

Univerzita Hradec Králové
Přírodovědecká fakulta
Katedra biologie

**Vliv ohoření a opaření kadáverů na druhové složení
prvních nekrobiontních kolonizátorů**
Diplomová práce

Autor: Bc. Tereza Foltová

Studijní program: N0588A030001 Biologie a ekologie

Studijní obor: Biologie a ekologie – spec. biologie živočichů

Vedoucí práce: doc. Mgr. Petr Bogusch, Ph.D.

Odborný konzultant: plk. Ing. Hana Šuláková, Ph.D.

Hradec Králové

Květen 2022



Zadání diplomové práce

Autor: Tereza Foltová

Studium: S19BI007NP

Studijní program: N0588A030001 Biologie a ekologie

Studijní obor: Biologie živočichů

Název diplomové práce: **Vliv ohoření a opaření kadaverů na druhové složení prvních nekrobiontních kolonizátorů**

Název diplomové práce AJ: The influence of burning and scalding of cadavers on the first necrobiotic colonizers

Cíl, metody, literatura, předpoklady:

Cílem diplomové práce je porovnat účinek ohoření působením otevřeného ohně anebo opaření vařící vodou kadaverů menších obratlovců (např. slepice, králík) na následnou kolonizaci nekrofágním hmyzem z čeledí Calliphoridae, Sarcophagidae a Muscidae. Na základě porovnání průběhu rozkladu kadaverů a druhového spektra jednotlivých nekrobiontů, kteří se zapojí do rozkladného procesu, bude zhodnoceno, zda ohoření anebo opaření vyvolají opožděný nástup prvních kolonizátorů (repellent efekt), urychlí kolonizaci, nebo nebude zaznamenán žádný vliv při porovnání s kadavery v kontrolní skupině.

Byrd J. H. & Castner J. L. (eds) (2010) The Utility of Arthropods in Legal Investigations. Forensic Entomology. 2nd ed. CRC Press, Boca Raton, FL

Gennard D.E. (2007) Forensic Entomology. An Introduction. Wiley

Smith K.G.V. (1986) A manual of forensic entomology. Comstock Publishing Associates, Cornell University Press, Ithaca, NY

Garantující pracoviště: Katedra biologie,
Přírodovědecká fakulta

Vedoucí práce: doc. Mgr. Petr Bogusch, Ph.D.

Datum zadání závěrečné práce: 24.1.2020

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně, a že jsem v seznamu použité literatury uvedla všechny prameny, ze kterých jsem vycházela.

V Hradci Králové dne

Jméno a příjmení

Poděkování:

Ráda bych touto cestou poděkovala vedoucímu mé diplomové práce doc. Mgr. Petru Boguschovi, Ph.D. a odborné konzultantce práce plk. Ing. Haně Šulákové, Ph.D. za jejich čas, vstřícný přístup a odborné vedení. Dále bych chtěla poděkovat rodině, přátelům a příteli za podporu a trpělivost při tvoření této práce.

Anotace

FOLTOVÁ, T. *Vliv ohoření a opaření kadáverů na druhové složení prvních nekrobiontních kolonizátorů*. Hradec Králové, 2022. Diplomová práce na Přírodovědecké fakultě Univerzity Hradec Králové. Vedoucí diplomové práce doc. Mgr. Petr Bogusch, Ph.D. 70 s.

Cílem této diplomové práce je porovnat účinek ohoření působením otevřeného ohně anebo opaření vařící vodou kadáverů menších obratlovců (např. slepice, králík) na následnou kolonizaci nekrofágním hmyzem z čeledí Calliphoridae, Sarcophagidae a Muscidae. Na základě porovnání průběhu rozkladu kadáverů a druhového spektra jednotlivých nekrobiontů, kteří se zapojí do rozkladného procesu, bude zhodnoceno, zda ohoření anebo opaření vyvolají opožděný nástup prvních kolonizátorů (repellent efekt), urychlí kolonizaci, nebo nebude zaznamenán žádný vliv při porovnání s kadávěry v kontrolní skupině.

V teoretické části je blíže vysvětlen předmět zájmu forenzní entomologie, její postupy a metody a její význam v dnešní kriminalistické praxi.

Klíčová slova:

Forenzní entomologie, sukcese, kadáver, ohoření a opaření, hmyz, Calliphoridae, Sarcophagidae a Muscidae

Annotation

FOLTOVÁ, T. Influence of burning and scalding of carcasses on the species composition of the first necrobiotic colonizers. Hradec Králové, 2022. Diploma thesis at the Faculty of Science, University of Hradec Králové. Diploma thesis supervisor doc. Mgr. Petr Bogusch, Ph.D. 70 p.

The aim of this diploma thesis is to compare the effect of burning by an open fire or scalding with boiling water of smaller vertebrate carcasses (eg hens, rabbits) on the subsequent colonization by necrophagous insects from the families Calliphoridae, Sarcophagidae and Muscidae. Based on a comparison of the cadaver decomposition and the species spectrum of individual necrobionts involved in the decomposition process, it will be assessed whether burns or scalds cause delayed onset of the first colonizers (repellent effect), accelerate colonization or no effect compared to cadavers in control group.

The theoretical part explains in more detail the subject of interest in forensic entomology, its procedures and methods and its importance in today's forensic practice.

Keywords:

Forensic entomology, succession, cadaver, burns and scalds, insects, Calliphoridae, Sarcophagidae and Muscidae

Obsah

1	Úvod	7
2	Literární přehled	8
2.1	Forenzní entomologie	8
2.2	Historie.....	11
2.3	Vztahy mezi živými a mrtvými organismy.....	13
2.4	Sukcesní vlny.....	16
2.5	Faktory ovlivňující PMI	22
2.6	Zajišťování entomologického materiálu	24
2.7	10 zlatých pravidel pro sběr entomologického materiálu	29
2.8	Calliphoridae	30
2.9	Sarcophagidae.....	33
2.10	Muscidae	34
2.11	Vliv ohně na nekrofágní hmyz.....	35
2.12	Farma těl	38
2.13	Budoucnost forenzní entomologie	38
3	Metodika.....	40
3.1	Výsledky.....	50
4	Diskuze	58
5	Závěr	60
6	Seznam použité literatury.....	61
7	Přílohy	65

1 Úvod

Forenzní entomologie je užitečným vědním oborem v kriminalistické praxi, který se v posledních letech velmi významně vyvíjí. Přes všechny známé skutečnosti v tomto oboru je neustále potřeba nových poznatků a informací, které je nutné experimentálně ověřovat. Tato diplomová práce by měla být nápomocna získáním poznatků k případům, ve kterých byl kadáver pozměněn vlivem vroucí vody či otevřeného ohně.

V teoretické části je kladen důraz na popis oboru forenzní entomologie, její význam v kriminalistické praxi, historii a je vysvětlen základní princip kolonizace kadáveru hmyzem a postup sběru entomologického materiálu. V neposlední řadě je v práci uvedena stručná charakteristika čeledí Calliphoridae, Sarcophagidae a Muscidae, jakožto prvních kolonizátorů.

2 Literární přehled

2.1 Forenzní entomologie

Forenzní (kriminalistická) entomologie je vědní obor kriminalistické praxe, který je založen na poznatcích a znalostech o hmyzu a ostatních bezobratlých při vyšetřování skutečností z oblastí občanského a trestního práva. Nejčastěji se využívá forenzní entomologie při určování délky intervalu mezi úmrtím a nalezením mrtvoly, tzv. post mortem intervalu (PMI). U mrtvol starších než 72 hodin se jeví entomologické metody jako jedny z nejpřesnějších při stanovení doby smrti. Určení PMI však není jedinou oblastí, ve které se poznatky forenzní entomologie uplatňují, lze ji využít i při řešení problematiky potravinářských škůdců či v oblasti parazitů lidí a zvířat (Šuláková 2014).

Podle Daňka (1980) může být forenzní entomologie nápomocna při zjišťování příčin náhlé smrti, vlivu existence hmyzu na příčiny a podmínky vzniku dopravních nehod nebo například při zjišťování podílu hmyzu na příčinách a vzniku některých nemocí z povolání.

Mezi základní principy forenzní entomologie náleží skutečnost, že tělo, které se po smrti rozkládá, respektive jednotlivé fáze rozkladu kadáveru jsou velmi atraktivní pro rozmanitou faunu včetně hmyzu (Byrd a Castner, 2010).

Povolný (1978) uvádí, že rozklad těl je spojen se sukcesí, tj. časově zákonitým sledem masožravého (saprofágního) hmyzu, zejména pak much. Důležitou skutečností přitom je, že hmyz je vybaven vysoce vnímavými smysly (zejména čichem) a mrtvé tělo je pro něj velmi atraktivní, tudíž se zpravidla na místě uložení mrtvoly objevuje jako první. Vycházíme-li z poznatků, že každá část této sukcese je spojena se stářím mrtvoly a v každé této fázi je tělo lákáno jiným mrchožravým hmyzem, jeho vývojové stadium může mít indikační význam pro určení doby úmrtí. Nejlépe k této indikaci slouží právě mrchožravé mouchy, respektive jejich larvy.

Nejčastěji se forenzní entomologie uplatňuje zejména v případech, kdy je mrtvola volně exponovaná a vystavena působení vnějších faktorů. Jednotlivé druhy saprofágního hmyzu se na mrtvole objevují v časovém sledu (sukcesi), který podléhá zákonitostem umožňujícím odvodit stáří mrtvoly s přesností až na dny. Pokud se zaměříme na taxonomii nalétaného hmyzu, největší podíl (zhruba 50 %) ve společenstvu představují brouci (Coleoptera), následují dvoukřídlí (Diptera, cca. 35 %), zbylá procenta připadají na motýly (Lepidoptera) nebo na blanokřídle (Hymenoptera). Ovšem z hlediska zastoupení počtu jedinců výrazně dominuje dvoukřídlý hmyz, respektive mouchy (Šuláková 2006).

U volně exponovaných mrtvol náleží mezi nejvýznamnější zástupce z řádu Diptera (dvoukřídlí) využívané při řešení trestných činů čeledi Calliphoridae (bzučivkovití), Sarcophagidae (masařkovití) a Muscidae (mouchovití). Mouchy těchto čeledí jsou heliofilní a aktivní pouze přes světelnou část dne, ve které jediné kladou vajíčka.

Tato skutečnost pomáhá určit relativně přesnou dobu, od které bylo tělo exponováno. Proto najde-li například vyšetřovatel zakladenou mrtvolu již brzy ráno, musí usuzovat, že mrtvé tělo je exponováno již od předchozího večera, neboť v průběhu noci nejsou mouchy aktivní a na kadáver tudíž nekladou. Současně je nezbytné brát na zřetel stupeň rozvoje larev, na které velmi významně působí celá škála faktorů, např. fotoperioda, teplota a déšť (Povolný, 1978).

Posmrtné změny na těle

Posmrtné změny se na těle začínají objevovat prakticky hned po smrti a postupují po časové ose (tab. 1) (Amendt et al., 2004)

Time after death	Postmortem changes	Modifiers	Category
0 minutes	Circulation and breathing stop Pallor Early lividity Muscular relaxation Sphincters may relax	Temperature Humidity Outdoor location Indoor location Submerged in water	Early changes
2 hours	Vascular changes in the eyes Rigor mortis begins Algor mortis begins Lividity occurs		Late changes
4–5 hours	Coagulation of blood Fixation of lividity		
24 hours	Drying of the cornea Re-liquefaction of blood		Putrid Tissue changes
48 hours	Rigor disappears Intravascular haemolysis		
72 hours	Loss of hair and nails		
96 hours	Skin slippage and bulla formation Bacterial overgrowth	Insect activity Animal activity	Bloated
Days – month	Green discoloration Bloating Release of gases Release of liquified internal organs Gradual loss of soft tissues Partial skeletonization Complete skeletonization	Mummification Adipocere formation	Destruction Skeleton

Tab 1: Posmrtné změny v lidském těle - při 21 °C a 30 % vlhkosti (Amendt et al., 2004)

Z tabulky č. 1 je patrné, že hned po smrti nastává zastavení krevního oběhu a dechu a může nastat relaxace svěračů. Již po 24 hodinách nastávají různé hnilobné změny tkáně a po 96 hodinách nastává nadmutí těla a tvorba plynů, které jsou pro určité druhy hmyzu velmi atraktivní (Amendt et al., 2004).

Po smrti se na změnách těla podílejí zejména dva procesy – hniloba a autolýza. V závislosti na okolnostech smrti a klimatu může nastat dominance jednoho z těchto procesů. Hnilobný proces zahrnuje především působení bakterií na tkáně a převládá zejména ve vlhkém prostředí. Oproti tomu autolýza probíhá prostřednictvím rozkladných procesů těla endogenními látkami ve více suchých oblastech a při přetrvávajících podmínkách může postupně vést až k mumifikaci (Presnell, 2013).

V případě, že je v ovzduší nedostatek vlhkosti (zejména v poušti a v polopoušti), nastává rozklad mrtvého těla velmi rychle a převládá proces mumifikace. V normálním klimatu střední Evropy ovlivňuje posmrtné změny nejvíce teplota. Rozkladné procesy těla jsou tím kratší, čím je průměrná denní teplota vyšší. V horských oblastech, kde je průměrná teplota nižší, jsou jednotlivé fáze značně delší (Daněk, 1990).

I přes skutečnost, že soudní lékařství a forenzní entomologie představují na první pohled dva obory, které nahlíží na stejný objekt zájmu z rozdílných úhlů pohledu, nelze tvrdit, že tam, kde končí možnosti jednoho, začínají možnosti druhého. Pouze pokud se správně a komplexně zkombinují poznatky z lékařství a entomologie, lze dosáhnout úrovně vedoucí k získání veškerých informací z mrtvého těla (Šuláková a kol., 2013).

2.2 Historie

První zdokumentované využití forenzní entomologie pochází z 13. století z Číny. Tamní právník a vyšetřovatel Sung Tzu popisuje případ, ve kterém byl muž pobodán poblíž rýžového pole a podezřelý z tohoto činu byl rolník. Den po činu byli požádáni všichni dělníci z pole, aby předložili své pracovní nástroje. Přestože všechny srpy vypadaly čistě, byly na jednom z nich neviditelné (tzv. latentní) stopy krve, které přilákaly mouchy. Tak se pomocí much podařilo získat doznání pachatele vlastního tento nástroj. Uvedený případ byl popsán knize s názvem „Hsi yuan chi lu“ (lze přeložit jako „Ospravedlnění od křivd“) (Benecke, 2004).

Během let 1346 až 1351, v rámci kterých mor zahubil v Evropě až třetinu obyvatel, byly získávány další informace o hmyzu na mrtvých tělech. Vzhledem k morové epidemii bylo všude spoustu mrtvých těl, které přeživší nestačili pohřbívát, a to umožnilo detailní zkoumání rozkladného procesu a pozorování činnosti hmyzu na mrtvolách. V této době se začínají objevovat také umělecká díla znázorňující náznaky vzájemného vztahu mrtvých těl a hmyzu. Larvy byly vyobrazovány, jak požírají kůži, a mouchy, jak požírají vnitřní orgány (Benecke, 2008).

Obdobně jak si lidé dříve mysleli, že je Země plochá a Slunce obíhá kolem Země, i ve forenzní entomologii se vyskytovaly různé mýty a předsudky. Lidé věřili, že larvy se na hnijícím masu objevují spontánně. Tento fakt vyvrátil až v roce 1668 italský fyzik Francesco Redi, který provedl pokus se dvěma kusy masa. Jedno maso zabalil do gázy a druhé nechal volně ložené. Na volně exponovaném masu se velmi rychle objevily larvy, oproti tomu na krytém se žádné larvy nevyskytovaly. Na povrchu gázy našel pouze mušička (Hadley, n.d.).

V roce 1767 popsal biolog Carl von Linné při studiu nekrofágních členovců jejich stěžejní význam při dekompozici kadáverů. Uvedl, že tři mouchy dokáží spořádat tělo koně stejně rychle jako lev (Campobasso et al., 2001).

První moderní případ využití forenzní entomologie při odhadu post mortem intervalu (PMI) byl prezentován v roce 1855 francouzským lékařem Louisem Bergeretem. Bergeret využil principy forenzní entomologie na případě mrtvoly dítěte nalezené v krbu bytu, který postupně obývalo několik rodin. Na základě nalezených pupáří much a housenek molů dokázal určit dobu, jak dlouho bylo dítě ukryté v krbu, a která rodina ho zde schovala (Šuláková, 2017).

První systematickou studii zabývající se forenzní entomologií sepsal německý lékař Hermann Reinhard v roce 1881. Reinhard studoval exhumovaná těla a na základě svých pozorování usoudil, že larvy, které našel na mrtvolách, spíše souvisely s kořeny rostlin, které prorůstaly do hrobů, než se samotnými mrtvými těly (Benecke, 2001).

Ve stejném období veterinář a lékař Jean Pierre Megnin přišel s teorií, že na mrtvých tělech se střídají ekologické vlny hmyzu, a popsal, jak se jednotliví zástupci hmyzu střídají na mrtvole. Všechny své poznatky z oboru forenzní entomologie sepsal v knize „La faune des Cadavers“ (Fauna mrtvolná). V knize poprvé popisuje sukcesní fáze na tělech při různých expozicích, morfologické znaky forezně významných skupin hmyzu a příklady využití forenzní entomologie v praxi. Kniha se stala stěžejní prací forenzní entomologie a její poznatky byly součástí kriminalistické praxe až do 50. let 20. století. V neposlední řadě svou prací inspiroval další vědce ke zkoumání tohoto oboru, a proto je Megnin oprávněně považován za průkopníka moderní forenzní entomologie (Benecke, 2008).

V roce 1919 profesor Hermann Merkel předložil důkaz o odlišnosti činnosti a zastoupení hmyzu na mrtvých tělech v závislosti na okolnostech úmrtí. Svoje tvrzení demonstroval na případu mladíka, který zavraždil své rodiče a tři týdny uchovával jejich mrtvoly v uzavřeném bytě. Přestože oba rodiče zemřeli ve stejnou dobu, byla těla nalezena v odlišných stádiích dekompozice. Obězní matka byla střelena do srdce a její tělo bylo značně nadmuté, oční bulvy zničeny larvami a mozek byl činností larev v tekutém stavu, avšak její vnitřní orgány byly nedotčené a bez přítomnosti larev. Oproti tomu hubené tělo otce bylo kompletně kolonizované larvami a všechny vnitřní orgány byly zničeny. Důvodem vyššího počtu larev na těle otce byla skutečnost, že byl nejen postřelen, ale měl po těle i několik bodných ran, což lákalo mouchy ke kladení vajíček nejen do obličejové části, ale i do otevřených ran na zbytku těla (Benecke, 2001).

Jeden z případů využití forenzní entomologie nejen k určení PMI prezentoval v roce 1950 Hubert Caspers. Na základě schránek chrostíků nalezených na těle byl schopný prokázat, že došlo k přenesení mrtvoly z místa činu na místo nálezu (Benecke, 2001).

V 60. a 80. letech byla forenzní entomologie udržována a rozvíjena především lékařem Marcelem Leclercqem a profesorem Pekkou Nuortevem (Benecke, 2001) a do současné doby se výzkum a poznatky na poli forenzní entomologie po celém světě rozvíjí. Na základě stále nových a přesnějších poznatků se forenzní entomologie stala po celém světě významnou součástí vyšetřování trestných činů, včetně vražd, zanedbávání dětí a týrání zvířat (Benecke, 2008).

2.3 Vztahy mezi živými a mrtvými organismy

Živočišná těla jsou v přírodě potravou pro celou řadu dalších živočichů. Nalézáme zde druhy, které se živí tkáněmi, jiné druhy se živí celými těly živočichů, další spotřebovávají mrtvá těla a poslední skupina se živí mrtvými částmi těl. Kadáver živočicha, člověka nevyjímaje, se stává součástí daného biotopu a vyvíjí se na něm dílčí společenstvo určitých druhů, které se nazývá merocenóza (konnex). Bílkoviny mrtvého těla představují snadno dostupný a lehce stravitelný zdroj potravy. Nermalou výhodou pro nekrofága konzumujícího mrtvá těla je skutečnost, že s mrtvým tělem nemusí svádět boj, aby dosáhl zdroje potravy. Nekrofágní členovci se na mrtvole objevují ve velkých počtech, vyvíjí se na ní jejich potomstvo a mezi určitými druhy může docházet ke konkurenčnímu boji. Nekrofágové jsou k tělu lákáni především pachem uvolňujících se plynných látek (Daněk, 1990).

Mrtvé lidské tělo vyhledává řada různých zvířat, především hmyz. Ten se ovšem nevyskytuje na těle současně ve stejné době, ale kolonizuje jej v určitém sledu, v závislosti na fázi rozkladu. V této merocenóze převládají zástupci z řádu brouků, dvoukřídlých a nejmenší podíl představují motýli, cizopasně vosy, mravenci a další (Daněk, 1990).

Larvy dvoukřídlého hmyzu, především much, jsou výlučnými konzumenty mrtvých těl (nekrofágové i saprofágové). Jejich imaga se na těle zdržují jen po nezbytně nutnou dobu, po dobu kopulace a u samic při kladení vajíček. Brouci mají v tomto případě složitější potravní vztahy. Na mrtvém těle se objevují jak jejich larvy, tak dospělí jedinci, pro něž je kadáver rovněž zdrojem potravy. Je nepochybné, že nekrofágní hmyz se stává významným reducentem a likvidátorem mrtvých těl v přírodě (Daněk, 1990).

Hmyz je lákán k mrtvému tělu bezprostředně po smrti, často v řádu několika minut. Některé taxony můžeme řadit mezi pozdní kolonizátory a některé do skupin nemrchožravých druhů (Amendt et al., 2004).

Smith (1986) uvádí, že na mrtvém těle je možné nalézt čtyři ekologicky rozdílné skupiny hmyzu:

1) Nekrofágní druhy

Tato skupina hmyzu se živí přímo mrtvým tělem a je jednou z nejdůležitějších skupin při určení času smrti. Radíme sem z řádu dvoukřídlí (Diptera) především zástupce čeledi bzučivkovití (Calliphoridae) a z řádu brouci (Coleoptera) zejména zástupce čeledi mrchožroutovití (Silphidae) a kožojedovití (Dermestidae).

2) Predátoři a parazité nekrofágních druhů

Mezi zástupce této kategorie patří hmyz živící se ostatními druhy hmyzu a členovců, kteří se na mrtvole nacházejí. Jedná se o druhou nejdůležitější kategorii forenzně významného hmyzu. Příkladem mohou být brouci z čeledi drabčíkovití (Staphylinidae) nebo někteří zástupci dvoukřídlých, kteří se stávají predátory až v pozdějších larválních instarech – např. rod *Chrysomya* z čeledi bzučivkovití (Calliphoridae) nebo rody *Hydrotea* a *Ophyra* z čeledi mouchovití (Muscidae).

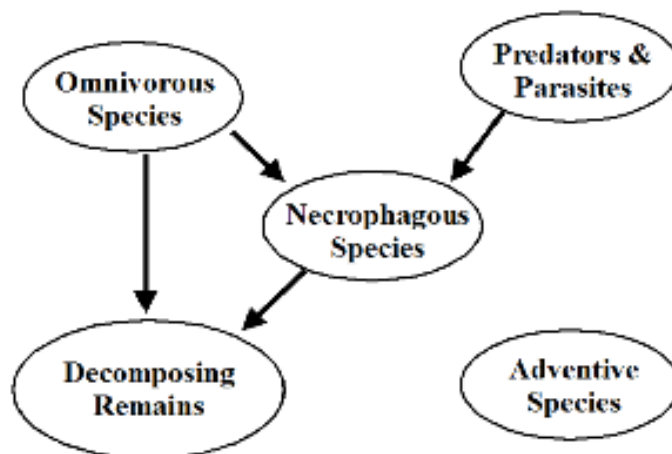
3) Omnivorní druhy hmyzu

Zástupci této kategorie se živí jak tkáněmi kadáveru, tak jeho kolonizátory. Patří sem například vosy (Vespidae), mravenci (Formicidae), nebo někteří brouci (Coleoptera).

4) Adventivní druhy hmyzu

Do poslední kategorie můžeme zařadit chvostoskoky (Collembola) nebo pavouky (Araneae), kteří využívají mrtvé tělo jako rozšíření svého životního prostředí).

Vzájemné vztahy jednotlivých skupin hmyzu na kadáveru prezentuje obrázek č. 1 (Quinn, 2013).



Obr. 1: Vzájemné vztahy organismů a mrtvého těla (Quinn, 2013)

Laupy (1994) uvádí, že se zvyšujícím se počtem larev se na mrtvém těle začínají uplatňovat regulační mechanismy vnitrodruhové, ale také mezidruhové konkurence, pomocí kterých dochází poměrně rychle k vyvážení aktuální potravní nabídky (tkáň mrtvolky) a množství larev podílejících se na konzumaci kadáveru. Dále uvádí, že jeden gram larev je schopný během svého vývoje rozložit přibližně 3,2 g – 3,5 g masa. Nekrofágní larvy much uvolňují do svého okolí trávicí enzymy

(proteázy, lipázy a kolagenázy), které slouží k odbourání tkáňových bílkovin, tuků a vaziv. Tyto enzymy silně alkalizují své okolí (pH 9 a více) a tímto způsobem mimotělní trávení zvyšuje intenzitu rozkladu mrtvoly. Na mrtvém těle probíhají procesy spojené s uvolňováním značného množství amoniaku, který je toxický pro nekrofágní brouky, a tím je účinně omezena jejich aktivita, zejména v počátečních stadiích rozkladu mrtvoly. Za optimálních podmínek (teplota prostředí, vlhkost) již během 7-10 dnů dochází rozkladem a konzumací měkkých tkání larvami k redukci tělesné hmotnosti mrtvoly o 80 % až 90 %. V této fázi je činnost nekrofágních larev much kvantitativně významnější než činnost mikrobiální. Kvantitativní zastoupení nekrofágních druhů se mění v souladu s geografickými podmínkami a ročním obdobím.

2.4 Sukcesní vlny

Činnost bezobratlých při rozkladu kadáveru, jejich druhové zastoupení, postupné střídání a výsledný vliv, lze označit jako sukcesi saprofágních organismů na mrtvole, ve které tyto organismy navštěvují tělo v tzv. sukcesních vlnách. Konečným stadiem sukcese (klimaxem) je v těchto případech označován stav, při kterém zůstávají pouze kosterní zbytky a na jejichž rozkladu se již bezobratlí nepodílejí (Eliášová a Šuláková, 2012).

Sukcesní vlny, jejich počet a zastoupení jednotlivých vln se odvíjí od prostředí, v němž se mrtvola nachází. Každé prostředí poskytuje specifické podmínky, specifický postup rozkladu mrtvoly a s tím související zastoupení hmyzu na mrtvém těle. Na základě těchto podmínek rozlišujeme mrtvoly volně exponované, pohřbené, mrtvoly v uzavřených prostorách a ve vodním prostředí (Eliášová a Šuláková, 2012).

Mrtvoly volně exponované

Dle Šulákové (2017) lze u mrtvol volně exponovaných v klimatických podmínkách střední Evropy rozlišit šest sukcesních vln (fází). Jednotlivé fáze jsou doplněné o některé poznatky Eliášové a Šulákové (2012) a Šulákové (2014).

Průběh jednotlivých vln a jejich zástupci jsou následující:

-1. sukcesní vlna (fáze): čerstvé tělo - Tato fáze se objevuje bezprostředně po smrti a jsou pro ni charakteristické zejména mouchy, které láká zápach krve, čerstvého masa a potu, a to především, pokud smrt nastala následkem poranění. Pokud oběť již za života krvácí a je bezmocná, může kolonizace a zaklazení nastat ještě před smrtí. Mouchy kladou vajíčka do ran a na oděv nasáklý krví, v případě mrtvol bez zjevných zranění (inaktních) nastává kladení do přístupných sliznic očí, úst, nosu nebo urogenitálního traktu (Daněk, 1990).

Nejvýznamnějšími zástupci této vlny jsou dle Daňka (1990) především mouchy z čeledi Calliphoridae (bzučivkovití), a to zejména *Calliphora vicina* (Robineau-Desvoidy, 1830) a *Calliphora vomitoria* (Linnaeus, 1758), dále pak zelené kovově lesklé mouchy rodu *Lucilia*. Mohou se zde vyskytovat i zástupci čeledi mouchovití (Muscidae), jako například *Musca domestica* (Linnaeus, 1758) (Daněk, 1990). Naproti tomu Šuláková (2014) uvádí, že *Musca domestica* se na mrtvolách vyskytuje jen vzácně a do této vlny řadí také druhy *Protophormia terraenovae* (Robineau-Desvoidy, 1830) a *Phormia regina* (Meigen, 1826) z čeledi Calliphoridae (bzučivkovití). Na jedné mrtvole se často vyvíjí dva až pět druhů bzučivek současně. Jeden nebo dva druhy jsou dominantní a ostatní se na mrtvole vyskytují pouze v omezeném množství.

-2. sukcesní vlna (fáze): nadmuté tělo - Zástupci z této fáze napadají tělo ve chvíli, kdy se v těle začínají působením bakterií tvořit plynné látky, které tělo nadouvají, a tělo začíná páchnout. V této fázi hmyz láká uvolňovaný rozkladný plyn

a za příznivých klimatických podmínek může fáze nastat již druhý den po smrti. Na těle se začínají objevovat mouchy rodu *Lucilia*, dále zástupci čeledi masařkovití (Sarcophagidae), a to především masařka *Sarcophaga carnaria* (Linnaeus, 1758) (Daněk, 1990). Šuláková (2014) však uvádí, že kriminalistická praxe zpochybňuje její přímou vazbu na mrtvolu. Nejběžnější masařkou, kterou lze považovat za forenzně relevantní je *Sarcophaga argyrostoma* (Robineau-Desvoidy, 1830) (Šuláková, 2017). Páchnoucí plynné látky mohou již začít lákat první zástupce nekrofágních brouků z rodu hrobařík (*Nicrophorus*) či mrchoužrouty rodu *Thanatophilus* a druhu *Necrodes littoralis* (Linnaeus, 1758).

Dále probíhá činnost larev much z 1. vlny a z čeledi Calliphoridae se zde začínají objevovat druhy *Protophormia terranova* nebo *Cynomya mortuorum* (Linnaeus, 1761) (Daněk, 1990).

-3. sukcesní vlna (fáze): biochemický aktivní rozklad - Této fázi dominuje ztekutění tkání, tělo je biochemicky aktivní a nastávají dva procesy: a) zmýdelnění tuků a b) fermentace proteinů. Při zmýdelnění tuků se tvoří těkavá kyselina máselná, která dále láká mouchy z čeledi Muscidae. Z nových nekrofágních brouků zaznamenáváme kožojedy (Dermestidae) a pestrokrovečnický (Cleridae) (Daněk, 1990). Šuláková (2014) uvádí jako typického zástupce pro tuto fázi z čeledi Muscidae druh *Hydrotea ignava* (Harris, 1780). Samice tohoto druhu nekladou však na tělo, ale pod tělo do tzv. lože mrtvolu.

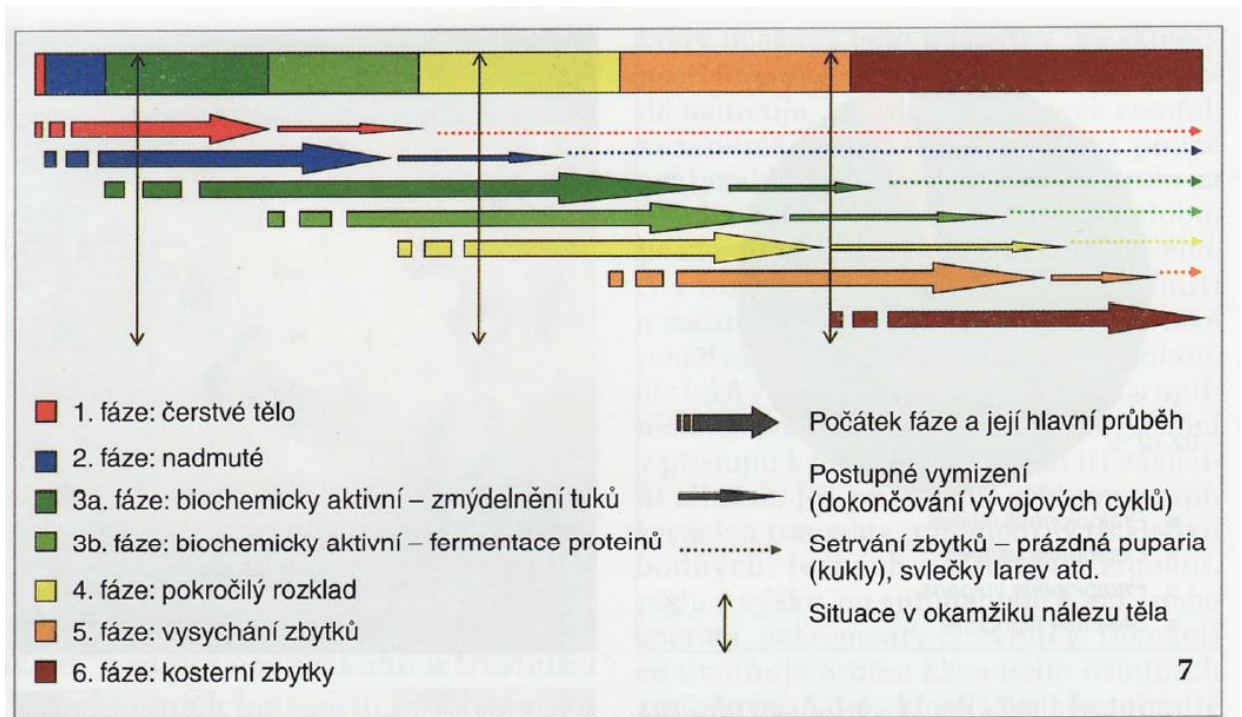
Při fermentaci proteinů, někdy též nazývané „sýrová fermentace“, se vytvářejí kaseózní látky připomínající svým zápachem přežralý sýr. Tato fáze z much láká především sýrohlodku *Piophilidae casei* (Linnaeus, 1758) (Piophilidae) a také octomilky (Drosophilidae) (Daněk, 1990).

-4. sukcesní vlna (fáze): pokročilý rozklad - V této fázi nastává čpavková fermentace zbytků měkkých tkání a vyvíjí se amoniakální páry. Na tyto látky dále reagují drobné mušky hrbilky (Phoridae) (Daněk, 1990).

-5. sukcesní vlna (fáze): vysychání zbytků měkkých fází - Pro tuto sukcesní fázi je typické, že dochází k vysychání zbytků měkkých tkání na mrtvole a jejich mumifikaci. Toto období většinou nastává ke konci prvního roku a ve druhém roku stárí mrtvolu. Nově se zde objevují zástupci brouků z rodu hlodáč (*Trox*) a zbytky mrtvolu začínají kolonizovat různé druhy roztočů (Acari) (Daněk, 1990).

-6. sukcesní vlna (fáze): fáze kosterních zbytků. Z mrtvého těla zůstává zachována kostra, která je již zcela vysušena a nalézají se na ní, nebo v jejím blízkém okolí pouze vysušené chrupavky, zbytky vlasů, popřípadě vazivo. V této fázi kostru napadá už pouze hmyz, který je potravně vázán na sušené maso, suché mršiny, kosti, kůži, peří apod. Nejčastěji zde můžeme nalézt kožojedy a rušníky. Může se objevovat také mol či zavíječ. Tato fáze se však ve volném terénu téměř nevyskytuje, protože na mrtvolu neustále působí různé povětrnostní vlivy (Daněk, 1990).

Při hodnocení výsledků nálezů uvedené nekrofágní fauny je nezbytné brát v potaz skutečnost, že jednotlivé vlny nelze přesně ohraničit, protože přechody fází jsou plynulé a zástupci bezobratlých typických pro různé fáze se na těle vyskytují zároveň (Tab. 1). Hlavní roli hrají klimatické podmínky, jakými jsou např. roční doba, teplota, počasí, vlhkost, složení půdního podkladu pod mrtvolou, rostlinný kryt, složení půdní fauny, sluneční expozice a v neposlední řadě také vliv některých živočichů a člověka (Daněk, 1990).



Tab 2: Prolínání jednotlivých sukcesních fází (Převzato: Šuláková, 2014)

Dalšími významnými faktory ovlivňující sukcesi mohou být vlastnosti mrtvého těla, což znamená: stáří, váhu, pohlaví, příčinu smrti, oblečení, rozsah poranění, ochlupení apod. (Daněk, 1990).

Všechno výše uvedené může významně ovlivnit, urychlit nebo naopak zpomalit rozkladné pochody, což následně ovlivní výskyt nekrofágní fauny v jednotlivých fázích, jak kvantitativně, tak kvalitativně (Daněk, 1990).

Z kriminalistického hlediska mají největší důkazní hodnotu zejména zástupci řádu dvoukřídlí (Diptera), především mouchy 1. až 5. fáze, a z řádu brouci (Coleoptera) se jedná o zástupce rodu kožojed (*Dermestes*) (Daněk, 1990).

Mrtvoly v uzavřených prostorech

Jedná se především o mrtvoly nalezené v bytech, na půdách, ve sklepích, nebo například v jeskyních či zahradních domcích. Každý tento uzavřený prostor má své specifické složení fauny, která se na rozkladu kadáveru podílí. V bytech jsou to nejčastěji druhy, které po celý rok žijí v blízkosti člověka (synantropní druhy) nebo druhy, které v obydlích pouze přezimují (hemisynantropní). Z těchto druhů to bude především moucha domácí (*Musca domestica*), mol šatní (*Tineola biselliella*, Hummel, 1823) nebo kožojed obecný (*Dermestes lardarius*, Linnaeus, 1758) (Eliášová a Šuláková, 2012).

Mrtvoly pohřbené nebo zahrabané

Do této skupiny můžeme zařadit těla ukrytá v ilegálních hrobech (s ohledem na hloubku pohřbení označované jako mělké hroby), těla zakrytá nebo zabalená do různých, často plastových, obalů, ale také těla v rakvích v legálních hrobech. Hmyz se k mělce pohřbeným tělům může dostávat různými způsoby. Při prvním samička naklade vajíčka na povrch půdy a vylíhlé larvy prolézají půdním profilem k mrtvému. Uvedenou strategii lze pozorovat u much z rodu *Muscina* (Muscidae). Jiný způsob využívají drobné hrbilky (Phoridae), u kterých samička sama prolézá půdním profilem až k pohřbenému tělu a klade vajíčka přímo na něj (Eliášová a Šuláková, 2012).

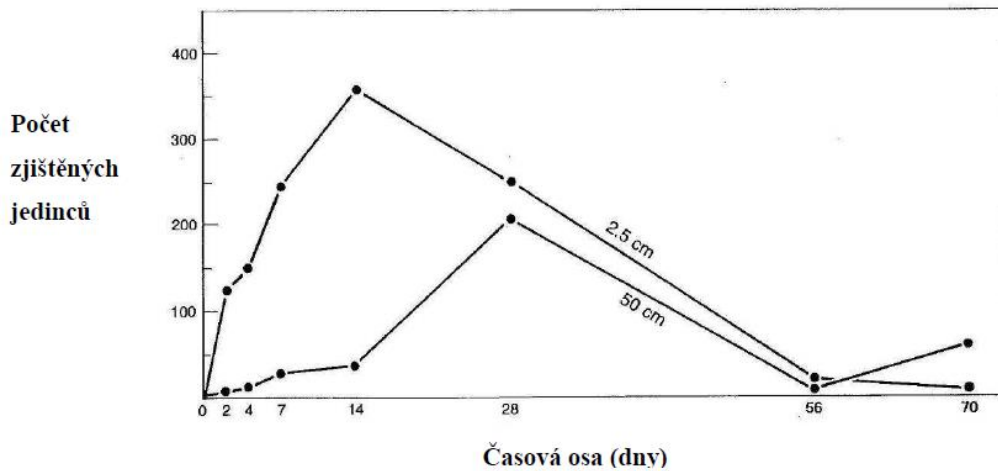
U mrtvol pohřbených v rakvích je druhová skladba hmyzu ovlivněna především dobou mezi smrtí a pohřbením, dobou vystavení mrtvoly v márnici, dále zda je tělo uloženo do hrobky či vykopaného hrobu, hloubkou pohřbení, vlhkostí okolní půdy a dalšími faktory (Daněk 1990).

Důležitým poznatkem je, že zakrytím půdou dojde k úplnému vyřazení činnosti bzučivek (Calliphoridae), které jsou v podmínkách střední Evropy hlavními rozkladači mrtvol při volné expozici. Současně se s pohřbením mnohonásobně prodlužuje (zpomaluje) rozklad těla činností hmyzu. U odkryté mrtvoly (především neoblečené) se při 20 °C během jednoho týdne odbourá kolem 90 % původní váhy. Oproti tomu u zakrytého kadáveru, se činností much odbourá po 6 týdnech pouze 20 % původní váhy (Daněk 1990).

Vzhledem k faktu, jak markantní rozdíl je mezi volně exponovanou a pohřbenou mrtvolou, lze velmi jednoduše zjistit, zda byla mrtvola pohřbena hned po smrti, nebo až po nějaké době. Nalezneme-li na mrtvole larvy bzučivek je zcela jasné, že mrtvola byla pohřbena až druhý den, pokud zde nalezneme brouky čeledi mršníkovití (Histeridae) byla pohřbena až po třech dnech apod. (Daněk 1990).

Velký vliv na činnost hmyzu u pohřbených mrtvol má také hloubka, ve které se mrtvola nachází (Graf 1). Z grafu č. 1 vyplývá že po vrstvou 50 cm zeminy je vývin a

počet jedinců zřetelně zpomalen. Ke zpomalení vývinu ale postačí i 2,5 cm zeminy (Daněk 1990)



Graf 1: Vývoj spektra nekrofágní fauny u pohřbených mrtvol (Převzato: Daněk 1990)

Mrtvoly ve vodním prostředí

Ve vodním prostředí se na dekompozici kadáveru podílejí hlavně korýši (Crustacea) a ryby (Pisces). Často se nejedná o typické nekrofágy, a proto je lze využít pouze k orientačnímu stanovení PMI. Porovnáním živočichů zachycených na těle nebo oděvu s faunou v místě nálezu, lze určit, zda došlo k vhození do vody/utopení v místě nálezu či nikoliv. Na částech těla nacházejících se nad hladinou, se mohou na rozkladu podílet zástupci typičtí pro volně exponovanou mrtvolu. Podobně pokud je tělo dodatečně vyplaveno na břeh nebo zachyceno vegetací na břehu, započne rozklad hmyzem typickým pro volnou expozici a odpovídající sukcesní vlny dané stavem mrtvoly (Eliášová a Šuláková, 2012).

Faktory ovlivňující vývoj hmyzu na mrtvolách

Šuláková (2006) uvádí, že mezi nejvýznamnější faktory, které ovlivňují složení nekrofágního společenstva, zastoupení druhů, rychlost přechodů jednotlivých vln aj. patří:

1. „Stav“ mrtvoly – především jaká traumata (poranění) se nachází na těle. Zda tělo krvácí, došlo k perforaci střed apod. Dále také hraje roli hmotnost mrtvoly, množství podkožního tuku, pohlaví, věk, stav oblečení a zdravotní stav.
2. Teplota prostředí – teplota je významný faktor ovlivňující nejen výskyt jednotlivých druhů hmyzu a jejich aktivitu, ale také průběh vývojových cyklů jednotlivých druhů. Důležité je, zda vývin probíhá kontinuálně (bez přerušení) nebo zda je zpomalen vlivem nízkých teplot, při kterých může

dojít až k tzv. diapauze. Vliv teploty je také znát na enzymatických procesech probíhajících v těle. Teplota výrazně ovlivňuje biochemické reakce a tím i následně ovlivní časový sled jednotlivých sukcesních stadií – pokud například dojde k pozdější tvorbě plynů snížením teploty okolí a kadáveru.

3. Vlhkost – řada druhů vyhledává suché prostředí, proto zvýšení vlhkosti ovzduší může snížit jejich letovou aktivitu. Na druhé straně jsou druhy, které jsou spíše vlhkomilné.
4. Typ prostředí – tento faktor je důležitý zejména v dostupnosti mrtvoly pro hmyz a následné zastoupení jednotlivých druhů. Typem prostředí se myslí například otevřená krajiny, lesní porost, uzavřené prostory.
5. Vliv ostatních organismů – ostatní organismy mohou také ovlivnit kolonizaci hmyzem, především způsobením sekundárního poškození mrtvoly, rozdělení a odnos jednotlivých částí po okolí apod.

2.5 Faktory ovlivňující PMI

Post mortem interval (PMI) je doba, která uplynula od úmrtí až do nálezů mrtvoly (Šuláková, 2006). Pokud od úmrtí uběhla doba delší než 72 hodin, bývají entomologické metody jedny z nejpřesnějších k určení PMI, protože vzhledem ke znalosti vývojových cyklů je možné určit dobu smrti s přesností na hodiny a dny. Jistou nepřesností při stanovení PMI metodami forenzní entomologie je skutečnost, že forenzní entomolog nezkoumá mrtvé tělo, ale pouze hmyz z něj odebraný, tudíž určuje pouze dobu, po kterou bylo tělo kolonizováno hmyzem. Nepřesnost vychází ze skutečnosti, že kolonizace těla nemusí vždy začít přesně v okamžiku smrti daného jedince. V ideálním případě se čas úmrtí a počátek kolonizace shoduje. Ve skutečnosti mohou nastat tři základní situace. V prvním případě jsou na těle přítomna krvácivá traumata (bodné a střelné rány, otevřená zranění), dále pak exkrementy/zvratky, tedy látky, které jsou pro hmyz pachově atraktivní. Uvedené látky lákají hmyz z okolí a ten na tyto podněty reaguje prakticky okamžitě a začíná kladení, a tím kolonizace mrtvého. V tomto případě se čas smrti a počátek kladení prakticky shodují, nebo se navzájem liší jen nepatrně. Další možností je, že tělo zemřelého je tzv. intaktní. Tento člověk zemřel buď přirozenou smrtí, nebo smrtí nezpůsobující vnější traumata (udušení, uškrcení, otrava apod.). Mrtvý hned po smrti je pro hmyz (pachově) neatraktivní a zpočátku se nejeví jako možný zdroj potravy. Hmyz často začne na takové mrtvé tělo reagovat až ve chvíli, kdy se v těle vlivem bakteriální činnosti v trávicí soustavě mrtvého začne tvořit a uvolňovat do okolí rozkladný plyn. Rozdíl mezi úmrtím a prvním zakladením může činit v závislosti na teplotě několik hodin až dokonce dní. V posledním příkladu je doba kolonizace delší než samotný post mortem interval. Nastává v situaci, pokud se na jedinci ještě před smrtí nachází krvácivá traumata, nekrotické tkáně, případně exkrementy. V tento okamžik může hmyz reagovat na uvedené aromatické látky a dochází ke kladení ještě před smrtí. Vylíhlé larvy se vyvíjí na stále žijícím jedinci a dochází k tzv. myiáze. Pokud takový jedinec zemře, např. v důsledku celkové sepse nebo podlehnutí zraněním, vypočtená doba kolonizace je delší než post mortem interval (Šuláková, 2014).

Při stanovení PMI se vychází ze dvou základních oblastí informací. Do první náleží nutná znalost délky vývojových cyklů jednotlivých druhů hmyzů a do druhé poznatky o druhovém složení společenstva na mrtvole, které odpovídá konkrétní fázi rozkladu. Přesnost stanovení post mortem intervalu se u krátkodobých PMI (tj. řádově do prvních 3-5 týdnů) pohybuje v rozmezí 1-5 dnů. Výpočet je udáván na určitý den (s přesností 1-2 dny). U starších nálezů se přesnost snižuje na určitý týden či měsíc. Pokud se jedná o nález starý přibližně 1-2 roky, lze stále určit, zda se jedná o mrtvolu z loňského či letošního roku. U nálezů starších dvou let většinou nelze určit přesnější počet uplynulých let od smrti jedince (Eliášová a Šuláková, 2012), ale pouze roční období na počátku rozkladu (Šuláková, 2017).

Laupy (1994) uvádí možné faktory ovlivňující stanovení PMI, jejichž působení je nutno zohlednit při jeho výpočtu. Tyto faktory rozdělil do tří základních kategorií:

a) Faktory zkracující délku PMI

- Vysoká průměrná denní teplota, malé teplotní výkyvy během dne (v létě nebo u mrtvol nalezených v bytech).
- Vzestup teploty konzumovaných tkání například vlivem expozice nálezu na slunci, přítomností jiných zdrojů tepla nebo při metabolickém uvolňování tepla.
- Výskyt traumat na těle mrtvoly, její obnažení (vyšší intenzita nástupu nekrofágních much).

b) Faktory prodlužující délku PMI

- Omezení přístupu nekrofágního hmyzu, pokud se mrtvola nachází v bytech, obalech, u mrtvol částečně přikrytých nebo pohřbených.
- Nízká průměrná denní teplota, velké teplotní výkyvy během dne nebo dlouhodobé poklesy teploty pod 10° C (dočasné zastavení aktivity a možnost výskytu diapauzy).
- Pokles obsahu vody v měkkých tkáních, např. při vyschnutí mrtvoly (mumifikaci) u nálezů v bytech
- Balzamace, intoxikace těla mrtvoly.

c) Faktory měnící délku PMI nekontrolovatelným způsobem

- Změna lokalizace mrtvoly během PMI – dodatečné pohřbení, nebo naopak odkrytí mrtvoly.

2.6 Zajišťování entomologického materiálu

Při zajišťování entomologických stop z místa trestného činu, především z těla mrtvoly, je nezbytné použít ochranný oblek, chirurgické rukavice, ochranné návleky na boty a další speciální ochranné prostředky, aby došlo k zamezení kontaminace místa činu odebírající osobou, zejména vlákny a dalšími materiály (Amendt et al., 2006)

Zajištění entomologických stop na místě nálezů těla lze rozdělit do tří základních skupin, čtvrtou skupinou je odběr vzorků při pitvě. Na místě nálezů se odebírají vzorky z těla mrtvého, z lože mrtvoly a z okolí mrtvoly. Každý odběr vykazuje určitá specifika a náležitosti, na které je potřeba brát zřetel (Eliášová a Šuláková, 2012).

Cílem při zajišťování stop je vyhledání a odebrání maxima zastoupených druhů bezobratlých a všech jejich přítomných vývojových stadií, aby vznikl tzv. reprezentativní vzorek. Entomologické stopy se zajišťují formou živého a usmrceného materiálu (Šuláková, 2017).

Živý vzorek

Živý vzorek zahrnuje vajíčka, larvy a pupária much, případně kukly brouků a motýlů zajištěných na místě nálezů, nebo při pitvě. Při odběru živého vzorku mimo tělo je nutno odebrat také půdu a vegetaci z lože a okolí mrtvoly, ze které se hmyz později zajišťuje ve znalecké laboratoři. Živý vzorek se odebírá za účelem následného odchovu nižších vývojových stadií až do dospělého jedince. Získání dospělé ulehčuje determinaci vzorku do druhu, současně známý okamžik líhnutí je významným časovým bodem, od kterého se následně odvozuje délka vývojového cyklu a stanovuje počátek kolonizace. Hlavním problémem živého vzorku je jeho náročnost na kyslík a okolní faktory (zejména teplota a vlhkost), proto se vzorek neodkladně předává ke znaleckému zkoumání. Živé vzorky je doporučeno odebírat do speciálních nádob, které umožňují odvětrávání nebo výměnu vzduchu a tím nebrání k přísunu kyslíku. Nádoby se plní pouze do 1/4 až 1/3, aby nedocházelo k úhynu larev v důsledku přehřátí nebo nedostatku kyslíku (Šuláková, 2017).

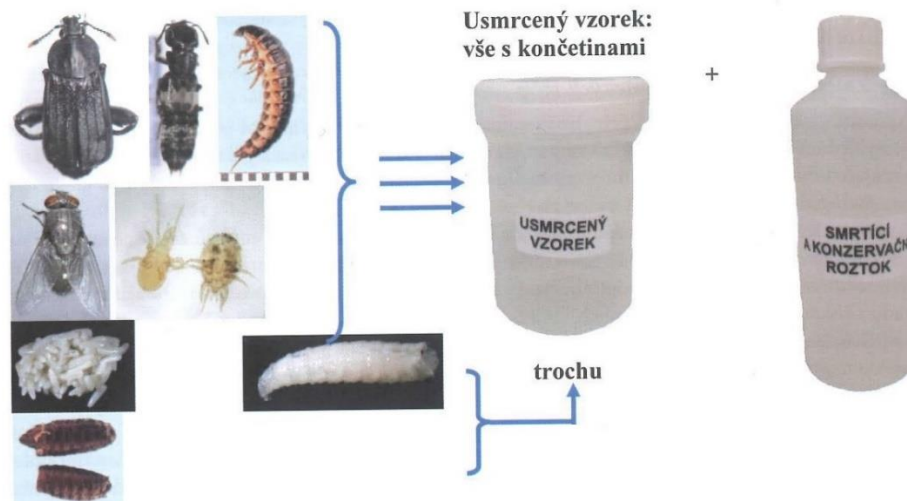


Obr.2: Schéma zajištění živého materiálu (Převzato: Šuláková, 2019)

Usmrcený vzorek

Usmrcený vzorek zahrnuje veškerá imaga much, brouků a ostatních bezobratlých. Do usmrceného vzorku se také zahrnují larvy brouků a přidá se také několik vajíček a larev much pro pozdější možnost zkoumání (především pro jistotu při poškození živého vzorku). Výhodou usmrceného vzorku je možnost dlouhodobého uchování bez ztráty vypovídající hodnoty. Nevýhodou však zůstává nemožná determinace vajíček, larev a kukel celé řady druhů. Genetickou analýzou lze vyřešit determinaci do druhu, zde však přetrvává problém určení přesného „stáří“ vajíček, larev a kukel (Šuláková, 2017).

K usmrcení nižších vývojových stadií se používá horká voda (70 °C až 90 °C), vysokoprocentní etanol nebo speciálních fixází (např. Carnovova fixáž II, směs etanolu s kyselinou mléčnou nebo 4% formaldehyd). K usmrcení imag much a brouků se používá ethylacetát nebo diethylether (Šuláková, 2017).



Obr. 3: Schéma zajištění usmrceného materiálu (Převzato: Šuláková, 2019)

Entomologické stopy z těla mrtvoly

Z těla mrtvoly se zajišťují především všechny nalezené druhy a jejich vývojová stadia – vajíčka, larvy, kukly (puparia) i dospělí jedinci (imaga). Hlavní chybou uváděnou ve starších zdrojích bylo zajišťovat tzv. nejstarší vývojové stadium, avšak při velké druhové rozmanitosti hmyzu nalézaného na mrtvolách, rozdílné rychlosti vývoje jednotlivých druhů a specifické velikosti, se toto doporučení jeví jako chybné. Bylo uváděno, že největší (tedy nejdelší) larvy představují nejstarší entomologický materiál, ovšem malé druhy mají larvy menší, a proto ty nejdelší nemusí být nejstarší. Z tohoto důvodu se zajišťují stopy všech druhů i velikostí. Rovněž se z kadáveru sbírají vzorky z celého těla, nikoli pouze z míst s nejvyšší koncentrací hmyzu. Důležité je rovněž brát v potaz, že na mrtvole se vyvíjí více druhů z jedné čeledi zároveň (Amendt et al, 2006; Eliášová a Šuláková, 2012).

Entomologické stopy z lože mrtvoly

Vzorky se odebírají také z místa pod mrtvým tělem – tzv. lože mrtvoly. Z tohoto místa se zajistí na třech až čtyřech místech vzorky zeminy společně i s případnou vegetací, hrabankou, apod. Vzorky z lože, každý o objemu přibližně 250 ml – 500 ml (celkem tedy 1-2 l), ukládáme do vhodných plastových nádob – skleněných, plastových nebo kovových, lze použít i sáček z pevného igelitu (Eliášová a Šuláková, 2012).

Entomologické stopy ze širšího okolí mrtvoly

Širším okolím mrtvoly je myšlen prostor v okruhu do vzdálenosti 2-10 m od kadáveru. Vzdálenost je závislá od podkladu, na kterém se tělo nacházelo. Vzorek z okolí se odebírá z důvodu zachycení migrujících larev a puparií (Eliášová a Šuláková, 2012). Pokud se mrtvola nachází v uzavřených prostorách (v bytě), je nezbytné k nalezení migrujících larev prohledat i okolní místnosti (Amendt et al., 2006).

Entomologické stopy zajištěné při pitvě mrtvoly

Při pitvě odebíráme vzorek především z tělních dutin a z oděvu mrtvého. Vzorek se zajišťuje v živé i usmrcené podobě (Eliášová a Šuláková, 2012).

Metody zajišťování entomologického materiálu

K zajišťování entomologických stop většinou postačí 3-4 nádoby, nejčastěji plastové nebo skleněné zkumavky a kontejnery o objemu do 100 ml. Jednotlivá stadia a skupiny hmyzu mají svůj specifický způsob sběru (Eliášová a Šuláková, 2012).

Vajíčka

Bělavá až nažloutlá vajíčka much připomínají svým vzhledem piliny se odebírají pomocí entomologické pinzety, špachtle, plastové lžice nebo jiného vhodného nástroje, a to z několika míst na těle v minimálním množství 100 ks. Z celkového množství se třetina až polovina usmrtí vřelou vodou, nebo minimálně 80% etylalkoholem a následně se uloží do etanolu (80% a více). Zbylá vajíčka se ponechají živá ve společné nádobě. Vajíčka brouků se vzhledem k jejich nízkému počtu na mrtvole většinou nezajišťují, při jejich nálezů je možné umístění do nádoby s vajíčky much (Eliášová a Šuláková, 2012).

Larvy

Larvy much jsou beznohé (apodní) a mají bílou až nažloutlou barvu. Odebírají se pinzetou nebo plastovou lžicí opět v minimálním množství 100 ks. Zajišťují se larvy všech velikostí z několika míst na těle. Třetina až polovina z nich se usmrtí vřelou vodou nebo ethanolem a následně uloží do ethanolu. Zbylé larvy se ponechají živé ve společné nádobě. Pokud se na těle vyskytují apodní larvy s různými tělními výběžky, umístí se do jiné nádoby. Je vysoce pravděpodobné, že by se mohlo jednat o larvy dravé, které se živí larvami jiných druhů. Sbírají se rovněž larvy brouků, které jsou šestinohé a značně pohyblivé. Zajišťují se pinzetou nebo lžicí a veškeré larvy se usmrtí 80% ethanolem (Eliášová a Šuláková, 2012).

Puparia

Soudečkovité útvary tvořené z pokožky posledního larválního instaru s kuklou uvnitř se nazývají pupária. Zpravidla se jedná o světle hnědé až černé útvary. Odebírají se puparia plná (obsahující vyvíjející se imago) i prázdná (po vylíhnutí). Zajišťují se světlá i tmavá, všech velikostí, a to jak z těla, tak z oděvu a z okolí mrtvoly. Puparia se ponechávají živá v nádobě a odebírají se v minimálním počtu 50 ks. Kukly brouků na kadáveru z pravidla nenalezneme, mohou se však vyskytnout v loži mrtvoly. Na mrtvolách v bytech mohou být přítomny larvy kožojedů, nebo pestrokrovečníků (Eliášová a Šuláková, 2012).

Imaga (dospělí jedinci)

Dospělé jedince much není možná zaměnit s jinou skupinou hmyzu, neboť dobře létají a k jejich zajišťování se využívá entomologická síť. Odchyt živých imag je pouze doporučený, není tedy nezbytný a k jejich usmrcení se používají výpary dietyléteru nebo octanu ethylnatého (případně 70-80% ethanol). Pokud dojde k nálezům mrtvých imag na těle, či v okolí (např. v bytech na parapetech), jedinci se odebírají pinzetou a skladují se v 70-80% ethanolu. Imaga brouků jsou značně pohyblivá a ukrývají se pod tělem nebo v oděvu. Sbírají se pevnější pinzetou a usmrcují výparem octanu ethylnatého (Eliášová a Šuláková, 2012).

Ostatní zástupci bezobratlých (vosy, mravenci apod.) se zajišťují, usmrcují a uchovávají jako brouci. Veškerý usmrcený materiál je možno skladovat ve společné nádobě (Eliášová a Šuláková, 2012).

Se sběrem entomologického materiálu se však pojí i určitá rizika. Při každé manipulaci s mrtvolou dochází k úbytku a početní redukci hmyzích druhů. Hmyz je nutné zajišťovat na místě nálezů mrtvoly před manipulací s mrtvolou. Odběr materiálu pouze při pitvě je značně nedostačující, neboť mimo jiné chybí vzorky, které se nacházely v loži a okolí mrtvoly. Stanovení PMI pouze ze vzorků zajištěných při pitvě je tedy značně zkreslené, a proto je zajištění stop na místě nálezů neopakovatelným a velmi důležitým úkonem (Eliášová a Šuláková, 2012).

2.7 10 zlatých pravidel pro sběr entomologického materiálu

Benecke (2004) ve své práci uvádí seznam důležitých postupů a zásad nezbytných při zajišťování entomologického materiálu a shrnul je do následujících deseti „zlatých a jednoduchých“ pravidel:

- 1) Vytvořit velmi důkladnou fotodokumentaci všech míst, ze kterých je materiál odebírán. Stav hmyzu se může velmi rychle změnit, zejména v chladných podmínkách (při uložení vzorků nebo těla do chladícího boxu).
- 2) Fotodokumentaci pořizovat bez použití blesku, larvy světlo odrazí a budou pouze bílé, což znesnadní determinaci.
- 3) Na fotografiích používat měřítko.
- 4) Sebrat vždy jednu plnou lžici hmyzu z minimálně třech míst na těle a na místě činu a uložit je do tří rozdílných a označených nádob.
- 5) Polovinu vzorku umístit do 98% etanolu, nepoužívat isopropyl-alkohol nebo formalin. Mrtvý vzorek může být uchováván zmražený i bez ethanolu.
- 6) Před uložení do ethanolu vzorky usmrtit vroucí vodou.
- 7) Zbývající polovinu vzorku umístit do lednice (nikoli mrazáku), zajistit větrací otvory (například přiložením látky) a předat hmyz pověřené osobě během následujících 1-2 dní (vývin může probíhat i na nízkých teplot). Oddělovat dospělé od larev, pokud to bude možné. Rovněž oddělovat bělavé a hnědnoucí larvy.
- 8) Vše popisovat – lokace, přesný čas, datum, iniciály.
- 9) V případě nejasností a otázek při sběru neváhat kontaktovat forenzního entomologa.
- 10) Determinaci ponechat zkušenému entomologovi.

2.8 Calliphoridae

Mouchy z čeledi bzučivkovití (Calliphoridae) patří mezi typické zástupce 1. sukcesní vlny. Dospělci jsou nekrofilní, proto jsou k mrtvému tělu lákáni zápachem čerstvé krve, masa a potu a nalétávají na mrtvolu prakticky okamžitě. Bzučivky jsou leskle modré či zelené podlouhlé mouchy s tělem pokrytým hojnými štětinkami, šedou hrudí a lesklým zadečkem. Jejich velikost se pohybuje mezi 9 mm a 13 mm (Daněk, 1990).

Nejběžnějšími druhy z této čeledi jsou: *Lucilia caesar* (Meigen, 1826), *Lucilia serricata* (Linnaeus, 1758), *Calliphora vicina* Robineau – Desvoidy, 1830, *Calliphora vomitoria* (Linné, 1758) a *Protophormia terraenovae* (Robineau – Desvoidy, 1830) (Daněk, 1990).

Tyto druhy jsou nejdůležitějšími zástupci při stanovení PMI v prvních několika týdnech. Vývin bzučivek prochází stadii: vajíčko, první, druhý a třetí stupeň larválního vývoje, pupárium a dospělec (imago). Délka vývojového cyklu je ovlivněna teplotou a také druhem bzučivky (Anderson, 2005).

Kladení vajíček

Samice kladou oválně protáhlá vajíčka dlouhá 1,5 mm na mrtvoly, mršiny, maso apod. Vajíčka kladou ve shlucích čítajících 450 – 1200 kusů. V přírodě je nalezneme především na mrtvolách volně uhynulých zvířat (Daněk, 1990).

Povolný (1979) uvádí kriminalisticky významný fakt, že mouchy z této čeledi jsou aktivní výhradně ve dne, takže najdeme-li vajíčka nacházející na mrtvole už v noci, nebo časně z rána, můžeme usuzovat, že mrtvola byla kolonizována již předešlého dne. Na aktivitu much však může mít vliv déšť a nízké teploty, které jejich aktivitu a vývin značně zpomalují (Povolný, 1979).

Činnost larev

Muší larvy můžeme považovat za nejčastější konzumenty a reducenty mrtvol. Činnost larev začíná v ranách, sliznicích úst, nosu, očí a v tělních otvorech. Larvy působí na mrtvolu zejména biochemicky, kdy zkapalňují substrát mrtvoly proteolytickými, lipolytickými enzymy a kolagenázami, které mimotělně vylučují. Ústními háčky se larvy uchyťí k substrátu, vyloučí trávicí enzymy a natrávenou potravu nasávají. Stejně jako je tomu u muších vajíček, i činnost larev významně ovlivňují abiotické faktory a z nich nejvíce teplota a vlhkost. Vývin larev může významně inhibovat vysoká populační hustota, kontakt s vodou před kuklením, či dlouho trvající sucho. Chlad trvající delší dobu může vyvolat tzv. larvální diapauzu. V praxi poskytují larvy významné podklady pro určení stáří mrtvoly (Povolný, 1979).

Migrace larev a vývoj pupária

Pokud se dospělá larva chce kuklit, začne migrovat z mrtvoly a hledat vhodné místo pro kuklení. Některé druhy se mohou kuklit přímo na mrtvém, pokud povrch těla (oděvu) dostatečně vyschl, jiné migrují na různé vzdálenosti. Vzdálenost migrace je druhově specifická. V našich podmínkách migrující larvy indikují stáří larev něco přes týden. Důležitým poznatkem je vzdálenost, jakou larvy při své migraci urazily, neboť je známo, jak rychle a jak daleko larvy migrují, a lze tedy ze vzdálenosti spočítat, kdy larva migraci započala. Larva se zakuklí, pokud nalezne vhodné místo a prodělá proměnu v nepohyblivé pupárium soudečkovitého tvaru. V migrační fázi je larva velmi citlivá na nízké teploty, sucho, krátkou fotoperiodu apod. Tyto faktory mohou navodit diapauzu. Pupárium je zpočátku měkké a bílé, stárím hnědne až černá, proto lze i podle zbarvení odhadnout stáří pupária (Povolný, 1979).

Daněk (1990) uvádí, že kuklení většinou probíhá 7. až 8. dne vývoje. Soudečkovité puparium má na zadečkové části 12 zoubků a v této fázi moucha zůstává přibližně 10-12 dní, poté se líhne dospělý jedinec.

Dospělé mouchy

Dospělé čerstvě vylíhlé mouchy jsou měkké a málo chitinizované. Nález much v tomto stadiu poblíž mrtvoly dokládá, že vývojový cyklus již proběhl a podle druhu a znalosti délky vývoje lze odhadnout stáří mrtvoly. U dospělých much lze jejich stáří určit pitvou gonád (zejména podle stavu vaječnicků), tento postup však není jednoduchý a doporučený pouze u imag, která jednoznačně pocházejí z dané mrtvoly (Povolný, 1979).

Zástupci

Lucilia serricata (Linné, 1758) je v mnoha publikovaných případech prezentována jako typický zástupce nekrofágní fauny. Jedná se o zelenou, kovově lesklou mouchu. Samička obvykle klade na mrtvoly do dvou dnů po smrti. *Lucilia serricata* patří mezi světlomilné druhy vyhýbající se zastíněným místům. Samičky kladou vajíčka na substrát s teplotou minimálně 30 °C, tedy přímo vystavený slunečnímu záření (Daněk, 1990). Pokud se tedy její vajíčka a larvy nachází na mrtvole v zastíněném prostoru, lze se domnívat, že mrtvola byla přenesena (Povolný 1978). Obecně se jedná o druh urbanizovaných oblastí (Šuláková, 2013).

Vývoj tohoto druhu je velmi rychlý a za optimálních teplotních i potravních podmínek může celý vývin trvat pouze dva týdny. Druh je kosmopolitní a u nás se nachází po celém území (Daněk, 1990). Smith (1986) však uvádí, že se sice jedná o velmi rozšířený druh, ale nikoli o kosmopolitní.

Calliphora vicina (Robineau-Desvoidy, 1830), modrá, kovově lesklá moucha, která klade vajíčka pouze na čerstvé mrtvoly, u kterých rozklad tkání zatím příliš nepokročil, většinou však do 48 hodin po smrti. Při stanovení délky vývinu je nezbytné přihlédnout k teplotám prostředí, neboť nízké teploty vývoj značně

zpomalují a prodlužují. Na rozdíl od druhu *Lucilia serricata* klade *Calliphora vicina* vajíčka i na zcela temných místech (Daněk, 1990).

Protophormia terraenovae (Robineau-Desvoidy, 1830) je moucha tmavě modrého zbarvení. Imaga měří od 8 mm do 12 mm. Tato moucha má holarktické rozšíření a je velmi hojná v chladnějších oblastech. Larvy tohoto druhu je možné využívat v larvální terapii, neboť se živí odumřelou a rozkládající se tkání (Smith, 1986). Druh kolonizují tělo nejčastěji v jarních měsících a vývoj od vajíčka po dospělce trvá při 20 °C 18 dnů. Larvy tohoto druhu jsou schopné kuklit se přímo na mrtvole (Šuláková, 2013).

2.9 Sarcophagidae

Velké, 12-18 mm dlouhé, mouchy šedavého zbarvení s podélnými tmavými pruhy na hrudi spadají do čeledi masařkovití (Sarcophagidae). Tyto mouchy mají cihlově oranžové oči a protáhlý zadeček s leskle třpytivými skvrnami. Masařky se vyskytují především na výkalech, mase nebo na mršinách, vnikají ovšem i do obydlí a mohou se objevit i v blízkosti špatně ošetřených ran lidí i zvířat. Mezi hlavní zástupce patří *Sarcophaga carnaria* (Daněk, 1990).

Masařky jsou podobně jako bzučivky lákány především k světelně exponovaným mrtvolám, nicméně mohou létat i za deště, tudíž za určitých podmínek mohou být jedněmi z prvních kolonizátorů mrtvoly, i přesto že za ideální podmínek kolonizují tělo až v pozdějších sukcesních vlnách (Smith, 1986).

Kladení vajíček a činnost larev

Hlavní rozdíl masařek oproti jiným druhům je ten, že samičky rodí přímo živé larvy, které se v teplém letním období kuklí přibližně za 14 dní (Daněk, 1990).

Dospělé mouchy

Dospělé masařky se na mrtvole objevují pouze kvůli kopulaci a samičky z důvodu kladení. Imaga také přenášejí zárodky hniloby, nebo choroboplodné zárodky, čímž urychlují hnití mrtvoly (Daněk, 1990).

Zástupci

Sarcophaga carnaria (Linnaeus, 1758) je běžným druhem Palearktické oblasti. Tento druh masařky představuje první zdokumentovaný druh masařek ve forenzním případě (Smith, 1986).

2.10 Muscidae

Mouchy z čeledi moučovití (Muscidae) jsou drobné, matně šedé mušky s velikostí těla od 3 mm do 10 mm. Jsou celosvětově rozšířené a velké množství druhů je synantropních. Od čeledi Calliphoridae jsou dobře rozlišitelné na základě znaků na křídlech a hlavě (Byrd a Castner, 2010).

Mouchovití mají ve forenzní entomologii velký význam zejména z důvodu svého kosmopolitního rozšíření a úzkého kontaktu s člověkem. Na mrtvém těle se objevují po bzučivkách až v pozdějších stádiích rozkladu (Byrd a Castner, 2010).

Jsou typickými zástupci 3. sukcesní vlny, ve které jsou k tělu lákány tvořící se těkavou kyselinou máselnou (Eliášová a Šuláková, 2012). Hlavním zástupcem je *Hydrotea ignava* (Šuláková, 2014).

Samičky často kladou vajíčka do tělních otvorů, na místa poranění nebo do oblečení nasáklého tekutinou. Larvy se živí přímo mršinami, ale u některých druhů se projevuje při dospívání dravé chování. V takových případech mohou larvy ovlivnit složení fauny na mrtvole lovem vajíček a larev jiných much, které se na kadáveru nachází (Byrd a Castner, 2010).

Rod *Hydrotaea* se na mrtvolách nejvíce objevuje ve stadiu fermentace proteinů, tj. ve fázi sýrové fermentace. V případech, kdy je potlačena nebo omezena činnost hlavních dekompozitorů z čeledi Calliphoridae, můžeme zástupce rodu *Hydrotea* nalézat na mrtvole již pár dní po úmrtí jedince. Při průměrné teplotě 25 °C vývin tohoto rodu trvá přibližně 17 dní (Šuláková et al., 2013).

Čeď Muscidae čítá celosvětově přibližně 4500 druhů, z toho 307 druhů je známo v České republice (Klimešová et al, 2016).

2.11 Vliv ohně na nekrofágní hmyz

Kolonizace ohořelých a neohořelých ostatků probíhá rozdílně. Zástupci kolonizující ohořelá těla jsou prakticky shodní s těmi, kteří kolonizují kadávery neohořelé, nicméně dosavadní experimenty ukazují, že kolonizace nastává dříve u mrtvol ohořelých. Pravděpodobným důvodem může být lepší přístup k potravě popraskanými částmi kůže, záleží však velmi na stupni ohoření. Na základě pokusů bylo dokázáno, že ohořelá těla lákají hmyz více než neohořelá, tudíž ohořelá těla jsou velmi atraktivní pro mouchy z čeledi Calliphoridae (Byrd a Castner, 2010). Ovšem Catts & Goff (1998) ve své práci uvádí, že na ohořelá těla mouchy kladly méně, záleželo však na stupni ohoření.

Stupeň ohoření mrtvého těla lze charakterizovat Crow-Glassmanovou stupnicí (CGS, viz tab. 3), která se dělí do pěti stupňů (Glassman & Crow 1996):

1. stupeň ohoření: Mrtvé tělo jeví známky smrti udušením zplodinami hoření. Na kůži se mohou vyskytovat puchýře, vlasy a chlupy mohou být ohořelé. Jedinec je vizuálně identifikovatelný.
2. stupeň ohoření: Různá místa na těle nesou známky zuhelnatění, přesto lze podobu člověka stále rozeznat. Vlivem vysokých teplot se na mrtvole může vyskytovat destrukce prstů, uší a genitálu.
3. stupeň ohoření: Přestože je na těle často přítomna hlava, rysy jedince nejsou již rozpoznatelné. Na těle je patrná značná destrukce končetin, které mohou zcela chybět (být uhořelé).
4. stupeň ohoření: Vysoké teploty se projevují na mrtvole rozsáhlými popáleninami. Paže a nohy často chybí (jsou uhořelé), nebo jsou z nich zachovány pouze části, především větší klouby. Vlivem tlaku vodních par z měkkých tkání dochází k prasknutí (explozi) lebky a vyhřeznutí mozku. V některých případech může lebka zcela chybět.
5. stupeň ohoření: Je nejvyšším možným poškozením vysokým žářem. U těla dochází k celkovému zpopelnění, měkké tkáně zcela chybí. Z těla mohou zůstat zachovány části kostí, větší klouby a zuby.

Nuorteva et al. (1967) uvádí, že na značně ohořelé mrtvole zaznamenali larvy *Calliphora vicina* a *Fannia canicularis*. Také Wardle (1921) pozoroval u bzučivek kladení na maso, které bylo částečně ohořelé a stále dostatečně vlhké. Přesto při následných experimentech zjistil, že mouchy neprojeví zájem o syrová játra, pokud je před expozicí silně opálil nad hořákem, nebo zcela vysušil na slunci. Samičky nedonutil na takto pozměněná játra klást, ani když je nechal opětovně zvlhnout. Zjistil také, že pro mouchy není motivující ke kladení ani čerstvě uvařené maso (Wardle 1921). Naproti tomu Smith (1986) uvádí opakovaný nálezk nekrofágních druhů hmyzu, především bzučivek *Calliphora vomitoria* a *Lucilia*

caesar, na ohořelých mrtvolách. Současně Hopkins (1944) popsal výskyt bzučivky *Lucila cuprina* na ohořelé paži člověka po zásahu bleskem. Současně dodává, že na menších ohořelých kadáverech se nemusí bzučivky vůbec vyskytovat. Tomuto částečně oponuje Smith (1986), který zkoumal ohořelý lidský fétus a zaznamenal na něm larvy moučovitých rodu *Hydrotaea* (jako rod *Ophyra*) a slunilkovitých rodu *Fannia*.

Vliv ohoření tkání, nebo celého těla mrtvoly má vliv jak na druhové složení hmyzu, tak na rychlost, jakou tento kadáver kolonizuje (Avila & Goff 1998, Byrd & Castner 2010, Smith 1986). Avila a Goff (1998) při svých experimentech pozorovali, že bzučivky opakovaně kladly na ohořelé kadávery prasat o jeden až čtyři dny dříve než na zvířata neohořelá. Současně při porovnání druhové skladby nekrofágního hmyzu nezjistili mezi ohořelými kadávery a kontrolou žádné statisticky významné rozdíly. Na základě svých výsledků usoudili, že kolonizaci ohořelých kadáverů patrně urychlila poškození vyvolaná vysokým žářem. Popraskáním kůže až do spodních vrstev bylo u ohořelých zvířat více míst (traumat), která motivovala samičky ke kladení. Uvedené pozorování potvrdilo i celkově vyšší množství nakladených vajíček a počet larev než na kontrolních (neohořelých) kadáverech (Avila & Goff 1998).

Dle všech dosavadních poznatků, kolonizace nekrofágními druhy hmyzu není inhibována, pokud na kadáveru zůstane zachováno dostatečné množství žářem neporušeného masa nebo vnitřních orgánů. Na rozkladu takto ohořelých kadáverů se mohou podílet mouchy i brouci, kteří jsou schopni se nerušeně vyvíjet a dokončit tak svůj vývojový cyklus (Anderson, 2005).

Hmyz kolonizující mrtvé tělo může být užitečný i v případě, kdy tělo bylo spáleno až dodatečně v pozdějším stadiu rozkladu, respektive v okamžiku, kdy již probíhá sukcese pomocí hmyzu. Byla provedena série pokusů simulující situaci vraždy, po které se pachatel vrátí na místo činu a snaží se zničit důkazy a tělo pomocí požáru. Na základě těchto pokusů bylo zjištěno, že ani vystavení těla vysokému žáru, nezničí všechny entomologické důkazy nacházející se na mrtvém těle. Uvnitř těl bylo možné zajistit larvy, a přes fakt že byly mrtvé, je determinovat do druhu a stanovit čas smrti (Anderson, 2005).

Smith (1986) se ve své práci zajímal také o atraktivitu masa pro hmyz v případech, ve kterých byla mrtvola pozměněna různými vlivy. V případě spáleného masa došel k závěru, že rozhodujícím faktorem atraktivity není vlhkost povrchu, ale zda byly bílkoviny teplem zcela koagulované či nikoliv. Přišel také na to, že čerstvě uvařené maso není pro hmyz dostatečně atraktivní i přes fakt, že povrch je dostatečně vlhký a optimální pro kladení.

Rozhodujícím faktorem, zda bude mrtvola atraktivní pro hmyz v případě spálení mrtvoly, je stupeň opálení a ohoření, kterému bylo tělo vystaveno. Od čtvrtého stupně ohoření není kadáver pro hmyz nadále atraktivní (Gennard, 2012)

Pět stupňů ohoření dle Crow-Glassmanovy stupnice (CGS)

<u>Crow Glassman</u> <u>(CGS) level</u>	<u>Description</u>
CGS level 1	This level constitutes minor damage to the body, damage that is typical of smoke death. Common characteristics include epidermal blistering and the singeing of facial and head hair. Victim identification is possible since no identifying features are damaged or obscured.
CGS level 2	This level constitutes varying levels of charring across the body. Elements that may be missing or consumed include the hands, feet, genitalia and/or ears (full or partial). Disarticulated elements may be present near the body. Victim identification may be possible by a team comprising a forensic pathologist and forensic odontologist.
CGS level 3	This level constitutes further damage noted by the absence of major sections of the limbs. The head is present but identification is not possible by facial recognition. Disarticulated elements are further from the body. Victim identification may be possible by a team comprising a forensic pathologist, forensic odontologist and forensic anthropologist. The forensic anthropologist may be used to determine sex, age, racial affinity and stature from the recovered skeletal remains.
CGS level 4	This level constitutes damage to the skull as it is fragmented and disarticulated from the body. Portions of the limbs may still be articulated to the body. Small body fragments and dental elements may be strewn around the body
CGS level 5	This level constitutes cremation of the body with little to no tissue remaining. Body remains are fragmented, scattered and incomplete

Tab 3: Stupně ohoření – Crow- Glassmanova stupnice (Převzato: Glassman & Crow, 1996)

2.12 Farma těl

Farma těl, též „Body farm“, je výzkumné zařízení, ve kterém se v různých prostředích studuje rozklad lidského těla po smrti. Farmy poskytují informace nápomocné k porozumění rozkladnému procesu v oblasti forenzní antropologie a příbuzných disciplín. Informace získané z těchto zařízení při pokusech jsou široce využívány orgány činnými v trestním řízení, soudními lékaři a vyšetřovateli místa činu. První farma těl byla založena před třiceti lety a dodnes fungují ve Spojených státech tři tyto zařízení (Anonymous, 2009).

Zakladatelem první této instituce byl forenzní antropolog William Bass III. na univerzitě v Tennessee. Těla používaná v tomto zařízení jsou získávána z různých zdrojů, například se jedná o nevyzvednutá těla z ústavu soudního lékařství, nebo pocházejí z dobrovolných darů. Jediný problém s „Body farms“ je ten, že přesvědčivé důkazy o rozkladu a sukcesi hmyzem jsou získané pouze z míst, na kterých nyní existují současné farmy těl - Texas, Knoxville a horské oblasti Severní Karolíny. Nicméně v Indii se Roma Khan snaží získat povolení k založení farmy těl po vzoru těch ve Spojených státech (Anonymous, 2009).

2.13 Budoucnost forenzní entomologie

Pro budoucnost forenzní entomologie je velmi důležité prohlubování stávajících poznatků a zlepšování současných postupů. Nejdůležitější je správná identifikace druhů nalezených na místě činu, neboť stále nastávají situace, ve kterých nelze určit všechny nalezené druhy, a sestavit tak kompletní druhové spektrum nezbytné pro přesné stanovení doby smrti. Řešením pro přesnější určení některých druhů může přechod z identifikace na základě morfologických znaků k využití analýzy DNA. Nicméně genetické metody by neměla být prioritou při determinaci, pouze by ji měly vhodným způsobem doplnit. Mezi další poznatky, které je nezbytné doplnit, náleží určení druhů jednotlivých ekosystémů a vzít v potaz, že se skupiny hmyzu mohou měnit nejen v rámci ekosystému, ale také v rámci denní nebo roční doby. Společně s analýzou DNA zažívá v posledních letech velký pokrok entomotoxikologie (Gupta a Setia, 2004).

Entomotoxikologie představuje aplikaci toxikologické analýzy na nekrofágní hmyz za účelem identifikace léků a toxinů přítomných ve tkáních mrtvého v době smrti. U kosterních zbytků nebo u těl v pokročilém rozkladu, u kterých nejsou k dispozici tradičnější zdroje používané při toxikologické analýze, jakými jsou krev, moč nebo vnitřní orgány, může hmyz sloužit jako spolehlivý alternativní vzorek pro zjištění obsahu toxických látek. Larvy dvoukřídlých živící si intoxikovanou lidskou tkání zabudovávají do vlastního metabolismu léky a toxiny, které oběť přijala ještě za života. Přenos těchto látek z lidského organismu do dvoukřídlých se nekoná pouze na této úrovni potravního řetězce, ale pokračuje i u brouků živících se larvami

dvoukřídlych. Následně brouci mohou být podrobeny toxikologické analýze pro forenzní účely (Introna et al, 2001).

3 Metodika

Součástí praktické části byl terénní experiment ve třech variantách, včetně kontrolní skupiny, a třech opakováních. Při pokusu bylo využito 9 kadáverů, které náležely samicím kura domácího (*Gallus gallus f. domestica*, Linneaus 1758). V první variantě byly tři kadávery vystaveny účinkům vroucí vody. V druhé variantě byly 3 kadávery vystaveny otevřenému ohni. Poslední 3 kusy představovaly kontrolní skupinu bez vnějšího zásahu. Cílem experimentu bylo zjistit, zda má vroucí voda či oheň nějaký vliv na hmyz, který kadáver následně kolonizuje. Jestli má pozměnění kadáveru tímto způsobem vliv na rychlost kolonizace, druhové složení a v neposlední řadě na vývoj jedinců na daných pokusných objektech.

Experiment byl realizován celkem 4x a to v červnu, červenci a srpnu 2020, následně v srpnu 2021. Celkem bylo použito 36 kadáverů zvířat. Z důvodu nedostatečného zatížení vík kameny v červnu 2020, došlo k „útěku“ larev ven z bedny, tudíž se nepovedlo odchovat všechny jedince, a proto jsou data z tohoto pokusu zkreslená.

Popis lokality:

Volné expozici byly pokusné objekty vystaveny na zahradě rodinného domu ve vesnici Radíkovice poblíž města Hradec Králové. Zahrada se nacházela poblíž malého potoka a byla celý den exponována na slunci.

Nadmořská výška:

255 m n. m.

GPS souřadnice:

50.209334 N, 15.693553 E

Pokusné objekty

Při pokusu bylo použito 9 slepic, všechny o hmotnosti okolo 1 kg, které byly získány z Farmy Věkoše Hradec Králové. Všechna zvířata byla usmrcena stejným způsobem a poté převezena na pokusnou plochu.

Následně byly kadávery rozděleny po třech kusech (opakováních) do třech skupin (variant, včetně kontroly).

Průběh experimentu:

Experiment se skládal ze dvou částí. První částí byla volná expozice, na již zmíněné lokalitě, a druhá část byl následný odchov vajíček až do stadia dospělce v místnosti za konstantních podmínek. Odchov proběhl v garáži se stálou teplotou a vlhkostí.

V rámci experimentu byly všechny kadávery po vystavení ovlivňujícímu faktoru, v případě kontroly přímo, vloženy do plastových beden o rozměrech 42 cm x 35 cm x 23 cm. Uvnitř každé bedny byla nasypána vrstva písku (cca 10 cm), která napomáhala regulaci vlhkosti uvnitř chovných boxů a současně sloužila jako podklad při kuklení larev.

Varianta A – otevřený oheň

Tři kusy pokusných zvířat byly po dobu 5 minut vloženy do krbu přímo do otevřeného ohně (obr. 4). Ihned po vložení do ohně začalo hořet peří a škvařit se kůže. Po vyjmutí byly uloženy do plastových beden, přikryty pletivem s oky o velikosti 2 cm x 2 cm a uloženy při tzv. volné expozici na zahradu (obr. 5)



Obr. 4: Vystavení pokusných zvířat přímému ohni (Autor: Tereza Foltová)



Obr. 5: Pokusný objekt připravený k volné expozici (Autor: Tereza Foltová)

Varianta B – opaření

Tři kusy pokusných zvířat byly po dobu 5 minut vystaveny účinkům vroucí vody. Zvířata byla umístěna do nádoby a zalita vroucí vodou (obr. 6). Po tuto dobu byla 3x dolita nová vroucí voda. Po vyjmutí z vody byla zvířata umístěna do beden stejně jako u předchozí varianty (obr. 7)



Obr. 6: Pokusný objekt ponořen do vroucí vody (Autor: Tereza Foltová)



Obr. 7: Objekt připravený k volné expozici (Autor: Tereza Foltová)

Varianta C – Kontrolní skupina

Poslední tři kontrolní slepice byly pouze vloženy do beden na vrstvu písku (obr. 8), bedny přikryty pletivem a volně exponovány na zahradě.



Obr. 8: Kontrolní kus (Autor: Foltová Tereza)

Všechny bedny byly náležitě popsány variantou a pořadovým číslem (obr.9) a vystaveny při tzv. volné expozici, která umožnila přístup hmyzu k pokusným objektům. Z důvodu minimalizace vzájemného vlivu pokusných objektů byly bedny rozmístěny po ploše ve tvaru čtverce, ve kterém byly jednotlivé bedny od sebe vzdáleny přibližně 3 metry a namíchaný tak, aby spolu nesousedily stejné varianty pokusu (obr. 10)



Obr. 9: Detail označení jednotlivých pokusných objektů (Autor: Tereza Foltová)



Obr. 10: Rozmístění pokusných objektů při volné expozici (Autor: Tereza Foltová)

Do okolí beden byl umístěn datalogger z důvodu sledování a záznamu teplot a vlhkosti (obr. 11).

Bedny byly vystaveny volné expozici maximálně 24 hodin a pravidelně kontrolovány řádově po dvou hodinách. Během každé návštěvy byla provedena fotodokumentace průběhu experimentu (obr. 12) a průběžně zapisovány poznámky o aktivitě a množství hmyzu, především much na kadáverech a místech, na kterých docházelo ke kladení. Po zaklazení všech tří kontrolních kadáverů

vajíčky byly všechny bedny překryty silonovými punčochami, které bránily dalšímu přístupu hmyzu, opatřeny víkem s větracím otvorem. Na okraje víka bylo položeno pár menší kamenů k zatížení a bedny byly přeneseny do garáže k tzv. vnitřní expozici za účelem k odchovu, tj. k zajištění podmínek vajíček, vývinu larev, kuklení a líhnutí dospělců. Do garáže byl s pokusnými boxy přenesen i datalogger pro kontinuální zápis mikroklimatických podmínek uvnitř chovného prostoru (obr. 13).



Obr. 11: Datalogger použitý při pokusu (Autor: Foltová Tereza)



Obr. 12: Kontrolní snímky v průběhu volné expozice (Autor: Tereza Foltová)



Obr. 13: Vnitřní expozice k odchovu larev (Autor: Foltová Tereza)

Pokusné objekty byly pravidelně kontrolovány, v případě vysychání několikrát roseny čistou vodou z rozprašovače. Na počátku fáze kuklení byly kadávery vyjmuty z beden a následně bylo sestaveno odchytové zařízení (obr. 14). Odchytové zařízení sestávalo z plastové láhve o objemu 1,5 l s vyříznutým kruhovým otvorem v horní čtvrtině o průměru 4 cm. Do otvoru byla vložena a pomocí tavné pistole přilepena zkumavka s odříznutým dnem, která sloužila jako propojovací tunel. Do víčka zkumavky byl vyříznutý otvor, aby bylo možné využít závit zkumavky k napojení na tunel vytvořený z jedné nohavice silonek a propojit tak odchyťovou nádobu s chovným boxem. Následně byla odchyťová láhev naplněna smrtícím a konzervačním roztokem, připraveným z 6 lžic kyseliny citronové, jednoho litru vody a přibližně 2 ml detergentu (Jaru). Po ukončení experimentu byla imaga z odchyťových zařízení vyjmuta přelitím obsahu odchyťové nádoby přes čajové sítko. Na sítku zachycená imaga byla přesunuta do sklenic s 70% etylalkoholem a řádně označena písmenem varianty (A - ohoření, B - opaření a C - kontrola) a pořadovým číslem opakování (1 až 3).



Obr. 14: Odchyťové zařízení (Autor: Foltová Tereza)



Obr. 15: Kadáver pokrytý larvami much (Autor: Foltová Tereza)

Jedinci z čeledi Calliphoridae byli determinováni podle entomologického determinačního klíče založeného na monografiích Draber-Monko (2003) a Rognes (1990).

Na základě determinačního klíče se podařilo určit druh *Calliphora vicina*. *Calliphora vicina* má lysou kmenovou žilku, spodní šupinu hnědou a ochlupenou, 3 páry postsuturálních AC set, 3. tykadlový článek 3-4x delší než 2. článek, žlutou basicostu a žluté přední stigma, oranžové tváře a černé sety na nich.

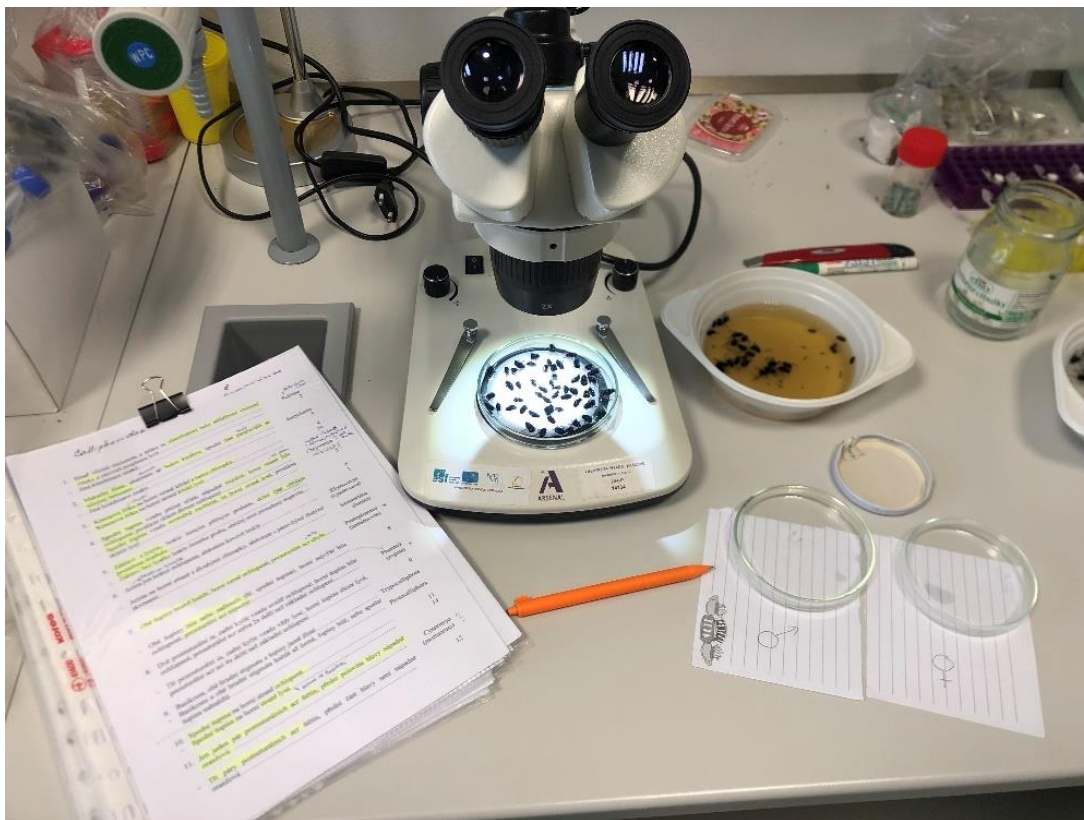
3.1 Výsledky

Po pěti dnech se začala vajíčka líhnout a později larvy migrovat mimo kadáver za účelem kuklení. Zhruba po deseti dnech se larvy začaly kuklit v písku.

Po dalších pěti dnech se z kukel začali líhnout dospělci a pomalu začali migrovat po stěnách bedny za světlem. Vylíhlá imaga nalezla do odchyťového zařízení, byla pomocí čajového sítka přendána do označených sklenic s roztokem 70% etylalkoholu a následně determinována pomocí determinačních klíčů. Dále byla vyhodnocena data z datalogeru.

Experiment byl proveden celkem čtyřikrát, v červnu, červenci a srpnu roku 2020, následně pak v srpnu 2021.

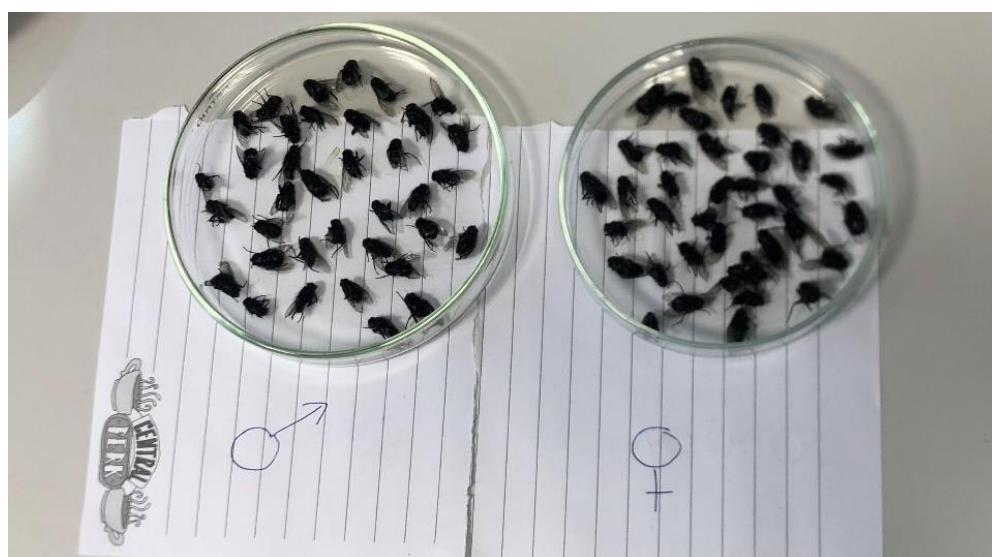
Determinace byla provedena na Univerzitě Hradec Králové prostřednictvím determinačních klíčů a binomické lupy (obr. 16). Revizi určeného materiálu provedla odborná školitelka plk. Ing. Hana Šuláková, Ph.D..



Obr. 16: Determinace vzorku pomocí determinačních klíčů a binolupy (Autor: Foltová Tereza)

Celkově bylo získáno 5470 jedinců, z čehož 1007 jedinců bylo z 1. experimentu, 1385 z 2. experimentu, 1476 z experimentu 3. a 1602 jedinců ze 4. experimentu. Ve všech případech se jednalo výhradně o bzučivky druhu *Calliphora vicina*.

Jedinci byli rozděleni podle pohlaví (obr. 17), následně byl spočítán jejich počet v jednotlivých skupinách a výsledky zapsány do přehledné tabulky (Tab. 4). Dále byly uvedeny poznámky o velikosti jednotlivých zástupců.

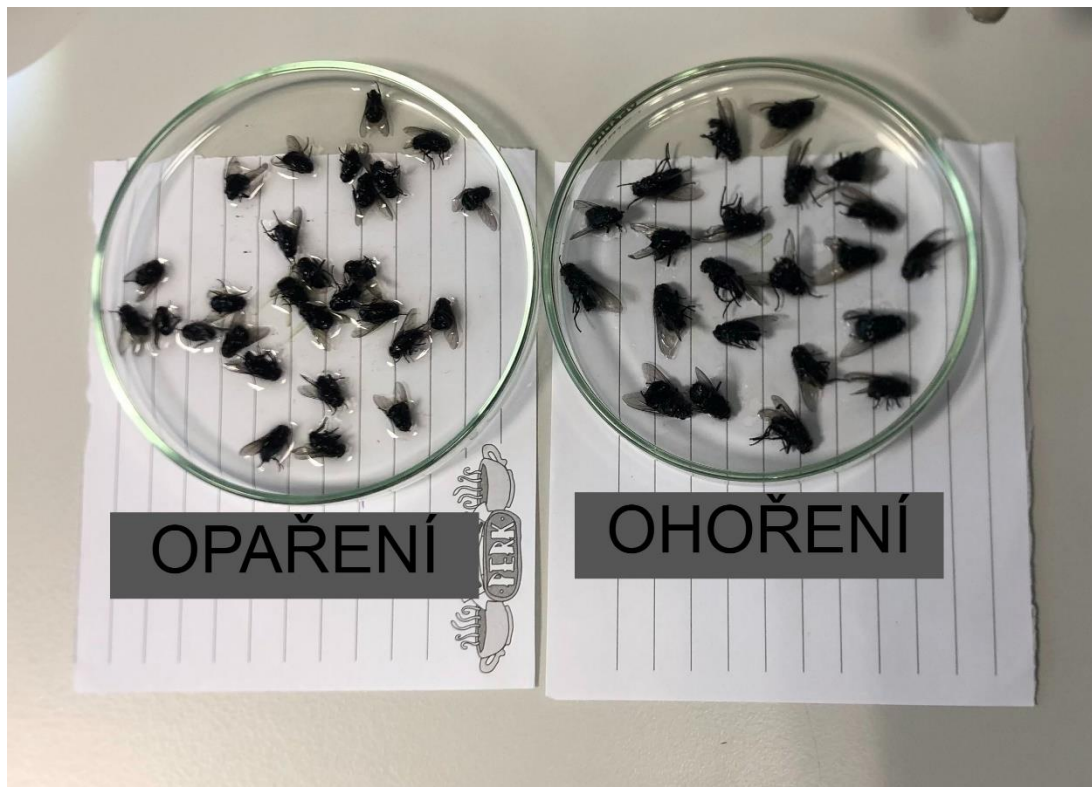


Obr. 17: Rozdělení jedinců podle pohlaví (Autor: Foltová Tereza)

	1. experiment - červen 2020			2. experiment - červenec 2020			3. experiment - srpen 2020			4. experiment - srpen 2021			celkem
A - otevřený oheň	A1	A2	A3	A1	A2	A3	A1	A2	A3	A1	A2	A3	
<i>Calliphora vicina</i>													
samci	68	72	62	112	99	101	97	106	116	116	96	123	1168
samice	79	63	57	107	93	114	89	98	121	132	101	129	1183
poznámka	velké mouchy			velké mouchy			velké mouchy			velké mouchy			
	401			626			627			697			
B - opaření	B1	B2	B3	B1	B2	B3	B1	B2	B3	B1	B2	B3	
<i>Calliphora vicina</i>													
samci	36	57	31	36	37	28	40	37	44	39	41	53	479
samice	41	27	43	49	35	37	46	43	41	34	46	49	491
poznámka	malé mouchy			malé mouchy			malé mouchy			malé mouchy			
	235			222			251			262			
C - kontrola	C1	C2	C3	C1	C2	C3	C1	C2	C3	C1	C2	C3	
<i>Calliphora vicina</i>													
samci	66	48	53	91	77	102	98	86	107	110	96	113	1047
samice	67	76	61	86	84	97	101	93	113	98	108	118	1102
	371			537			598			643			
celkem	1007			1385			1476			1602			

Tab 4: Tabulka s přehledem jednotlivých zástupců nalezených na pokusných zvířatech (Autor: Tereza Foltová)

Jedinci ve variantě "opaření" byli výrazně menší než ve variantě "otevřený oheň" (obr. 18) a než jedinci získaní z kontroly.

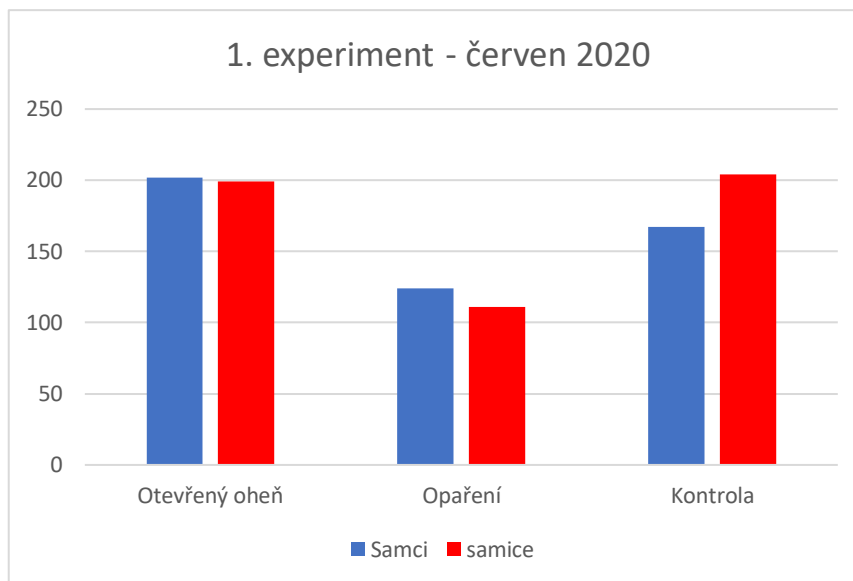


Obr. 18: Porovnání velikostí jedinců na jednotlivých variantách (Autor: Foltová Tereza)

Ve variantě A3 v experimentu č.1 došlo z důvodu nedostatečného zatížení víka bedny k úniku larev mimo bednu, tudíž se odchoval menší počet jedinců.

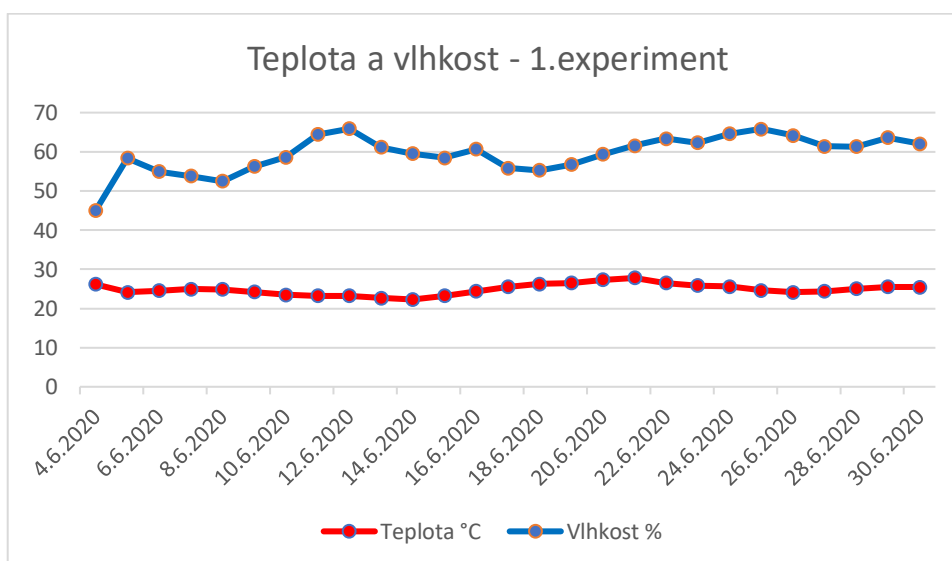
1.experiment – červen 2020

V rámci prvního experimentu v červnu 2020 bylo celkem získáno 1007 jedinců. Graf č. 2 prezentuje porovnání počtu samců a samic na jednotlivých variantách v průběhu 1. experimentu. Je zde patrné, že samic bylo více než samců na všech variantách.



Graf 2: Porovnání počtu samců a samic na jednotlivých variantách – 1. experiment (Autor: Foltová Tereza)

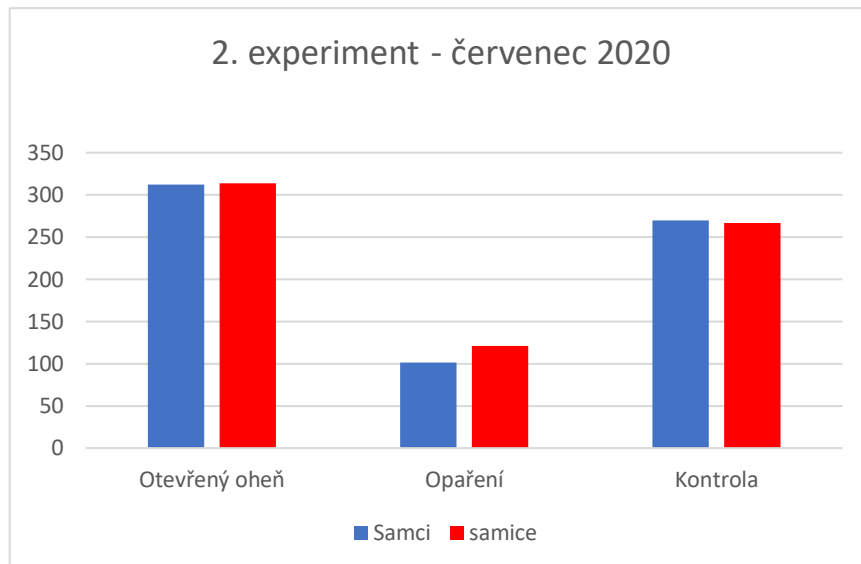
Průměrná teplota v průběhu 1. experimentu byla 24,8 °C a průměrná vlhkost byla 59,51%. Nedocházelo k žádnému výraznějšímu výkyvu teplot (graf 3).



Graf 3: Průměrné teploty a vlhkost v průběhu 1. experimentu (Autor: Foltová Tereza)

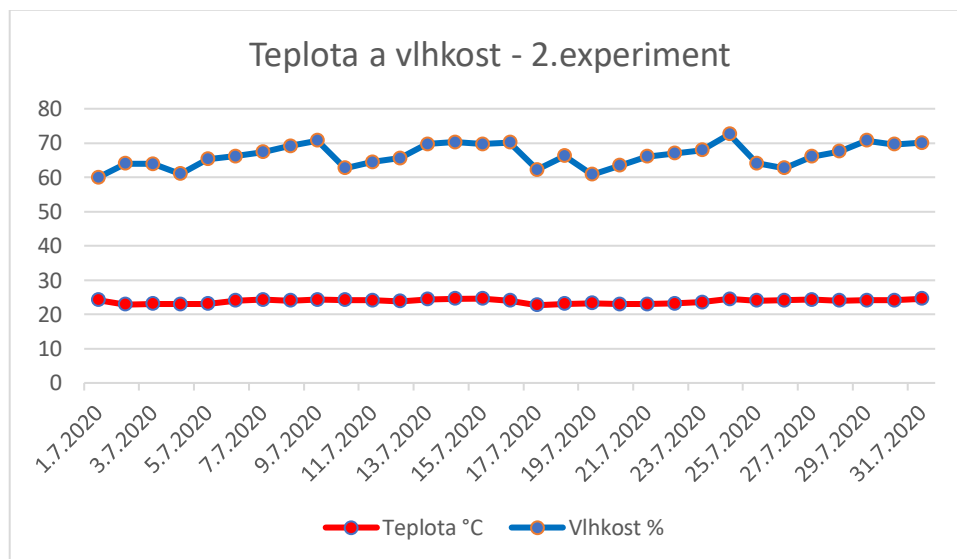
2. experiment - červenec 2020

Druhým experimentem v červenci 2020 bylo odchováno 1385 jedinců, z toho 683 samců a 702 samic (graf 4).



Graf 4: Porovnání počtu samců a samic na jednotlivých variantách – 2. experiment (Autor: Foltová Tereza)

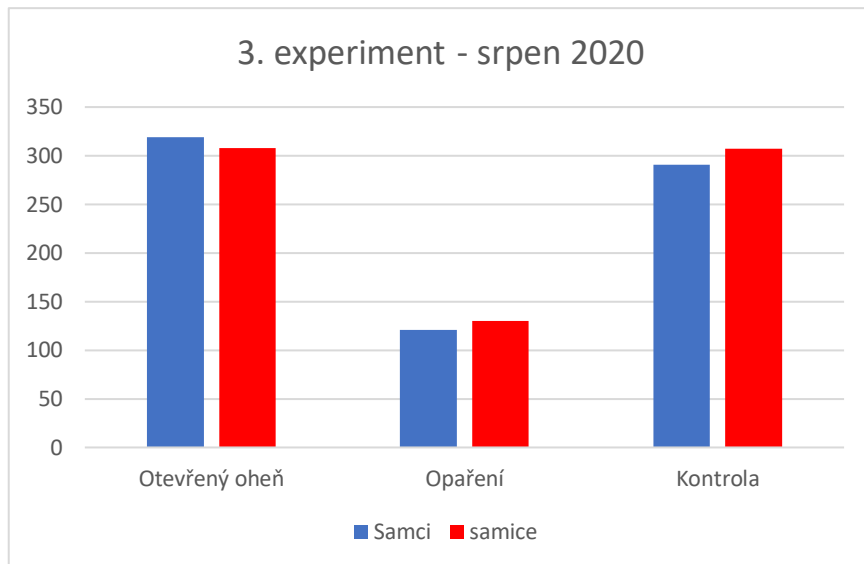
V průběhu druhého experimentu byla teplota o něco nižší, dosahovala 23,7°C. Vlhkost se pohybovala okolo 66%, což bylo více než v předchozím experimentu (graf 5).



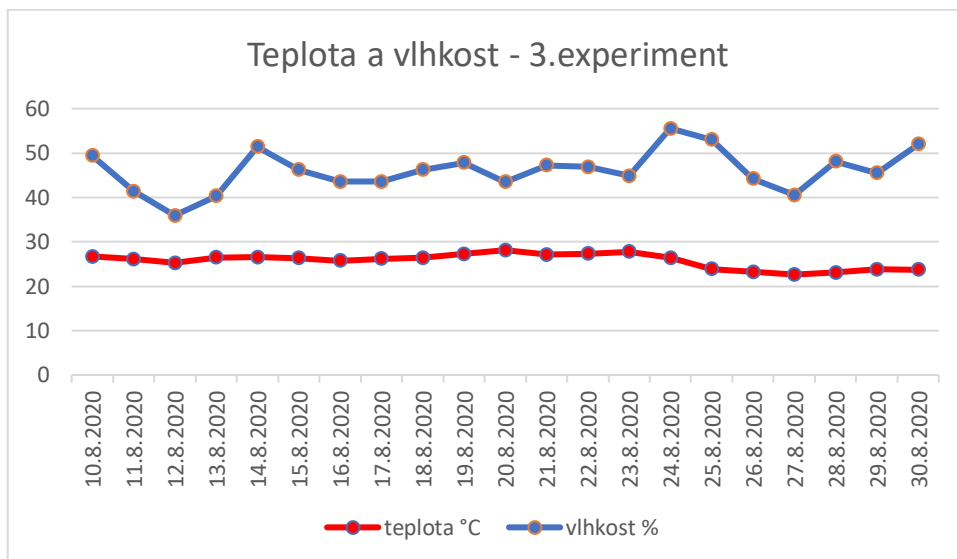
Graf 5: Průměrné teploty a vlhkost v průběhu 2. experimentu (Autor: Foltová Tereza)

3. experiment - srpen 2020

V grafu č.6 vidíme zastoupení počtu samic a samců v průběhu 3. experimentu, ve kterém bylo získáno celkem 1476 jedinců. Teplota se pohybovala okolo 25,7°C a vlhkost byla průměrně 46% (graf 7).



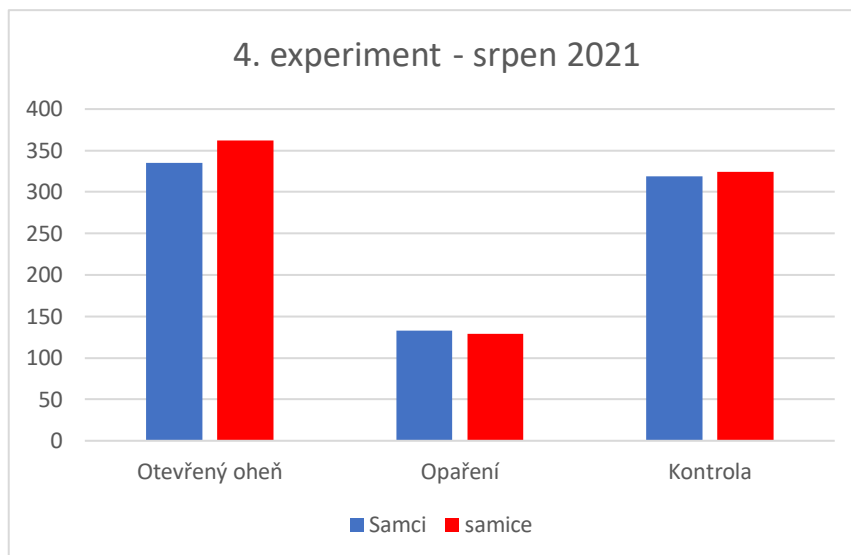
Graf 6: Porovnání počtu samců a samic na jednotlivých variantách – 3. experiment (Autor: Foltová Tereza)



Graf 7: Průměrné teploty a vlhkost v průběhu 3. experimentu (Autor: Foltová Tereza)

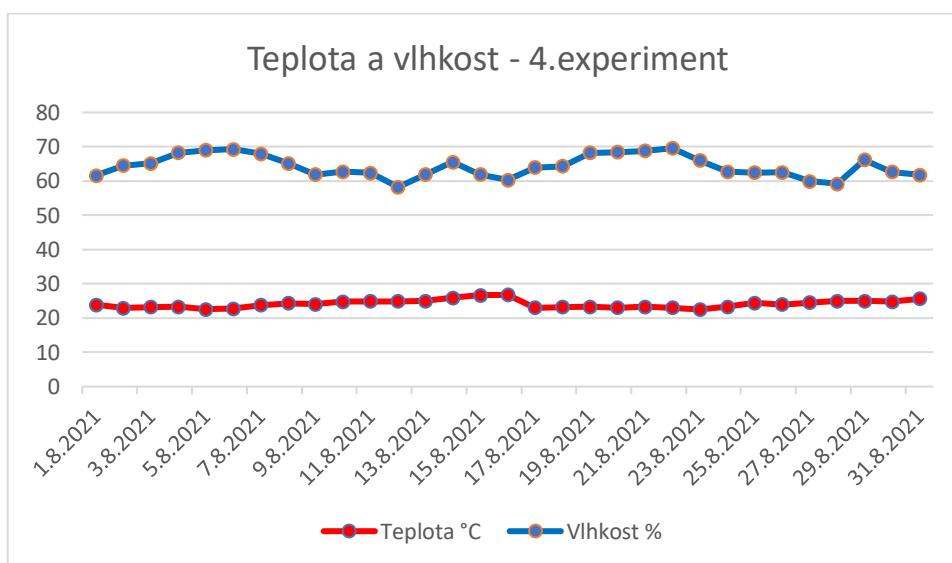
4. experiment – srpen 2021

V rámci posledního experimentu bylo celkově získáno nejvíce jedinců (1602). Samic bylo rovněž více než samců jako v předchozích pokusech (graf 8).



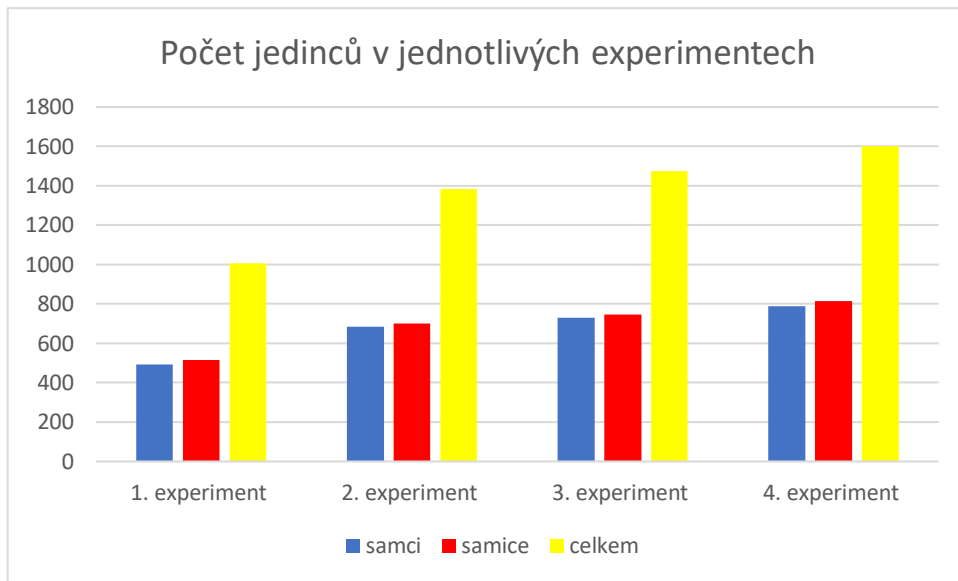
Graf 8: Porovnání počtu samců a samic na jednotlivých variantách – 4. experiment (Autor: Foltová Tereza)

Průměrná teplota byla 24,1°C a průměrná vlhkost 64% (graf 9).



Graf 9: Průměrné teploty a vlhkost v průběhu 4. experimentu (Autor: Foltová Tereza)

Pokud porovnáme celkový počet jedinců ve všech pokusech, počet jedinců v posledním experimentu je ze všech nejvyšší (graf 10).



Graf 10: Počet jedinců v jednotlivých experimentech (Autor: Foltová Tereza)

4 Diskuze

V rámci terénního experimentu bylo odchovem získáno celkem 5470 jedinců druhu *Calliphora vicina* (Calliphoridae, Diptera). Z toho 43 % (n = 2351) bylo odchováno na ohořelých kadáverech, 17,7 % (n = 970) na opařených a zbylých 39,3 % (n = 2149) na kontrolních zvířatech. Výsledky vlastního experimentu tímto vyvrátily tvrzení Smithe (1986), že na tepelně pozměněné maso vařením, nebo pečením bzučivky nekladou.

Průměrné denní teploty se v průběhu volné expozice objektů pohybovaly kolem 24°C, což představuje ideální podmínky pro kladení mouchami čeledi Calliphoridae. Teploty byly v rámci experimentů podobné, tudíž nelze předpokládat, že výsledky všech realizovaných experimentů nějak ovlivnila teplota. Přesto se na všech pokusných objektech podařilo odchovat pouze zástupce druhu *Calliphora vicina*. Protože se uvedený druh vyskytoval jak na obou variantách experimentu – kadávery ohořelé a opařené – tak na kontrole, lze předpokládat, že uvedená bzučivka nemá žádné preference vzhledem ke způsobu tepelného poškození kadáveru.

Druh *Calliphora vicina* byl odchován ve všech variantách, přesto nejvíce jedinců bylo ve variantě A – otevřený oheň. Ze zjištěných dat lze tedy předpokládat, že takto pozměněný substrát je pro uvedený druh mouchy nejvíce atraktivní při kladení. Současně uvedený výsledek dokládá, že ohořelé kadávery přes poškození otevřeným ohněm obsahovaly potravu v dostatečné množství a kvalitě, respektive vhodné k vývinu larev a dokončení jejich vývojových cyklů.

Vzájemným porovnáním variant „opaření“ a „ohoření“ s kontrolou bylo zjištěno, že u opařených kadáverů byla opakovaně detekována výrazně menší imága než u kadáverů ohořelých otevřeným ohněm (obr. 18) nebo u kontrolních kadáverů. Výskyt minoritních forem byl pravděpodobně způsoben tím, že na opaření měly larvy méně vhodné podmínky a nekvalitní potravu potřebné k vývoji. Za těchto zhoršených podmínek se nedostatečně vyvinuly. V případě nevhodné anebo nedostatečné potravy se vyvíjí menší larva, následně také malá kukla a z té se následně líhne malý dospělý jedinec (minoritní forma).

Porovnáním tepelně upravených variant bylo rovněž zjištěno, že na opařených kadáverech bylo výrazně méně jedinců (vajíček a následně larev, puparií a vylíhlých imág) než na ohořelých kadáverech a kontrole. Menší motivaci ke kladení, s tím spojený menší počet larev a možná vyšší mortalitu larev během vývinu lze přisoudit skutečnosti, že pozměnění kadáveru vroucí vodou způsobí, že mrtvola není následně pro mouchy dostatečně atraktivní, což bylo patrné i při pozorování zaklazení. Mouchy na variantu opaření létali mnohem méně a později než na variantu otevřený oheň, kdy k zaklazení a atrakci much došlo prakticky okamžitě. Na ohořelém kadáveru bylo much a larev nejvíce, ohněm způsobená traumata byla pro mouchy atraktivní a představovala snadno dostupný zdroj potravy. Odchovaní jedinci jsou velikostně na této variantě největší.

Porovnáním pohlaví odchovaných jedinců much nebyly u všech variant a opakování zjištěny žádné významné rozdíly v zastoupení samců a samic. Z toho lze usoudit, že velikost zdroje a kvalita potravy není pro výsledné pohlaví jedince rozhodující.

Výsledky terénního experimentu odpovídají tvrzení Byrd a Castner (2010), že složení nekrobiotní fauny, která klade na ohořelé a neohořelé kadávery se příliš neliší. Rozdílná je pouze doba, kdy je kadáver pro hmyz nejvíce atraktivní, a je možné sledovat rozdíly ve vývinu jednotlivých jedinců. Ohořelý kadáver byl v prvních desítkách minut pro hmyz nejvíce atraktivní a k jeho základení došlo téměř okamžitě. Mouchy kladly zejména do oblasti traumat způsobených ohněm, do oblasti kloaky, očí a v okolí zobáku. Oproti tomu opařený kadáver byl pro hmyz atraktivní až v pozdějších hodinách, kdy nejdříve došlo k zaklazení tělních otvorů i přesto, že povrch těla (peří) byl dostatečně teplý a vlhký, tudíž ideální pro kladení. K obdobným výsledkům dospěl i Smith (1986) v rámci svých experimentů.

V rámci experimentu nebylo možné potvrdit tvrzení Šulákové (2014), že na kadáverech (lidský mrtvolách) se obvykle vyskytují v dominantním postavení dva až tři druhy bzučivek a další jeden až tři druhy jsou doprovodné, které se vyskytují v omezeném počtu. V rámci všech variant a opakování byl zjištěn (odchován) pouze jediný druh bzučivky, a to *Calliphora vicina*. Uvedený rozdíl v počtu zastoupených bzučivek lze vysvětlit velikostí použitých kadáverů při experimentu. Při porovnání s lidskou mrtvolou jsou kadávery slepic natolik malé, že v rámci mezidruhovové konkurence mohly tyto být kolonizovány pouze jediným druhem bzučivky. Ta z pozice dominantního druhu patrně svými larvami natolik opanovala kadávery, že pro ostatní zástupce bzučivek, které mohly přiletět později, nebyly kadávery nadále atraktivní a vhodné k dalšímu kladení.

Výsledky experimentu potvrdily tvrzení Byrd a Castner (2010), že v případě ohoření jsou pro mouchy nejvíce atraktivní ke kladení oblasti popraskané kůže a vzniklých traumat. U ohořelých kadáverů slepic byla v místech narušené pokožky patrná četná vajíčka a pozdějších fázích i larvy. Oproti tomu na opařených jedincích nebyla vajíčka determinována. Kolonizaci kadáveru jednoznačně potvrdila až zjištěná přítomnost larev v pozdějším stadiu rozkladu.

Pokud bychom chtěli pochopit další zákonitosti v preferenci kladení a rozdílů ve vývoji, bylo by nutné experimenty zopakovat, nejlépe na větších pokusných objektech.

5 Závěr

V literárním přehledu byl přiblížen hlavní předmět zájmu forenzní entomologie a stručně popsána historie a její vývoj. Byly popsány jednotlivé sukcesní vlny a zástupci v nich se vyskytující. Byl také stručně popsán postup při zajišťování entomologického materiálu a budoucnost forenzní entomologie. Dále je v literární rešerši zkráceně popsána specifikace nejvýznamnějších čeledí – Calliphoridae, Muscidae a Sarcophagidae. Rovněž je uveden vliv ohně na nekrofágní organismy.

Experiment v praktické části se zaměřoval na vliv ohoření a opaření kadáverů na druhové složení prvních nekrobiontních kolonizátorů. Cílem bylo zjistit, zda tepelné pozměnění mrtvoly má vliv na preferenci při kolonizaci a na druhové složení jednotlivých zástupců z řádu Diptera. Podařilo se nám zjistit, že ohořelý substrát je pro mouchy nejvíce atraktivní, oproti tomu opařený nejméně. V případě přesnějších výsledků bych doporučovala pokus zopakovat a pokud bychom výsledky chtěli uplatnit na lidskou mrtvolu, bylo by lepší pokus provést na větších pokusných objektech, například na kadáveru prasete domácího.

6 Seznam použité literatury

AMENDT, J., KRETTEK, R., ZEHNER, R. 2004. Forensic entomology. *Naturwissenschaften*. 91. 51 – 65 p.

AMENDT, J., CAMPOBASSO, C. P., GAUNDRY, E., REITER, C., LEBLANC, H. N., HALL, M. J. R. 2006. Best practice in forensic entomology — standards and guidelines. *International Journal of Legal Medicine*. 121: 90 – 104.

ANDERSON, G. S. 2005. Effects of arson on forensic entomology evidence. *Canadian Society of Forensic Science Journal*. 38 (2). 49 – 67 p.

ANONYMOUS. 2009. The Body Farms [online] 25. 7. 2009 [citace 2022-03-14]. Dostupné z: <https://web.archive.org/web/20091108193310/http://www.deathcare.com/tag/body-farm>

AVILA FW, GOFF ML. 1998. Arthropod succession patterns onto burnt carrion in two contrasting habitats in the Hawaiian Islands. *Journal of Forensic Sciences* 43(3): 581-58.

BENECKE, M. 2001. A brief history of forensic entomology. *Forensic Science International*. 120: 2 – 14.

BENECKE, M. 2004. Forensic Entomology: Arthropods and Corpses. *Forensic Pathology Reviews*. 2: 207 - 240.

BENECKE, M. 2008. A brief survey of the history of forensic entomology. *Acta biologica Benrodis*. 14: 15 – 38.

BYRD, J. H., CASTNER, J. L. 2010. Forensic entomology: the utility of arthropods in legal investigations. CRC Press. Boca Raton. 682 pp. ISBN: 978-0-8493-9215-3

CAMPOBASSO, C. P., DI VELLA, G., INTRONA, F. 2001. Factors affecting decomposition and Diptera colonization. *Forensic Science International*. 120 (1 – 2): 18 – 27.

CATTS EP, GOFF ML. 1992. Forensic entomology in criminal investigations. *Annual Review of Entomology* 37:253–72.

DANĚK, L. 1980. Možnosti využití entomologie v kriminalistice. *ČS Kriminalistika* 8(1): 44-55.

DANĚK, L. 1990. Možnosti využití entomologie v kriminalistice. *Kriminalistický ústav VB*. Praha. 142 s.

DRABER-MOŇKO, A. 2004. Calliphoridae: Plujki (Insecta: Diptera). *Muzeum i Instytut Zoologii PAN, Warszawa*, 658 pp. ISBN 83-881-4702-1

ELIÁŠOVÁ, H., ŠULÁKOVÁ, H. 2012. Forenzní biologie. Pp. 281-325. In: ŠTEFAN, J., HLADÍK, J. (eds). *Soudní lékařství a jeho moderní trendy*. Grada Publishing, Praha, 448 pp. ISBN: 978-80-247-3594-8

GENNARD, D. E. 2012. *Forensic Entomology: an introduction - second edition*. Wiley- Blackwell. Chichester. 266 s. ISBN: 978-0-470-68903-5

GLASMANN, D.M. CROW, R.M. 1996. Standardization Model for Describing the Extent of Burn Injury to Human Remains. *Journal of Forensic Sciences* 41 (1). 152 – 154 p.

GUPTA, A., SETIA, P. 2004. Forensic Entomology – Past, Present and Future. *Aggrawal's Internet Journal of Forensic Medicine and Toxicology*. 5(1). 50 - 53 p.

HADLEY, D. n. d. An Early History of Forensic Entomology, 1300 - 1900. [online] [citace 2022-03-03] Dostupné z: http://insects.about.com/od/forensicentomology/p/early_forensic_ento_history.htm

(poslední přístup: 3.3.2022).

HOPKINS GHE (1944) Notes on myiasis especially in Uganda. East African Medical Journal, 21: 258-265.

INTRONA, F., CAMPOBASSO, CP, GOFF ML. 2001. *Entomotoxicology*. Forensic Science International. 120(2001). 42-47.

KLIMEŠOVÁ, V., OLEKŠÁKOVÁ, T., BARTÁK, M., ŠULÁKOVÁ, H., 2016. Forensically important Muscidae (Diptera) associated with decomposition of caracasses and corpses in the Czech Republic. MendelNet 2016. 784 – 789.

LAUPY, M. 1994. Post mortem interval a nekrofilní mouchy. Kriminallistika. 27 (2): 121-135.

NUORTEVA, P., ISOKOSKI M, LAIHO K. 1967. Studies on the possibilities of using blowflies (Dipt.) as medico-legal indicators in Finland. Annales Entomologici Fennici, 33: 217-225.

POVOLNÝ, D. 1978: Hmyz v kriminologii. Vesmír 57(7): 205-208

POVOLNÝ, D. 1979. Některá hlediska praktického využití hmyzu v kriminalistice. Kriminallistický sborník. 10. 620 – 632 s.

PRESNELL, S. E. 2013. Postmortem Changes. [online]. 20. 2. 2013 [citace 2022-03-01].

Dostupné z <http://emedicine.medscape.com/article/1680032-overview>

QUINN, F. 2013. Forensic Entomology: Something's Bugging Me About the Murder Scene.

[online] 20. 12. 2013 [citace 2022-03-13] Dostupné z

<http://thrillwriting.blogspot.cz/2013/12/forensic-entomology-somethings-bugging.html>

ROGNES, K. 1990. Blowflies (Diptera, Calliphoridae) of Fennoscandia and Denmark. *Fauna Entomologica Scandinavica* 24: 1 - 272.

SMITH, K. G. V. 1986. *A Manual Of Forensic Entomology*. British Museum. London. 205 s.

ISBN: 0-565-00990-7

ŠULÁKOVÁ, H. 2006. Speciální biologie: Využití hmyzu při stanovení post mortem intervalu. *Kriminalistický sborník* 3: 36 – 37.

ŠULÁKOVÁ, H., MARKVARTOVÁ, J., BERAN, M. 2013. Hmyz a mrtvý muž v bytě. *Soudní lékařství*. 4. 2 – 5 s.

ŠULÁKOVÁ, H. 2014: Forezní entomologie - když smrt je začátek. *Živa* 2014(5): 250-256.

ŠULÁKOVÁ, H. 2017. Forezní entomologie. Pp. 292-316. In: STRAUS, J., PORADA, V. (eds.). *Teorie, metody a metodologie kriminalistiky*. Aleš Čeněk, Plzeň, 417 pp. ISBN 978-80-7380-666-8.

ŠULÁKOVÁ, H. 2019. Kap. 14.7 Forezní entomologie. In: Porada V. a kol.: *Kriminalistika – Technické, forezní a kybernetické aspekty*. 2. vydání, Plzeň, Aleš Čeněk: 678-692

WARDLE, RA. 1921. The protection of meat commodities against blowflies. *Annals of Applied Biology*, 8: 1-9.

7 Přílohy



Obr. 19: ohořelý kadáver z varianty A (Autor: Foltová Tereza)



Obr. 20: ohořelý kadáver z varianty A (Autor: Foltová Tereza)



Obr. 21: ohořelý kadáver z varianty A (Autor: Foltová Tereza)



Obr. 22: opařený kadáver z varianty B (Autor: Foltová Tereza)



Obr. 23: opařený kadáver z varianty B (Autor: Foltová Tereza)



Obr. 24: opařený kadáver z varianty B (Autor: Foltová Tereza)



Obr. 25: kontrolní kus z varianty C (Autor: Foltová Tereza)



Obr. 26: kontrolní kus z varianty C (Autor: Foltová Tereza)



Obr. 27: kontrolní kus z varianty C (Autor: Foltová Tereza)



Obr. 28: kontrolní kus z varianty C pokrytý larvami (Autor: Foltová Tereza)