio homogeneizado com a solução correspondente a cada tratamento, assegurando a distribuição uniforme das moléculas.

Em cada bandeja foram depositados 30 ovos (geração 29) de *S. calcitrans*, coletados da colônia e dispostos sobre papel filtro umedecido com ágar a 2,5%. O uso de fezes, anteriormente adotado para umedecer o papel filtro, foi substituído pelo ágar devido à maior praticidade, menor risco de contaminação e manutenção da mesma eficiência na conservação da umidade. Os tabletes de ágar foram preparados no mesmo dia do experimento.

O grupo mantido no escuro foi distribuído aleatoriamente entre três câmaras escuras, cada uma contendo sete bandejas devidamente fechadas. A alocação das triplicatas ocorreu por sorteio, evitando possíveis interferências externas relacionadas à entrada de luz ou proximidade ao sistema de ventilação. O grupo claro permaneceu exposto à iluminação natural da sala de criação.

Após um período de três semanas e meia, suficiente para a conclusão do ciclo de vida, as bandejas foram abertas para contabilização dos indivíduos emergidos, seguida da sexagem dos adultos.

As bandejas do grupo claro foram expostas diretamente à luz ambiente da sala de criação. Já as do grupo escuro foram imediatamente inseridas em caixas escuras após o preparo, evitando exposição prolongada à luz.

3.7. Avaliar os efeitos da ingestão de soluções com açúcar contendo Riboflavina e Phloxina-B sobre a sobrevivência de adultos.

Este experimento teve como objetivo avaliar os efeitos das moléculas fotossensibilizantes Riboflavina e Phloxina-B em moscas adultas de *Stomoxys calcitrans*, por meio da ingestão de soluções açucaradas, a fim de verificar potenciais efeitos tóxicos e oxidativos em indivíduos já desenvolvidos e aptos para a oviposição.

Foram utilizadas 20 pupas recém-coletadas (geração 34) (Figura 6) das bandejas de criação da colônia. As pupas foram transferidas para uma gaiola experimental confeccionada a partir de um pote plástico com capacidade de 1,5 L, cujas laterais foram recortadas e revestidas com tecido telado, permitindo ventilação, oferta de alimento e evitando a fuga dos insetos (Figura 6). Após o preparo os potes foram mantidos deitados para funcionar com gaiola (Figura 6). O interior da gaiola foi revestido com papel pardo, facilitando a visualização e a manutenção da higiene. As pupas foram acondicionadas em placas de Petri forradas com papel filtro até a emergência dos adultos.

Após a emergência, os adultos foram alimentados com sangue bovino por três dias, conforme a rotina de manutenção da colônia, garantindo também a alimentação dos indivíduos emergidos tardiamente. Para a oferta do sangue, foram utilizados absorventes neutros (sem fragrância) embebidos em sangue, disponibilizados duas vezes por dia às moscas.

Decorrido o período de alimentação com sangue, as moscas passaram a receber soluções açucaradas contendo as moléculas fotossensibilizantes. A solução de açúcar foi preparada com 10% de sacarose (100 mL de água destilada e 10 g de açúcar), devidamente homogeneizada com auxílio de bastão de vidro. Em seguida,

8,5 mg de Riboflavina e 8,5 mg de Phloxina-B foram pesados separadamente em balança analítica, acondicionados em microtubos Eppendorf de 2,5 mL e armazenados em caixa isotérmica para evitar degradação por exposição à luz. Cada molécula foi posteriormente diluída em 10 mL da solução de açúcar em béquer estéril, sendo homogeneizada com bastão de vidro.

As soluções foram ofertadas por meio de discos de algodão embebidos, posicionados nas telas superiores das gaiolas, garantindo acesso contínuo das moscas. Os algodões foram substituídos duas vezes ao dia e protegidos com placas de Petri descartáveis para evitar perda de umidade. O fornecimento das soluções foi mantido diariamente por duas semanas, até a morte dos indivíduos presentes na gaiola.

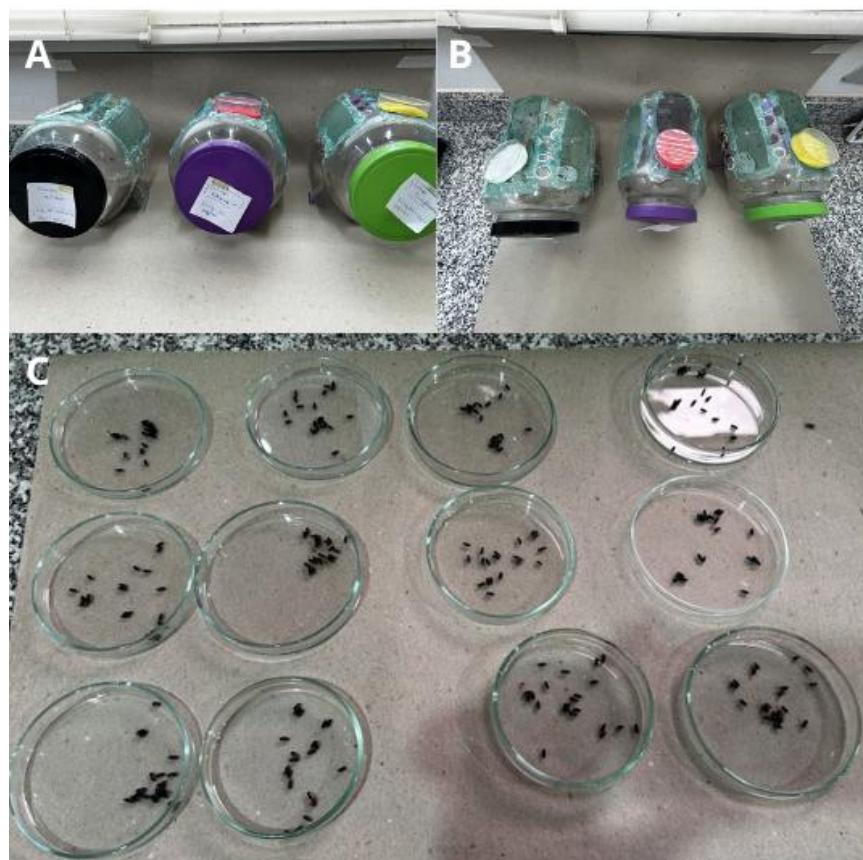


Figura 12. Gaiolas projetadas com apoio para que permanecessem imóveis (A); Gaiola projetada para os testes com solução açucarada e moléculas fotossensíveis (B). foto de lado da gaiola Placas de Petri com pupas (C)

- 3.8. Investigar a mortalidade de adultos alimentados com sangue contendo Riboflavina e Phloxina-B.

Com o objetivo de avaliar os efeitos das moléculas fotossensibilizantes Phloxina-B e Riboflavina na alimentação de *S. calcitrans*, foram realizados novos ensaios utilizando sangue bovino como veículo. Esse delineamento buscou verificar se a mortalidade observada no teste anterior, realizado com solução de sacarose suplementada com as moléculas, foi de fato decorrente da ação das substâncias ou se a ausência de alimentação sanguínea teria contribuído para a elevada taxa de mortalidade registrada.

Foram coletadas pupas da colônia (geração 35), posteriormente transferidas para gaiolas experimentais confeccionadas a partir de caixas organizadoras de 1,5 L (Figura 13), adaptadas com laterais revestidas por tecido telado para permitir ventilação, alimentação e contenção dos adultos. O interior das gaiolas foi forrado com papel pardo, visando facilitar a higienização e a visualização dos insetos. As pupas foram acondicionadas em placas de Petri forradas com papel absorvente até a emergência.

Após a emergência, os adultos receberam sangue bovino como fonte alimentar, seguindo a rotina de manutenção da colônia. Esse fornecimento foi mantido por três dias, período necessário para garantir a alimentação dos indivíduos emergidos tardiamente. Decorrido esse intervalo, iniciou-se a oferta de sangue suplementado com as moléculas fotossensibilizantes.

As substâncias foram previamente pesadas em balança analítica de precisão, acondicionadas em microtubos Eppendorf de 2,5 mL e armazenadas em caixa isotérmica, a fim de evitar degradação por exposição à luz. Antes da suplementação, o sangue foi aquecido em banho-maria até atingir temperatura tépida, simulando as condições fisiológicas mais próximas à alimentação natural do inseto. Em seguida, cada molécula foi homogeneizada ao sangue com auxílio de bastão de vidro, obtendo-

se soluções contendo 8,5 mg de molécula fotosensibilizante diluída em 10 mL de sangue bovino.

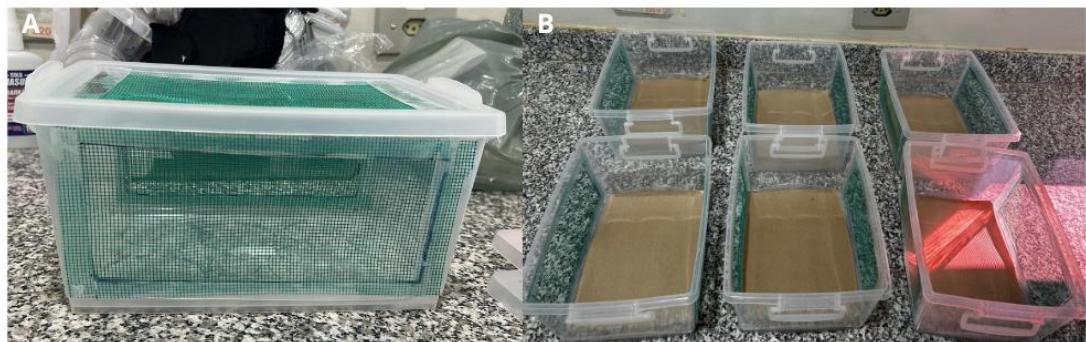


Figura 13. Caixa confeccionada para o experimento (A), devidamente forradas para manter a higiene do material (B).

3.10 Análise de Dados

A Análise estatística foi realizada no aplicativo GraphPad Prim 10. Os resultados de cada experimento foi analisado quanto a normalidade dos dados com os testes de Pearson e Kolmogorov-Smirnov. Foram realizados testes de comparação de média paramétricos ou não paramétricos dependendo do resultado prévio de análise de normalidade. As médias foram consideradas estatisticamente diferentes quando o valor de P foi menor que 0,05. Gráficos de dispersão ou frequência também foram utilizados.

4. Resultado e Discussão

4.1. Penetração da Riboflavina e Phloxina-B em ovos de *S. calcitrans* e seus efeitos sobre a eclosão larvar.

Tabela 1. Resultado da taxa de eclosão após submersão de em diferentes tempos para cada tratamento

TRATAMENTO	1	5	10	30	60
Controle	-	-	-	-	96,7%*
Phloxina-B	100%	63,30%	100%	100%	93,30%
Riboflavina	96,70%	96,70%	50%	96,70%	76,7

* No tratamento controle a média foi calculada, afinal todas as 5 repetições ficaram submersas em água destilada durante 60 minutos.

Os ovos do tratamento controle ficaram submersos durante 60 minutos na água destilada (Tabela 1), afinal teve como principal finalidade analisar se a submersão por 60 minutos, o tempo máximo, causaria morte embrionária. Após este período foram realocados para uma placa de Petri forrada com papel filtro umedecido com água destilada, estas placas permaneceram durante 72 horas nas condições ambientais da colônia do laboratório para que os teste de eclosão fossem realizados (Item 3.3).

Os resultados apresentados na Tabela 1 indicam que a imersão dos ovos em solução aquosa por até 60 minutos não compromete sua integridade. Esse achado sugere que não ocorre passagem de líquido através da casca durante esse período de exposição. Esta característica de não permeabilidade pode ser explicada por fatores ecológicos, assim como é sugerido no artigo de Valencia et al. (1996), onde buscou caracterizar a permeabilidade de embriões de dípteros em comparação com embriões de *Drosophila melanogaster*, estes que são modelos em criopreservação. O estudo realizado mostrou que a *Drosophila melanogaster* demora cerca de 120 minutos para apresentar sinal de encolhimento na desidratação por ar. Nos testes que foram utilizados componentes tóxicos a *D. melanogaster* também não demonstrou sinais de permeabilidade na casca. A *S. calcitrans* a *D. melanogaster* também se desenvolve em matéria vegetal em decomposição, um meio hiperosmótico, o que justificaria o fato da baixa ou nula permeabilidade, afinal para minimizar a perda de água, estes insetos apresentam membranas menos permeáveis, tanto para água do ambiente e aos solutos.

Nos testes realizados com as moléculas Riboflavina Phloxina-B, pode-se observar que a falta de permeabilidade da casca impossibilitou que as moléculas tivessem o efeito de oxidação no embrião dos ovos, como pode ser observado na Tabela 1. A taxa de mortalidade dos embriões não atingiu os 50%, demonstrando uma média de 91,3% para os tratados com Phloxina-B e 83,3% eclosão para os tratados com Riboflavina.

O resultado da média geral dos tratados com Riboflavina foi mais baixa pois no tratamento de 10 min de exposição dos ovos a molécula, apenas 50% dos indivíduos

conseguiram eclodir, isso pode ser explicado pela inviabilidade dos ovos coletados para os testes e não pela funcionalidade da molécula, já que em todos os outros teste a taxa de eclosão não me mostrou menor do que 78%, este valor que é resultado do tempo máximo, 60 minutos.

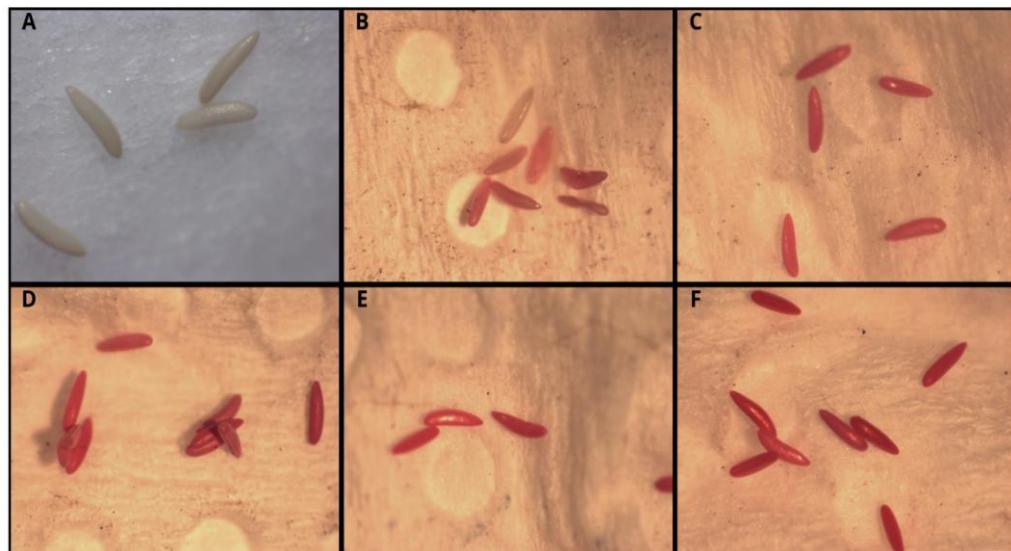


Figura 14. Comparação da pigmentação dos ovos submersos em Phloxine-B em diferentes tempos. A: Controle; B: 1 minutos; C: 5 minutos; D: 10 minutos; E: 30 minutos e F: 60 minutos.

Os ovos submersos nas soluções contendo 20 mg de Phloxina- B apresentaram uma coloração intensa em um tempo de 5 minutos (Figura 14). Os ovos que não eclodiram foram separados e pressionados com a ponta de uma pinça, até que o conteúdo embrionário saísse. Apesar da rápida pigmentação, o corante não ultrapassou a casca dos ovos (Figura 15).

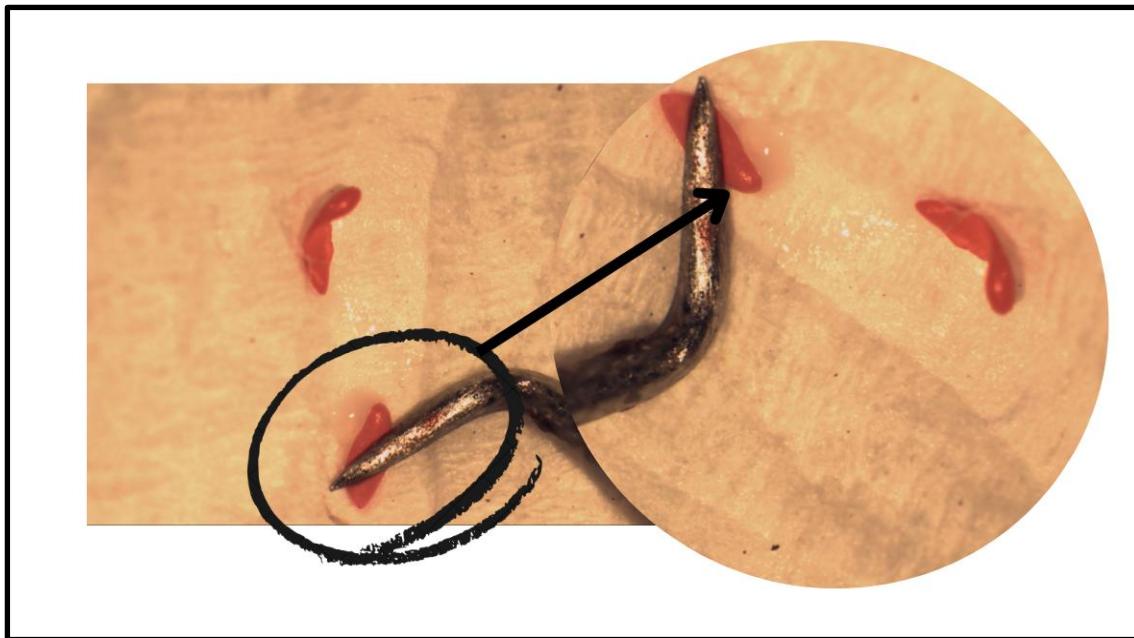


Figura 15. Imagem do rompimento do córion do ovo que permaneceu submerso em Phloxina-B durante 60 minutos

Os resultados obtidos com os testes realizados com a solução de Riboflavina tiveram uma taxa de eclosão similar aos outros tratamentos, controle e Phloxina-B. No tratamento de dez minutos submerso na solução com Riboflavina, a taxa de eclosão resultou em 50%, um bom resultado a ser apresentado, contudo isso pode ser explicado pela não viabilidade dos ovos coletados antes da exposição deles a molécula, como citado no item 3.4.5.

Quanto à pigmentação dos ovos submersos na solução de Riboflavina, não apresentaram uma coloração tão forte como observado nos ovos expostos a Phloxina-B, isso pode ser explicado pela característica organizacional das moléculas, sua estrutura de xanteno possui um sistema de ligação que absorve as luzes verde-

amarelo e transmite a cor complementar que é o vermelho rosado.

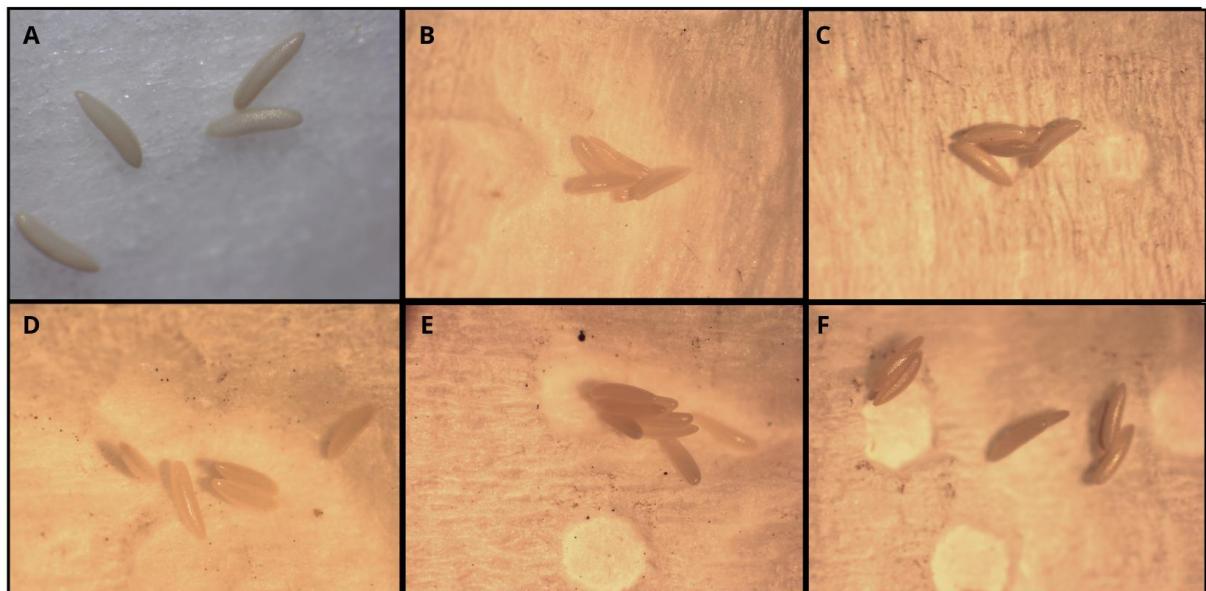


Figura 16. Fotografia dos ovos submersos em água destilada (A) e dos ovos submersos em Riboflavina durante 60 minutos (B).

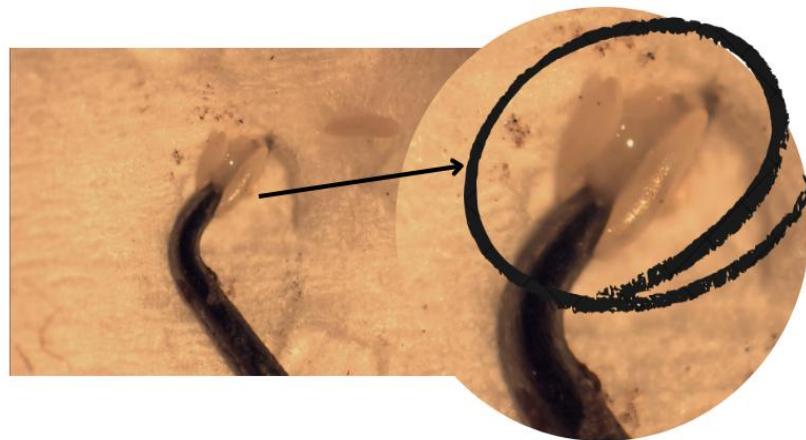


Figura 17: Imagem do rompimento do córion do ovo que permaneceu submerso em Riboflavina durante 60 minutos

Não foram identificados na literatura científica estudos que investiguem a aplicação de riboflavina como fotossensibilizante em ovos de *S. calcitrans*. Embora existam trabalhos que utilizam essa molécula em larvas de outros dípteros, como *A. aegypti*, e que serviram de referência para a construção da metodologia deste estudo, não há relatos de experimentos realizados em estágios embrionários ou que avaliem

a permeabilidade da casca dos ovos dessa espécie. Essa ausência de pesquisas evidencia uma lacuna importante no conhecimento atual e reforça a relevância dos resultados obtidos no presente trabalho.

4.2 Eficácia da Riboflavina e Phloxina-B incorporadas ao meio de criação sobre a mortalidade de *Stomoxys calcitrans* em fase larval

4.2.1 Eficácia da Riboflavina e Phloxina-B na concentração de 20 mg.

Na tabela 2 taxas de pupação, em torno de 62,5%, indicam que o tratamento com Phloxina-B apresentou funcionalidade, uma vez que, de 40 ovos, apenas 25 (repetição 1) e 24 (repetição 2) completaram o desenvolvimento até a fase adulta. A literatura aponta que a Phloxina-B apresenta toxicidade e fitotoxicidade nos estágios imaturos da mosca-da-fruta do Mediterrâneo, espécie pertencente à ordem Díptera, assim como *S. calcitrans*. No estudo de Berni et al. (2003), é demonstrado que a toxicidade é baixa, mas ainda assim significativa, aumentando proporcionalmente à dose oferecida aos insetos. A dose de CL₅₀ determinada no estudo foi de 286,2 mg em 30 mL, valor 12,31 vezes maior que a concentração utilizada no presente teste.

A baixa taxa de pupação observada no controle do tratamento não exposto à luz pode ser explicada por dois fatores. O primeiro é a ausência de luminosidade necessária para o desenvolvimento adequado das larvas, já que, por se tratar de um teste que exige escuridão total, as avaliações de eclosão não podem ser efetuadas, a fim de evitar a oxidação desnecessária das moléculas. O segundo fator possivelmente envolvido é a própria viabilidade embrionária dos ovos selecionados no momento da coleta.

Tabela 2. Resultados do tratamento com Phloxina-B (Phl-) exposto à luz em tempo integral.

Luz	Tratamento	Taxa de pupação	Taxa de emergência em relação aos ovos
Sim	Controle 1	100%	85%
Sim	Phl-B 1	62,5%	62,5%
Sim	Phl-B 2	62,5%	60%
Sim	Controle 2	70%	70%
Sim	Ribo 1	87,5%	87,5%
Sim	Ribo 2	87,5%	87,5%
Não	Controle 1	70%	70%
Não	Phl-B 1	87,5%	87,5%
Não	Phl-B 2	87,5%	87,5%
Não	Controle 2	70%	70%
Não	Ribo 1	87,5%	87,5%
Não	Ribo 2	87,5%	87,5%

4.2.2 Eficácia da Phloxina-B em diluição seriada

É possível analisar por meio da Tabela 3, que diferente do que ocorreu com o tratamento sem exposição à luz onde a taxa de mortalidade dos indivíduos acontece na transição de mosca para adultos, neste tratamento a mortalidade aconteceu de forma aleatória em algumas concentrações, mas em nenhuma das concentrações houve atividade fototóxica. A Phloxina-B se mostrou não eficiente neste teste, os indivíduos, mesmo que expostos à concentrações variadas e com um maior número de concentrações.

Em testes realizados com moscas-do-chifres a Phloxina-B se mostrou tóxica tanto nos tratamentos com e sem exposição à luz, neste artigo Filiberti et al. (2009) comprovou que a Phloxina-B apresenta atividade tóxica em adultos de moscas-do-

chifres, afirmando que a taxa de mortalidade se apresentou com a junção da concentração do corante e da intensidade da luz.

É possível observar, por meio das Tabelas 3 e 4, que, diferentemente do tratamento sem exposição à luz, a taxa de mortalidade dos indivíduos neste tratamento ocorre principalmente na transição de pupa para adulto. A mortalidade apresentou-se de forma aleatória entre algumas concentrações, porém, em nenhuma delas foi evidenciada atividade fototóxica. Assim, a Phloxina B não se mostrou eficiente neste teste, mesmo quando os indivíduos foram expostos a diferentes concentrações e a um maior número de tratamentos.

Tabela 3. Resultado do tratamento com Phloxina-B (Phlo-B) com exposição à luz.

Luz	Tratamento	Taxa de pupação (%)	Taxa de emergência (%)
Sim	Controle 1	66,7	100,0
Sim	Controle 2	70,0	100,0
Sim	Controle 3	73,3	90,9
Sim	Controle 4	90,0	70,4
Sim	Controle 5	70,0	100,0
Sim	Controle 6	73,3	100,0
Sim	Phlo-B 2,5 mg 1	56,7	52,9
Sim	Phlo-B 2,5 mg 2	80,0	95,8
Sim	Phlo-B 2,5 mg 3	73,3	95,5
Sim	Phlo-B 5 mg 1	70,0	100,0
Sim	Phlo-B 5 mg 2	50,0	93,3
Sim	Phlo-B 5 mg 3	73,3	100,0
Sim	Phlo-B 10 mg 1	83,3	96,0
Sim	Phlo-B 10 mg 2	80,0	100,0
Sim	Phlo-B 10 mg 3	80,0	95,8
Sim	Phlo-B 15 mg 1	80,0	100,0
Sim	Phlo-B 15 mg 2	36,7	100,0
Sim	Phlo-B 15 mg 3	83,3	96,0
Sim	Phlo-B 20 mg 1	36,7	100,0

Sim	Phlo-B 20 mg 2	96,7	100,0
Sim	Phlo-B 20 mg 3	76,7	100,0

Tabela 4. Resultado do tratamento com Phloxina-B (Phlo-B) sem exposição à luz.

Luz	Tratamento	Taxa de pupaçã o (%)	Taxa de emergência (%)
CAIXA 1			
Não	Controle 1	80	100
Não	Controle 2	66,7	100
Não	Phlo-B 2,5 mg 1	83,3	100
Não	Phlo-B 5 mg 1	13,3	100
Não	Phlo-B 10 mg 1	43,3	100
Não	Phlo-B 15 mg 1	23,3	100
Não	Phlo-B 20 mg 1	50,0	100
CAIXA 2			
Não	Controle 1	70,0	100
Não	Controle 2	80,0	100
Não	Phlo-B 2,5 mg 2	63,3	100
Não	Phlo-B 5 mg 2	13,3	100
Não	Phlo-B 10 mg 2	90,0	100
Não	Phlo-B 15 mg 2	76,7	100
Não	Phlo-B 20 mg 2	30,0	0
CAIXA 3			
Não	Controle 1	96,7	100
Não	Controle 2	83,3	100

Não	Phlo-B 2,5 mg 3	3,3	
			100
Não	Phlo-B 5 mg 3	86,7	100
Não	Phlo-B 10 mg 3	6,7	100,0
Não	Phlo-B 15 mg 3	60,0	94,4
Não	Phlo-B 20 mg 3	56,7	100

No estudo de Berni et al. (2009), em que foram avaliados os efeitos da Phloxina-B no estágio larval de *Ceratitis capitata* utilizando um meio à base de abóbora a concentração máxima empregada no experimento foi de 37,3 mg em 9 mL, valor 1,86 vezes superior à maior concentração utilizada anteriormente pelo autor. De acordo com a Tabela 3, nota-se que a mortalidade dos indivíduos ocorre principalmente no período de transição entre larva e pupa em alguns tratamentos. Esse resultado pode estar relacionado ao posicionamento aleatório dos recipientes dentro da câmara escura, uma vez que alguns deles ficaram próximos ao sistema de ventilação. Ao final dos testes, após a abertura dos recipientes para a contagem de adultos e de pupas abertas, constatou-se que o meio de criação apresentava-se mais seco do que o esperado. Essa redução de umidade dificulta a locomoção e a alimentação das larvas, favorecendo o estresse e, possivelmente, contribuindo para a mortalidade observada.

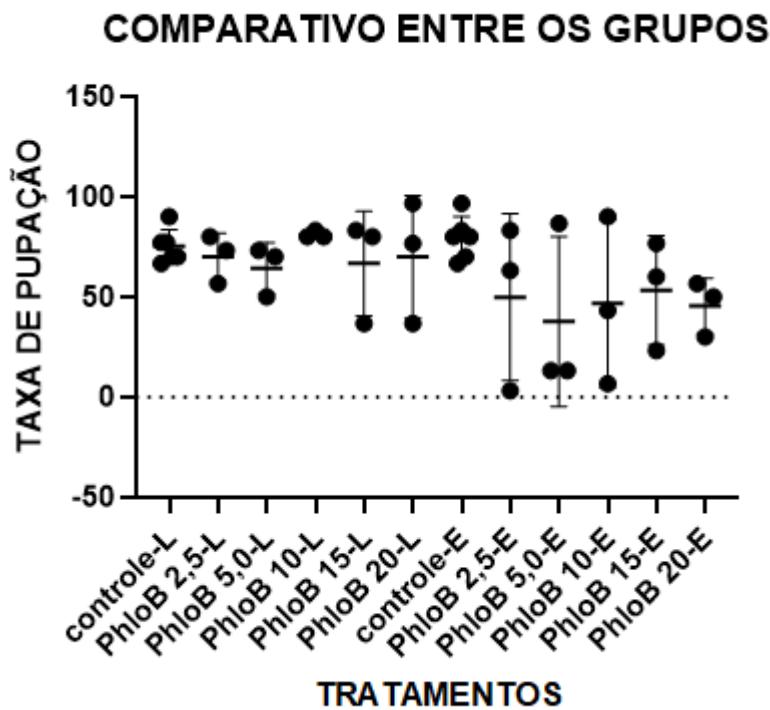


Figura 18. Gráfico comparativo da taxa de pupação entre os tratamentos realizados com Phloxina-B.

Os testes realizados com Phloxina-B em meio de criação apresentaram distribuição normal segundo o teste de Shapiro-Wilk ($\alpha = 0,05$). Entretanto, a análise estatística não identificou diferença significativa entre os tratamentos ($p = 0,1000$). Apesar disso, a Figura 18 mostra que as taxas de pupação tendem a ser mais altas nos tratamentos expostos à luz, o que contrasta com alguns resultados previamente reportados na literatura. Uma possível explicação para essa discrepância pode estar relacionada ao posicionamento dos tratamentos no ambiente experimental. As posições foram definidas aleatoriamente por sorteio, e os tratamentos mantidos no escuro próximos ao sistema de ventilação da caixa que apresentavam taxa de pupação nula ou próxima de zero — ficaram localizados próximos ao sistema de ventilação. Essa proximidade pode ter causado interferências externas, como variações de temperatura ou diferenças de umidade. Embora a umidade tenha sido controlada, conforme descrito no item 3.4.1, é possível que o fluxo de ar tenha influenciado negativamente o desempenho desses recipientes.

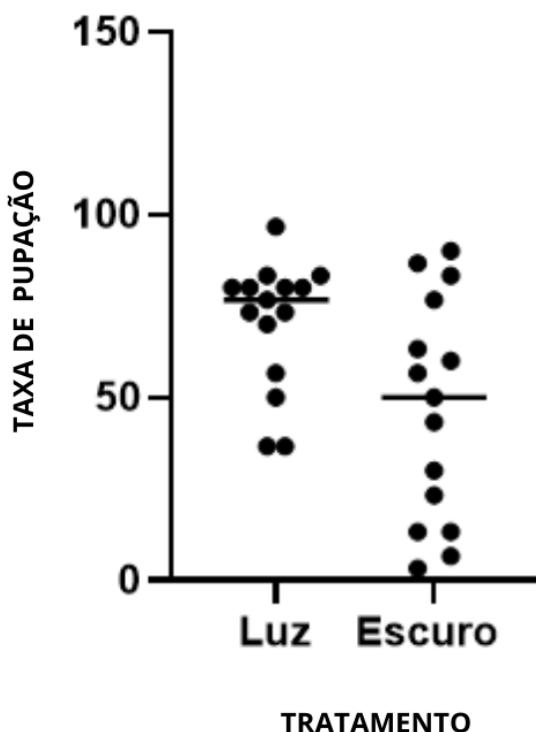


Figura 19. Gráfico comparativo da taxa de pupação entre os tratamentos Luz e Escuro.

Os dados analisados no programa GraphPad Prism 10 apresentaram resultado estatisticamente significativo ($p=0,046$); contudo, os valores obtidos encontram-se inversos ao que era esperado. Nesse teste, os tratamentos expostos à luz deveriam apresentar taxas de mortalidade mais elevadas, enquanto aqueles mantidos no escuro deveriam exibir menor mortalidade. Entretanto, observou-se o contrário, indicando uma possível interferência externa ou variação experimental que pode ter influenciado os resultados.

4.3 Efeitos da ingestão de soluções com açúcar contendo Riboflavina e Phloxina-B sobre a sobrevivência de adultos

A Tabela 4 possibilitou analisar o total de indivíduos que sofreram ação das moléculas por meio da alimentação, evidenciando padrões que podem se repetir em função de um possível efeito tóxico dessas substâncias. Filiberti et al. (2009) demonstraram que a sensibilidade de adultos de mosca-dos-chifres ao corante Phloxina-B não é elevada; entretanto, em seu estudo, as moscas foram alimentadas

exclusivamente com sangue contendo a molécula. Até o momento, não foram encontrados trabalhos que permitam comparação direta com os tratamentos que receberam Riboflavina.

A Tabela 5 permitiu analisar o total de indivíduos que sofreram a ação das moléculas por meio da alimentação, evidenciando padrões que podem se repetir em decorrência do possível efeito tóxico dessas substâncias. Filiberti et al. (2009) demonstrou baixa sensibilidade de adultos de mosca-dos-chifres ao corante Phloxina-B.

Tabela 5. Percentual e mortalidade média de *S. calcitrans* ao longo do tempo após ingestão de soluções de açúcar contendo Riboflavina e Phloxina-B.

	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	14
C	0,75	3,75	1	5	2,5	12,5	4,25	21,2	6,5	32,5	8
RIB	0,25	1,25	1	5	2,25	11,2	5,75	28,7	6,75	33,7	8,75
Ph	0	0	3	15	5	25	7	35	10,5	52,5	16,5

C=controle; RIB=Riboflavina; Ph=Phloxina; valores médios de mortalidade por tratamento seguidos do percentual médio por dia após o início da alimentação com fotossensibilizadores.

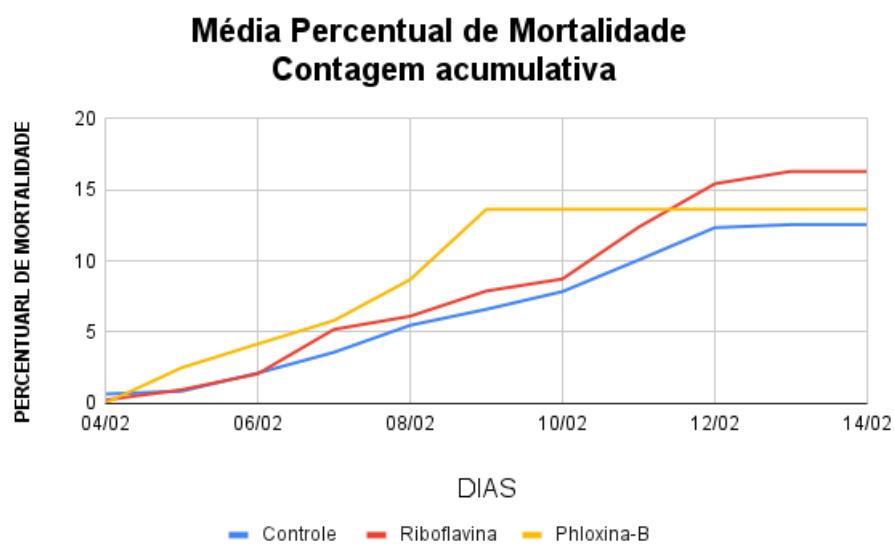


Figura 20. Gráfico do percentual de mortalidade acumulativa diária feito a partir da Tabela 5

Por meio das análises apresentadas na Tabela 5, observa-se que houve uma demora para que as moléculas causem algum problema nos indivíduos. As mortes começaram a superar as do tratamento controle apenas entre o 5º e o 7º dia, o que sugere que a alimentação composta por solução açucarada pode ter influenciado esse resultado.

4.4 Mortalidade de adultos alimentados com sangue contendo Riboflavina e Phloxina-B.

Na tabela 6 estão descritos os resultados de mortalidade de moscas adultas sofreram ação das moléculas por meio da alimentação com sangue tratado. A figura 23 mostra análise evidenciando padrões que podem se repetir em função de um possível efeito tóxico dessas substâncias. Filiberti et al. (2009) demonstraram que a sensibilidade de adultos de mosca-dos-chifres ao corante Phloxina B não é elevada; entretanto, no referido estudo, as moscas foram submetidas exclusivamente à alimentação composta por sangue contendo a molécula. Até o momento, não foram encontrados trabalhos que permitam comparação direta com os tratamentos que receberam Riboflavina.

Tabela 6. Percentual e mortalidade média de *S. calcitrans* ao longo do tempo após ingestão de sangue bovino citratado contendo Riboflavina e Phloxina-B.

	04	05	06	07	08	09	10	11	12
C	0,25 1,25	0,25 1,25	0,25 1,25	0,25 1,25	1 5	1,5 7,5	1,75 8,75	2 10	2,25 11,25
RIB	2,75 13,75	3,75 18,75	6,75 33,75	10,75 53,75	13 65	14,75 73,75	16,25 81,25	17,75 88,75	19,25 96,25
Ph	3 15	5,25 26,25	6,5 32,5	7,5 37,5	9,25 46,25	12,5 62,5	14,25 71,25	17,5 87,5	19,25 96,25

C=controle; RIB=Riboflavina; Ph=Phloxina; valores médios de mortalidade por tratamento seguidos do percentual médio por dia após o início da alimentação com fotossensibilizadores.

O início da alimentação com sangue e moléculas se iniciou no dia 29/04, porém apenas no dia 04/05 se iniciaram as mortes das moscas, isso mostra que o efeito das moléculas utilizadas demorou no mínimo sete dias para que a primeira morte fosse registrada. Após o início das mortes dos indivíduos, foram mais oito dias até a morte da última mosca que recebeu o tratamento.

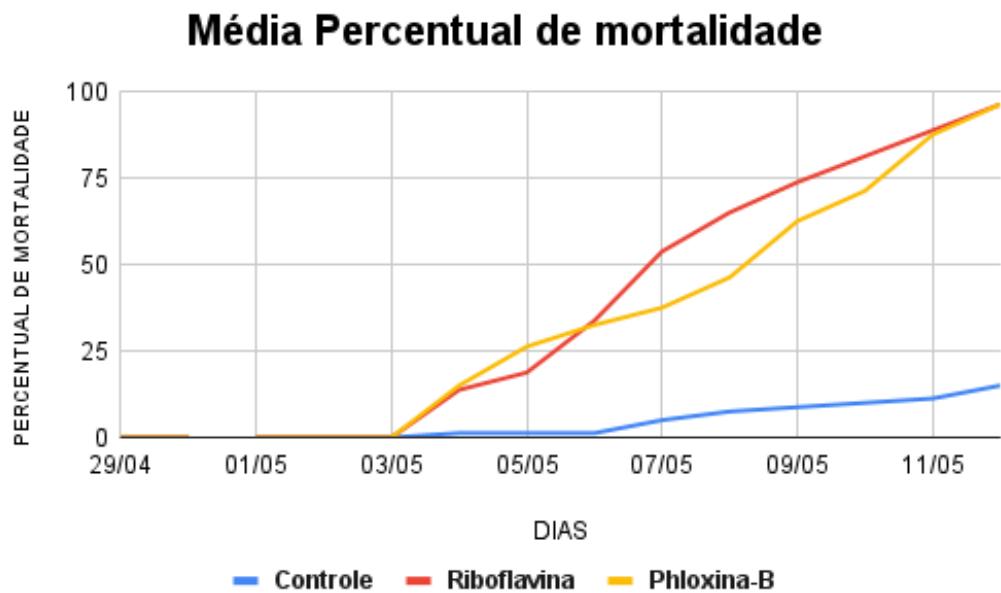


Figura 21: Gráfico do percentual de mortalidade acumulativa diária feito a partir da Tabela 6

Não foram encontrados trabalhos na literatura avaliando Riboflavina para a alimentação de moscas adultas, apenas a Phloxina-B em conjunto ao sangue para teste em adultos, o mais próximo disso foi o trabalho de Filiberti et al. (2009) que testou a alimentação com sangue em moscas-dos-chifres e concluiu que a taxa de efeito é muito baixa em relação aos testes realizados. Entretanto, pode-se observar que na Figura 21 uma rápida ascensão na mortalidade dos adultos alimentados com as moléculas fotossensibilizadoras, em um primeiro momento a morte dos insetos tende a ser mais lentas, mas a partir da primeira morte registrada há uma crescente mortalidade.

5. Conclusão

- De modo geral os fotossensibilizadores testados, Riboflavina e Phloxina-B apresentaram efeitos importantes apenas na mortalidade de adultos, acelerando a mortalidade quando comparados com o grupo controle:
- Ambas moléculas testadas não foram capazes de penetrar no corium os ovos, deste modo, não afetando o desenvolvimento embrionário e tampouco a eclosão.
- A Riboflavina e a Phloxina-B não influenciaram significativamente no desenvolvimento larvar em nenhuma das condições testadas.
- A utilização da Phloxina-B através de solução de açúcar parece ter leve tendência de aceleração da mortalidade em comparação com os demais grupos. A Riboflavina aplicada desta maneira não interferiu na sobrevivência dos adultos.
- A utilização de ambas moléculas fotossensibilizadoras (Phloxina-B e Riboflavina) diluídas em sangue bovino citratado e fornecido como fonte única de alimento, apresentaram marcada tendência de acelerar a mortalidade dos adultos de *S. calcitrans*.
- Este é o primeiro estudo com estas moléculas em *S. calcitrans*.

6. Referências Bibliográficas

- AGUIAR-VALGODE, M. e WILWARD-DE-AZEVEDO, E. M. V., 1992. Determination of thermal requirements of *Stomoxys calcitrans* (L.) (Diptera, Muscidae), under laboratory conditions. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 87, suppl, 1, p. 11-20. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/mioc/a/snyJzDsf767qXXFtWGpvSPb/?lang=pt>. Acesso em: 21 jul. 2025.
- ARAÚJO, T. R., 2019. *Investigação de Trypanosoma vivax e Anaplasma marginale em Stomoxys calcitrans, no Campus da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica-RJ*. Seropédica: Universidade Federal do Rio de Janeiro, 53 p. Dissertação de Mestrado em Ciências. Disponível em: <https://rima.ufrrj.br/jspui/bitstream/20.500.14407/11808/3/2019%20-%20Thamires%20Rezende%20Araújo.pdf>. Acesso em: 17 set. 2025.
- BARROS, A. T. M., GOMES, A. e KOLLER, W. W., 2007. Insecticide susceptibility of horn flies, *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae), in the state of Mato Grosso do Sul, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 16, n. 3, p. 145-151. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbpv/a/jcwwmGTQY3RDvVSyt9r7Dyn/?lang=en>. Acesso em: 14 out. 2025.
- BARROS, A. T. M., KOLLER, W. W., CATTO, J. B. e SOARES, C. O., 2010. Surtos por *Stomoxys calcitrans* em gado de corte no Mato Grosso do Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 30, n. 11, p. 945-952. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pvb/a/kDFQ36SgmGtyyskTVkbGJKB/?lang=pt>. Acesso em: 27 set. 2025.
- BARROS, A. T. M., RODRIGUES, V. D., CANÇADO, P. H. D. e DOMINGUES, L. N., 2019. Resistência da mosca-dos-estábulos, *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae), à cipermetrina em áreas de surtos no Centro-Oeste brasileiro. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 28, n. 4, p. 802-806. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbpv/a/Yk58PL8xRH9ZJVdS4gkm4rt/?format=pdf&lang=en>. Acesso em: 6 out. 2025.
- BITTENCOURT, A. J., e BORJA, G. E. M., 2002. *Stomoxys calcitrans* (Linnaeus, 1758)(Diptera, Muscidae): preferência por locais do corpo de bovinos para alimentação. *Revista Brasileira de Zoociências*, v. 4, n. 1, p. 75-83. Disponível em: <http://periodicos.ufjf.br/index.php/zoociencias/article/view/24252>. Acesso em: 3 jul. 2025.
- BUTLER, J. F., KLOFT, W. J., DUBOSE, L. A. e KLOFT E. S., 1977. Recontamination of food after feeding a 32P food source to biting Muscidae. *Journal of Medical Entomology*, v. 13, n. 4-5, p. 567-571. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/845898>. Acesso em: 5 set. 2025.

CASTRO, B. G., SOUZA, M. M. S. e BITTENCOURT, A. J., 2008. Isolamento de espécies enterobacterianas em *Stomoxys calcitrans*. *Ciência Rural*, v. 28, n. 9, p. 2652-2657. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cr/a/GJdCCrfFKgskRySvQHmwfFD/?lang=pt>. Acesso em: 15 de jun. 2025.

CASTRO, B. G., SOUZA, M. M. S., REGUA-MANGIA, A. H. e BITTENCOURT, A. J., 2013. Occurrence of Shiga-toxigenic *Escherichia coli* in *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 22, n. 2, p. 318-321. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbpv/a/nPpxwqMHYFKC77BMhtRFxwm/?format=html&lang=en&stop=next>. Acesso em: 2 de jun. 2025.

CORRÊA, E. C., RIBAS, A. C. A., CAMPOS, J. e BARROS, A. T. M, 2013. Abundância de *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) em diferentes subprodutos canavieiros. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 33, n. 11, p. 1303-1308. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pvb/a/9wV94KhSVqKPR7sx43fVb7J/>. Acesso em: 19 jun. 2025.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA [acesso em 4 jul. 2025]. Surtos da mosca-dos-estábulos próximos a usinas de cana-de-açúcar (*online*). Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/2649716/artigo-surtos-da-mosca-dos-estabulos-proximos-a-usinas-de-cana-de-acucar>.

FILIBERTI, A.; RABOSSI, A.; ARGARAÑA, C.; et al. 2009. Evaluation of Phloxine B as a photoinsecticide on immature stages of the horn fly, *Haematobia irritans* (L.) (Diptera: Muscidae). *Australian Journal of Entomology*, vol. 48, n. 1, pp. 73–78. Disponível em: doi:10.1111/j.1440-6055.2008.00686.x. Acesso em: 27 nov. 2025.

HARRIS, C. R., CHAPMAN, R. A. e HARRIS, C., 1981. Laboratory studies on the persistence and behaviour in soil of four pyrethroid insecticides. *The Canadian Entomologist*, v. 113, n. 8, p. 685-694. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/journals/canadian-entomologist/article/laboratory-studies-on-the-persistence-and-behaviour-in-soil-of-four-pyrethroid-insecticides/108119A3FBB3C22E97ED4A1AFE1B4D02>. Acesso em: 3 jun. 2025.

KASSAB, S. O., GAONA, J. C., LOUREIRO, E. S., MOTA, T. A., DA FONSECA, P. R. B. e ROSSONI, C., 2012. Novos surtos populacionais de mosca-dos-estábulos no Mato Grosso do Sul: medidas de controle e prevenção. *Agrarian*, v. 5, n. 15, p. 84–88. Disponível em: <https://ojs.ufgd.edu.br/agrarian/article/view/793>. Acesso em: 6 jun. 2025.

KAULZ, M., 2022. *Efeito do volume de palha de café Conilon sobre a ocorrência natural de Stomoxys calcitrans (L.) (DIPTERA: MUSCIDAE)*. Espírito Santo: Instituto Federal do Espírito Santo (IFES), 35 p. Dissertação de Mestrado em Agroecologia. Disponível em: <https://repositorio.ifes.edu.br/handle/123456789/3059>. Acesso em: 24 de jun. 2025.

KOLLER, Wilson Werner [acesso em 5 jun. 2025]. Recomendações emergenciais para o controle da mosca-dos-estábulos (*Stomoxys calcitrans* L.) em Mato Grosso do Sul. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Wilson-Koller/publication/262335922_Recomendacoes_emergenciais_para_o_controle_da_mosca-dos-estabulos_Stomoxys_calcitrans_L_em_Mato_Grosso_do_Sul/links/0deec53750cb6e34c0000000/Recomendacoes-emergenciais-para-o-controle-da-mosca-dos-estabulos-Stomoxys-calcitrans-L-em-Mato-Grosso-do-Sul.pdf

https://www.researchgate.net/profile/Wilson-Koller/publication/262335922_Recomendacoes_emergenciais_para_o_controle_da_mosca-dos-estabulos_Stomoxys_calcitrans_L_em_Mato_Grosso_do_Sul/links/0deec53750cb6e34c0000000/Recomendacoes-emergenciais-para-o-controle-da-mosca-dos-estabulos-Stomoxys-calcitrans-L-em-Mato-Grosso-do-Sul.pdf

KOLLER, W. W., CATTO, J. B., BIANCHIN, I.; SOARES, C. O., PAIVA, F., TAVARES, L. E. R. e GRACIOLLI, G., 2009. *Surtos da mosca-dos-estábulos, Stomoxys calcitrans, em Mato Grosso do Sul: novo problema para as cadeias produtivas da carne e sucroalcooleira?*. Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte, 31 p.. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/659108/surtos-da-mosca-dos-estabulos-stomoxys-calcitrans-em-mato-grosso-do-sul-novo-problema-para-as-cadeias-produtivas-da-carne-e-sucroalcooleira>. Acesso em: 10 jun. 2025.

LIMA, A. R., 2016. *Avaliação de corantes como agente fotossensibilizadores para controle fotodinâmico da população de larvas de Aedes Aegypti (Diptera: Culicidae)*. Dourados: Universidade Federal da Grande Dourados. Dissertação de Mestrado em Química, 79 p.. Disponível em: <https://repositorio.ufgd.edu.br/jspui/bitstream/prefix/1469/1/AlessandraRamosLima.pdf>. Acesso em: 11 nov. 2025.

LIMA, A. R.; SOUZA, M.; OLIVEIRA, S.; et al. 2022. Photoinactivation of *Aedes aegypti* larvae using riboflavin as photosensitizer. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, vol. 40, p. 103030. Disponível em: doi:10.1016/j.pdpdt.2022.103030. Acesso em 25 de setembro de 2025.

MACEDO, D. M., CHAABAN, A. e BORJA, G. E. M., 2005. Desenvolvimento pós-embriônário de *Stomoxys calcitrans* (Linnaeus, 1758)(Diptera: Muscidae) criadas em fezes de bovinos tratados com diferentes avermectinas. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 14, n. 2, p. 45-50. Disponível em: <https://www.redalyc.org/pdf/3978/397841454007.pdf>. Acesso em: 25 maio 2025.

MACHADO, A. E. H., 2000. *Terapia fotodinâmica: princípios, potencial de aplicação e perspectivas*. Química Nova, v. 23, n. 2, p. 237-243. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-4042200000200015>. Acesso em: 23 jul. 2025.

MASMEATATHIP, R., KETAVAN, C. e DUVALLET, G., 2006. Morphological studies of *Stomoxys* spp. (Diptera: Muscidae) in central Thailand. *Kasetsart Journal - Natural Science*, v. 40, n. 4, p. 872-881. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/283608069_Morphological_studies_of_Stomoxys_spp_Diptera_Muscidae_in_Central_Thailand. Acesso em: 13 jun. 2025.

MELLO, R P., 1989. *Estudo de alguns aspectos do desenvolvimento biológico e do comportamento, em laboratório, de Stomoxys calcitrans (Linnaeus, 1758) (Diptera: muscidae)*. Rio de Janeiro: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 141 p. Tese de Doutorado em Medicina Veterinária. Disponível em: <https://rima.ufrrj.br/jspui/handle/20.500.14407/9800>. Acesso em: 5 de jun. 2025.

MELLOR, P. S., KITCHING, R. P. e WILKINSON, P. J., 1987. Mechanical transmission of capripox virus and African swine fever virus by Stomoxys calcitrans. *Research in Veterinary Science*, v. 43, n. 1, p. 109-112. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0034528818307537>. Acesso em: 3 out. 2025.

MENDES, C. O. F., SILVA, A. C., LEAL, L. C. S. R., BARBOSA, C. G., e BITTENCOURT, A. J., 2016. Biologia de Stomoxys calcitrans (Diptera: Muscidae) em subprodutos da indústria sucroalcooleira. *Brazilian Journal of Veterinary Medicine*, v. 38, n. Supl. 3, p. 31-36. Disponível em: <https://bjvm.org.br/BJVM/article/view/311>. Acesso em: 12 de jun. 2025.

MALAK, Henryk. UP-CONVERSION AND TWO-PHOTON EXCITATION FLUORESCENCE PROPERTIES OF PHLOXINE B. *Microscopy and Microanalysis*, [S.I.], v. 5, n. Supl. 2, p. 500-501, 01 de agosto de 1999. Disponível em: <https://academic.oup.com/mam/article-abstract/5/S2/500/6931084?redirectedFrom=fulltext>. Acesso em: 28 de nov. 2025.

RASOOLY, R. 2007. Phloxine B, a versatile bacterial stain. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, vol. 49, no. 2, pp. 261–265. Disponível em: doi:10.1111/j.1574-695X.2007.00188.x. Acesso em: 27 nov. 2025

ROCHA, M. F., MATOS, F. S., PINHO, E. F. M. e GUIMARÃES, N. F., 2020. Influência do inseticida Metomil sobre a população microbiana do solo. *Brazilian Journal of Development*, v. 6, n. 8, p. 59307–59321. Disponível em: <https://doi.org/10.34117/bjdv6n8-373>. Acesso em: 1 out. 2025.

SHIAO, S.-H.; WENG, S.-C.; LUAN, L.; VICENTE, M.d.G.H.; JIANG, X.-J.; NG, D.K.P.; KOLLI, B.K.; CHANG, K.P. 2019. Novel phthalocyanines activated by dim light for mosquito larva- and cell-inactivation with inference for their potential as broad-spectrum photodynamic insecticides. *PLOS ONE*, vol. 14, n. 5, e0217355. Disponível em: doi:10.1371/journal.pone.0217355. Acesso em: 27 nov. 2025.

SOUZA, A. C. S. 2005. Riboflavina: uma vitamina multifuncional. *Química Nova*, vol. 28, n. 5, pp. 1038–1044. Disponível em: doi:10.1590/S0100-40422005000500001. Acesso em 25 de setembro de 2025

SUTHERLAND, B., 1978. Nutritional values of different blood diets expressed as reproductive potentials in adult *Stomoxys calcitrans* L.(Diptera: Muscidae). *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, v. 45, p. 209-212. Disponível em: <http://hdl.handle.net/2263/54126>. Acesso em: 15 jun. 2025.

SUTHERLAND, B., 1978. The suitability of various types of dung and vegetable matter as larval breeding media for *Stomoxys calcitrans* L.(Diptera: Muscidae). *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, v. 45, p. 241-243. Disponível em: <http://hdl.handle.net/2263/54069>. Acesso em: 14 jun. 2025.

VALENCIA, M. D.; MILLER, L. H.; MAZUR, P. 1996. Permeability of intact and dechorionated eggs of the Anopheles mosquito to water vapor and liquid water: a comparison with *Drosophila*. *Cryobiology*, vol. 33, n. 1, pp. 142–148. Disponível em: doi:10.1006/cryo.1996.0014. Acesso em: 27 nov. 2025.

ZOLLINGER, H., 2003. *Color chemistry: syntheses, properties, and applications of organic dyes and pigments*. 3^a ed. John Wiley & Sons, 637 p.