

Análise do efeito do tipo de substrato para pupação na dispersão larval pós-alimentar em *Chrysomya albiceps* (Wiedmann) (Diptera, Calliphoridae)¹

Leonardo Gomes², Guilherme Gomes², Helena Gutierrez Oliveira², José Jordan Morlin Junior², Claudio José Von Zuben² & Marcos Rogério Sanches³

¹FAPESP (Processo 03/00540-3)

²Departamento de Zoologia, Universidade Estadual Paulista, Av. 24A, 1515, 13506-900, Rio Claro- SP, Brasil. leugomes@yahoo.com.br

³IME- USP, CEP 04302-050, SP, Brasil. marcos.sanches@ipsos.com.br

Abstract. Analyzis of the effect of the kind of substrate for pupation in the postfeeding larval dispersal in *Chrysomya albiceps* (Wiedmann) (Diptera, Calliphoridae). Blowflies utilize discrete and ephemeral sites for breeding and for larval nutrition. After the exhaustion of food, the larvae begin dispersing to search for sites to pupate or to find additional food source, process referred as postfeeding larval dispersal. The kind of substrate can affect this process and some of its aspects were investigated in *Chrysomya albiceps* in this work, utilizing a circular arena covered with vermiculite to permit the radial dispersion of larvae from the center and compare with others studies with wood shavings. To determinate the localization of each pupa, the arena was split in 72 equal sectors from the center. For each pupa, distance from the center of arena, weight and depth of burying were determined. Statistical tests of regression, correlation and equality of averages at 95% of significance and directional analysis for variables were performed to verify the relation among weight, depth and distance of burying for pupation. Differences between sexes in relation to variables of distances traveled, weight and depth for pupation was done using the Kruskal-Wallis test. It was verified that the larvae that most disperse are those with lower weights, what confirm the other studies. The majority of individuals reached the distance for burying for pupation between 5 and 20 cm (21,39 cm in average). The comprehension of the study of this dispersion process can be utilized in the estimation of postmortem interval (PMI) for human corpses in medico-criminal investigations.

Key words: Blowflies, forensic entomology and mature larvae.

Resumo: Moscas-varejeiras utilizam substratos discretos e efêmeros para reprodução e para nutrição larval. Após a exaustão da comida, as larvas começam a se dispersar à procura de locais para pupação ou de fonte adicional de alimento, processo denominado de dispersão larval pós-alimentar. O tipo de substrato pode afetar esse processo e alguns de seus aspectos foram investigados em *Chrysomya albiceps* neste trabalho, utilizando uma arena circular coberta com vermiculita, a fim de permitir a dispersão radial larval a partir do centro e comparar com outros estudos com serragem. Para determinar a localização de cada pupa, a arena foi dividida em 72 setores iguais. Para cada pupa a distância a partir do centro da arena, o peso e a profundidade de enterramento foram determinados. Testes estatísticos de regressão e correlação a 95% de confiança e análises direcionais para as variáveis estudadas foram feitos para verificar a relação entre peso, profundidade e distância de enterramento para pupação. Diferenças entre sexos quanto às distâncias percorridas, peso e profundidade de enterramento foram feitas com uso do teste de Kruskal-Wallis. Foi verificado que as larvas que mais dispersam são aquelas com menor peso, o que corrobora os dados obtidos em outros estudos. A maioria das larvas alcançou a distância de enterramento para pupação entre 5 e 20 cm (21,39 em média). A compreensão do estudo desse processo de dispersão pode ser utilizado na estimativa do intervalo pós-morte (IPM) para cadáveres humanos em investigações médico-criminais.

Palavras-chave: Entomologia forense, larvas maduras e moscas-varejeiras.

INTRODUÇÃO

Chrysomya albiceps (Wiedmann, 1819), originária da Australásia, foi introduzida acidentalmente no Continente Americano provavelmente por meio de navios (GUIMARÃES *et al.*, 1978; 1979). Em 1975, esta espécie foi descoberta no Sudeste do Brasil juntamente com *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) e *Chrysomya putoria* (Wiedemann, 1818) (IMBIRIBA *et al.*, 1977; GUIMARÃES *et al.*, 1978).

As moscas do gênero *Chrysomya* têm grande importância médico-veterinária por serem veiculadoras de enteropatógenos tais como vírus, bactérias e helmintos (FURLANETTO *et al.*, 1984), podendo causar também miíases nos animais e no homem (ZUMPT, 1965; GUIMARÃES *et al.*, 1983). São de fundamental importância em entomologia forense por serem indicadoras de tempo de decomposição de cadáveres humanos (WELLS & GREENBERG, 1992; VON ZUBEN *et al.*, 1996; GOMES & VON ZUBEN, 2004; GOMES *et al.* 2006). A introdução de espécies exóticas, como *C. albiceps*, pode provocar competição por recursos alimentares e por sítios de pupação com espécies nativas (HENGEVELD, 1989) e por causa disto, é importante conhecer a escala espacial de dispersão dos estágios imaturos dos organismos invasores.

Tais organismos, como essas moscas, utilizam substratos discretos e efêmeros para posturas dos ovos e para alimentação das larvas (HANSKI, 1987; PESCHKE *et al.*, 1987). O estágio larval é o principal período em que ocorre limitação de recursos alimentares, e a competição por esses recursos é, geralmente, do tipo exploratório (REIS *et al.*, 1994), em que cada larva procura ingerir o máximo de alimento possível, antes da completa exaustão dos recursos (ULLYETT, 1950). Após esta fase, as larvas começam a procurar um sítio para pupação, ou por fontes adicionais de alimento, no caso daquelas larvas que não obtiveram o peso mínimo para a pupação (GOMES *et al.*, 2002), sendo esse processo denominado de dispersão larval pós-alimentar (GREENBERG, 1990).

Alguns estudos com dispersão larval pós-alimentar em *C. albiceps* já foram feitos, com a intenção de se observar padrões de distribuição (GOMES *et al.*, 2002;

2003; GOMES & VON ZUBEN, 2003; GOMES & VON ZUBEN, 2005). Porém, uma das questões levantadas nesses estudos foi se o tipo de substrato influenciaria no processo de dispersão e enterramento para pupação.

Por isso, o objetivo desse trabalho foi estudar sob condições experimentais, em simulação de ambiente natural, a dispersão larval pós-alimentar em *C. albiceps* em uma arena forrada com vermiculita e tentar estabelecer uma comparação com os referidos estudos em que foram usados serragem, além de estabelecer uma relação entre as variáveis, peso, distância e profundidade de enterramento.

MATERIAL E MÉTODOS

Exemplares adultos de *C. albiceps* foram coletados nos arredores do Instituto de Biociências da UNESP, em Rio Claro, SP, utilizando como isca, matéria orgânica em decomposição (carcaça de peixe) e comparados com material testemunho da coleção entomológica do Instituto de Biociências da UNESP-Rio Claro. Os indivíduos coletados foram mantidos em gaiolas teladas, em sala com temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, 60% de umidade relativa e fotofase de 12 horas, sendo ministrados água, açúcar e fígado *ad libitum*.

Uma arena circular de 2m de diâmetro, dividida em quatro quadrantes com 72 setores de 5 graus cada (Fig. 1), foi montada sobre o piso de uma sala do laboratório, iluminada de forma homogênea, sendo forrada com camada de 5 cm de vermiculita, tendo suas margens delimitadas por papelão. No centro da arena circular foi colocado carne moída (1,3kg) com 925 larvas (média de três experimentos realizados ao mesmo tempo) até o 3º instar, e aguardou-se até que elas se irradiassem para empupar (Fig. 1).

As 925 pupas foram localizadas e retiradas da vermiculita, sendo determinadas as suas localizações por setor, e medidas, para cada uma, a distância e a profundidade do local de pupação, com o auxílio de régua ou trena. Cada pupa foi pesada em balança analítica e individualizada em frascos de plástico, antes que ocorresse a emergência do adulto. Os indivíduos adultos foram sexados.

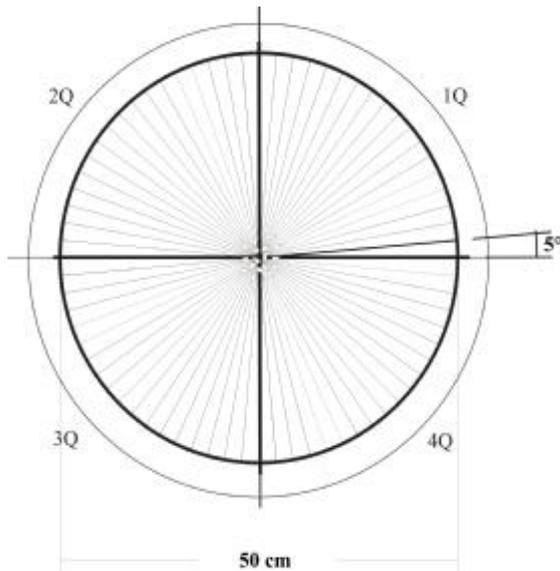


Figura 1. Esquema da arena de 2 m de diâmetro utilizada no presente trabalho (no centro larvas de *Chrysomya albiceps* iniciando a dispersão).

Para verificar se as distribuições eram normais foi utilizado o teste de KOLMOGOROV-SMIRNOV. Foram feitos testes estatísticos de correlação (Spearman) e igualdade de médias (Kruskal-Wallis) a 95% de confiança, análises direcionais para as variáveis estudadas e regressão linear simples (ZAR, 1999).

RESULTADOS

Os valores de média, desvio-padrão e intervalo de variação para profundidade de enterramento, distância em relação ao centro da arena e peso, para as 925 pupas nos quatro quadrantes da arena estão representados na tabela 1. Como não houve diferença significativa entre os três experimentos, considerou-se a análise da média das pupas coletadas. Os valores máximos para distância, profundidade e peso foram respectivamente 98cm, 5cm e 69,2mg e que o teste de Kolmogorov-Smirnov determinou as seguintes probabilidades para distância, profundidade e peso foram respectivamente 0,743, 0,707 e 0,435 indicando que todas essas três variáveis não têm distribuição normal.

Tabela 1: Média, desvio-padrão e intervalo de variação da distância, profundidade e peso das pupas coletadas de *Chrysomya albiceps* que originaram machos e fêmeas coletadas na arena de 2m de diâmetro forrada com vermiculita.

	SEXO	Média	Desvio Padrão	Intervalo de Variação	Número de pupas
DISTÂNCIA (cm)	Indeterminado	23,39	22,55	fev/85	41
	Macho	21,48	21,94	jan/98	432
	Fêmea	21,12	21,29	jan/92	452
	Total	21,39	21,63	jan/98	925
PROFUNDIDADE (cm)	Indeterminado	3,05	0,92	2/mai	41
	Macho	3,01	0,95	1/mai	432
	Fêmea	2,98	0,90	0 - 5	452
	Total	3,00	0,92	0 - 5	925
PESO (mg)	Indeterminado	50,77	6,35	37,3 - 62,2	41
	Macho	53,46	6,44	38,5 - 67,3	432
	Fêmea	53,86	6,40	32,2 - 69,2	452
	Total	53,53	6,44	32,2 - 69,2	925

*Indeterminado= quando não foi possível determinar o sexo dos adultos não-emergidos.

A figura 2 apresenta a distribuição das pupas na arena de uma forma geral. Foi visto que a grande maioria das pupas se encontra perto do centro da arena, até a uma distância de 25cm, como em estudos anteriores de GOMES & VON ZUBEN (2003). Um número maior de pupas foi encontrado no lado direito do gráfico (lado positivo) como nos estudos de GOMES & VON ZUBEN (2003).

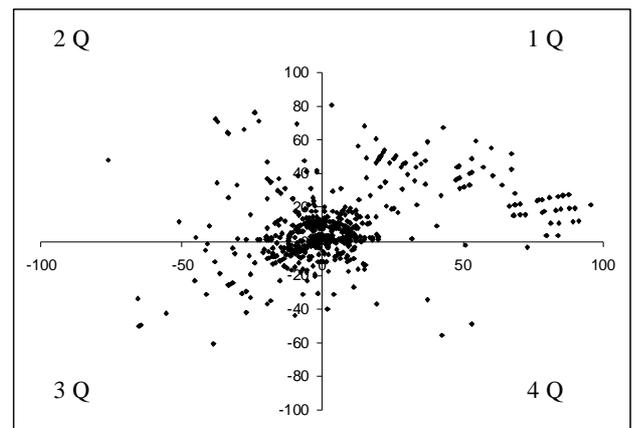


Figura 2. Distribuição das pupas de *Chrysomya albiceps* nos quadrantes (Q) da arena coberta com vermiculita após soltura de 925 larvas do ponto central.

O histograma (Fig. 3) mostra a distribuição das distâncias percorridas desde o centro da arena, considerando todas as direções. Foi visto que há uma concentração de pupas em distâncias menores e poucas pupas atingiram distâncias maiores, com

distribuição leptocúrtica, ou seja, curtose maior que zero não sendo normal a distribuição.

O histograma para a variável peso é apresentado na figura 4 e indica três tipos de moda. Um tipo leve, com peso em torno de 42 mg, outro de peso médio, com peso em torno de 52 mg e outro com peso maior, com média em torno de 60 mg.

É interessante notar que com a profundidade limitada a 5 cm apenas, houve poucas larvas que chegaram na profundidade máxima, cerca de 5% das larvas de *C. albiceps* (Fig. 5). A seguir, tem-se a figura de dispersão entre peso e distância (Fig. 6),

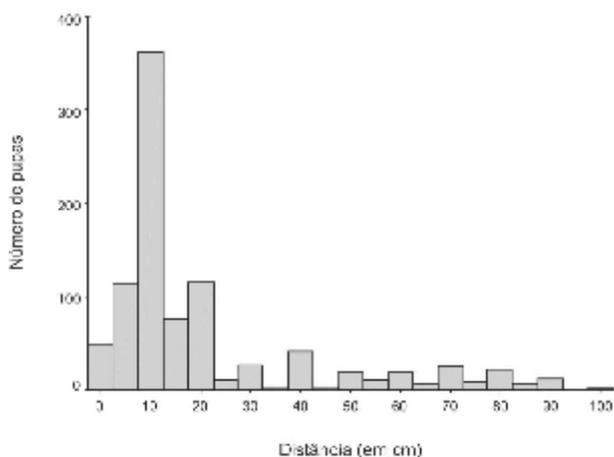


Figura 3. Distribuição das distâncias percorridas pelas larvas de *Chrysomya albiceps* desde o centro da arena.

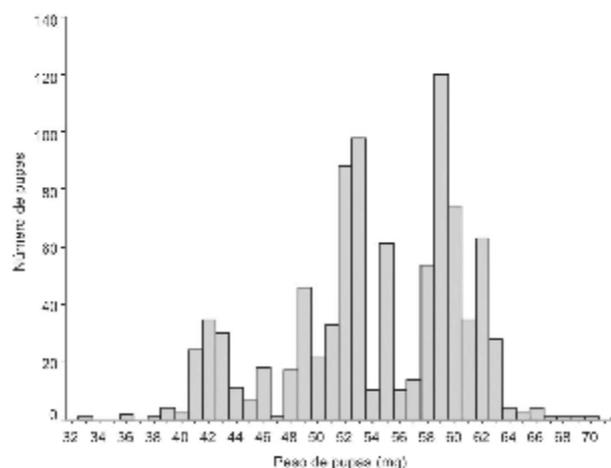


Figura 4. Distribuição do número de pupas de *Chrysomya albiceps* de acordo com o peso (mg).

na qual, para cada valor de peso calculou-se a média da distância sempre que havia pelo menos dois valores. Por meio de uma análise de correlação não paramétrica de SPEARMAN, observou-se que a correlação entre peso e distância é de $-0,44$ e entre profundidade e distância é de $0,078$, a 5% de significância, sendo que para profundidade e peso não houve correlação significativa.

Pelo teste não paramétrico de KRUSKAL-WALLIS, pôde-se constatar que não houve diferença significativa entre as variáveis analisadas de acordo com o sexo.

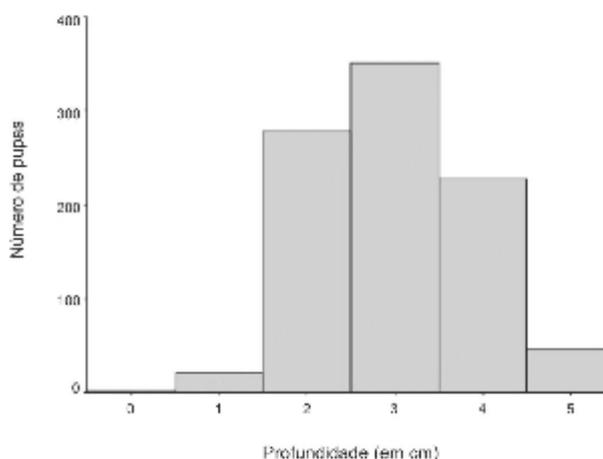


Figura 5. Distribuição do número de pupas de *Chrysomya albiceps* por profundidade (cm).

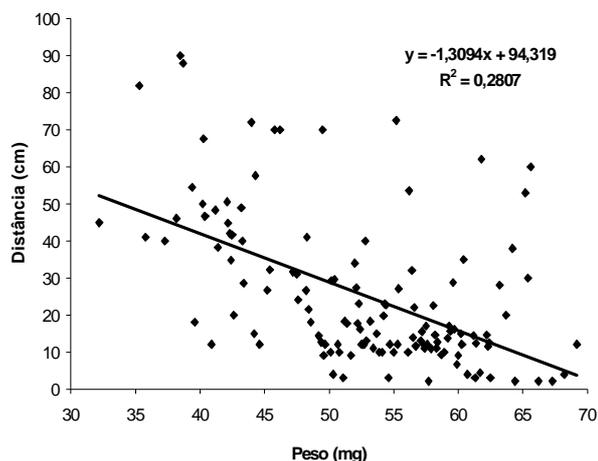


Figura 6. Retas de regressão entre as variáveis peso das pupas e distância percorrida pelas larvas de *Chrysomya albiceps*.

A análise do comprimento do vetor médio (comprimento = 0,2791) e da direção do vetor médio (direção = 92,01°) indicou que o teste de uniformidade foi negativo, o que, pelo teste de Watson, indica que entre 95 e 99% de intervalo de confiança, as larvas não se distribuíram uniformemente na arena.

DISCUSSÃO

Este estudo demonstrou aspectos gerais sobre o processo de dispersão larval em uma arena circular, e confirmou resultados anteriores obtidos por GOMES & VON ZUBEN (2003), em que foram utilizadas arenas com diâmetros e profundidades similares, porém com serragem como meio para dispersão de larvas de *C. albiceps*. A tendência para um maior deslocamento por larvas com menor peso pode ter ocorrido por estas estarem à procura de nova fonte alimentar como citado em estudos anteriores (GOMES *et al.*, 2002, 2003; GOMES & VON ZUBEN, 2003). Aparentemente, o que mais limitou a movimentação das larvas na vermiculita foi a granulometria maior quando comparada com a serragem, onde as larvas podem ter tido dificuldades para suplantar esse obstáculo, o que impediu que elas se enterrassem mais profundamente, obtendo-se apenas 5% das larvas na profundidade 5 cm, enquanto que em estudos anteriores realizados por GOMES & VON ZUBEN (2003), 38% das larvas atingiram 5 cm.

Assim, pode-se dizer que o tipo de substrato não interferiu no comportamento de dispersão das larvas de *C. albiceps*, uma vez que elas se distribuíram aleatoriamente como nos resultados encontrados por GOMES & VON ZUBEN (2003), apenas confirmando que na presença de obstáculos para empupar, as larvas se enterram menos profundamente.

Não houve uniformidade na distribuição das larvas na arena, fato esse semelhante aos estudos efetuados por GOMES & VON ZUBEN (2003) e não foi detectada uma relação entre as variáveis estudadas e o sexo das larvas, ou seja, não se pode dizer que existe uma correlação significativa entre o sexo das moscas e as variáveis de análise.

Estudos anteriores tinham considerado para o processo de dispersão larval, uma calha de 3m de comprimento por 30 cm de largura, que permitia a locomoção das larvas em apenas uma direção e dois sentidos (GODOY *et al.*, 1995; 1996; BASSANEZI *et al.*, 1997). O presente estudo, ao considerar uma arena circular, reflete melhor as condições de ambiente natural que as larvas vão enfrentar ao abandonar o substrato alimentar em busca de um sítio para pupação (ULLYETT, 1950; GOMES *et al.*, 2002; 2003). A arena circular permite uma dispersão radial das larvas a partir do substrato alimentar localizado no centro, e não simplesmente uma dispersão numa única direção e apenas dois sentidos, como no caso de uma calha.

GODOY *et al.* (1995, 1996) observaram tanto para *C. megacephala* como para *C. putoria* uma oscilação na frequência de pupas em função da distância a partir do substrato alimentar. Segundo BOLDRINI *et al.* (1997), estas oscilações seriam conseqüências da formação de agregações larvais em determinado local do substrato de pupação. Acredita-se que as larvas dispersantes seriam capazes de perceber a densidade de larvas já enterradas em um determinado ponto do substrato, sendo que aglomerações de larvas num determinado ponto induziriam aquelas que ainda estavam caminhando a procurar sítios de pupação mais distantes.

O comportamento de dispersão larval pós-alimentar e o conseqüente padrão de distribuição espacial das pupas nos sítios de pupação podem ter implicações na maior ou menor susceptibilidade das mesmas ao ataque de predadores e parasitóides, em populações de ambientes naturais (LEGNER, 1977; PESCHKE *et al.*, 1987).

É interessante citar que esses estudos de dispersão também podem ter importantes implicações para investigações médico-criminais, porque a presença de larvas e pupas nas circunvizinhanças de ou em cadáveres humanos pode auxiliar na estimativa do intervalo de tempo entre a morte e a descoberta do cadáver, referido como intervalo pós-morte (IPM). Essa estimativa constitui-se em aspectos fundamentais em estudos de medicina legal (SMITH, 1986; VON ZUBEN *et al.*, 1996; GOMES & VON ZUBEN,

2004; GOMES *et al.*, 2005), e o conhecimento de que o tipo de substrato não afeta o padrão de dispersão é um importante fato que também contribuirá para as discussões advindas desse processo, que não considerado pode influenciar essa estimativa.

Esses estudos realizados em arenas circulares e outros observando o padrão de dispersão larval pós-alimentar em ambiente natural (GREENBERG, 1990; TESSMER & MEEK; 1996; KOCÁREK; 2001) são importantes para estabelecer um padrão do comportamento das larvas de moscas-varejeiras durante esse processo e auxiliar na sua precisão.

Assim, o delineamento desse comportamento de dispersão baseado nesses estudos em laboratório e em campo, auxiliará numa futura composição de um protocolo de coleta das pupas nas circunvizinhanças do cadáver como proposto por GOMES *et al.* (2006), colaborando com a estimativa do IPM, por otimizar, assim, a coleta das mesmas por parte de um perito ou entomologista forense.

AGRADECIMENTOS

Os autores do presente trabalho agradecem à Iracema Monteiro da Silva pelo apoio no desenvolvimento do trabalho e à FAPESP (Processo 03/00540-3).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BASSANEZI, R.C.; LEITE, M.B.F.; GODOY, W.A.C.; VON ZUBEN, C.J.; VON ZUBEN, F.J. & REIS, S.F. 1997. Diffusion model applied to postfeeding larval dispersion in blowflies (Diptera: Calliphoridae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 92: 281-286.
- BOLDRINI J.L.; BASSANEZI, R.C.; MORETTI, A.C.; VON ZUBEN, C.J.; GODOY, W.A.C.; VON ZUBEN, F.J. & REIS, F.J. 1997. Non-local interactions and the dynamics of dispersal in immature insects. *Journal of Theoretical Biology* 185: 523-531.
- FURLANETTO, S.M.P.; CAMPOS, M.L.C.; HARSÍ, C.M.; BURALLI, G.M. & ISHIHATA, G.K. 1984. Microrganismos enteropatógenos em moscas africanas pertencentes ao gênero *Chrysomya* (Diptera: Calliphoridae) no Brasil. *Revista de Microbiologia* 15: 170-174.
- GODOY, W.A.C.; FOWLER, H.G.; VON ZUBEN, C.J.; ZITI, L. & RIBEIRO, O.B. 1995. Larval dispersion in *Chrysomya megacephala*, *C. putoria* and *Cochliomyia macellaria* (Diptera: Calliphoridae). *Journal of Applied Entomology* 119: 263-266.
- GODOY, W.A.C.; REIS, S.F. & VON ZUBEN, C.J. 1996. Larval dispersal in *Chrysomya megacephala*, *Chrysomya putoria* and *Cochliomyia macellaria* (Diptera: Calliphoridae): Ecological implications of aggregation behavior. *Journal of Applied Entomology* 120: 423-426.
- GOMES, L.; VON ZUBEN, C.J. & GOVONE, J.S. 2002. Comportamento da dispersão larval radial pós-alimentar em moscas-varejeiras do gênero *Chrysomya* (Diptera: Calliphoridae): busca por novas fontes de alimento. 2002. *Entomologia y Vectores* 9: 115-132.
- GOMES, L. & VON ZUBEN, C.J. 2003. Distribuição larval radial pós-alimentar em *Chrysomya albiceps* (Wied.) (Diptera: Calliphoridae): profundidade, distância e peso de enterramento para pupação. *Entomologia y Vectores* 10: 211-222.
- GOMES, L.; VON ZUBEN, C.J. & SANCHES, M.R. 2003. Estudo da dispersão larval radial pós-alimentar em *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae). *Revista Brasileira de Entomologia* 47: 229-234.
- GOMES, L. & VON ZUBEN, C.J. 2004. Insetos ajudando a desvendar crimes: Entomologia forense. *Ciência Hoje* 208: 28-31.
- GOMES, L.; SANCHES, M.R. & VON ZUBEN, C.J. 2005. Dispersal and burial behavior in larvae of *Chrysomya megacephala* and *Chrysomya albiceps* (Diptera, Calliphoridae). *Journal of Insect Behavior* 18: 281-292.
- GOMES, L. & VON ZUBEN, C.J. 2005. Postfeeding radial dispersal in larvae of *Chrysomya albiceps* (Diptera: Calliphoridae): implications for forensic entomology. *Forensic Science International* 155: 61-64.
- GOMES, L.; VON ZUBEN, C.J. & GODOY, W.A.C. 2006. A review of postfeeding larval dispersal in blowflies: implications for forensic entomology. *Naturwissenschaften* 93: 207-215.
- GREENBERG, B. 1990. Behavior of postfeeding larvae of some Calliphoridae and amuscid (Diptera). *Annals of Entomological Society of America* 83: 1210-1214.
- GUIMARÃES, J.H.; PRADO, A.P. & LINHARES, A.X. 1978. Three newly introduced blowfly species in Southern Brazil (Diptera: Calliphoridae). *Revista Brasileira de Entomologia* 22: 53-60.
- GUIMARÃES, J.H.; PRADO, A.P. & BURALLI, G.M. 1979. Dispersal and distribution of three newly introduced species of *Chrysomya* Robineau-Desvoidy in Brazil (Diptera, Calliphoridae). *Revista Brasileira de Entomologia* 23: 245-255.

- GUIMARÃES, J.H.; PAPAVERO, N. & PRADO, A.P. 1983. As miíases na região neotropical (identificação, biologia, bibliografia). *Revista Brasileira de Zoologia* 1: 239-416.
- HANSKI, I. 1987. Carrion fly community dynamics: patchiness, seasonality and coexistence. *Ecological Entomology* 12: 257-266.
- HENGEVELD, R. 1989. *Dynamics of biological invasions*. Chapman & Hall. New York. 160p.
- IMBIRIBA, A.S.; IZUTANI, D.T.; MILHORETO, I.T. & LUZ, E. 1977. Introdução da *Chrysomya chloropyga* (Wiedemann, 1818) na região Neotropical (Diptera: Calliphoridae). *Arquivos de Biologia e Tecnologia* 20: 35-39.
- KOCÁREK, P. 2001. Diurnal patterns of postfeeding larval dispersal in carrion blowflies (Diptera, Calliphoridae). *Europeana Journal of Entomology* 98:117–119.
- LEGNER, E.F. 1977. Temperature, humidity and depth of habitat influencing host destruction and fecundity of muscoid fly parasites. *Entomophaga* 22: 199-206.
- PESCHKE, K.; KRAPF, D. & FULDNER, D. 1987. Ecological separation, functional relationships, and limiting resources in a carrion insect community. *Zoological Systema* 114: 241-265.
- REIS, S.F.; STANGENHAUS, G.; GODOY, W.A.C.; VON ZUBEN, C.J. & RIBEIRO, O.B. 1994. Variação em caracteres bionômicos em função de densidade larval em *Chrysomya megacephala* e *Chrysomya putoria* (Diptera: Calliphoridae). *Revista Brasileira de Entomologia* 38: 33-34.
- SMITH, K.G.V. 1986. *A Manual of Forensic Entomology*. Ithaca: Cornell University Press.
- TESSMER, J.W. & MEEK, C.L. 1996. Dispersal and distribution of Calliphoridae (Diptera) immatures from animal carcasses in Southern Louisiana. *Journal of Medical Entomology* 33: 665–669.
- ULLYETT, G. C. 1950. Competition for food and allied phenomena in sheep-blowfly populations. *Philosophical Transactions of Royal Society of London B* 234: 77-174.
- VON ZUBEN, C.J.; BASSANEZI, R.C.; REIS, S.F.; GODOY, W.A.C. & VON ZUBEN, F.J. 1996. Theoretical approaches to forensic entomology: I. Mathematical model of postfeeding larval dispersal. *Journal of Applied Entomology* 120: 379-382.
- WELLS, J.D. & GREENBERG, B. 1992. Interaction between *Chrysomya rufifacies* and *Cochliomyia macellaria* (Diptera: Calliphoridae): the possible consequences of an invasion. *Bulletin of Entomological Research* 82: 133-137.
- ZAR, J.H. 1999. *Biostatistical Analysis*. Prentice Hall, New Jersey. 666p.
- ZUMPT, F. 1965. *Myiasis in man and animals in the Old World*. Butterworths. London. 267p.

Recebido: 01/08/2006

Revisado: 07/12/2006

Aceito: 30/01/2007

