

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra zoologie a rybářství



Vliv traumatických ran na kolonizaci kadáveru hmyzem

Bakalářská práce

Autor práce: Adam Vacek

Vedoucí práce: prof. RNDr. Miroslav Barták, CSc.

Konzultantka práce: pplk. Ing. Hana Šuláková, Ph.D.

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Vliv traumatických ran na kolonizaci kadáveru hmyzem" jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího a konzultantky bakalářské práce s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autor uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 17.4. 2015

Poděkování

Rád bych touto cestou poděkoval prof. RNDr. Miroslavu Bartákovi, CSc. a pplk. Ing. Haně Šulákové, Ph.D. za jejich čas, trpělivost, odborné vedení, praktické a cenné rady, které mě dovedly k dokončení této bakalářské práce. Dále Václavu Matouškovi, který mi daroval nosnice kura domácího na pokusy a v neposlední řadě mé rodině za jejich podporu.

Vliv traumatických ran na kolonizaci kadáveru hmyzem

Souhrn

Forenzní entomologie využívá znalostí o hmyzu a ostatních bezobratlých při vyšetřování skutečností a ověřování důkazů v rámci kriminalistické praxe. Patrně nejčastěji se využívá při stanovení délky intervalu mezi úmrtím člověka a nalezením jeho mrtvoly, resp. stanovení doby její kolonizace hmyzem. Z hlediska stanovení doby kolonizace jsou nejvýznamnějšími prvními kolonizátory mouchy z čeledi bzučivkovití (Calliphoridae).

Cílem této bakalářské práce bylo shromáždit dostupné informace a vypracovat literární přehled na téma rozdílů v kolonizaci kadáveru nekrofágními druhy při výskytu a absenci traumatických poranění a pomocí pokusů ověřit, jak traumatická poranění ovlivňují kolonizaci kadáveru hmyzem, především čeledí bzučivkovití. Terénní pokus byl proveden ve třech opakováních. Ve všech experimentech byly vždy použity dva kadávery kura domácího (*Gallus gallus* f. *domestica* Linné, 1758) zabitě nekrvavým způsobem, z nichž jeden kadáver zůstal netknutý (intaktní) a u druhého byla hned po smrti způsobena bodná zranění (traumata). Vyhodnocení terénních pokusů je součástí této práce.

Klíčová slova: kadáver, intaktní, traumatická poranění, Calliphoridae

Effect of traumatic injuries on insect colonization of the carcasse

Summary

Forensic entomology uses knowledge about insects and other invertebrates in the investigation of the facts and verification of evidence in criminalistics. Probably most commonly it is used for determining the length of the interval between the death of man and finding its corpses, respectively determination of the time of its colonization by insects. In terms of determining the time of colonization are the most important first colonizers of the family blowflies (Calliphoridae).

The aim of this thesis was to gather available information and develop a review of literature on the topic of differences in the colonization of the carcasse by necrophagous species in the presence and absence of traumatic injuries, and by experiments verify how traumatic injuries affect colonization of the carcasse by insects, especially by family blowflies (Calliphoridae). The field experiment was done in triplicate. In all experiments were always used two carcasses of chickens (*Gallus gallus* f. *domestica* Linnaeus, 1758) killed by bloodless way, the first one was intact and to the second one was after the death caused stab wounds (traumas). Evaluation of the field experiments is included in this work.

Keywords: carcasse, intact, traumatic injuries, Calliphoridae

Obsah

1 Úvod.....	8
2 Cíl práce.....	9
3 Přehled literatury.....	10
3.1 Historie.....	10
3.2 Metodologie forenzní entomologie.....	12
3.3 Sukcese.....	14
3.4 Ovlivnění sukcese.....	21
3.4.1 Vliv traumatických ran.....	23
3.5 Calliphoridae.....	25
3.5.1 Popis těla.....	25
3.5.2 Biologie.....	25
3.5.3 Forezní význam.....	27
4 Materiál a metodika.....	28
4.1 Popis lokality.....	28
4.2 Realizace pokusu.....	28
4.3 Odchytové zařízení.....	29
4.4 Vyhodnocení dat.....	29
5 Výsledky.....	30
5.1 První pokus.....	30
5.2 Druhý pokus.....	31
5.3 Třetí pokus.....	32
5.4 Zastoupení druhů.....	33
6 Diskuze.....	34
7 Závěr.....	36
8 Seznam literatury.....	37
8.1 Elektronické zdroje.....	39
9 Přílohy.....	40

1 Úvod

Forenzní entomologie využívá znalostí o hmyzu a ostatních bezobratlých při vyšetřování skutečností a ověřování důkazů v rámci občanského a trestního práva. V praxi lze tento obor rozdělit do tří základních kategorií: problematika potravinářských škůdců, oblast parazitů lidí a zvířat a stanovení doby smrti u nalezených lidských těl. Patrně nejčastěji se využívá pro určení délky intervalu mezi úmrtím člověka a nalezením jeho mrtvoly. Za všech okolností představuje forenzní entomologie oblast aplikované biologie založené na znalostech degradačního procesu, který je v přírodě přirozenou součástí koloběhu života a smrti (Šuláková, 2014).

Rozklad podléhá přirozeným procesům degradace velkých obratlovců v přírodě, proto i mrtvé lidské tělo se stává součástí daného biotopu a v procesu sukcese je postupně kolonizováno jednotlivými skupinami bezobratlých. Pochopení a zhodnocení všech zákonitostí degradačního procesu dává možnost zpětně reprodukovat časovou osu, a tím odpovédět na otázky důležité pro kriminalistické vyšetřování (Šuláková, 2014).

Pokud jsou na těle navíc přítomna krvácivá traumata, aroma krve, které je silným atraktantem, láká zástupce čeledi bzučivkovití (Calliphoridae) a urychluje jak jeho kolonizaci, tak pomocí činnosti hmyzu a jejich larev také jeho rozklad (Šuláková, 2012).

2 Cíl práce

Cílem bakalářské práce bylo vypracovat přehled literatury na téma rozdílů v kolonizaci kadáverů nekrofágními druhy hmyzu při výskytu a absenci traumatických poranění.

Literární údaje byly ověřeny terénními pokusy, jejichž provedení a vyhodnocení jsou součástí této práce. Cílem terénního pokusu bylo zjistit, jaký vliv mají traumatické rány na kolonizaci kadáveru hmyzem, především čeledi bzučivkovití (Calliphoridae).

Hypotéza: Traumatická poranění ovlivňují kolonizaci kadáveru mouchami čeledi bzučivkovití v porovnání s intaktním kadáverem.

3 Přehled literatury

3.1 Historie

První písemný doklad o využití forenzní entomologie při vyšetřování vraždy byl popsán ve 13. století v Číně právníkem a vyšetřovatelem Sungem tzu v knize *Hsi yüan chi lu* („Vymítání zla“). V ní popisuje nalezení ubodaného rolníka na rýžovém poli. Druhý den nařídil všem rolníkům, aby položili své nástroje (srpy) na zem. Jeden ze srpů přitahoval mouchy na zbytky krve, což usvědčilo jeho vlastníka z vraždy (Benecke, 2001).

V 15. a 16. století rostl zájem o lékařské vědy a vědci i umělci začali blíže pozorovat mrtvoly, což se podepsalo na vytvoření nejen výtvarných děl (maleb, básní, soch), ale také několika prací pojednávajících o činnosti hmyzu a jeho larev na mrtvole během rozkladu tělních tkání (Benecke, 2001).

V roce 1767 švédský biolog Carl von Linné pozoroval činnost hmyzu na mrtvolách a ve své práci uvedl, že „tři mouchy zpracují kadáver koně stejně rychle jako lev“, ve smyslu produkce velkého množství larev (Benecke, 2008).

Přesto skutečný rozvoj forenzní entomologie začal až počátkem 18. - 19. století v Německu a Francii během hromadných exhumací, kdy byl hmyz žijící na mrtvolách zaznamenáván ve zprávách soudních lékařů (Daněk, 1990). Mezi lety 1831 a 1835 francouzští lékaři Orfila a Lesueur pozorovali vztah mezi larvami hmyzu a rozkládajícími se těly (Benecke, 2008).

První případ využití moderní forenzní entomologie při stanovení postmortem intervalu je připisován francouzskému lékaři Bergeretovi (1855). Zkoumal nalezeného novorozence ukrytého v krbu bytu, ve kterém postupně žilo několik rodin. Na těle pozoroval pupária masařky *Sarcophaga carnaria* (Linné, 1758) (druh uveden jako *Musca carnaria* Linné, 1758) a larvy zavíječe (*Aglossa* sp.). Podle jejich vývojových cyklů stanovil dobu smrti novorozence, a tím zjistil i období vedoucí k rodině, která zde novorozence ukryla (Benecke, 2001).

V roce 1881 německý lékař Reinhard vytvořil první systematickou studii ve forenzní entomologii. Zabýval se zejména čeledí hrbilkovití (Phoridae), kterou taxonomicky zařadil jeho kolega entomolog Brauer. Reinhardovu práci použilo velké množství pozdějších odborníků k častým citacím v jejich pracích (Benecke, 2001).

V roce 1894 publikoval veterinář Pierre Mégnin svoji knihu *La faune de cadavres* („Fauna mrtvolná“), ve které přepracoval teorii o čtyřech sukcesních vlnách hmyzu pro volně exponovaná těla na osm, a pro těla pohřbená na dvě vlny. Jeho sukcesní teorie spočívaly

v předvídatelném střídání vln hmyzu na mrtvolách (Benecke, 2008). Kniha se také zabývala jednotlivými druhy, popisem jejich larválních stadií, dospělců a počty druhů na různých typech mrtvol. V roce 1895 se dva kanadští vědci Wyatt Johnston a Geoffrey Villeneuve inspirovali Mégninovou prací a pomocí série pokusů dokázali, že Mégninovy závěry nelze přijímat všeobecně, neboť průběh sukcese se liší v různých klimatických podmínkách. V návaznosti na jejich práci byla v následujících letech napsána řada prací, jejichž účelem bylo potvrdit nebo vyvrátit dosavadní poznatky v různých klimatických podmínkách a prostředí (Benecke, 2001; 2004 b).

Koncem 19. století se němečtí lékaři Klingelhöffer, Maschka a polský patolog Horoskiewicz z Krakovské univerzity zabývali několika podobnými případy pokousáním, způsobené šváby (Blattodea) a mravenci (Formicidae). Ve forenzní praxi byla povrchová zranění od těchto živočichů chybně považována za pohmožděny a odřeny vzniklé opakovaným násilím nebo za příznaky otravy (Benecke, 2001; 2004 b). Dalším významným vědcem z Krakovského institutu soudního lékařství byl lékař Eduard Ritter von Niezsbittowski, který na přelomu 20. století zkoumal průběh sukcesních vln. K výzkumu používal nedonošená embrya a kadávery koček, lišek, potkanů, krteků a telat, na kterých pozoroval zejména mouchy čeledi bzučivkovití (Calliphoridae) a brouky (Coleoptera) rodů *Necrophorus*, *Silpha* a *Dermestes*. Jeho pokusy dokázaly, že sukcesní vlny probíhají na lidských ostatcích stejně jako na zvířecích, a také sdílejí stejnou faunu ať už bezobratlých či obratlovců (Benecke, 2001).

V roce 1907 Claude Morley vydal článek zabývající se otázkou klasifikace druhů brouků, kteří se podílejí na rozkladných procesech mrtvých těl. Tato práce se stala základem pro rané systematicko ekologické studie a forenzní entomologii začátku 20. století (Benecke, 2001).

Roku 1919 mnichovský profesor soudního lékařství Hermann Merkel zjistil během vyšetřování dvojité vraždy, že mouchy kladou svá vajíčka nejen do přirozených tělních otvorů v obličejí, ale také do traumatických ran (Benecke, 2001).

Před druhou světovou válkou se dostali do popředí zájmu forenzní entomologie také vodní bezobratlí. V roce 1930 vyšetřovatel z Innsbrucku Josef Holzer při objasňování nálezu mrtvoly ponořené ve vodě na konci zimy zjistil, že larvy chrostíků (Trichoptera) se krmí pouze na kůži, která není zakrytá oblečením. Díky poznatkům o aktivitě larev chrostíků, během zimního období, bylo možné zjistit, jak dlouho se mrtvola ve vodě nachází (Benecke, 2001).

V průběhu 2. poloviny 20. století se vědci zaměřili na jednotlivé druhy hmyzu a zdokumentování jejich geografického rozšíření a nároků na životní prostředí (Benecke, 2004b).

Vše se změnilo v roce 1953, kdy Watson a Crick objevili DNA. A tak začala nová éra forenzního vyšetřování, kde použití genetické analýzy sloužilo nejen ke zkoumání biologických stop, a také ve forenzní entomologii, kde sloužila k identifikaci živočišných druhů. Tato metoda byla často přesnější, než určování pomocí morfologických znaků vzhledem k počtu druhů bezobratlých (Benecke, 2004b).

Na konci 70. let 20. století se nově začala využívat toxikologická analýza těl bezobratlých, tzv. entomotoxikologie, která dokázala stanovit příčinu úmrtí pomocí nálezu toxinů a jiných chemických látek v tělech bezobratlých, kteří se živili na tkáních mrtvého člověka (Benecke, 2004a).

Postupem času se forenzní entomologie stala součástí forenzní praxe a začala se hojně využívat při řešení případů, zejména v USA, Rusku, Kanadě, Francii a Japonsku. Během následujících let bylo napsáno množství příruček forenzní entomologie a byly vytvořeny rozsáhlé sbírky hmyzu v muzeích a na univerzitách (Benecke, 2001; 2008). Byly založeny různé výzkumné antropologické ústavy, nejznámější z nich je tzv. „farma těl“ na univerzitě v Knoxville v Tennessee, které umožnili rozvoj i forenzní entomologie. Tyto ústavy slouží k výzkumu a výcviku vědců a studentů forenzních disciplín a pracovníkům státních bezpečnostních agentur (Yount, 2007).

3.2 Metodologie forenzní entomologie

Forenzní entomologie se zřejmě nejvíce využívá v kriminalistické praxi, proto se v češtině občas setkáváme s označením kriminalistická entomologie. Jde však o méně přesný termín, protože kriminalistika se zabývá pouze otázkami trestního práva a nezahrnuje tak všechny oblasti uvedeného oboru (Šuláková, 2014).

Zkoumání potravinářských (též domácích a skladištních) škůdců z právního hlediska často spadá do oblasti občanskoprávních sporů a příkladem je zanedbání technologických postupů a hygieny při balení, skladování a přepravě zemědělských komodit a potravin (Šuláková, 2014). Nejčastějšími škůdci této kategorie jsou švábi, mravencovití, z této čeledi hlavně *Monomorium pharaonis* (Linné, 1758), někteří brouci a většina much, převážně čeledi hrbilkovití, moučovité (Muscidae), bzučivkovité, masařkovité

(Sarcophagidae). Převážná většina těchto uvedených skupin je významná i pro soudně lékařskou entomologii (Gennard, 2012).

Zkoumání parazitů lidí a zvířat představuje především problematiku myiáz. Myiáza je onemocnění, při kterém v těle živého obratlovce, včetně člověka, parazitují larvy zástupců řádu dvoukřídlí (Diptera). Tato oblast opět souvisí s hygienou a v praxi zahrnuje případy zanedbání péče o nemohoucí nebo svěřenou osobu, týrání svěřené osoby, nebo týrání zvířat (Šuláková, 2014).

Tato práce se týká poslední kategorie forenzní entomologie - soudně lékařské. Metody forenzní entomologie se v tomto případě aplikují jak na oběti vražd, tak při šetření sebevražd, různých nehod v přírodě anebo nevysvětlených úmrtí, tedy pokaždé, kdy je nezbytné zpřesnit dobu úmrtí (Šuláková, 2014).

Soudně lékařská entomologie využívá znalostí pro stanovení místa činu prokázáním či vyloučením manipulace s tělem na větší vzdálenosti, resp. mezi biotopy, a to na základě druhů zajištěných z mrtvoly, které však nejsou zastoupeny (a nejsou typické) pro místo nálezu mrtvého. Na základě výskytu druhů hmyzu typických pro volnou expozici u pohřbených těl je také možné usuzovat na dodatečné pohřbení. Naproti tomu u těl dodatečně odkrytých (např. sesuvem půdy) anebo vyhrabaných zvířaty lze podle zastoupeného hmyzu určit, kdy k odkrytí došlo, resp. jestli byl mrtvý na počátku zcela pohřben (Šuláková, 2012).

Dále se pro získání důležitých informací využívá také molekulární a toxikologická analýza hmyzích těl. Molekulární analýza se využívá pro extrakci vlastního DNA těla hmyzu a jejich částí nebo larválních stadií a přispívá k přesnější determinaci v případech, kdy morfologická identifikace není možná nebo, jako například u larev, je složitá. Molekulární analýzou lze získat také DNA oběti ze zažívacího traktu hmyzu, který se živil její tkání. Tento postup se využívá v případech, kdy byl na místě primárního uložení těla nalezen pouze hmyz, zatímco mrtvola byla již přesunuta (Amendt et al., 2011).

Entomotoxikologie se zabývá kumulací látek v hmyzích tělech. Mrtvoly, které jsou v pokročilém stadiu rozkladu nebo kosterní pozůstatky, je obtížné vyšetřit na přítomnost toxinů, alkoholu, drog či léků nebo reziduálních stop výbušnin. Larvy much živící se na mrtvole na počátku rozkladu mohou akumulovat tyto chemické látky, a ty se pak stávají součástí jejich metabolismu a ukládají se do pokožky a tukových těles hmyzu. V těchto případech se larvy, kukly a dospělci nalezené na mrtvole macerují a dále laboratorně analyzují (např. pomocí chromatografie nebo spektrometrie). Toxiny, drogy a jiné chemické látky mohou urychlit nebo i zpomalit larvální vývoj, oddálit kolonizaci hmyzem či jí i do jisté míry zamezit usmrcením kolonizátorů (Cruz, 2006; Joseph et al., 2011).

V neposlední řadě se soudně lékařská entomologie zabývá také hmyzími jedy. Ve střední Evropě jsou zdravotně nejvýznamnější skupinou přirozeně se vyskytující zástupci řádu blanokřídlých (Hymenoptera) a brouci čeledi majkovití (Meloidae). Hmyzí jed se dostane do těla člověka dvojím způsobem. V případě blanokřídlých pomocí žihadla, kdy smrtelný následek je podmíněn vnímavostí jedince. V druhém případě produkují majkovití prudce jedovatý sekret obsahující toxin kantaridin, jehož smrtelná dávka pro dospělého člověka je 0,02 - 0,03 g. Ač použití hmyzu pro spáchání závažného trestného činu se vyskytuje zřídka, samotné otravy způsobené hmyzem se vyskytují častěji (Daněk, 1990). Opomenout nesmíme ani exotické druhy jedovatého hmyzu a dalších bezobratlých udržované v zájmových chovech. Případné nebezpečí otravy spočívá v neodborné manipulaci s těmito druhy (Gunn, 2006). Nejčastěji se však soudně lékařská entomologie využívá při stanovení post mortem intervalu (Šuláková, 2014). Určením post mortem intervalu, tzv. PMI, se rozumí stanovení času, který uběhl od smrti po nález mrtvoly (Catts, 1992). Pro odhad PMI můžeme použít i několik soudně-lékařských procesů spojených s dekompozicí, jako např. rigor mortis (posmrtná ztuhlost), livor mortis (posmrtné skvrny) či algor mortis (posmrtné chladnutí), ale většina těchto metod se navzájem doplňuje a jejich použití je nad 72 hodin nepřesné (Campobasso et al., 2001).

U mrtvých více než 72 hodin jsou entomologické metody jedny z nejpřesnějších při stanovení doby smrti, protože stále pracují s hodinami a dny. Přesnost stanovení PMI se u krátkodobých post mortem intervalů, tj. do 3 - 5 týdnů, pohybuje v rozmezí 1 - 5 dnů. Výpočet se udává na určitý den, plus minus 1 - 2 dny. U starších nálezů přesnost klesá na určitý týden, měsíc či čtvrtletí. U nálezů odpovídajících 1 - 2 letům je možné určit, zda se jedná o mrtvého z letošního nebo z loňského roku. U nálezů nad dva roky expozice často nelze přesnější počet uplynulých let stanovit (Šuláková, 2012).

Ve skutečnosti forenzní entomolog v žádném případě neurčuje, kdy dotyčný člověk zemřel ani nezkoumá samotné tělo mrtvého. Pouze analyzuje z něj odebraný hmyz. Může stanovit jen dobu, po kterou bezobratlí kolonizovali mrtvého, jelikož doba úmrtí a začátek kolonizace (v zahraničí se také používá termín první kladení) se mohou, ale také vůbec nemusejí shodovat (Šuláková, 2014).

3.3 Sukcese

Základem stanovení doby kolonizace je znalost délky vývojových cyklů jednotlivých druhů a zákonitostí sukcese (Šuláková, 2014).

Délka vývojového cyklu druhu bývá obvykle definována sumou efektivních teplot, tzv. SET, která se zjišťuje experimentálně a představuje součet efektivních teplot určitého druhu za celé období vývoje. Efektivní teplota je aktuální teplota snižená o dolní teplotní hranici daného druhu, tedy teplotu, při níž se jeho vývin zastavuje. Uvádí se v denních, nebo hodinových stupních a zůstává pro každý druh v určité oblasti konstantní. SET vychází z předpokladu, že rychlost vývinu celé generace závisí na teplotě prostředí, kdy platí nepřímá úměra. Při vyšších teplotách je vývojový cyklus kratší a při nižších delší. Současně musíme brát v úvahu další faktory, jako např. vlhkost, délku fotoperiody, množství potravy aj., které rovněž mohou ovlivnit délku generačního cyklu. Při krátkodobé expozici, když je tělo objeveno ještě před dokončením vývojových cyklů prvních kolonizátorů, lze na základě znalosti zastoupených druhů, jejich SET a průběhu teplot před nálezem mrtvoly stanovit počátek kolonizace s přesností na den, ve výjimečných případech až na hodiny. V podmínkách střední Evropy můžeme tento přesný výpočet zpravidla udělat během prvních 3 - 6 týdnů expozice. Tak přesné stanovení, po tak dlouhou dobu, neumožňuje v současnosti žádná jiná metoda. Po tomto intervalu již došlo k ukončení vývinu prvních generací, které dokladuje nález prázdných pupárií. Proto je u starších nálezů nezbytné provést komplexní analýzu zajištěného hmyzu, jeho druhového složení v návaznosti na fázi rozkladu. Hodnotí se jak přítomnost, tak absence druhů, přítomnost nižších vývojových stadií, jejich četnost atd. Opět pomocí SET lze do jisté míry odvodit počet generací zjištěných druhů. Přesto platí, že čím je doba expozice delší, tím přesnost stanovení postupně klesá na určitý týden, měsíc nebo čtvrtletí, stále je ale přesnější než soudně lékařské metody. U nálezů odpovídajících 1 - 2 letům můžeme určit, že jde o mrtvého z letošního nebo z loňského roku. U nálezů starších než dva roky expozice často nelze stanovit přesnější počet uplynulých let (Šuláková, 2014).

Pojem sukcese vychází z časově zákonitého sledu určitých organismů v rámci klimatických cyklů a změn v prostředí. Poprvé byl použit v souvislosti s rozkladem nepohřbených mrtvol (Daněk, 1990).

Mrtvé tělo se ihned po smrti stává součástí specifického biotopu a na něm se postupně objevují a mizí jednotlivé skupiny živočichů v závislosti na potravních vztazích, stadia rozkladu, prostředí a času (Daněk, 1990; Šuláková, 2014).

Nikoli všechny druhy bezobratlých, které se vyskytují na mrtvole, se živí její tkání. Společenstvo na mrtvole lze rozdělit do několika ekologických skupin podle přijímané potravy (Campobasso et al., 2001; Gunn, 2006).

Nejdůležitější skupinou jsou nekrofágové, kteří se živí rozkládající se tkání a jsou nejdůležitější skupinou pro stanovení doby kolonizace. Dominantními zástupci jsou dvoukřídlí, zejména čeledi bzučivkovití a masařkovití, a brouci z čeledi mrchožroutovití (Silphidae) a kožojedovití (Dermestidae) (Smith, 1986).

Predátoři, parazité a parazitoidi nekrofágů jsou druhou nejdůležitější forenzní skupinou a zahrnují brouky čeledi drabčikovití (Staphylinidae) a mrchožroutovití, dvoukřídle čeledi bzučivkovití a bráněnkovití (Stratiomyidae) a blanokřídle. Zástupci této skupiny parazitují hlavně na larvách a pupariích dvoukřídlych. Některé larvy dvoukřídlych, např. rod *Chrysomya* (bzučivkovití) nebo *Hydrotaea* (mouchovití), se v pozdním vývoji stávají predátory (Campobasso et al., 2001; Šuláková, 2014).

Všežravci, jako např. vosy (Vespoidea), mravenci a někteří brouci, se mohou žít jak rozkládajícími se ostatky, tak přítomnými bezobratlými. Pokud se na mrtvole vyskytuje více predátorů a všežravců než nekrofágů, může být zpomalen rozklad mrtvoly vyčerpáním nekrofágní populace (Campobasso et al., 2001).

Koprofágové (především zástupci čeledi mouchovití) mohou být nalezeny na mrtvole znečištěné výkaly, které patřily buď oběti, která se jimi mohla znečistit v důsledku zranění střev či uvolněním svěračů v čase blízkém smrti, anebo pachateli, který ji tímto způsobem znesvětil (Gunn, 2006).

Poslední skupina zahrnuje druhy vyskytující se na mrtvém těle náhodně nebo příležitostně. Mezi tyto druhy patří roztoči (Acari), chvostoskoci (Collembola), pavouci (Araneae), motýli (Lepidoptera) a další. Tito živočichové nejsou z hlediska vyšetřování důležití, avšak mohou ovlivnit sukcesi, neboť někteří z nich se často stávají predátory nekrofágů (Smith, 1986; Šuláková 2014).

Z taxonomického hlediska náleží skoro polovina všech dosud nalezených druhů na mrtvolách řádu brouků, třetina řádu dvoukřídlí, a zbytek připadá ostatním skupinám bezobratlých, např. motýlům, blanokřídlym, škvorům, roztočům, hlísticím, prvokům a dále některým druhům bakterií, řas, plísní, hub a jiných organismů (Daněk, 1990).

Výskyt jednotlivých skupin organismů je propojen s různými fázemi rozkladu (Campobasso et al., 2001; Šuláková, 2014). Nejčastěji jsou popisována čtyři stadia rozkladu mrtvého těla: čerstvé, biochemicky aktivní, vysychající zbytky a dehydratované zbytky (Arnaldos et al., 2004).

Ihned po smrti začíná v těle docházet k dramatickým změnám jeho chemického a fyzikálního složení. Tyto změny ovlivňují atraktivitu těla pro různé skupiny organismů. Proto druhy, které jsou přitahovány na čerstvé mrtvoly, jsou často odlišné od těch, které jsou

přítahovány k mrtvolám v pokročilém rozkladu (Gunn, 2006). Např. Bornemissza v r. 1957 rozdělil rozklad podle společenstev, která se na mrtvém těle postupně vyvíjejí, na období, kdy se postupně střídá společenstvo nekrofágní (čerstvé tělo), saprofágní (biochemicky aktivní), dermatofágní (vysychající zbytky) a keratofágní (dehydrované zbytky). Nejčastěji se však jednotlivé fáze popisují stupněmi rozkladu (Šuláková, 2014).

Sukcese je časově zákonitý, nesezónní, směrovaný a kontinuální proces kolonizace a zániku populací jednotlivých druhů na určitém místě a skládá se z jasně definovaných úseků, které se jeden od druhého zřetelně liší. Sukcese začíná objevením prázdného místa, které lze obsadit. Jedinečným rysem je dočasné trvání celého společenstva a plynulý přechod z jedné fáze do následující. Zároveň postupuje tak rychle, že některé její fáze, zejména ty počáteční, zahrnují pouze jednu generaci daného druhu nebo skupiny druhů. Vývin každého druhu trvá dny až týdny, a na těle téměř vždy nalezneme zástupce několika sukcesních vln současně, a to v podobě prvních dospělců, vajíček a larev různých instarů, pupárií a kukel, případně nově vylíhlých jedinců. Nová imaga (dospělci), která se na určité mrtvole vyvinula, ji po vylíhnutí nalézají v takovém stupni rozkladu, že již pro ně není vhodná k opětovnému kladení, a proto odlétají kolonizovat jiný objekt. V pozdějších fázích sukcese se sice rozklad zpomaluje, takže se může objevit i několik po sobě následujících generací, kdy nově vylíhlá imaga kladou na stejné tělo, přesto je jejich počet stále relativně nízký a do jisté úrovně přesnosti definovatelný (Šuláková, 2014).

Původní Mégninovu teorii 8 sukcesních vln v pozdějších letech řada nezávislých autorů upravila a zredukovala na nižší počet fází. Rozhodujícím faktorem však zůstala především oblast, v níž k rozkladu dochází (Šuláková, 2014).

V oblastech mírného pásu, tedy i v České republice, zpravidla rozlišujeme 6 stadií, jejichž základem je stupnice, kterou navrhli Payne a Crossley v r. 1966. Jejich stupnici lze popsat pomocí obr. 1 schematického znázornění průběhu sukcese (viz Přílohy). Popisují 6 sukcesních vln a fází rozkladu mrtvoly (čerstvá, nadmutá, biochemicky aktivní, pokročilý rozklad, vysychání a kosterní zbytky), ke kterým se váží specifické druhy (Smith, 1986; Šuláková, 2014), následovně:

1. sukcesní vlna: čerstvé tělo

První hmyz se na mrtvole začíná objevovat bezprostředně po smrti člověka, ojedinele již během umírání. Nejvýznamnějšími prvními kolonizátory (z hlediska stanovení doby kolonizace) větších obratlovců, tedy i člověka, jsou mouchy z čeledi bzučivkovití. Z nekrofágních druhů mají v našich podmínkách nejčastější zastoupení bzučivky rodů *Lucilia*

a *Calliphora*, a dále druhy *Protophormia terraenovae* (Robineau-Desvoidy, 1830) a *Phormia regina* (Meigen, 1826). Na jedné mrtvole se zpravidla současně vyvíjejí dva až pět druhů, jeden až dva druhy v dominantním postavení, zatímco ostatní pouze v omezeném počtu jedinců. Dospělí jedinci dvoukřídlých se na mrtvém těle vyskytují pouze dočasně, po dobu kopulace a samičky navíc po dobu kladení. Dospělci dvoukřídlých se tkáněmi mrtvého člověka neživí. Jejich larvy jsou naopak výluční konzumenti, tj. nekrofágové a saprofágové. Atraktanty lákající první kolonizátory jsou krev a také různé tělní výměšky, sperma nebo zápach z ran, které vznikly ještě za života, nebo krátce po smrti. Vajíčka jsou kladena na přístupné sliznice očí, úst, nosu, uší, urogenitálního traktu nebo konečníku, ale i do ran a oděvu nasáklého krví. Dále se zde můžeme setkat i s prvními zástupci řádu brouků a s některými druhy vos, mravenců a škvorů (Daněk, 1990; Šuláková, 2014).

Během této fáze můžeme pozorovat i opačný pohyb hmyzu. Jak tělo postupně chladne, začínají ho opouštět případní ektoparazité (Smith, 1986; Gunn, 2006).

2. sukcesní vlna: nadmuté tělo

Během této fáze se v těle začínají hromadit plynné látky, které vznikají dosud neukončenou činností bakterií v trávicím traktu. Za optimálních podmínek (např. při vysokých teplotách v letních měsících) tento stav může nastat do několika hodin (Campobasso et al., 2001). Jako atraktant lákající další skupinu kolonizátorů funguje právě rozkladný plyn uvolňovaný z těla. Reagují na něj opět bzučivky a nově mouchy čeledi masařkovití a mouchovití. Za forenzně relevantní se považuje řádově 25 druhů masařek, přesto u nás i v okolních státech patří přes 95 % zajištěných larev z této čeledi pouze druhu *Sarcophaga argyrostoma* (Robineau-Desvoidy, 1830). Z mouchovitých jde zejména o rod *Muscina*, jehož zástupci mohou v některých případech nahradit bzučivky v roli primárních kolonizátorů (Šuláková, 2014). V literatuře často uváděná *Musca domestica* Linné, 1758 (Daněk, 1990), se ve skutečnosti na mrtvolách vyskytuje vzácně. Její larvy se přirozeně vyvíjejí v chlévském hnoji, proto samičky, když mají možnost výběru, primárně kladou na tento substrát, i když je k dispozici lidské tělo. Ve volné přírodě se s ní za těchto okolností prakticky nesetkáme, ojedinělé nálezy pocházejí z blízkosti chlévů a stájí anebo domácností. Mezitím pokračuje destrukční činnost larev much první vlny a i nadále pokračuje jejich nálet (Šuláková, 2014).

Páchnoucí plynné látky lákají i typické nekrofágy z řádu brouků. Jelikož se objevují později než mouchy, pro stanovení počátku kolonizace znamenají brouci méně přesný indikátor. Jejich nižší vypovídací hodnota vychází také ze skutečnosti, že zatímco mouchy

vyhledávají tělo s cílem naklást vajíčka či larvy, dospělec brouka, který se živí tkáněmi, nebo na těle loví ostatní hmyz, může na mrtvole setrvat i několik dnů, než dojde ke kladení. Na uvolňovaný rozkladný plyn reagují mezi prvními mrchožroutoví. Pro forenzní praxi je nejvýznamnější *Necrodes littoralis* (Linné, 1758), jehož larvy se na mrtvolách vyskytují pravidelně a v hojném počtu, lze ho zahrnout do kalkulace doby kolonizace. Obdobně se setkáme i s larvami rodu *Thanatophilus*. Často zmiňovaní hrobařící rodu *Nictophorus* mají v praxi minimální využití, protože se na lidském těle zdržují pouze dospělci. Poslední typickou skupinou druhé sukcesní vlny jsou parazitoidní druhy z řádu blanokřídlí, z nichž největší význam mají chalcidkovití (Chalcidoidea), případně lumci a lumčící (Ichneumonoidea). Samičky kladou vajíčka do larev i kukel ostatního hmyzu a vylíhlé larvy cizopasí uvnitř hostitele, kterým se současně živí a následně se v něm i kuklí. Vzhledem k pevné vazbě vývojového cyklu na přítomnost mrtvého těla, resp. nekrosaprofágy, na nichž parazitují, lze tyto blanokřídlé využít při výpočtu doby kolonizace (Daněk, 1990; Šuláková, 2014).

3. sukcesní vlna: biochemicky aktivní rozklad

Tuto fázi charakterizuje ztekucování substrátu a zahrnuje dva procesy, zmýdelnění tuků a fermentaci proteinů (Šuláková, 2014).

Na mrtvole nadále přežívají druhy 2. vlny, kteří mají delší vývoj. Vývoj muších larev pokračuje, a u případů svlečených mrtvol jsou schopny za 2 - 3 týdny strávit převážnou část mrtvoly. Mimo to již počátkem této fáze přilétá na mrtvolu řada predátorů nekrosaprofágů (Daněk, 1990; Voss et al., 2011).

Při procesu zmýdelnění vznikají těkavé mastné kyseliny a atraktantem, který láká další skupinu hmyzu, se stává především zapáchající kyselina máselná. Na její aroma reagují mouchy rodu *Hydrotaea* z čeledi Muscidae. V České republice je na lidských mrtvolách nejčastěji zastoupena *H. ignava* (Harris, 1780). První samičky mohou přiletět již v prvních dnech po smrti jedince, v době, kdy se na těle vyskytují tisíce larev bzučivek. Nenakladou proto přímo na tělo, ale pod něj do tzv. lože mrtvoly. Vylíhlé larvy prvního instaru se živí v podstatě saprofágně, rozkladnou tekutinou prosakující do půdy. Od druhého instaru jsou dravé a začnou kolonizovat vlastní mrtvolu. Přesto teprve až ji většina bzučivek opustí, aby se mohly zakuklit, mouchovití tělo obsadí a plně využijí. Z řádu brouků reagují na těkavé mastné kyseliny typičtí predátoři z čeledi drabčikovití. Při výpočtu doby kolonizace hraje významnou úlohu drabčík *Creophilus maxillosus* (Linné, 1758), který se na mrtvolách pravidelně rozmnožuje. Z dalších jsou zastoupeny nejčastěji rody *Ontholestes*, *Philonthus* a *Aleochara*.

Dalšími z řádu brouků jsou mršníkovi (Histeridae) a lesknáčkovití (Nitidulidae). Zápachem žluklého tuku bývá přilákán také zavíječ *Aglossa pinguinalis* (Linné, 1758) z řádu motýlů (Daněk, 1990; Šuláková, 2014).

K fermentaci proteinů dochází po fermentaci tuků. Někdy se označuje také termínem sýrová fermentace, protože se při ní vytvářejí kaseózní látky připomínající svým zápachem přezrálý sýr. Aroma láká drobné mušky hlavně z čeledi sýrohlodkovití (Piophilidae), kmitalkovití (Sepsidae), octomilkovití (Drosophilidae) a slunilkovití (Fanniidae). Z brouků nalézáme zástupce čeledi kožojedovití a pestrokrovečnickovití (Cleridae). Typičtí zástupci kožojedů u nás patří do rodu *Dermestes*, u pestrokrovečníků náleží všechny tři naše druhy do rodu *Nectobia*. Kožojedi i pestrokrovečníci preferují sušší substrát, proto jejich kolonizace zpravidla začíná od okrajových, nebo již skeletovaných částí těla (s odkrytými kostmi). Tito brouci jsou typičtí predátoři larev nekrosaprofágních much a jsou přilákáni zápachem zmydelňovacích procesů na začátku třetí vlny a na konci této vlny jejich výskyt vrcholí a to hlavně na sušších částech mrtvoly. Úměrně s úbytkem svalové hmoty a jiných měkkých tkání na mrtvém těle klesá kvalitativní i kvantitativní počet typických nekrofágů, zejména z čeledi mrchožroutovití. Nadále pokračují v loži mrtvoly a v jejím okolí biologické cykly larev některých druhů much s kratším vývojovým cyklem (Daněk, 1990; Šuláková, 2014).

Na aktivní biochemický rozklad lze však nahlížet jako na jednu komplexní sukcesní fázi, protože zmydelnění tuků a sýrová fermentace mohou na různých částech těla probíhat prakticky současně. Hmyz vyskytující se v této sukcesní vlně může proto tělo kolonizovat v různém pořadí (Šuláková, 2014).

4. sukcesní vlna: pokročilý rozklad

Čtvrté stadium se vyznačuje čpavkovou fermentací zbytků měkkých tkání. Atraktantem lákajícím další bezobratlé jsou uvolňované amoniakální páry a nakyslý zápach kaseózních látek, na které reagují drobné mušky z čeledi hrbilkovití, které se usazují v rozkládajících se látkách bílkovinné povahy. Dospělé jedince typických nekrofágů už zde nalézáme jen v malém počtu. Nápadně se zmenšil i predátorů a to v přímém důsledku úbytku zdrojů potravy. V podloží mrtvoly nalezneme kukly brouků, čerstvě vylíhlé exempláře i uhynulé či přestárlé jedince (Daněk, 1990; Šuláková, 2014).

5. sukcesní vlna: vysychání zbytků měkkých tkání

Z měkkých tkání zůstávají pouhé zbytky, které postupně vysychají. Na rozkladu se nadále podílejí larvy sýrohlodek a hrbilek, kožojedi a pestrokrovečníci. Nově zbytky

kolonizují brouci z čeledi hlodáčovití (Trogidae), z nich především *Trox scaber* (Linné, 1767) a *T. sabulosus* (Linné, 1758) (Šuláková, 2014).

Na suchých ostatcích, zejména na vazivových částích nebo ve vlasové pokrývce se může objevit i hmyz, který často škodí v domácnostech, skladech nebo v muzejních sbírkách. Z brouků se jedná především o *Anthrenus museorum* (Linné, 1761) a zástupce rodu *Dermestes* a z motýlů o čeledi zavíječovití (Pyralidae) a molovití (Tineidae) (Daněk, 1990).

Poměrově se začíná zvyšovat zastoupení roztočů, kteří se živí proteiny živočišného původu a napadají kostní dřev a urychlují rozpad kostí. Jedná se především o čeledi skladokazovití (Acaridae), čmelcovití (Uropodidae), zákoženkovití (Epidermoptidae) a Anoetidae. Je však nutné poznamenat, že roztoče nalézáme již od počátku rozkladu těla, resp. od okamžiku, kdy se na mrtvém objeví první hmyz, protože mnoho roztočů se sem dostává pomocí fotézie (přichycení na těle hmyzu). Roztoči po nějakou dobu setrvávají a rozmnožují se, a když se vylíhnou noví jedinci much a brouků, přichytí se na ně a nechají se přenést na další mrtvolu (Šuláková, 2014).

6. sukcesní vlna: kosterní zbytky

Většina měkkých tkání byla již rozložena a na místě zůstávají pouze kosti a ojedinělé vyschlé chrupavky a vazivo, vlasy a tělní ochlupení. Na rozkladu těchto zbytků se podílejí roztoči a zřídka kozojedi a hlodáči. Nově se objevují vrtavci (Ptininae) z čeledi červotočovití (Anobiidae). Na degradaci kostí ležících na povrchu mají vliv např. i řasy (Algae) (Daněk, 1990; Šuláková, 2014).

3.4 Ovlivnění sukcese

Vlastní průběh sukcese nelze v obecné rovině jednoznačně časově definovat. Na její celkovou délku, tedy od první až do poslední fáze, je nezbytné nahlížet jako na plastický model, který se dokáže prodlužovat i zkracovat. Rychlost průběhu rozkladu, resp. délka jednotlivých fází sukcese je ovlivněna řadou faktorů (Šuláková, 2014).

Jedním z faktorů je čas, který podmiňuje sukcesi druhů a vystupuje zde jako doba navazující na smrt živočicha. Dále je chápán jako charakteristika ročního období a s ním spojené klimatické podmínky, přesněji řečeno teplota, srážky, vlhkost a množství světla (Daněk, 1990).

Teplota společně se souhrnem srážek, povětrnostními podmínkami a vlhkostí prostředí na počátku kolonizace ovlivňuje posmrtné chladnutí a začátek rozkladných procesů. Při

nižších teplotách bývá rozklad zpomalen, a při teplotách pod 0 °C i zastaven. U většiny druhů hmyzu při teplotách nižších než 10 °C dochází k zastavení kladení vajíček, vývinu či dokonce vedou k úhynu. Pokud nízké teploty přetrvávají delší doby, nastává diapauza, při které dochází ke zpomalení životních pochodů. Vyšší teploty naopak zvyšují účinnost bakteriálního rozkladu, napomáhají fermentaci tuků a proteinů a urychlují vysoušení ostatků a larvální vývoj. Vlivem rozkladných procesů a přítomnosti velkého množství hmyzu dochází k zahřívání těla, které může mít až 52 °C. Při teplotách vyšších než 39 °C už dochází ke změnám struktury stavby bílkovin v hmyzích tělech, které jsou pro mnohé druhy neslučitelné se životem. Teplotu určuje i délka světelné části dne, resp. střídání vyšších a nižších teplot mezi dnem a nocí (Campobasso et al., 2001; Mohr a Tomberlin, 2014; Šuláková, 2014).

Při kolonizaci kadáveru hraje určitou roli i denní režim, neboť ne všechny druhy hmyzu aktivují v noci, a sezónní aktivita, neboť ne všechny druhy aktivují v průběhu celého roku. Expozice mrtvoly s počátkem na jaře a v létě má bohatší druhové a početní zastoupení než s počátkem na podzim a v zimě (Smith, 1986).

Někdy i samotná přítomnost predátorů má často dominantní postavení v rozkladu těla a ovlivní výskyt dalších druhů zkonsumováním měkkých tkání, popř. kostí, a v tomto případě je jedno, zda se jedná o zástupce bezobratlých nebo vyšších obratlovců, např. psa, lišku nebo krysy (Campobasso et al., 2001; Šuláková, 2014).

Dalším důležitým faktorem je místo uložení mrtvoly, které souvisí se zeměpisnou polohou a blízkým okolím, které ovlivňuje výskyt jednotlivých druhů. Průběh kolonizace je předvídatelný pro každý typ prostředí, proto jakékoli vybočení z normálu zpravidla indikuje vnější zásah do průběhu sukcese, ať se jedná o přesun mrtvého, částečné či úplné ponoření do vody, zakrytí vegetací nebo substrátem, zakopání, nebo naopak vyhrabání zvířaty, či případně užití inhibitoru, v podobě různých chemických látek. Pokud má hmyz volný přístup k tělu, jeho kolonizace a celkový rozklad bude rychlejší. Důležité je, zda se tělo nalézá v interiéru či v exteriéru. V interiéru (v uzavřených prostorách, hrobech, jeskyních), kde tělo nemusí být ani zakryto, se obecně vyskytuje menší počet hmyzu a dochází ke spoždění náletu až o několik dní (Anderson, 2010; Pohjoismäki et al., 2010). V exteriéru obecně dochází ke kolonizaci ihned. Ale i v exteriéru nemusí mít hmyz volný přístup k tělu vlivem zakrytí nebo ponoření. Ponořená těla jsou nejdříve z pochopitelných důvodů kolonizována vodními bezobratlými a pokud se vynoří na hladinu vlivem nahromaděním plynů nebo jsou vyplavena proudem na břeh, i suchozemskými, převážně zástupci řádu dvoukřídlí. Pomocí výzkumů bylo zjištěno, že z řádu dvoukřídlí jen zástupci čeledi masařkovití jsou schopni kolonizovat pohřbené tělo do hloubky 20 cm (Campobasso et al., 2001; Šuláková, 2014).

Mimo to je nutné znát vlastnosti mrtvého těla, tj. jeho stáří, hmotnost, tučnost (v podobě obezity nebo podvýživy), pohlaví, hustotu vlasové pokrývky a ochlupení, zdravotní stav a zda dotyčný požíval léky, drogy nebo alkohol před smrtí (Daněk, 1990), zda bylo tělo nahé nebo oblečené. V tomto případě záleží na množství a typu oblečení, které prodlužuje rozklad a tím ovlivňuje nálet hmyzu, kromě první vlny, jenž probíhá podobně jako u svlečeného těla (Voss et al., 2011). Také příčina smrti a přítomnost zranění, kontinuita povrchu kůže či perforace žaludku a střev ovlivňuje rozklad, atraktivitu těla a tím i jeho následnou kolonizaci (Daněk, 1990; Gunn, 2006). Bylo prokázáno, že přítomnost traumat urychluje rozklad, ale záleží na jejich množství, povaze, velikosti a hloubce, a kromě toho i na vlastnostech oběti, které byla způsobena (Cross a Simmons, 2010).

3.4.1 Vliv traumatických ran

Za optimálních podmínek, kdy hmyzu nic nebrání v přístupu k tělu, mohou nastat tři základní situace (Šuláková, 2014).

V první situaci hovoříme o tzv. intaktním těle. Tito lidé zemřeli z přirozené příčiny (např. na infarkt, mrtvici, stářím), nebo byli uškrceni, udusili se nebo otrávilí plynem. V těchto případech hmyz, zpočátku, nejeví o tělo, jako o potenciální zdroj potravy, zájem. Atraktantem jsou pro něho až uvolňované plyny bakteriálního rozkladu, který začíná v trávicí soustavě mrtvého. Při vyšších teplotách se rozkladný plyn uvolní dříve, při nízkých naopak pomaleji. V tomto případě první kolonizátoři kladou pouze do přirozených tělních otvorů (Šuláková, 2014).

Ve druhé situaci jsou přítomna krvácivá traumata, přesněji řečeno poranění v důsledku bodných, řezných a střelných zranění, pádů z výšky, po autonehodě, pokousání apod., nebo sperma, exkrementy či zvratky. Do okolí se uvolňuje aroma krve nebo ostatních zmíněných látek, které lákají bezobratlé z blízkého i dalekého okolí. Na tyto silné podněty reaguje hmyz prakticky okamžitě. Traumata umožňují snadný vstup do těla larvám dvoukřídlých, které nejsou schopny pronikat přes nepoškozenou kůži člověka. U těchto nálezů stanovená doba kolonizace řádově odpovídá době úmrtí, nebo je rozdíl minimální (MacAulay et al., 2009; Šuláková, 2014).

Posledním, méně častým případem je situace, kdy doba kolonizace hmyzu na těle trvá déle než samotný post mortem interval, a to až o několik dnů. K prvnímu kladení několik minut až hodin ještě před smrtí člověka dochází např. u zmíněných jedinců s krvácejícími ranami. Dotyčný krvácí, je však v kómatu, nebo nepohyblivý. Samičky much, které reagují na aroma krve a kladou již během umírání jedince. Jiným příkladem je tzv. myiáza. Při

fakultativní myiáze se na onemocnění podílejí druhy, které tkáně živého člověka využívají jen příležitostně, protože je běžně nalzáme až na zemřelých. V podmínkách České republiky jde o zástupce čeledi bzučivkovití a masařkovití. S těmito případy se setkáváme zejména u lidí žijících ve špatných hygienických podmínkách - bez domova, ale také u starších jedinců a malých dětí, kteří nejsou schopni se o sebe sami starat. Pokud navíc mají na těle neléčenou, nebo nekvalitně ošetřenou otevřenou ránu, bércový vřed, nekrotizující proleženinu, případně exkrementy, můžou je samičky využít ke kladení, neboť jejich larvy nejsou schopné proniknout přes zdravou kůži. Vylíhlé larvy, a mohou jich být desítky, stovky, ale i tisíce, se vyvíjejí v tkáních žijícího člověka až několik dnů. Když takový člověk následně zemře, zpravidla na celkovou sepsi (infekci) organismu, jeho tělo kolonizují další, někdy však i stejné druhy. Analýza zajištěného hmyzu potom ukáže, že generační cyklus jednoho druhu, nebo části jeho populace začal o několik dnů dříve než u ostatních (Šuláková, 2014).

Nejčastěji se výzkumy provádí na kadáverech prasete domácího (*Sus scrofa* f. *domestica* Linné, 1758), neboť svou anatomickou a fyziologickou stavbou se nejvíce podobá člověku. Vliv traumatických ran na kolonizaci studovali např. Cross a Simmons (2010), kteří prováděli pokus na kadáveru prasete s přítomnými traumatickými ranami. Zjistili, že na jednom těle dvoukřídlí preferovali kladení do přirozených tělních otvorů před traumaty.

Výzkumem aktivity hmyzu na kadáveru prasete s traumatickými ranami se zabývali také Goddard et al. (2012). Jejich kadáver byl původem z veterinárního ústavu a před začátkem expozice mu bylo posmrtně vytvořeno několik bodných zranění. Kladení vajíček bylo pozorováno jak do přirozených otvorů, tak i na traumatech, kde podle pozorování byli přítomní kromě dvoukřídlých i mravenci, kteří se krmili převážně jejich vajíčky a larvami, a v menší míře i tkáněmi prasete.

Grassberger a Frank (2004). Prováděli výzkum zaměřený na studium kolonizace kadáveru prasete hmyzem v centru Vídně. Použitá prasata byla zabita střelením do hlavy. Jeden z kadáverů měl navíc otevřenou zlomeninu na noze. U prvního kadáveru začala expozice v poledne a ihned se na něm objevili první mouchy. Kladení zde bylo zaznamenáno v oblasti obličeje i v okolí vstřelu až po 3 hodinách bez preference. Druhý kadáver byl s traumatem a expozice začala ve 22:00 SEČ. První mouchy na něm byly zaznamenány až v 8.00 následujícího dne a kladení probíhalo jako u prvního kadáveru v oblasti obličeje a vstřelu, navíc také v okolí traumatu, bez preferencí. Stejně jako v pokusu Goddard et al. (2012) se na traumatech objevili mravenci, kteří se krmili vajíčky dvoukřídlých.

Parker a Welch (1991) zkoumali atraktanty bzučivek pomocí návnad v podobě rozkládajících se hovězích jater a ryb, hnijícího ovoce a poraněné žijící ovce (*Ovis ammon* f.

aries Linné, 1758). Více samců bylo zaznamenáno na játrech a vzácně se objevovali na traumatických zraněních. Nejvíce samic (80 %) však bylo přítomno na zraněních, na které nalétávaly přednostně před ostatními návnadami. Na ovoci nebyli dospělci zaznamenáni.

Benecke et al. (2004) popisují případ nálezu mrtvolky ženy s přítomným zraněním na noze. Při ohledání těla kůže a oblast obličeje byla intaktní, pouze zranění na noze bylo kolonizováno zástupci čeledi slunilkovití (Fannidae). Vyšetřovatelé dospěli k závěrům, že ke kolonizaci došlo ještě před smrtí a případ byl charakterizován jako zanedbání péče jejím synem.

3.5 Calliphoridae

Čeď Calliphoridae (bzučivkovití) je relativně malou, celosvětově rozšířenou, čeledí řádu dvoukřídlí. V současné době je známo okolo 1100 druhů v 64 rodech. Na území České republiky bylo dosud zjištěno 61 druhů (Šuláková et al., 2014), z toho celkem 8 druhů je uvedeno v Červeném seznamu ohrožených druhů v kategorii zranitelný (Kubík a Povolný, 2005). Přesné taxonomické zařazení čeledi je v tabulce 1 (viz Přílohy).

3.5.1 Popis těla

Bzučivky jsou středně velké až robustní mouchy veliké 4 - 16 mm. Zbarvení je značně variabilní. Většina středoevropských druhů je zabarvena modře nebo zeleně s kovovým leskem. Ostatní zástupci jsou šedého až černého zbarvení. Současně se mohou na těle vyskytovat stříbřité, nebo zlatavé sety, které dotváří celkový vzhled (Kubík a Országh, 2009).

Pohlavním dimorfismem u samečků jsou oči, které se na rozdíl od samic, vzájemně dotýkají (Daněk, 1990). Samičky mají navíc na konci zadečku krátké nepravé kladélko, sloužící ke kladení vajíček, zatímco u samečků je přítomen pomocný kopulační orgán (hypopygium) (Křístek a Urban, 2013).

3.5.2 Biologie

Jako u většiny hmyzu, je i aktivita bzučivek je ovlivněna světlem, deštěm, ale nejvíce ze všeho teplotou. Dospělci aktivují a kladou vajíčka od úsvitu do soumraku, kdy aktivita většiny druhů vrcholí kolem poledne. Jsou tzv. heliofilní, resp. fotofilní, neboť byla potvrzena i kladení v noci pod umělým osvětlením. Jejich teplotní komfort je v rozmezí 12 - 30 °C. Při nižších teplotách kolem 5 °C nastává diapauza. Byla však pozorována i aktivita larev při - 4 °C. Vyšší teploty zpravidla urychlují jejich larvální vývoj, avšak smrt nastává pro většinu

druhů ve 39 °C, pro *Calliphora vicina* Robineau-Desvoidy, 1830 až ve 45 °C. (Campobasso et al., 2001; Amendt et al., 2008; Mohr a Tomberlin, 2014). V teplejších oblastech kolem Středozemního moře se většina nekrofágních bzučivek vyskytuje na mrtvolách v průběhu prvních dvou rozkladných stadií během celého roku (Carvalho a Linhares, 2001; Arnaldos et al., 2004). V našich podmínkách se však bzučivky vyskytují od konce jara až do podzimu a přezimují jako kukly i jako dospělí jedinci často ve větším počtu pod odchlíplou kůrou stromů (Daňek, 1990; Šuláková, 2014).

Dospělci se živí nejčastěji rostlinným nektarem nebo jinými cukernatými látkami, nacházejícími se v přezrálém ovoci či v medovici mšic. Samičky vyžadují pro dozrání vajíček proteiny, které získávají nejběžněji sáním na exkrementech a v menší míře na zvířecích mršinách a lidských mrtvolách, na kterých olizují vytékající rozkladnou tekutinu a na počátku rozkladu také případně přítomnou krev a tělní sekrety (Šuláková et al., 2014).

Většina druhů je oviparních (vejcorodých), setkáme se však i s larviparií (živorodostí). Vajíčka jsou protáhlá, oválná, 1,5 mm dlouhá a samičky je kladou ve shlucích po 450 - 1200 kusech. Larvy jsou bílé, měkké a dorůstají velikosti až 15 mm. Prochází přes 3 larvální stadia. Po řádově 7 - 8 dnech se zakuklí. Soudečkovitá červenohnědá kukla (puparium) má vzadu 12 zoubků. Puparium tvoří ztvrdlý exoskelet posledního larválního instaru, uvnitř kterého se tvoří samotná kukla. Za 10 - 12 dní se z kukly líhne dospělý jedinec (imago), takže celý vývoj trvá asi 1 měsíc (Daňek, 1990; Šuláková et al., 2014).

Podle způsobu larválního vývoje dělíme bzučivky na nekrofágy a obligátní parazity bezobratlých a obratlovců (Šuláková et al., 2014).

Larvy rodu *Melinda* parazitují u hlemýžďů (Helicidae) a larvy rodů *Bellardia*, *Onesia* a *Pollenia* u žízal (Opisthophora). Bzučivky těchto rodů, zejména *Pollenia* sp., se na mrtvolách nebo v jejich blízkosti objevují také. Reagují především na mrtvolný zápach a stahují se k mrtvému tělu, jako by předpokládaly, že na místě, kde je cítit mrtvola, bude i jejich hostitel. Tuto tezi potvrzuje i skutečnost, že tyto bzučivky často nalétávají do pastí, kde jsou návnadou játra, mrtvé ryby nebo exkrementy. Pachy tvořené během rozkladu jsou nepochybně atraktivní i těmto rodům, ale i tak je jejich forenzní význam velmi malý, neboť neexistuje shoda výskytu s konkrétními fázemi rozkladu (Šuláková a Barták, 2013; Šuláková, 2014).

Larvy rodů *Protocalliphora* a *Trypocalliphora* jsou obligátní parazité mláďat ptáků, zejména pěvců, u kterých vyvolávají maligní myiázy, kdy larvy napadají zdravé měkké tkáně. Přesto u mnoha parazitických druhů nejsou doposud známa nižší vývojová stadia - vajíčka a larvy, popř. puparia (Šuláková et al., 2014).

Nekrofágní zástupci se v přírodě vyvíjejí na mrtvolách čerstvě uhynulých zvířat, a v případě výskytu, i na lidských mrtvolách (Smith, 1986). Z nich jsou v ČR kriminalisticky relevantní zejména rody *Lucilia*, *Calliphora*, *Phormia* a *Protophormia* (Šuláková, 2014).

3.5.3 Forezní význam

Nejčastěji se zástupci těchto rodů používají ke stanovení začátku kolonizace, protože jsou prvními kolonizátory mrtvých těl a vyskytují se téměř po celém světě (Sharma et al., 2015). Mnohé druhy, ve spojení s jejich synantropním výskytem, představují významné potencionální vektory bakteriálních i virových onemocnění a parazitů, neboť dospělí jedinci při hledání potravy často navštěvují exkrementy, ovoce, čerstvé i tepelně upravené potraviny, zejména maso, popř. sedají na rány (Šuláková et al., 2014).

Uvedené rody nekrofágních bzučivek také fakultativně vyvolávají traumatické myiázy. Nejčastěji se podílí na myiáze *Lucilia sericata* (Meigen, 1826), *Calliphora vicina* Robineau-Desvoidy, 1830 a *Phormia regina* (Meigen, 1826). Larvy myiatických druhů, které se živí pouze nekrotickými tkáněmi, se označují za benigní a využívají se v lékařství i veterinářství k čištění hnisajících ran, nejčastěji to jsou larvy druhu *Lucilia sericata* (Šuláková a Barták, 2013).

Jelikož dospělci mohou kdykoli přiletět a odletět, o jejich přítomnosti nemusíme nalézt žádný důkaz. Jakmile však dojde k naklazení vajíček, zůstává na místě stopa, kterou lze analyzovat a hodnotit. Vysoký kriminalistický význam bzučivek tedy vychází ze skutečnosti, že vyhledávají mrtvolu primárně z důvodu kladení a že časová prodleva mezi přiletem prvních jedinců a naklazením prvních vajíček je minimální (Šuláková, 2014).

Podle Šulákové (2014) je forezně významných 13 z 61 druhů bzučivek vyskytujících se v ČR. Na lidských mrtvolách se, ve střední Evropě, nejčastěji objevují jmenovitě *Lucilia caesar* (Linné, 1758), *Calliphora vicina* Robineau-Desvoidy, 1830, *Phormia regina* (Meigen, 1826), *Protophormia terraenovae* (Robineau-Desvoidy, 1830), *Lucilia illustris* (Meigen, 1826), *Lucilia ampullacea* Villeneuve, 1922, *Calliphora vomitoria* (Linné, 1758), *Lucilia sericata* (Meigen, 1826), *Lucilia silvarum* (Meigen, 1826), *Cynomya mortuorum* (Linné, 1761), *Calliphora loewi* Enderlein, 1903, *Calliphora uralensis* Villeneuve, 1922 a *Calliphora subalpina* (Ringdahl, 1931). Ve střední Evropě se zabývali výzkumem hmyzu na kadáverech také např. Grassberger a Frank (2004) nebo Matuszewski et al. (2008), kteří došli převážně ke stejným výsledkům.

4 Materiál a metodika

Metodika práce byla rozdělena na rešeršní činnost a realizaci terénního pokusu zaměřeného na zkoumání vlivu přítomnosti traumat na kadáveru na jeho následnou kolonizaci hmyzem.

Terénní pokus byl proveden ve třech opakováních. Ve všech experimentech byly vždy použity dva kadávery kura domácího (*Gallus gallus f. domestica* Linné, 1758) zabité nekrvavým způsobem, z nichž jeden kadáver zůstal netknutý (intaktní) a u druhého byla hned po smrti způsobena bodná zranění (traumata).

4.1 Popis lokality

Terénní pokus byl proveden ve městě Pyšely ve Středočeském kraji, ulice Pod Oborou č. 72. Pyšely leží v nadmořské výšce 372 m n. m., zeměpisné souřadnice 49° 52' 17.9" S, 14° 40' 48.1" V. Místem volného exponování obou kadáverů byla zahrada u rekreačního domu, která je součástí chatařské osady a je využívána k pěstování rostlin. V zahradě se nachází velké množství keřů a stromů. V okolí zahrady přiléhá ze západní strany smíšený les, z ostatních světových stran udržované travnaté porosty chat a rodinných domů. Letecký pohled na oblast a pohled do blízkého okolí expozice prezentují obr. 3 a 4 (viz Přílohy).

4.2 Realizace pokusu

Během všech tří opakování pokusu bylo použito celkem šest kadáverů nosnic kura domácího, o hmotnost 1,5 - 2 kg.

Při každém pokusu byla použita dvě zvířata, která byla obě vždy usmrcena stejným způsobem, úderem tupým předmětem do temene hlavy, aby se zajistil nekrvavý způsob usmrcení. Jeden kadáver byl ponechán intaktní, druhému byly ihned po usmrcení způsobeny bodné rány zasahující do tělní dutiny, které narušily velké cévy a vyvolaly krváčení. Kadávery byly následně umístěny po jednom do plastových boxů a exponovány na zahradě ve vzdálenosti 10 m od sebe. Kadávery byly ponechány v boxech po celou dobu pokusu, tj. od začátku expozice až po líhnutí imág.

Použité plastové boxy měly objem 18 l a rozměry 18 x 43 x 33 cm.

Na dno plastových nádob byl ve vrstvě cca 5 cm nasypán pročištěný stavební písek o zrnitosti 0,1 - 1,25 mm. Vrstva písku na dně nádob usnadnila vyvinutým larvám kuklení, současně byla využita při regulaci vlhkosti v nádobách.

Po naklazení vajíček na oba kadávery byla pokusná zvířata přenesena do skleníku, obr. 5 (viz Přílohy), který je součástí stejného pozemku. Odchov larev a odběr vylíhnutých imag probíhal uvnitř dřevěného boxu, krytého proti světlu a dešti PVC plachtou, který byl vytvořen za účelem realizace pokusu.

V případě potřeby bylo do boxů přidáno další krmné médium, hovězí játra, aby larvy mohly dokončit svůj vývin.

4.3 Odchytové zařízení

Pro automatický sběr vylíhnutých imag byla na oba chovné boxy připevněna odchytová zařízení, skládající se z krytu plastové nádoby a sběrné láhve se smrtícím a konzervačním roztokem, obr. 2 (viz Přílohy).

Odchytové zařízení bylo sestaveno ze dvou rozdílně dlouhých kovových drátů, vytvarovaných do oblouku. Konce drátů byly zasunuty do plastových hmoždinek, které byly vsunuty do předem vyvrtaných děr v horním okraji plastového boxu. Přes takto vytvořenou nosnou konstrukci byla natažena silonová textilie, která umožnila větrání vnitřního prostoru boxů a odchyt v boxech vylíhnutých imág, současně však bránila přístupu dalšího hmyzu z vnějšího okolí, a tím narušení průběhu pokusu. V nejvyšší části konstrukce byla přichycena sběrná nádoba o objemu 2 l naplněná smrtícím a konzervačním roztokem namíchaným z 1,5 l vody, 3 ml 36 - 38% formaldehydu a 1 ml detergentu (saponátu), který snížil povrchové napětí hladiny vodního roztoku, a tím usnadnil zachycení a usmrcení hmyzu.

Vylíhnutá imaga, zachycená ve sběrných láhvích, byla během kontrolních návštěv předána do plastových zkumavek se stejným roztokem a předložena k determinaci.

4.4 Vyhodnocení dat

Pokusná zvířata byla kontrolována každých šest až sedm dnů. Při exponování byl vizuálně sledován výskyt prvních dospělců much během volné expozice, první kladení vajíček a první výskyt larev. Během kontrolních návštěv byl sledován a vizuálně hodnocen vývin larev, migrace larev z kadáverů do písku, jejich kuklení a následné líhnutí imag.

Mezi variantami se hodnotilo rychlost prvního výskytu imág much, prvního kladení, druhové složení zastoupených nekrofágů a počet odchovaných jedinců.

Determinaci imág do druhů provedla pplk. Ing. Hana Šuláková, Ph.D.

Klimatické podmínky v době exponování byly zaznamenávány pomocí meteorologické stanice Ondřejov Českého hydrometeorologického ústavu. Během druhé

poloviny třetího opakování byly boxy s kadávery přesunuty do sklepních prostor přilehlé chaty, kde byla teplota zaznamenávána pomocí teploměru umístěného u chovných boxů.

První pokus byl zahájen 25. 5. 2014 a ukončen po 35 dnech 28. 6. 2014. Během expozice byla obloha jasná, teploty se pohybovaly v rozmezí 22 - 23 °C ve stínu. Po naklazení vajíček na oba kadávery, kdy expozice trvala cca 1 hodinu, byly boxy překryty silonovou textilií, která bránila dalšímu hmyzu v kontaktu s kadávery, a přesunuty do nepoužívaného skleníku kvůli ochraně před nepříznivým počasím.

Druhý pokus byl zahájen 12. 7. 2014 a ukončen po 55 dnech 5. 9. 2014. Expozice probíhala na rozdíl od prvního pokusu na přímém slunci. Po celou dobu expozice byla jasná obloha a teploty se pohybovaly mezi 24 - 25 °C.

Třetí pokus byl zahájen 4. 10. 2014 a ukončen po 42 dnech 15. 11. 2014. Během pokusu bylo počasí polojasno až zataženo. Teploty se pohybovaly v rozmezí 15 - 17 °C. Se vzrůstající teplotou vzrůstal i počet hmyzu vyskytujícího se jak na kadáverech, tak i v okolí. Expozice probíhala opět na nestíněném místě.

5 Výsledky

5.1 První pokus

První pokus byl zahájen 25. 5. 2014 v 12:00 SEČ usmrcením dvou pokusných zvířat. První nálet hmyzu byl pozorován na kadáveru s traumaty již po 10 minutách, zatímco na intaktním kadáveru byly zpozorovány až o 2 minuty později (12 min od začátku pokusu). Hmyz se na intaktním kadáveru zdržoval od prvního náletu ve větším počtu na rozdíl od kadáveru s traumaty, na který nalétával postupně. Mouchy na intaktním kadáveru nejprve jen lezly a hledaly vhodné místo ke kladení vajíček v podobě přirozených tělesných otvorů, resp. zobáku, nosní dutiny a kloaky. První kladení na intaktním kadáveru bylo pozorováno po cca 30 minutách od začátku expozice, a to do zobáku, obr. 6 (viz Přílohy). Mouchy na kadáveru s traumaty začaly klást již po několika sekundách strávených na kadáveru do traumatických ran, obr. 7 a 8 (viz Přílohy), nebo sály krev, která vytekla na podložní substrát (písek) nebo stěnu plastového boxu, obr. 9 (viz Přílohy).

Expozice probíhala po celou dobu ve stínu. Během expozice byla obloha jasná, teploty se pohybovaly v rozmezí 22 - 23 °C ve stínu. Po naklazení vajíček na oba kadávery, kdy expozice trvala 1 hodinu, byly boxy překryty silonovou textilií, která bránila dalšímu hmyzu v kontaktu s kadávery, a přesunuty do nepoužívaného skleníku kvůli ochraně před nepříznivým počasím.

Při první kontrole 31. 5. 2014 na intaktním kadáveru se činnost larev zatím vizuálně nepotvrdila. Na rozdíl od intaktního byly na kadáveru s traumaty měkké tkáně skoro všechny zkonsumovány larvami a bylo nutné přidat 300 g hovězích jater pro úspěšný odchov larev, obr. 10 (viz Přílohy).

7. 6. 2014 po 14 dnech byla činnost larev již patrná i na intaktním kadáveru. Došlo k narušení kůže a propadnutí tělní dutiny. Měkké tkáně v hrudní dutině byly činností larev degradovány. V bezprostředním okolí kadáveru byla zjištěna přítomnost prvních puparií. U kadáveru s traumaty byla zkonsumována veškerá svalovina a zbyly jen kosti, zbytky kůže a peří. Objevily se také první puparia, avšak ve větším množství než u intaktního kadáveru a ke kuklení docházelo mimo kadáver, obr. 11 (viz Přílohy).

14. 6. 2014 intaktní kadáver vizuálně vypadal stejný jako s traumaty. Vyskytovalo se zde více puparií a žádné migrující larvy, kdežto na kadáveru s traumaty, kde bylo mnohem více puparií a byla pozorována velká migrace larev z kadáveru, obr. 12 a 13 (viz Přílohy).

21. 6. 2014 byla už v obou boxech přítomna první odchovaná dospělá stadia, a proběhl první odběr imág ze sběrné láhve na determinaci. V boxu s intaktním kadáverem byly stále přítomna puparia. Na rozdíl od intaktního kadáveru v boxu s traumaty larvy stále migrovaly a současně byly přítomny i puparia a první dospělci.

28. 6. 2014 proběhl druhý odběr dospělců, po kterém byl pokus ukončen.

5.2 Druhý pokus

Druhý pokus začal 12. 7. 2014 ve 13:00 SEČ. První nálet byl pozorován na intaktním kadáveru ihned po exponování, na rozdíl od kadáveru s traumaty, kde byl pozorován až po 4 minutách. Stejně jako v prvním pokusu, se na intaktním kadáveru hmyz vyskytoval v hojném počtu. Na kadáver s traumaty mouchy nalétávaly postupně jako v prvním pokusu. První kladení bylo zpozorováno po 38 minutách od začátku pokusu, na kadáveru s traumaty, a to do otevřených ran, obr. 14 a 15 (viz Přílohy). O cca 2 minuty později (40 minut od začátku pokusu) bylo zpozorováno kladení na intaktním kadáveru, pod něj, a na substrát, obr. 16 (viz Přílohy). V okolí boxu s kadávěry se vyskytovaly různé druhy hmyzu. Expozice byla ukončena po 1 hodině překrytím boxů silonovou textilií a následným přenesením boxů do dřevěného boxu ve skleníku.

Při první kontrole 19. 7. 2014 bylo objeveno několik malých otvorů na silonové textilií nad kadáverem s traumaty. Z tohoto důvodu byla přidána další vrstva silonové textilie, aby se zabránilo nežádoucímu kontaktu dalšího hmyzu s pokusnými zvířaty.

26. 7. 2014 bylo zjištěno opětovné poškození textilie na variantě s traumaty. Z toho důvodu byla textilie u obou boxů vyměněna za novou.

3. 8. 2014 byly otvory v textilií nad traumaty společně s čerstvě nakladenými vajíčky a larvami much znovu pozorovány, obr. 17 (viz Přílohy). Do boxu s traumaty vzniklými otvory pronikl další hmyz, a to zástupci čeledi drabčíkovití, obr. 18 (viz Přílohy), mrchožroutovití a parazitoidní vosičky (Hymenoptera). Byla opětovně vyměněna krycí textilie. Do boxu bylo nutné přidat cca 300 g hovězích jater. Byla pozorována první puparia řádu dvoukřídlí.

17. 8. 2014 po 35 dnech nebyla stále patrná činnost larev na intaktním kadáveru. Na kadáveru s traumaty se objevili první dospělci much, jak na kadáveru, tak v odchytovému zařízení.

29. 8. 2014 byli zajištěni první dva dospělci v odchytovému zařízení intaktního kadáveru.

5. 9. 2014 byl druhý pokus ukončen. Imága byla odebrána z odchytovému zařízení. Na kadáveru s traumaty bylo nalezeno nové velké množství hmyzu, který opět pronikl do boxu novými otvory v textilií. Intaktní kadáver byl prohledán spolu se substrátem boxu, za účelem zjištění výskytu dalšího hmyzu, ale nebylo nic nalezeno. Byl tedy kolonizován v menším rozsahu oproti variantě s traumaty.

5.3 Třetí pokus

Třetí pokus byl zahájen 4. 10. 2014 v 11:30. Se vzrůstající teplotou, která se pohybovala v rozmezí 15 - 17 °C, vzrůstal i počet hmyzu vyskytujícího se jak na kadáverech tak i v okolí. První nálet byl zaznamenán na variantě s traumaty již po 2 minutách, zatímco na intaktním kadáveru byla první moucha zpozorována až po 25 minutách. Na rozdíl od předchozích dvou pokusů mouchy nekladly hned po náletu na kadáver, ale až po delší době strávené na něm. Během této doby hledaly místo ke kladení nebo olizovaly krev, obr. 19 (viz Přílohy). První kladení bylo pozorováno až po 58 minutách na kadáveru s traumaty, obr. 20 (viz Přílohy). Na intaktním kadáveru nebylo kladení po celou dobu expozice pozorováno. Expozice byla ukončena po 5 hodinách překrytím boxů silonovou textilií.

Při první kontrole 11. 10. 2014 byla zřejmá činnost larev pouze na kadáveru s traumaty. Na intaktním nebyly žádné známky působení larev.

18. 10. 2014 se na kadáveru s traumaty objevilo prvních šest migrujících larev. Intaktní kadáver byl stále nedotčený.

25. 10. 2014 nebyly larvy pozorovány ani na kadáveru s traumaty. Během předešlého týdne poklesly noční teploty k 0 °C. Z toho důvodu byly boxy přesunuty do sklepních prostor, kde teplota dosahovala téměř konstantních 12 °C. Na intaktním kadáveru byla zjištěna plíseň, obr. 21 (viz Přílohy).

28. 10. 2014 teplota ve sklepních prostorách dosahovala 11 °C.

1. 11. 2014 na žádné variantě nebyla zjištěna přítomnost hmyzu, nebo pozorována jeho aktivita. Na intaktním kadáveru se plíseň rozšířila.

8. 11. 2014 plíseň zjištěna i na variantě s traumaty.

15. 11. 2014 byl pokus ukončen po 42 dnech. Na žádném z kadáverů, anebo v písku uvnitř boxů nebyly nalezeny larvy ani puparia hmyzu.

5.4 Zastoupení druhů

Během prvního pokusu bylo zajištěno ve sběrné láhvi z čeledi bzučivkovití celkem 755 jedinců na intaktním kadáveru a 18 jedinců na kadáveru s traumaty. Z čeledi moučovité bylo zajištěno celkem 212 jedinců pouze na kadáveru s traumaty, kteří náleželi druhu *Hydrotaea ignava* (Harris, 1780).

Během druhého pokusu byli zajištěni ve sběrné láhvi z čeledi bzučivkovití 2 jedinci na intaktním kadáveru a celkem 47 jedinců na kadáveru s traumaty. Na intaktním kadáveru byli zajištěni také 2 jedinci řádu škvoři (Dermaptera). Na kadáveru s traumaty byl navíc zajištěn hrobařík *Necrodes littoralis* (Linné, 1758) a několik dalších zástupců řádu dvoukřídlí.

Během třetího pokusu se nepodařilo odchovat larvy hmyzu ani na jedné z variant kadáverů. Larvy pravděpodobně uhynuly vlivem nízké teploty během odchovu.

Počet druhů, jejich jedinců a pohlaví zajištěných na konci prvního a druhého pokusu ve sběrné láhvi prezentují tabulky 2 a 3 a graf 1 (viz Přílohy).

Teploty naměřené během průběhu všech tří pokusů prezentuje tabulka 4 a grafy 2 až 4 (viz Přílohy).

6 Diskuze

V literárním přehledu bylo popsáno několik pokusů, které se zabývaly rozkladem při volné expozici, bzučivkovitými a traumatickými ranami. Z jejich pozorování vyplynulo, že pokud jsou na mrtvém těle většího obratlovce přítomna traumata, samičky much mají takřka nulovou preferenci mezi kladením do přirozených otvorů a traumatických ran. Avšak pokud jedinec ještě žije, kladení probíhá jen do traumat a v obličejové části může po smrti abstinovat. Toto konstatování popisují při řešení případů např. Smith (1986) a Benecke et al. (2004).

Během prvního a druhého pokusu, bylo pozorováno, že na intaktní kadáver mouchy nalétávají od začátku expozice v hojném počtu a kladení bylo pozorováno až po delší době na něm strávené. Na kadáver s traumaty však nalétávaly postupně, ale klást začaly takřka hned po náletu. Během třetího pokusu byly první mouchy pozorovány na kadáveru s traumaty, ale klást začaly až po delší době. Na intaktní kadáveru se vyskytovaly v minimálním množství a kladení nebylo vůbec pozorováno. Lze tedy předpokládat, že při nižších teplotách se krev, jako atraktant uvolňuje do prostředí rychleji, než samotný mrtvolný zápach. Toto konstatování by bylo vhodné ověřit dalšími pokusy.

Během prvního pokusu se do chovného boxu kadáveru s traumaty dodatečně dostala *Hydrotaea ignava* z čeledi moučovití, její larvy jsou dravé a patrně ovlivnily počty larev čeledi bzučivkovití, které byly přítomné v boxu od začátku pokusu. Tímto mohlo dojít ke zkreslení výsledků, neboť nelze určit, zda v boxu s traumaty bylo předtím méně, stejně nebo více jedinců bzučivkovitých. Také nelze určit, zda bylo přítomno více druhů v boxu, a zda je larvy také neovlivnily *Hydrotaea ignava* (Šuláková, 2014, pers. comm.). Přítomnost druhu *Hydrotaea ignava* na kadáveru s traumaty lze vysvětlit i skutečností, že krev vytékající z ran je natolik silný atraktant, že láká zástupce čeledi moučovití ke kadáveru mnohem dříve, než je obvyklé. I tuto skutečnost bude nutné ověřit dalšími pokusy.

V rámci druhého pokusu byli zajištěni na intaktním kadáveru také 2 jedinci řádu škvoři, kteří využívají mrtvoly oportunisticky a živí se buď rozkládající se tkání nebo nekrofágním hmyzem (Mariani et al., 2014). Na kadáveru s traumaty byl přítomen hrobařík *Necrodes littoralis* (Linné, 1758) a několik dalších zástupců řádu dvoukřídlí, kteří se do chovného boxu dostali až dodatečně a nemají forenzní význam (Šuláková, 2014, pers. comm.). Přítomnost těchto druhů mohla částečně ovlivnit celkový počet larev, resp. much, které se na uvedeném kadáveru v tomto opakování vyvíjely.

Během třetího pokusu se nepodařilo odchovat larvy hmyzu ani na jedné z variant kadáverů. Lze předpokládat, že larvy pozorované na kadáveru s traumaty po 20. 10. 2014 vlivem ochlazení následně uhynuly.

Podle výsledků provedených pokusů bych doporučil, provést budoucí pokusy ve více opakováních, v odlišných biotopech a při různých teplotách, abychom získali a mohli hodnotit větší množství dat. Navrhoval bych i použít pokusné jedince s přítomnými traumaty, ale v rozdílné kondici, resp. tučné a hubené. Zároveň by bylo vhodné pokrýt delší časové období ponecháním obou variant kadáverů při volné expozici až do pokročilého rozkladu a hodnotit kromě prvních kolonizátorů, bzučivkovitých, i následující zástupce hmyzu.

7 Závěr

Přehled literatury pojednával o forenzní entomologii, rozkladu při volné expozici a vlivu traumatických ran na kolonizaci kadáveru hmyzem a o čeledi bzučivkovití. Uvedení autoři literárních zdrojů popisují téměř nulovou preferenci v náletu hmyzu a jeho kladení vajíček na kadáver s traumatickými ranami v porovnání s intaktním.

Získaná literární data byla ověřena terénními pokusy s následujícími výsledky:

- ◆ během pokusů za vyšších teplot docházelo k náletu hmyzu v téměř stejném počtu hmyzu. Ke kladení však docházelo v rozdílnou dobu, na kadáveru s traumaty dříve
- ◆ při nižších teplotách dával hmyz přednost kadáveru s traumaty

Pokusy provedené v podmínkách České republiky tedy přímo neověřily, zda a případně jaký vliv mají traumatická poranění na průběh kolonizace kadáveru hmyzem, popř. čeledi bzučivkovití.

8 Seznam literatury

- ◆ Amendt, J., Zehner, R., Reckel, F. 2008. The nocturnal oviposition behaviour of blowflies (Diptera: Calliphoridae) in Central Europe and its forensic implications. *Forensic Science International*. 2008 (175). 61-64.
- ◆ Amendt, J., Richards, C. S., Campobasso, C. P., Zehner, R. Hall, M. J. R. 2011. Forensic Entomology: applications and limitations. *Forensic Science, Medicine, and Pathology*. 2011 (2). 379-392.
- ◆ Anderson, G. A. 2010. Comparison of Decomposition Rates and Faunal Colonization of Carrion in Indoor and Outdoor Environments. *Journal of Forensic Science*. 2011 (56). 136-142.
- ◆ Arnaldos, M. I., Romera, E., Presa, J. J., Luna, A., Garcia, M. D. 2004. Studies on seasonal arthropod succession on carrion in the southeastern Iberian Peninsula. *International Journal of Legal Medicine*. 2004 (118). 197-205.
- ◆ Benecke, M. 2001. A brief history of forensic entomology. *Forensic Science International*. 2001 (120). 2-14.
- ◆ Benecke, M. 2004. Forensic Entomology: Arthropods and Corpses. In: Tsokos, T. (ed.) *Forensic Pathology Reviews*. 2004 (2). 207-240.
- ◆ Benecke, M. 2004. Forensic entomology special issue. Anil Aggraval's internet journal of forensic medicine and toxicology. 2004 (5). 50-54.
- ◆ Benecke, M. Josephi, E., Zwihehoff, R. 2004. Neglect of the Elderly: Forensic Entomology Cases and Consideration. *Forensic Science International*. 2004 (146). 195-199.
- ◆ Benecke, M. 2008. A brief history of forensic entomology. *Acta Biologica Benrodis*. 2008 (14). 15-38.
- ◆ Campobasso, C. P., Di Vella, G., Introna, F. 2001. Factors affecting decomposition and Diptera colonization. *Forensic science international*. 2001 (120). 18-27.
- ◆ Carvalho, L. M. L., Linhares, A. X. 2001. Seasonality of Insect Succession and Pig Carcass Decomposition in Natural Forest Area in Southeastern Brazil. *Journal of Forensic Science*. 2001 (3). 604-608.
- ◆ Catts, E. P. 1992. Problems in Estimating the Postmortem Interval in Death Investigations. *Journal of Agricultural Entomology*. 1992 (4). 245-255.
- ◆ Cross, P., Simmons, T. 2010. The Influence of Penetrative Trauma on the Rate of Decomposition. *Journal of Forensic Science*. 55 (2). 295-301.

- ◆ Cruz, A. M. 2006. Crime Scene Intelligence: An Experiment in Forensic Entomology. Occasional Paper Number Twelve. 1-81.
- ◆ Daněk, L., 1990. Možnosti využití entomologie v kriminalistice. Kriminalistický ústav VB. Praha. 140 s.
- ◆ Gennard D. 2012. Forensic Entomology: An Introduction. John Wiley & Sons Ltd. Chichester. p. 248. ISBN: 978-0-470-68903-5.
- ◆ Goddard, J., Fleming, D., Seltzer, J. L., Anderson, S., Chesnut, C., Cook M., Davis, E. L., Lyle, B., Miller, S., Sansevere, E. A. and Schubert W. 2012. Insect Succession on Pig Carrion in North Central Mississippi. *Midsouth Entomologist*. 2012 (5). 39-53.
- ◆ Grassberger, M., Frank, C. 2004. Initial Study of Arthropod Succession on Pig Carrion in a Central European Urban Habitat. *Journal of Medical Entomology*. 2004 (3). 511-523.
- ◆ Gunn, A. 2006. Essential Forensic Biology. John Wiley & Sons Ltd. Chichester. p. 285. ISBN: 978-0470-01277-2.
- ◆ Joseph, I., Mathew, D. G., Sathyan, P., Vargheese, G. 2011. The use of insects in forensic investigations: An overview on the scope of forensic entomology. *Journal of Forensic Dental Sciences*. 2011 (2). 89-91.
- ◆ Křístek, J., Urban, J. 2013. Lesnická entomologie. Academia. 445 s. ISBN: 978-80-200-2237-0.
- ◆ Kubík, Š., Povolný, D. 2005. Calliphoridae (bzučivkovití). In: Farkač J., Král D., Škopík M. (eds), Červený seznam ohrožených druhů České republiky. Bezobratlí. Agentura ochrany přírody a krajiny ČR Praha. s. 363-364.
- ◆ MacAulay, L. E., Barr D. G., Strongman, D. B. 2009. Effects of Decomposition on Gunshot Wound Characteristics: Under Moderate Temperatures with Insect Activity. *Journal of Forensic Science*. 54 (2). 443-447.
- ◆ Mariani, R., García-Mancuso, R., Varela, G. L., Inda, A. M. 2014. Entomofauna of a buried body: Study of the exhumation of a human cadaver in Buenos Aires, Argentina. *Forensic science international*. 237 (237). 19-26.
- ◆ Matuszewski, S., Bajerlein, D., Konwerski, D., Szpila, K. 2008. An initial study of insect succession and carrion decomposition in various forest habitats of Central Europe. *Forensic Science International*. 2008 (180). 61-69.
- ◆ Mohr, R. M., Tomberlin, J. K. 2014. Environmental Factors Affecting Early Carcass Attendance by Four Species of Blow Flies (Diptera: Calliphoridae) in Texas. *Journal of Medical Entomology*. 51 (3). 702-708.

- ◆ Parker, F. D., Welch, J. B. 1991. Field Comparisons of Attractants for the Screw worm Fly (Diptera: Calliphoridae) in a Tropical Dry Forest in Costa Rica. *Journal of Forensic Entomology*. 84 (4). 1189-1195.
- ◆ Sharma, R., Garg, R. K., Gaur, R. J. 2015. Various methods for the estimation of the post mortem interval from Calliphoridae: A review. *Egyptian Journal of Forensic Sciences*. 2015 (5). 1-12.
- ◆ Pohjoismäki, J. L. O., Karhunen, P. J., Goebeler, S., Saukko, P., Sääksjärvi, I. E. 2010. Indoors forensic entomology: Colonization of human remains in closed environments by specific species of sarcosaprophagous flies. *Forensic Science International*. 2010 (199). 38-42.
- ◆ Smith, K. G. V. 1986. *A Manual Of Forensic Entomology*. Cornell University Press. London. p. 205. ISBN: 0-565-00990-7.
- ◆ Šuláková, H. 2012. Forenzní entomologie. In: Štefan, J., Hladík, J. a kol (eds). *Soudní lékařství a jeho moderní trendy*. Grada Publishing, a.s. Praha. s. 315-321. ISBN: 978-80-247-3594-8.
- ◆ Šuláková, H., Barták, M. 2013. Forensically important Calliphoridae (Diptera) associated with animal and human decomposition in the Czech Republic: preliminary results. *Časopis Slezského Muzea Opava (A)*. 2013 (62). 255-266.
- ◆ Šuláková, H. 2014. Forenzní entomologie - když smrt je začátek. *Živa*. 2014 (5). 250-256.
- ◆ Šuláková, H., Barták, M., Vaněk, J. 2014. Bzučivkovití (Diptera, Calliphoridae) české části Krkonoš. *Opera Corcontica*. 2014 (51). 145-156.
- ◆ Voss, S. C., Cook, D. F., Dadour, I. R. 2011. Decomposition and insect succession of clothed and unclothed carcasses in Western Australia. *Forensic Science International*. 2011 (211). 67-75.
- ◆ Yount, L. 2007. *Forensic Science: From Fibers to Fingerprints*. Chelsie House. New York. p. 206. ISBN: 978-0-816-5751-1.

8.1 Elektronické zdroje

- ◆ Kubík, Š., Országh, I. Calliphoridae Brauer & Bergenstamm, 1880 [online]. Checklist of Diptera of the Czech Republic and Slovakia. 2009. [cit. 29. 3. 2015]. Dostupné z <<http://www.edvis.sk/diptera2009/families/calliphoridae.htm>>.

9 Přílohy

Říše	živočichové (Animalia)
Kmen	členovci (Arthropoda)
Podkmen	šestinozí (Hexapoda)
Třída	hmyz (Insecta)
Podtřída	křídlatí (Pterygota)
Řád	dvoukřídlí (Diptera)
Podřád	mouchy (Brachycera)
Infrařád	Muscomorpha
Skupina	Calyptratae
Nadčeleď	Oestroidea
Čeleď	bzučivkovití (Calliphoridae)

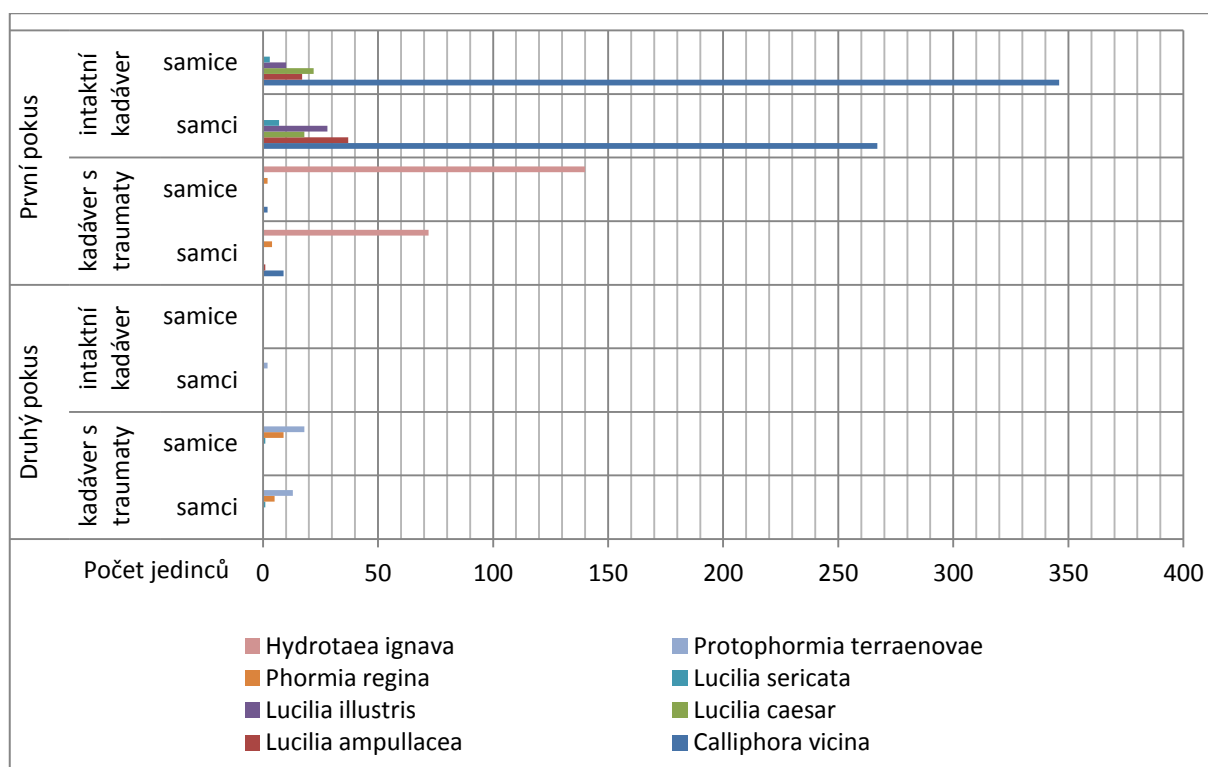
Tab. 1: Taxonomické zařazení čeledi bzučivkovití.

	První pokus			
	intaktní kadáver		kadáver s traumaty	
	samci	samice	samci	samice
<i>Calliphora vicina</i> Robineau-Desvoidy, 1830	267	346	9	2
<i>Lucilia ampullacea</i> Villeneuve, 1922	37	17	1	0
<i>Lucilia caesar</i> Villeneuve, 1922	18	22	0	0
<i>Lucilia illustris</i> (Meigen, 1826)	28	10	0	0
<i>Lucilia sericata</i> (Meigen, 1826)	7	3	0	0
<i>Phormia regina</i> (Meigen, 1826)	0	0	4	2
<i>Hydrotaea ignava</i> (Harris, 1780)	0	0	72	140

Tab. 2: Celkový počet zajištěných jedinců během prvního pokusu.

	Druhý pokus			
	intaktní kadáver		kadáver s traumaty	
	samci	samice	samci	samice
<i>Lucilia sericata</i> (Meigen, 1826)	0	0	1	1
<i>Phormia regina</i> (Meigen, 1826)	0	0	5	9
<i>Protophormia terraenovae</i> (Robineau-Desvoidy, 1830)	2	0	13	18

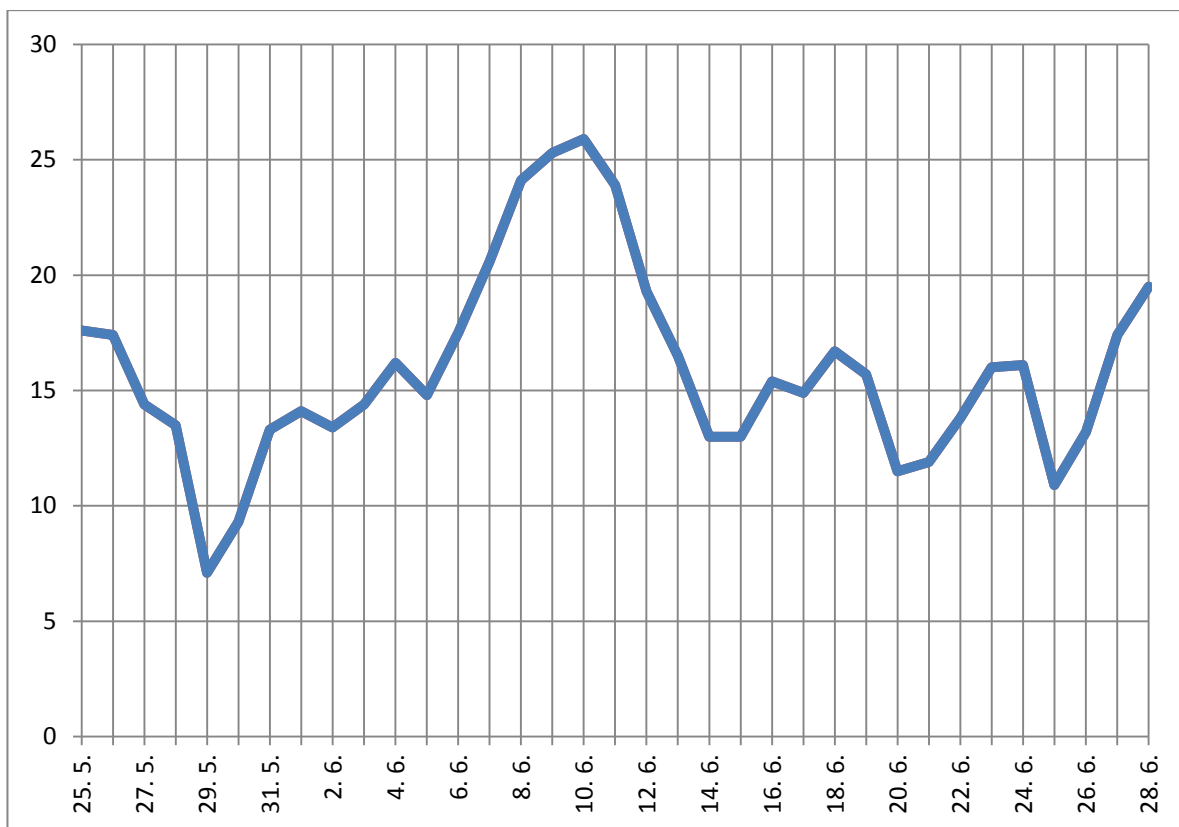
Tab. 3: Celkový počet zajištěných jedinců během druhého pokusu.



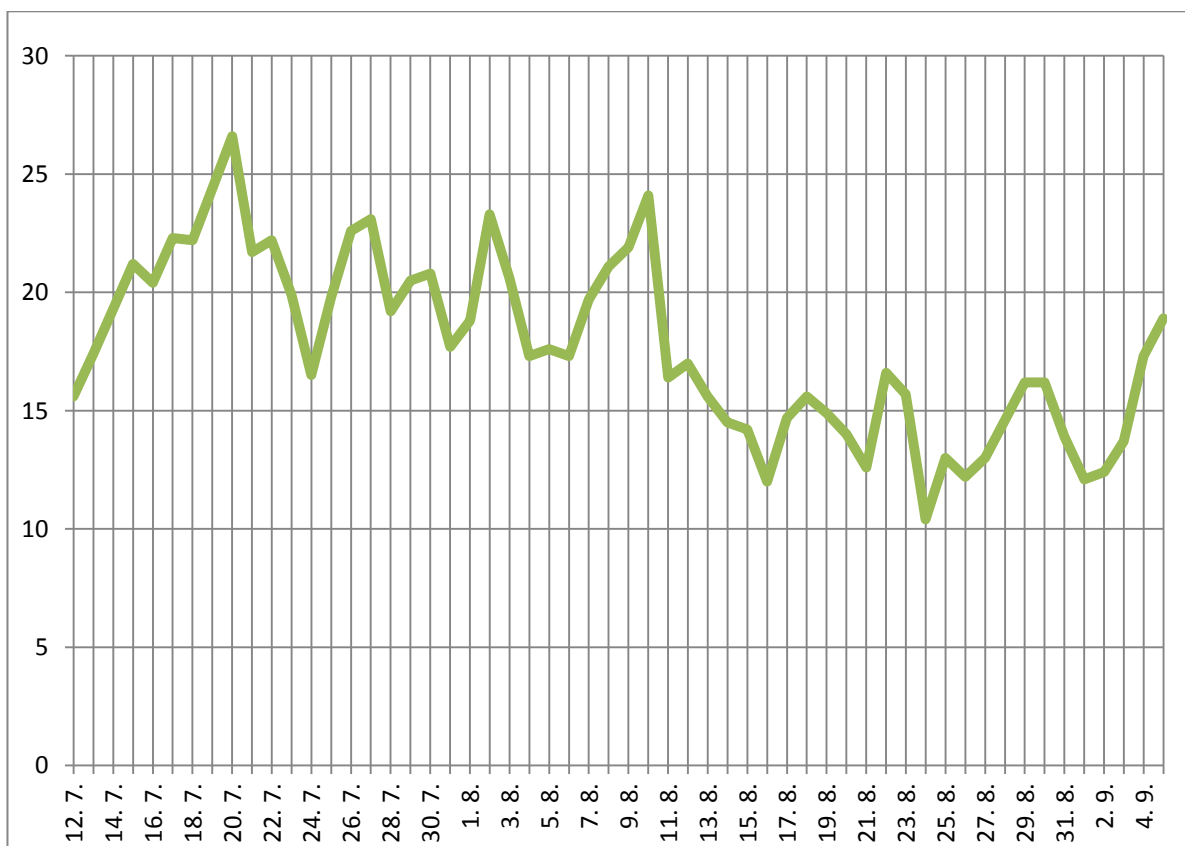
Graf 1: Srovnání celkového počtu zajištěných jedinců během prvního a druhého pokusu.

Den	05	06	07	08	09	10	11
1		14,1	13,9	18,8	12,1	14,8	11
2		13,4	17,5	23,3	12,4	12,9	11
3		14,4	18,2	20,6	13,7	11,8	11
4		16,2	22,5	17,3	17,3	10,3	11
5		14,8	18,4	17,6	18,9	11,1	11
6		17,5	21,7	17,3	18,8	10,6	11
7		20,6	22,0	19,7	18,4	11,3	11
8		24,1	19,9	21,1	18,4	12,8	11
9		25,3	13,7	21,9	15,8	14,2	11
10		25,9	12,5	24,1	13,8	13,5	11
11		23,9	15,8	16,4	12,6	13,9	11
12		19,3	15,6	17,0	14,1	14,4	11
13		16,5	17,4	15,6	15,4	15,2	11
14		13,0	19,3	14,5	16,0	12,8	11
15		13,0	21,2	14,2	17,2	11,5	11
16		15,4	20,4	12,0	16,8	12,8	
17		14,9	22,3	14,7	16,3	11,4	
18		16,7	22,2	15,6	15,9	11,4	
19		15,7	24,4	14,9	16,6	13,3	
20		11,5	26,6	14,0	16,5	12,9	
21		11,9	21,7	12,6	15,2	10,9	
22		13,8	22,2	16,6	9,6	4,8	
23		16,0	19,9	15,7	8,3	7,3	
24		16,1	16,5	10,4	10,5	5,7	
25	17,6	10,9	19,8	13,0	10,8	4,5	
26	17,4	13,2	22,6	12,2	11,2	12,0	
27	14,4	17,4	23,1	13,0	13,1	12,0	
28	13,5	19,5	19,2	14,6	12,7	12,0	
29	7,1	15,5	20,5	16,2	13,9	11,0	
30	9,3	12,9	20,8	16,2	15,7	11,0	
31	13,3		17,7	13,9		11,0	

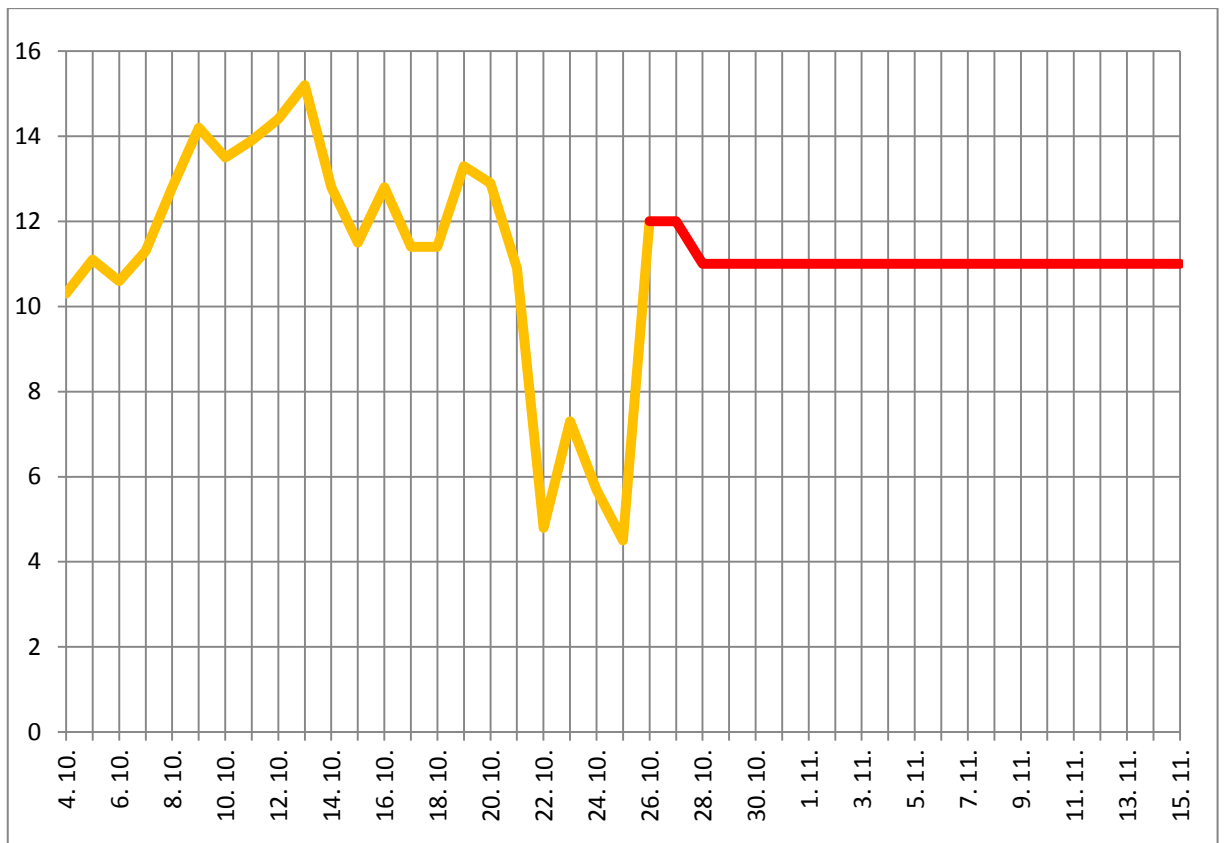
Tab. 4: Průměrné denní teploty naměřené během průběhu všech tří pokusů. Modře vyznačen první pokus, zeleně druhý, oranžově a červeně třetí, kdy oranžová představuje venkovní expozici a červená expozice ve sklepe (zdroj: Václav Pokorný, ČHMÚ, 2014).



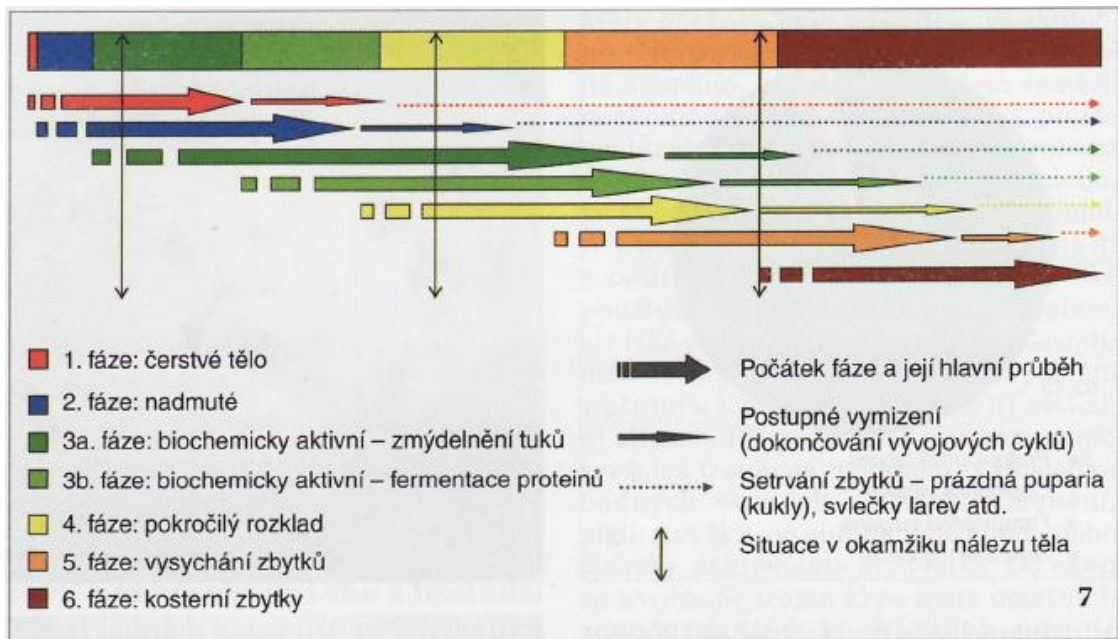
Graf 2: Průměrné denní teploty při prvním pokusu [°C].



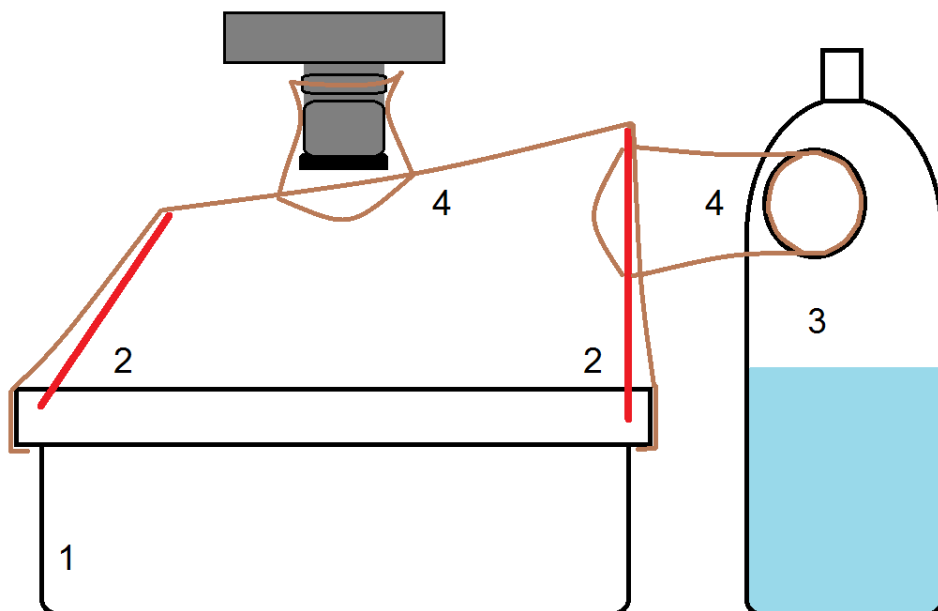
Graf 3: Průměrné denní teploty při druhém pokusu [°C].



*Graf 4: Průměrné denní teploty při třetím pokusu [°C].
(oranžově venkovní teploty, červeně teploty ve sklepě)*



Obr. 1: Průběh sukcese při volné expozici mrtvého těla. Počátek každé fáze definuje přilet prvních jedinců, postupné zvyšování jejich počtu a kladení. Následuje dominantní postavení skupiny s maximem jedinců, ať již dospělců nebo larev, a následný útlum, při kterém se dokončují generační cykly a dospělci odlétají (převzato: Šuláková, 2014).



Obr. 2: Schematický náčrt chovného boxu a odchyťového zařízení: 1 plastový box, 2 drátěná konstrukce, 3 sběrná láhev se smrtícím roztokem, 4 překrytí silonovou textilií, u které nohavice byly použity jako přístup pro hmyz do sběrné láhve a jako přístup pro objektiv fotoaparátu na fotodokumentaci.



Obr. 3: letecký pohled na oblast (zdroj mapy.cz, staženo 28. 3. 2015).



Obr. 4: pohled na blízké okolí místa expozice dne 25. 5. 2014 (Foto: Adam Vacek).



*Obr. 5: umístění chovných boxů s odchyťovými zařízeními ve skleníku, dne 25. 5. 2014
(Foto: Adam Vacek).*



Obr. 6: Kladení do zobáku na intaktním kadáveru, dne 25. 5. 2014 (Foto: Adam Vacek).



Obr. 7: Kladení do traumatické rány, dne 25. 5. 2014 (Foto: Adam Vacek).



Obr. 8: Vajička bzučivek v traumatické ráně, dne 26. 5. 2014 (Foto: Adam Vacek).



Obr. 9: Bzučivka olizuje krev na kadáveru s traumaty, dne 25. 5. 2014 (Foto: Adam Vacek).



Obr. 10: Přikrmení larev hovězími játry na kadáveru s traumaty, dne 31. 5. 2014 (Foto: Adam Vacek).



Obr. 11: První puparia v boxu s kadáverem s traumaty, dne 7. 6. 2014 (Foto: Adam Vacek).



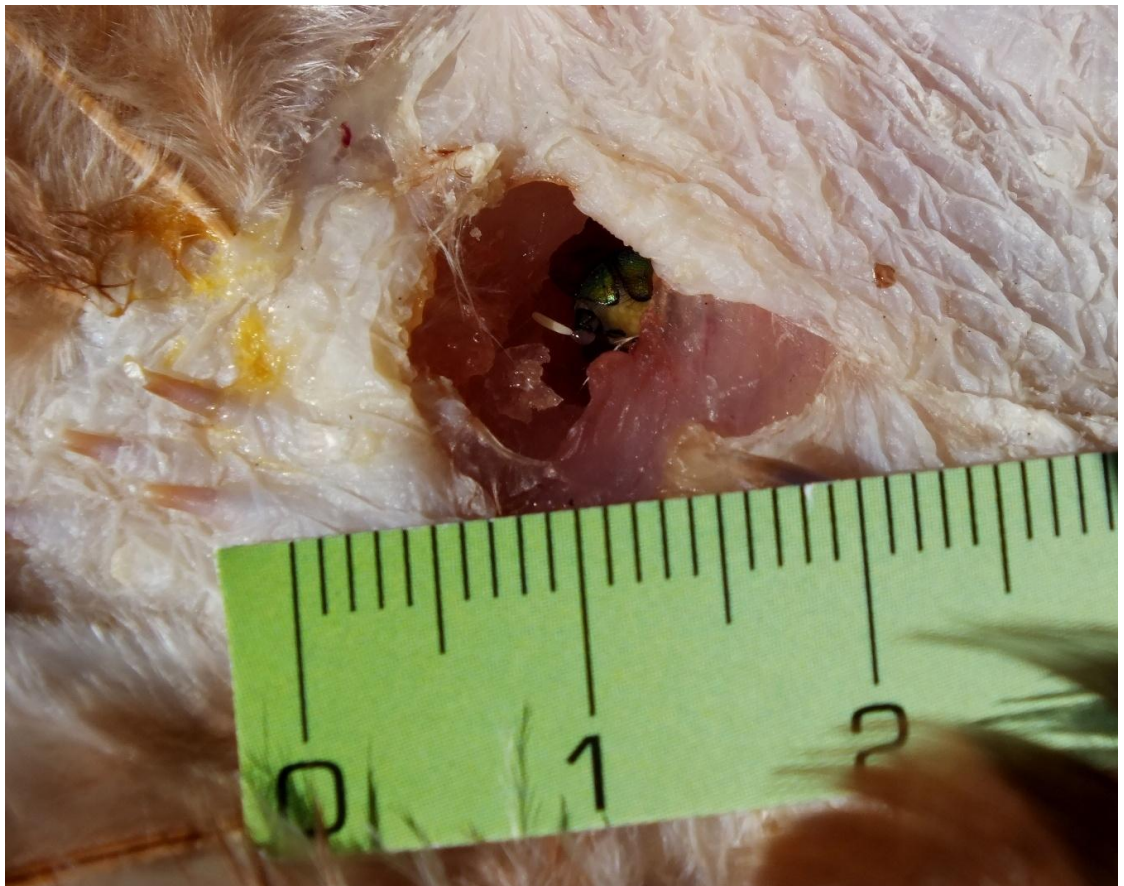
Obr. 12: Larvy a puparia v boxu s traumaty, dne 14. 6. 2014 (Foto: Adam Vacek).



Obr. 13: Puparia v boxu s intaktním kadáverem (pozn. autora: pod horním okrajem, mezi stěnou boxu s kadáverem), dne 14. 6. 2014 (Foto: Adam Vacek).



Obr. 14: Kladení bzučivek do traumatických ran, dne 12. 7. 2014 (Foto: Adam Vacek).



Obr. 15: Samice bzučivky při kladení v traumatické ráně, na spodní straně zadečku je vidět, že je „plná vajec“, dne 12. 7. 2014 (Foto: Adam Vacek).



Obr. 16: Kladení bzučivek pod intaktním kadáverem, dne 12. 7. 2014 (Foto: Adam Vacek).



Obr. 17: Otvory v silonové textilii a na ní nakladená vajíčka, dne 3. 8. 2014 (Foto: Adam Vacek).



*Obr. 18: Zástupce čeledi Staphylinidae v boxu s kadáverem s traumaty, dne 3. 8. 2014
(Foto: Adam Vacek).*



*Moucha sající krev na stěně boxu s kadáverem s traumaty, dne 4. 10. 2014
(Foto: Adam Vacek).*



Obr. 20: Bzučivka při kladení do traumatické rány, dne 4. 10. 2014 (Foto: Adam Vacek).



Obr. 21: Plíseň na intaktním kadáveru, dne 25. 10. 2014 (Foto: Adam Vacek).