

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra zoologie a rybářství



Vliv nízkých teplot na kolonizaci kadáveru hmyzem

Bakalářská práce

Autor práce: Lucie Harakalová

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

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

© 2014 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

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

V Praze dne 8.4.2014 _____

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala vedoucímu mé bakalářské práce panu prof. RNDr. Miroslavu Bartákovi, CSc. a konzultantce mé bakalářské práce pplk. Ing. Haně Šulákové, Ph.D. za jejich ochotu, trpělivost, připomínky a zejména za jejich čas a cenné rady, které mi věnovali.

Vliv nízkých teplot na kolonizaci kadáveru hmyzem

Souhrn

Cílem práce bylo shromáždit dostupné informace a vypracovat literární přehled na téma, jak u kadáveru ovlivňuje jeho zmražení anebo uložení při nízkých teplotách jeho následnou kolonizaci hmyzem při volné expozici.

Forenzní entomologie je jednou z kriminalistických metod, která zkoumá členovce a to zejména nekrofágní hmyz s cílem pomoci při vyšetřování trestných činů při odhadu posmrtného intervalu (PMI) nebo při zjišťování příčiny smrti. Základem forenzních šetření je identifikace druhů zjištěných při různých fázích rozkladu mrtvoly, znalost vlivu každé rozkladné etapy a faktorů prostředí. Jedním z nejdůležitějších faktorů je teplota, která ovlivňuje rozkladné pochody, kdy při vyšších teplotách jsou rozkladné pochody kratší a naopak při nižších teplotách se doba rozkladu prodlužuje. Obdobně teplota působí i na vývin hmyzu, který je schopný vyvíjet se pouze v rozmezí tzv. efektivních teplot, jejichž hodnoty se u jednotlivých druhů mohou až výrazně lišit. Nepříznivé teploty zpomalují nebo dokonce pozastaví vývin jak vajíček, tak larev a pupárií. Zároveň významný vliv představují teplotní preference a tolerance hmyzu, a proto je zastoupení hmyzu v oblastech s různými teplotními vlivy odlišné.

Součástí práce bylo provedení a vyhodnocení experimentu, který měl objasnit, zda zmražení kadáveru ovlivňuje druhové složení dvoukřídlých a rychlost kolonizace při následné volné expozici. Při experimentech byly použity celkem čtyři kadávery kura domácího (*Gallus gallus* f. *domestica* L.) o hmotnosti cca 1,5 kg, které byly usmrceny stejným způsobem, avšak polovina byla před volnou expozicí zmražena. Výsledky experimentu prokázaly, že předem zmražený i čerstvý kadáver kolonizují stejní zástupci bzučivek (Diptera, Calliphoridae). Během pokusů byly zjištěny druhy *Calliphora vicina* Robineau-Desvoidy, 1830, *Lucilia sericata* (Meigen, 1826), *Lucilia illustris* (Meigen, 1826), *Lucilia ampullacea* Villeneuve, 1922, *Phormia regina* (Meigen, 1826) a *Protophormia terraenovae* (Robineau-Desvoidy, 1830). Procentuální zastoupení jednotlivých druhů bylo při obou variantách shodné. Zmražený a čerstvý kadáver se lišily v celkovém počtu jedinců (larev), kteří se na zvířatech vyvíjeli a ve způsobu, jakým se kadávery rozkládaly.

Klíčová slova: forenzní entomologie, vliv chladu, sukcese, Calliphoridae

The influence of low temperatures on insect colonization of the cadaver

Summary

The aim this work was to gather available information and elaborated a literature overview on the theme how freezing or storage at low temperature of a carcass affects its subsequent colonization by insects during the following free exposition.

Forensic entomology is one of the criminalistic techniques which examines arthropods, especially necrophagous insects, to assist in criminal investigations namely in the estimation of postmortem interval (PMI) or determine the cause of death. The basis of forensic investigation is species identification within various stages of corpse decomposition knowledge of each stage, and effect of environmental factors. One of the most important factors is the temperature which affects the decomposition processes in which higher temperatures accelerate destructive processes which are quicker while lower temperatures slower decay and extend degradation time. Similarly, temperature affects the development of insect that is able to develop only in the specific range of so-called effective temperatures which usually significantly different for each species. Adverse temperatures slow down or even suspend the development of both eggs and larvae or pupae. At the same time, the temperature preference and insect tolerance represent a significant effect and therefore the insect species compositions vary in habitats with different average temperatures.

Part of this work was to design a field experiment and analyse obtained data to clarify whether previous freezing of a carcass affects the species composition of Diptera and colonization rate during the following free exposition. In the experiments, four carcasses of chickens (*Gallus gallus f domestica* L.) weighing about 1,5 kg, were used in total all were killed in the same way but half was frozen before the free exposition. The results of the experiment showed that pre-frozen and fresh carcass colonize the same species of blowflies (Diptera, Calliphoridae). There were following species: *Calliphora vicina* Robineau-Desvoidy, 1830, *Lucilia sericata* (Meigen, 1826), *Lucilia illustris* (Meigen, 1826), *Lucilia ampullacea* Villeneuve, 1922, *Phormia regina* (Meigen, 1826), and *Protophormia terraenovae* (Robineau-Desvoidy, 1830). Percentages of each species were the same in both versions. Frozen and fresh carcass differed in the total number of individuals (larvae) which developed on the animals, and the way in which the carcasses decomposed.

Keywords: forensic entomology, influence of cold, succession, Calliphoridae

Obsah

1 Úvod.....	8
2 Cíl práce	9
3 Literární přehled.....	10
3.1 Forezní entomologie.....	10
3.1.1 Význam forezní entomologie.....	10
3.2 Sukcese.....	11
3.2.1 Vývoj názorů na sukcesní vlny	12
3.2.2 Sukcesní vlny	13
3.3 Faktory ovlivňující rozklad mrtvoly a vývin hmyzu na mrtvole	17
3.3.1 Vliv stavu mrtvoly	17
3.3.2 Vliv typu prostředí	18
3.3.3 Teplotní vliv.....	19
3.4 Čeleď Calliphoridae	20
3.4.1 Taxonomické členění.....	20
3.4.2 Čeleď Calliphoridae ve forezní entomologii	21
3.5 Faktor chladu a nízkých teplot při vývinu hmyzu.....	23
3.5.1 Vliv zmražení na rozklad kadáveru	24
3.5.2 Chlad a zástupci z čeledi Calliphoridae	25
4 Materiál a metody	26
4.1 Popis lokality.....	26
4.2 Přípravná fáze.....	26
4.2.1 Příprava zvířat před pokusem	26
4.2.2 Pomocné materiály	26
4.3 Realizace pokusu.....	27
4.3.1 Exponování	27
4.3.2 Vývin larev	27
4.3.3 Odběr vzorků imag	27
4.4 Způsoby hodnocení	28
5 Výsledky	29
5.1 Vizuální hodnocení	29
5.2 Druhové složení	30
5.3 Zhodnocení terénních pokusů	30
6 Diskuze	32
7 Závěr.....	34

8 Seznam literatury	35
9 Seznam obrázků, tabulek a grafů	40
10 Samostatné přílohy	42

1 Úvod

Předvídatelný sled hmyzu kolonizujícího mrtvolu je již řadu let ve forenzní entomologii považován za jeden z nejpřesnějších způsobů pro stanovení doby úmrtí. Nicméně existuje mnoho rozdílných parametrů, které mohou mít vliv na časovou následnost a druhové složení fauny na mrtvole. Je nezbytně nutné znát maximum všech faktorů, které mohly mít vliv na kolonizaci těla hmyzem. Jedním z nejdůležitějších je teplota, která ovlivňuje nejen rychlost rozkladu kadáveru, ale i vývin hmyzu a zastoupení jednotlivých druhů hmyzu na kadáveru (Byrd et Castner, 2010).

V kriminalistické praxi se setkáváme s případy, kdy je nalezena lidská mrtvola, popř. její části, které pachatel před volnou expozicí (pohozením nebo zakopáním v přírodě) po nějakou dobu uchovával v mrazicím boxu. Po rozmrznutí tkání je tělo, nebo jeho části, degradováno bezobratlými živočichy obdobně jako mrtvola předtím nezmražená. Naskytá se však otázka, zda je možné metodami forenzní (kriminalistické) entomologie rozlišit kadáver „čerstvý“ od kadáveru, který byl předtím zmražen. Informace o předchozím uložení lidského těla v mrazicím boxu má značný význam jak z hlediska vyšetřování, tak pro správnou interpretaci výsledků stanovení tzv. post mortem intervalu (doby od smrti jedince do jeho nálezů) pomocí metod forenzní entomologie. Z pohledu entomologa bude období aktivity bezobratlých na mrtvém těle kratší než skutečný post mortem interval právě o dobu, po kterou byla mrtvola uložena v podmínkách, které jsou pro hmyz nepříznivé. Může však forenzní entomolog poznat, že tělo bylo před kolonizací hmyzem uloženo v mrazicím boxu?

Cílem práce bylo pomocí terénních pokusů zjistit, zda se liší rychlost, s jakou jsou na počátku expozice kolonizovány čerstvý a zmražený kadáver nekrofágními organismy při volné expozici, popř. jestli lze pomocí druhové skladby nekrofágů rozpoznat předchozí zmražení.

2 Cíl práce

Cílem práce bylo vypracovat literární přehled na téma jak u kadáveru ovlivňuje jeho zmražení anebo uložení při nízkých teplotách jeho následnou kolonizaci hmyzem při volné expozici. Součástí práce bylo provedení a vyhodnocení experimentu popsaneého v metodice.

Hypotéza: zmražení anebo podchlazení kadáveru před samotnou volnou expozicí ovlivňuje druhové složení dvoukřídlých na počátku kolonizace.

3 Literární přehled

3.1 Forenzní entomologie

Členovci jsou zdaleka největší a nejdůležitější skupinou organizmů na Zemi a můžeme je nalézt v celé řadě míst, včetně míst, kde došlo k spáchání trestné činnosti. To otevírá širokou škálu uplatnění pro forenzní entomologii, tj. převážně použití hmyzu získaného z místa činu a mrtvoly při vyšetřování (Benecke, 2004).

Forenzní entomologie je věda, která se v posledních letech bouřlivě rozvíjela a v mnoha případech vražd přispěla ke zpochybnění alibi podezřelých, nebo k potvrzení jejich nevin (Innes, 2010).

V dnešní době vědci na celém světě využívají entomologii v trestním řízení včetně vražd a dalších závažných případech (Benecke, 2001).

3.1.1 Význam forenzní entomologie

Od 19. století bylo hlavním cílem forenzních entomologů stanovit post mortem intervalu (PMI). Je však mnoho dalších způsobů, jak využít členovce na místě činu, protože z jejich přítomnosti lze odvodit celou řadu cenných informací (Benecke, 2004).

Stanovení post mortem intervalu, tj. doby, která uplynula od úmrtí člověka do jeho nálezů, podle hmyzu je obor vycházející z poznatků ekologie nekrosaprofágních (mrchožravých) organismů (Šuláková, 2006). Tato metoda je založena na znalosti délky vývinu konkrétního členovce za různých podmínek, dále na znalosti posloupnosti členovců na mrtvole a to především mrchožravého hmyzu. Technicky vzato není možné určení post mortem intervalu (PMI) u mrtvoly, která je uložena v místech bez působení vnějších faktorů nebo za podmínek, které částečně omezují přístup hmyzu (např. velmi chladné, deštivé nebo neprodyšně uzavřené místo) (Benecke, 2004).

Hmyz žijící jen v určitých oblastech, který je nalezen na mrtvole v jiné oblasti, může prokázat, že tělo bylo po smrti přemístěno. Lze dokonce odpovědět na otázky, zda osoba byla zabita nebo přenesena v noci nebo za dne nebo, když pršelo nebo bylo slunečno (Benecke, 2004).

Na základě výskytu druhů hmyzu typických pro volnou expozici u pohřbených těl je možné usuzovat na dodatečné pohřbení. Oproti tomu u těl posléze odkrytých anebo vyhrabaných zvířaty lze podle zastoupeného hmyzu stanovit, kdy k odkrytí došlo, resp. zda byl mrtvý na počátku zcela pohřben (Šuláková, 2012).

Benecke (2004) uvádí, že podezřelí byli spojeni s trestnou činností na základě zjištění, že jsou poštipáni od členovců specifických pro okolí místa trestného činu. Dalším příkladem mohou být larvy hmyzu v plenách a na tělech starších lidí a dětí, které mohou poskytnout informace o tom, jak dlouho byly tyto osoby zanedbávány příbuznými nebo placeným personálem. Léky a drogy, které již nelze prokázat z rozložených tkání mrtvého, mohou být stanoveny z hmyzu, který se živil mrtvolou na počátku jejího rozkladu. Také neobvyklé množství larev a brouků na těle mrtvého může signalizovat, že v daném místě se vyskytovaly bodné rány.

Entomologická kritéria používaná ve forenzní entomologii pro odhadnutí času úmrtí lidí jsou stejně tak použitelná při stanovení úhynu zvířete. Nekrofilní hmyz přítomný na kadáverech volně žijících zvířat může poskytnout cenné informace v trestním řízení vedeném proti pytlákům (Watson et Carlton, 2005).

Ve spolupráci s oddělením genetiky je možné se pokusit ze zajištěných larev a imag hmyzu stanovit profil DNA člověka, na kterém se vyvíjely a živily, a to v případech, kdy došlo k dodatečnému přesunu mrtvého těla a na původním místě uložení zůstaly pouze zbytky hmyzu. Úspěšnost analýzy je řádově 50 % (Šuláková, 2012).

3.2 Sukcese

Je dobře známo, že mrtvola představuje dynamický systém, jenž vytváří přechodné útočiště a podporuje bohaté společenství, které tvoří členovci a ti jsou důležitou složkou, nejen proto, že konzumují rozkládající tkáň, také však proto, že mohou tyto rozkladné procesy urychlit. Společenstvo členovců se mění s časem a zahrnuje specifické druhy, které se živí tkáněmi nebo exudáty, které se v daném okamžiku rozkladu objeví (Arnaldos et al., 2004).

Sukcese je časově zákonitý sled, resp. nástup určité charakteristické fauny nebo flóry v rámci klimatických cyklů a změn v systémech. Činitel času se projevuje tak, že jak ubíhají dny, týdny a měsíce od smrti, objevují se zde postupně jiné a jiné druhy tohoto dílčího společenstva, tj. čas zde podmiňuje sukcesní sled druhů. V prvním období po smrti živočicha se sletují na mrtvolu druhy konzumující nejměkčí tkáň a mající i nejrychlejší vývin larev (dvoukřídlý hmyz), naopak v poslední fázi se zde objevují druhy konzumující zbytky kůže, srst, peří, zbytky vaziv při kostech a nakonec samotné kosti. Jejich vývojové cykly jsou delší (Daněk, 1980). Hmyz a jiní členovci kolonizují tělo postupně podle stupně rozkladu, v sobě jdoucích vlnách. Každá vlna modifikuje vlastní substrát, který má ten efekt, že je atraktivní pro následující hmyz nebo členovce (Bornemisza, 1957).

Hmyz vytváří ve své sukcesi návazná společenstva, která se pochopitelně liší podle spektra místní entomologické fauny na různých místech země, např. v palearktické oblasti, v tropické oblasti nebo na severu. V pokročilém jaru, v létě a na počátku podzimu se na mrtvém těle objevují ve velkém počtu nejrozličnější druhy nekrofilního hmyzu ve stadiu dospělců i larev, v zimě, v časném jaru a pozdním podzimu počet imag klesá. Larvy i dospělci jsou ve fázi inaktivní (klidové) (Daněk, 1980).

Bornemisza (1957) uvádí čtyři na sebe navazující společenstva: nekrofágní (na čerstvé mrtvole), saprofágní (na biochemicky aktivní mrtvole), dermatofágní (na vysychající mrtvole) a keratofágní (na jejich dehydrovaných zbytcích).

3.2.1 Vývoj názorů na sukcesní vlny

Názory na roztrídění mrtvolné fauny podle jednotlivých sukcesních vln jsou značně rozdílné. V klasickém pojetí Mégninově se rozeznávalo osm období (osm sukcesních vln), přičemž poslední vlna zahrnovala údobí delší než tři roky. V následujících desetiletích byl tento sled nekrofágní fauny některými autory různě redukován. Pozdější autoři tvrdí, že ačkoli sled členovců lze studovat do velmi pozdních fází rozkladu, vychází Mégninovo schéma z příliš statického nazírání. Nemohlo tak obstát jak teoreticky, tak praktickým požadavkům, které na ně kladla především kriminalistická praxe. Fuller rozdělil rozkladné pochody do tří fází. První, výchozí, fázi klade do doby, která následuje těsně po smrti živočicha. Druhou do doby hniloby, ztekucování tkání a tlení, kdy převládá hnilobný zápach. Třetí fázi charakterizuje vysoušení zbytků těla a mizení zápachu (Daněk, 1990).

Payne (1965) popsal šest fází rozkladu těla, přičemž každou charakterizoval nástup odlišné vlny hmyzu: čerstvé tělo, nafouklé, v aktivním rozkladu, v pokročilém rozkladu, rozložené vyschlé a ostatky. Payne zjistil, že hmyz k tělu lákají plyny, které se během rozkladu uvolňují. Protože použitá selata byla poměrně malá a jejich rozklad probíhal rychleji než u lidí, Payneho výsledky ukázaly, že jednotlivé vlny výskytu hmyzu na těle proběhly v rychlejším sledu, než jak vyplývalo z Mégninových výzkumů. Navíc si Payne všiml, že u zkoumaných zmražených selat kladly některé masařky (*Sarcophagidae*) své larvy do tělních otvorů ještě dříve než došlo k jejich úplnému rozmražení. Později téhož dne se na těle objevily bzučivky rodu *Calliphora* Robienau-Desvoidy, 1830 a bzučivky rodu *Lucilia* Robineau-Desvoidy, 1830. Současně se objevili vosy a mravenci, kteří se živili jak masem prasat, tak mušimi vajíčky. Poté, co se z těl začaly uvolňovat rozkladem vzniklé tekutiny, objevili se zástupci z čeledi mouchovití (*Muscidae*). Druhý den se těla selat nafoukla v důsledku znásobení počtů bakterií v jejich vnitřnostech a uvolňováním metanu, oxidu

siřičitého a dalších plynů. Pach těla přilákal značné množství masařkovitých (Sarcophagidae), bzučivkovitých (Calliphoridae), octomilkovitých (Drosophilidae) a menší množství sýrohlodkovitých (Piophilidae). Třetí den ráno tělo opustily masařky i bzučivky a jejich vylíhnuté larvy začaly konzumovat tělo. Během několika hodin se larvy dostaly až k vnitřnostem, čímž uvolnily nahromaděné plyny. Tekutiny uvolněné rozkladem skapávaly na půdu a přilákaly brouky, kteří se živili larvami much. Nastoupila fáze aktivního rozkladu, kdy se nafouklá těla rychle zbavila nahromaděných plynů, pach rozkládajících tkání přilákal denní i noční motýly a včely. K šestému dni byla většina měkkých tkání zkonsumována a pach rozkládajících se tkání zeslábl. Těla začaly opouštět larvy much, které již dosáhly třetího vývojového stadia, a po nich opustila tělo první vlna brouků. Následující dva dny představovaly fázi suchého rozkladu, kdy z většiny selat zbývala jen hromádka kostí, chrupavek a kůže. Na tělech se objevili brouci kožojedovití (Dermestidae) a také roztoči, o kterých se Payne domníval, že byli přilákáni plísněmi, kterými začaly ostatky obrůstat. Tento proces pokračoval měsíc, někdy i déle, dokud na kostech selat nezbylo vůbec nic, co by mohlo posloužit jako potrava hmyzu (Innes, 2010).

3.2.2 Sukcesní vlny

V současné době v našich klimatických podmínkách, u mrtvoly volně exponované v terénu, lze brát v úvahu osm sukcesních vln, někdy také označovaných jako fáze, ve kterých kolonizuje nekrofágní hmyz volně ležící mrtvé tělo (Daněk, 1990 a Šuláková 2006, 2012).

Je nezbytné mít na paměti, že jednotlivé fáze nelze jednoznačně časově ohraničit a přechod z jedné do druhé je plynulý, to znamená, že na těle se zpravidla vyskytují zástupci bezobratlých z několika fází současně (Šuláková, 2012). Uplatňují se zde činitelé stanovištní i klimatičtí, jako např. roční doba, počasí, vlhkost, teplota, přístup vzduchu, proudění vzduchu, vlastnosti podkladu, rostlinný kryt, složení půdní fauny, okolní biocenózy, zastínění, sluneční expozice, činnost některých živočichů, přítomnost některých druhů bakterií, plísní, hub a v neposlední řadě i činnost člověka (Daněk, 1990).

První sukcesní vlna - čerstvé tělo

První sukcesní vlna zahrnuje fázi těsně po smrti, nebo pokud oběť krvácí a je však bezmocná, např. v komatu, ještě za života jedince. U intaktních mrtvol nemusí vůbec dojít k počátku kolonizace hmyzem. Jiná situace nastává v okamžiku, kdy jsou na mrtvole (krvácivá) traumata. Aroma krve je silný atraktant, který láká hmyz (Šuláková, 2012).

K vykladení vajíček dojde mnohem rychleji ve volném terénu nebo všude tam, kde se mouchy běžně vyskytují, než tam, kam musí pronikat (např. uzavřený byt). Z obdobných

příčin se na čerstvé mrtvole můžeme setkat s brouky z čeledi střevlíkovití (Carabidae), a některými druhy vos, škvorů a mravenců. Mravenci a škvorí zanechávají na kůži charakteristické stopy. Vosy napadají zejména oční bělmo a rozrušenou svalovou hmotu, kusadly oddělují poměrně velké části rozrušené tkáně a odlétají (Daněk, 1990).

Druhá sukcesní vlna - tělo nadmuté

Tvorbou plyných látek se tělo nadouvá a páchne. Tato fáze nastane za optimálních podmínek např. v letních měsících, již druhý den po smrti. Atraktantem pro hmyz je uvolňovaný plyn (Šuláková 2006, 2012).

Mezitím pokračuje destrukční činnost larev much z první vlny a nadále pokračuje nálet těchto much, zejména rodu *Lucilia*. Z dalších druhů much se objevují zástupci čeledi masařkovití (Sarcophagidae), zejména masařka *Sarcophaga carnaria* (Linnaeus, 1758), *Sarcophaga serbica* Baranov, 1929 a *Sarcophaga subvicina* Rohdendorf, 1937 (Daněk, 1990). Většina masařek rodu *Sarcophaga* sensu lato má šedou hrud' s černými podélnými pruhy a na abdomenu se střídají světle šedá a černá pole v šachovnicovém vzoru (Šuláková, 2012).

Páchnoucí plyné látky však již koncem druhého dne přilákají typické nekrofágy z řádu brouci, zejména zástupce druhu hrobařík *Necrodes littoralis* (Linnaeus, 1758), dále některé mrchožrouty zejména *Thanatophilus rugosus* (Linnaeus, 1758), *Oiceoptoma thoracicum* (Linnaeus, 1758), nebo druhy *Thanatophilus sinuatus* (Fabricius, 1775), *Silpha obscura* Linnaeus, 1758 a drobné hrobaříky rodu *Catops* Paykull, 1798 a druh *Sciodrepoides watsoni* (Spence, 1815). Jelikož na některých nekrofágních druzích parazitují různí roztoči, setkáváme se již ve druhé vlně na mrtvole se zástupci tohoto řádu pavoukovců. Nejběžnější druh je *Poecilochirus necrophori* Vitzthum, 1930. Po několika dnech je již znát odbarvení trávy pod mrtvolou (především na jaře a v létě) v důsledku ztráty chlorofylu a nastává zpomalení jejího růstu (Daněk, 1990).

Třetí sukcesní vlna - tělo biochemicky aktivní - fermentace tuků

Třetí sukcesní vlna začíná poté, kdy u tuků nastal proces zmýdelnění a kdy se současně vyvíjejí těkavé mastné kyseliny, zejména kyselina máselná, která má velmi nepříjemný zápach a je silným atraktantem (Šuláková, 2006, 2012).

Z nových nekrofágních brouků zaznamenáváme zejména z čeledi kožojedovití (Dermestidae) zástupce rodu kožojed (*Dermestes* Linnaeus, 1758). Z čeledi pestrokrovečnickovití (Cleridae) jsou to jednotlivé druhy rodu *Necrobia* Olivier, 1795. Na mrtvole nadále přežívají nekrofágní druhy brouků druhé vlny s delší dobou výskytu.

Pokračuje činnost larev much, které, zejména u případů svlečených mrtvol, mohou za 2-3 týdny strávit převážnou část mrtvoly. Mimo to již začátkem třetí vlny přilétá na mrtvolu větší množství různých biofágů z čeledi drabčíkovití (Staphylinidae), mrštníkovití (Histeridae) a lesknáčkovití (Nitidulidae), kteří se živí larvami much. Pod ležící mrtvolou, zejména u mrtvol neoblečených, se již do značné míry vyvinulo dílčí přechodné společenství rostlinných a živočišných druhů, které přilákalo řadu saprofágních druhů z čeledi drabčíkovití a některé zástupce rodu hnojník (*Aphodius* Illiger, 1798) a lejnožrout (*Onthophagus* Latreille, 1802) z čeledi vrubounovití (Scarabaeidae). V případě, že již nastala perforace břišní dutiny, žaludku a střev, nalezneme zde také chrobáka (*Anoplotrupes stercorosus* (Scriba, 1791)), který byl přilákan zápachem uvolněných výkalů. Zápach žluklého tuku láká zavíječe *Aglossa pinguinalis* (Linnaeus, 1758) (Daněk, 1990).

Čtvrtá sukcesní vlna - fermentace proteinů

Krátce po fermentaci tuků nastává fermentace proteinů, která je též nazývaná „sýrová fermentace“, protože na mrtvole nalézáme hmyz, který je lákán produkty připomínající zápach sýru. Z much jsou to zejména sýrohlodky, jejichž larvy dokážou smršťováním těla skákat. Dále zde nalézáme octomilku velkou (*Drosophila funebris* (Fabricius, 1787)), kmitalku (*Sepsis fulgens* Meigen, 1826), zavalitku (*Madiza glabra* (Fallen, 1820)), pestřenku (*Eristalis tenax* (Linnaeus, 1758)), z čeledi březnicovití (Ephydriidae) druh *Teichomyza fusca* Macquart, 1835 a z čeledi Fannidae druh *Fannia canicularis* (Linnaeus, 1761). Zvláštností je, že sýrohlodky mohou za určitých okolností výlučně kolonizovat mrtvolu a to zejména tehdy, když se k mrtvole nemohly dostat velké mouchy z předchozích fází. Takové situace nastávají např. tehdy, když se mrtvola po dlouhou dobu nacházela pod vodou a došlo k její pozdějšímu vynoření. Na takové mrtvole se již nebudou vytvářet plynné látky, které by přilákaly typické nekrofágní druhy much první a druhé vlny. V této době též vrcholí výskyt brouků z rodu *Necrobia* Olivier, 1795. Úměrně s úbytkem svalové hmoty a jiných měkkých tkání mrtvoly klesá počet typických nekrofágů, zejména z čeledi mrchožroutovití (Silphidae). Zároveň probíhají na mrtvole, v loži mrtvoly a v jejím okolí biologické cykly larev některých druhů much a brouků s kratším vývojovým cyklem (Daněk, 1990).

Pátá sukcesní vlna - tělo v pokročilém rozkladu

Pátá sukcesní vlna nastává ve chvíli, kdy mrtvola dosáhla stadia čpavkové fermentace. Z těla se uvolňují amoniakální páry, na které reagují drobné mušky z čeledi hrbilkovití (Phoridae). Nápadně ubývá „množství potravy“ a v důsledku toho dochází k snížení celkového počtu nalézaných druhů (Šuláková, 2006, 2012).

V podloží mrtvoly nalezneme kukly brouků, čerstvě vylíhlé exempláře i uhynulé jedince (Daněk, 1990).

Šestá sukcesní vlna (fáze) - vysychání zbytků měkkých tkání

V šesté sukcesní vlně dochází k vysychání zbytků měkkých tkání. Z much se na vlhčích místech, resp. měkkých tkáních a v kostech, mohou stále vyvíjet mouchy z čeledi sýrohlodkovití a hrbilkovití. Nově se objevují brouci rodu *Trox* Fabricius, 1775 z čeledi hlodáčkovitých (Trogidae) a začínají dominovat roztoči (Acarina) (Šuláková, 2012). Tito nekrofágové i saprofágové velmi často unikají pozornosti, neboť se tváří jako „mrtví“ a začnou lézt až po vhození do étherovými parami nasycené smrtící lahve. Typické nekrofágy nalezneme jen ojediněle, neboť současný stav mrtvol neposkytuje obživu jim ani jejich potomstvu. Vyschnutím všech tekutin se začíná výrazně měnit i přechodné společenstvo rostlinných a živočišných druhů a podloží mrtvoly dostává pozvolna původní podobu. V důsledku těchto změn postupně mizí i různí saprofágové z čeledi vodomilovití (Hydrophylidae), drabčíkovití (Staphylinidae) a vrubounovití (Scarabaeidae), a to zejména některé druhy rodu hnojník (*Aphodius*) a lejnožrout (*Onthophagus* Latreille, 1802). Na zbytcích mrtvol se objevují různé druhy roztočů, kteří se živí proteiny živočišného původu, napadají kostní dřev a urychlují rozpad kostí, např. čeledě Uropodidae a Acaridae (Daněk, 1990).

Sedmá sukcesní vlna - vysušené zbytky

Na kostech se mohou stále nacházet vysušené chrupavky a vazivo, stejně tak zbytky vlasů a somatického ochlupení. V této fázi se na rozkladu podílejí živočichové živící se sušeným masem, rohovinou, kůžemi, peřím, apod., mezi které řadíme například brouky z čeledi vrtavcovitých (Ptinidae) a také roztoče (Šuláková, 2012). Jsou to vesměs druhy teplomilné a suchomilné, s kterými se můžeme setkat na lidské mrtvole jedině, když byla po delší době objevena v nějakém uzavřeném prostoru. Ve volném terénu, kde na mrtvolu neustále působí nějaké povětrnostní vlivy, se tato fauna téměř nevyskytuje. Z praktického hlediska můžeme faunu sedmé vlny vyškrtnout u mrtvol nalezených ve druhém roce stáří mrtvol ve volném prostředí a počítat se zástupci této fauny jen u mrtvol nalezených v uzavřených prostorech (Daněk, 1990).

Osmá sukcesní vlna - kosterní zbytky

Osmá sukcesní vlna se může ještě objevit na mrtvole, pokud zůstala ležet v terénu po dobu delší než tři roky. Jde především o různé druhy roztočů (Acarina). Pokud jsou ještě nalezeni drobní zástupci z čeledi drabčíkovití (Staphylinidae) pod kostmi nebo v jejich

dutinách, jde zpravidla o náhodné přezimování nebo vyhledávání úkrytu před přílišným suchem, zimou nebo vlhkem (Daněk, 1980).

3.3 Faktory ovlivňující rozklad mrtvoly a vývin hmyzu na mrtvole

Vedle charakteristického průběhu sukcese se stejně výrazně projevuje také druhové spektrum stanoviště mrtvoly, případně celé biocenózy. O charakterističnosti sukcese proto nelze hovořit bez souvislosti a bez znalosti druhového souboru much, vázaného na komplex stanovištních podmínek. Složení druhového spektra much bude záviset mj. na zoogeografické, stanovištní (vegetační, edafické, mikroklimatické), geomorfologické povaze stanoviště. Dalším důležitým činitelem je fenologický aspekt, tj. roční období, během něhož bude rozklad probíhat. Zde se bude uplatňovat ekologická valence jednotlivých druhů a její jednotlivé složky, tj. závislost a tolerance toho kterého druhu vůči základním abiotickým faktorům, a to především teplotě, délce dne, vlhkosti stanoviště, a vůči dalším činitelům vnějšího prostředí (Povolný, 1982).

Rychlost posmrtného rozkladu mohou ovlivňovat proměnné různé povahy, které se týkají samotného těla (vnitřní faktory) a vnějšího prostředí (vnější faktory). Mezi vnitřními faktory stojí za zmínku věk, konstituce, příčina smrti, celistvost mrtvoly. Z vnějších faktorů je jistě nejdůležitější teplota (teploty pohybující se mezi 25 °C a 35 °C jsou optimální podmínkou pro rozvoj bakterií), po ní následuje síla větru a vlhkost vzduchu (Campobasso et al., 2001; Šuláková, 2006). Suché a větrné prostředí dehydratuje mrtvolu, to rychle naruší bakteriální šíření a spouští mumifikační procesy, ve vlhkém prostředí nasáknou tkáně a zpomalí se degradace kadáveru, jako např. u utonutí (Campobasso et al., 2001). Rozhodující roli při rozkladu mrtvoly mohou mít někdy zvířecí predátoři a mrchožrouti (psi, lišky, kočky, ptáci krysy, atd.) (Rodriguez, 1997; Šuláková, 2006).

3.3.1 Vliv stavu mrtvoly

Pojem „stav“ mrtvoly představuje: jaká traumata jsou na těle, jestli krvácí, jestli došlo k perforaci střev a dále její hmotnost, množství podkožního tuku, věk, pohlaví, zdravotní stav, stav oblečení aj. (Šuláková, 2006).

Intaktní mrtvola nebývá zakladena mušními vajíčky bezprostředně po smrti. První kladení vajíček může však urychlit přítomnost zvratků, fekálií, výtoků, zakrváceného šatstva, otevřených ran apod. V takovém případě kladou mouchy vajíčka na mrtvolu během několika minut. Jestliže oběť krvácí, jinak je však bezmocná (např. v komatu), kladou mouchy ještě na živé tělo (Povolný, 1978).

Obézní mrtvoly se rozkládají rychleji v důsledku většího množství tekutin v tkáních, jejich vodnatost podporuje rozvoj a šíření bakterií. U plodů a novorozenců je hniloba pomalejší. Brzký a rychlý rozklad nastává u zanedbaných osob, osob trpících hnisavou infekcí, u smrti zadušením, neboť tekutost krve podporuje šíření bakterií. Řezné rány v kůži jsou snadnou vstupní cestou pro vnější bakterie a hmyz. Oblečení může zpomalit posmrtné chladnutí těla, a to prospívá propuknutí hnilobného procesu (Campobasso et al., 2001).

3.3.2 Vliv typu prostředí

V polopoušti a v poušti nastává rozklad substancí mrtvého těla velmi rychle a často nastává mumifikace vlivem nedostatku vlhkosti ovzduší (Daněk, 1990). Vlhkost prostředí může výrazně ovlivnit výskyt hmyzu např. snížením jeho letové aktivity; řada druhů vyhledává suché prostředí, naopak jiní zástupci jsou spíše vlhkomilní (Šuláková, 2006).

U těl ponořených ve vodním prostředí je zabráněno kladení vajíček a následnému vývinu larev suchozemských druhů hmyzu. V důsledku vyšší specifické hmotnosti má mrtvola ponořená do vody nejprve tendenci klesat, často vyplave až v průběhu nafouklé fáze z důvodu tvorby plynů při rozkladu. Nafouknutí u ponořených mrtvol často nastává později z důvodu nižší teploty vody. Během ponoření mohou být tkáně mrtvoly zničeny rybami a koryši, jakož i vodním hmyzem. Vodní hmyz, na rozdíl od suchozemských druhů, nemá žádnou specializaci jako suchozemský mrchožravý hmyz: jeho hlavním zdrojem potravy jsou řasy nebo rozpadající se vodní rostliny a jiný hmyz. Pokud mrtvola plave na vodní hladině, může se na rozkladu částí těla vynořených nad vodní hladinu podílet i suchozemský hmyz. Některé vodní druhy hmyzu obývají konkrétní prostředí (mořskou vodu, řeku, jezero), v důsledku jejich identifikace můžeme zeznamenat přesun nebo přepravu mrtvoly po smrti (Campobasso et al., 2001).

Rodriguez a Bass (1985) studovali rozklad mrtvol pohřbených odděleně v různých hlubokých zákopech (30, 60 cm a 1,2 m) a zdokumentovali, že rozklad zasypaných těl probíhá mnohem pomalejším tempem než je tomu u mrtvol umístěných nad zemí. Půda poskytuje efektivní izolaci pro sluneční záření, proto nižší teplota výrazně snižuje rychlost rozkladu. Zasypaní mrtvoly omezuje i přístup mnoha druhům hmyzu. Absence činnosti členovců je pravděpodobně nejdůležitějším faktorem zpomalení degradace mrtvoly.

Významné pro forenzní entomologii je skutečnost, že různá stanoviště, např. lesy, holá návrší, břehy, volný terén zahrady, města, různá rostlinná společenstva mají zcela charakteristická spektra much, což se projevuje i ve specifickém složení vajíček, resp. druhů nalezených na mrtvole (Povolný, 1979). Typ prostředí ovlivňuje zejména přístupnost mrtvoly

pro hmyz a zastoupení jednotlivých druhů hmyzu, např. otevřená krajina, lesní porosty, uzavřené prostory (Šuláková, 2006). Každý uzavřený prostor má své zvláštnosti, resp. specifické složení fauny, která se na dekompozici podílí. V bytech jsou často eusynantropní druhy, které celoročně žijí v blízkosti člověka, nebo hemisynantropní druhy, které v blízkosti lidí například přezimují. Potom se na mrtvolách můžeme setkat s takovými zástupci jako je mol šatní (*Tineola biselliella* (Hummel, 1823)), moucha domácí (*Musca domestica*), nebo kožojed obecný (*Dermestes lardarius* Linné, 1758) (Šuláková, 2012).

3.3.3 Teplotní vliv

V normálním klimatu střední Evropy se při rozkladu mrtvého těla nejvíce uplatňuje teplota. Čím je denní teplota vyšší, tím jsou rozkladné pochody rychlejší. Potenciální aktivita nekrofágů, zejména mrchožravých much, spadá v České republice zhruba do období šesti měsíců, a to od konce dubna do konce října. Na jaře a na podzim probíhá rozklad mrtvoly při nižších teplotách a opoždí se oproti rozkladu za letních měsíců asi o polovinu. Zatímco při průměrných teplotách kolem 20 °C dochází k likvidaci měkkých částí mrtvoly během 5-7 dnů, prodlužuje se při průměrných teplotách kolem 15 °C doba rozkladu měkkých částí mrtvoly na 14 dní, při poklesu průměrných denních teplot o další dva stupně až na tři týdny. Je ovšem třeba vzít v úvahu, že rozklad mrtvoly je spojen s jejím samozáhřevem, přičemž na tepelném režimu se podílí i činnost početné populace larev konzumujících mrtvolu a podřizuje se mu i lokalizace larev v mrtvole za nižších teplot. Proto např. pokles noční teploty k dolní hranici aktivity larev obvykle nevede k výraznějšímu pozastavení jejich činnosti. Jinak je tomu při delších obdobích deštivého chladna, kdy v povrchových vrstvách mrtvoly rozklad činností muších larev ustává (Daněk, 1990).

Vzhledem k tomu, že jsou členovci poikilotermní, rychlost jejich vývinu se řídí podle okolní teploty: čím vyšší je teplota, tím rychlejší je vývin. A tak, pokud je známá okolní teplota a průběh vývinu dvoukřídlých, lze stanovit dobu od nakladení vajíček. Jsou dvě metody pro výpočet post mortem intervalu. První z nich je porovnání velikosti a délky larev ve srovnání s teplotou. Existuje řada problémů spojených s touto metodou, včetně přesného stanovení skutečné velikosti larev, omezeného množství zveřejněných isomegadiagramů (vývojových diagramů) a omezení použití této metody pouze na larvální stadia. Druhou možností je měření akumulovaných teplotních dnů nebo hodin potřebných k dosažení určité fáze vývinu (Ames et Turner, 2003).

Zemědělci již dávno vědí, že mohou předvídat rozvoj a dospívání různých zástupců hmyzu pomocí výpočtu rychlosti jejich vývinu v závislosti na teplotě prostředí, metodou

označovanou jako suma efektivních teplot. Pokud určitý druh hmyzu potřebuje například při 10 °C na dosažení druhového vývoje stadia 100 hodin, potom při teplotě 20 °C se tato doba zkracuje na 50 hodin a při 25 °C na 40 hodin. Greenberg si uvědomil, že je možné výpočet převrátit a z pozorovaného vývojového stadia larvy a znalosti teploty prostředí, při které se larvy vyvíjely, určit dobu nakladení vajíček (Innes, 2010).

Mnoho experimentů se zaměřilo na vztah nekrofágických organismů a střídání teplot v průběhu roku, resp. vliv ročního období (Archer et Elgar, 2003; Arnaldos et al., 2004; Gruner et al., 2007; Marchenko, 2001; Schroeder et al., 2003; Tantawi et al., 1996). Nepříznivé teploty a vlhkost mohou snadno zničit vajíčka. V některých případech vajíčka zpomalí nebo zastaví embryonální vývin, tj. vykazují stav klidu (tzv. diapauzu), ale embryonální vývin může normálně znovu začít hned, jakmile nastanou příznivější podmínky. Vratnost diapauzy závisí na faktorech prostředí a může být podmíněna několika genetickými faktory typickými pro daný druh (Campobasso et al., 2001). Chlad, sucho, krátký den nebo nedostatek kyslíku navozují diapauzu, takže z pupáří se mouchy líhnou až po několika měsících (Povolný, 1978).

3.4 Čeled' Calliphoridae

Mouchy čeledi Calliphoridae (česky bzučivkovití) představují nejvýznamnější zástupce hmyzu ve forenzní praxi. Dospělí jedinci jsou středně velké až velké robustní mouchy s délkou těla cca 4,0 - 16,0 mm. Barva těla je rozmanitá, ale většina středoevropských druhů má černé nebo kovově zelené až modré zbarvení. Dospělé mouchy jsou důležité z hygienického hlediska. Jejich zvykem je hostování na fekáliích, čerstvém nebo vařeném mase, rybách, mléčných výrobcích a krvácejících ranách, což dělá mnoho druhů možnými přenašeči bakterií, virů, prvoků a helmintů. Některé druhy mají synantropní tendence. Larvy *Protocalliphora* spp. se živí krví hnízdících ptáků. Známé larvy podčeledi Melanomyinae jsou parazitoidy nebo predátory hlemýžďů. Druhy rodu *Bellardia* Robineau-Desvoidy, 1863, *Onesia* Robineau-Desvoidy, 1830 a *Pollenia* Robineau-Desvoidy, 1830 jsou parazité žížal. Několik Palearktických druhů jsou obligátní původci myíáz (Kubík a Országh, 2009).

3.4.1 Taxonomické členění

Čeled' Calliphoridae obsahuje více než 1000 druhů zastoupených ve všech zoogeografických regionech (Campobasso et al., 2001). Celkem 115 druhů z čeledi Calliphoridae se vyskytuje v Evropě (Rognes, 2013), z nichž 61 druhů z podčeledí Calliphorinae, Chrysomyinae, Helicoboscinae, Luciliinae, Melanomyinae, Polleniinae a

Rhiniinae byly zaznamenány v České republice, z toho 51 v Čechách a 57 na Moravě (tab. 6) (Kubík a Országh, 2009; Pavel et al., 2008; Šuláková et al., 2013 a 2014a).

Tabulka 1 - Zařazení čeledi Calliphoridae v biologické klasifikaci

Říše:	Animalia
Podříše:	Eumetazoa
Kmen:	Arthropoda
Podkmen:	Hexapoda
Třída:	Insecta
Řád:	Diptera
Podřád	Brachycera
Čeleď:	Calliphoridae

3.4.2 Čeleď Calliphoridae ve forenzní entomologii

Mouchy čeledi Calliphoridae jsou typické pro první vlnu rozkladu a dospělí jedinci nalétávají na mrtvolu často okamžitě, přilákáni zápachem čerstvé krve, masa a potu. Pečlivým zkoumáním délky vývinu bzučivek může znalec přinést až překvapivě přesné výsledky o době, která uplynula mezi smrtí a nálezem těla (Daněk, 1990).

V podmínkách České republiky patří mezi forenzně nejvýznamnější druhy čeledi Calliphoridae: *Lucilia caesar* (Linnaeus, 1758), *Lucilia sericata*, *Calliphora vicina*, *Phormia regina*, *Protophormia terraenovae*, *Calliphora vomitoria* (Linnaeus, 1758), *Lucilia illustris*, *Lucilia ampullacea*, *Lucilia silvarum* (Meigen, 1826) a *Cynomya mortuorum* (Linnaeus, 1761) (Šuláková et Barták, 2013).

Calliphora vicina je kovově modrá robustní moucha, která dává přednost stinným podmínkám (Campobasso et al., 2001). Samička klade vajíčka i na zcela temných místech, ale pouze na čerstvé mrtvoly lidí a zvířat, kde dosud rozklad tkání příliš nepokročil, obvykle to bývá do 48 hodin po smrti. Při stanovení délky vývinu je třeba vycházet z pečlivých měření teploty prostředí. Samičky kladou vajíčka ještě v posledních říjnových dnech (Daněk, 1990).

Lucilia sericata je kovově zelená moucha, která je menší než zástupci rodu *Calliphora*. Upřednostňuje sluneční svit a je odolnější vůči vyšším teplotám (Campobasso et al., 2001). Samička obvykle klade vajíčka na mrtvolu do dvou dnů po smrti. Vývin tohoto druhu je velmi rychlý, za optimálních teplotních a potravních podmínek může trvat pouze dva týdny. Za méně příznivých podmínek část preimagiálních stadií upadá do diapauzy. *Lucilia sericata* má kosmopolitní výskyt a v České republice se nachází na celém území (Daněk, 1990). Jedná se

o výrazně světlomilný druh, který se vyhýbá silně zastíněným místům. Je to „teplu-uzpůsobený“ druh bzučivky, který lze nalézt nejčastěji v jasném slunečním světle a při vysoké teplotě (Daněk, 1990; Schroeder et al., 2003). Je nejčastěji zjištěným druhem v létě, ale naopak nebyl zjištěn od listopadu do dubna (Schroeder et al., 2003). Cragg (1956) prokázal, že *Lucilia sericata* obvykle neklade vajíčka na kadávery s povrchovými teplotami pod 30 °C, protože dávají přednost horkým povrchům. Intenzita kladení vajíček se zvyšuje u povrchů s teplotou 30–40 °C. Pro dosažení teploty 30 °C musí být lidské ostatky vystaveny alespoň přímému slunečnímu svitu. Eventuálně může být předpokládáno, že mrtvola byla přesunuta nebo dokonce, že ke kladení vajíček došlo krátce po smrti, během chladnutí těla v době bezprostředně po smrti.

V mnoha oblastech mírného pásma jsou druhy rodu *Calliphora* považovány za nejdůležitější. Druhy *Calliphora vicina* a *Calliphora vomitoria* v přirozených podmínkách kladou vajíčka v krátké době po smrti na přístupné sliznici tělních otvorů nebo do ran. Vývin larev probíhá přes tři stadia (instary). Larvy III. instaru přestanou přijímat potravu, migrují z mrtvoly a zavrtají se do půdy, kde se kuklí. Fáze pupárie trvá nejdéle a na jejím konci dochází k líhnutí dospělce (imaga) (Ames et Turner, 2003).

Aktivita bzučivek trvá asi týden. Charakteristický je zejména nástup bzučivek *Calliphora vicina*, *Lucilia sericata* a *Protophormia terranova*, které jsou hlavními reducenty bílkovin mrtvoly. V závislosti na nadmořské výšce, zeměpisné šířce i povaze stanoviště a na dalších speciálních okolnostech (např. zda mrtvola spočívá ve stínu, na slunci, v noře, či na povrchu, částečně ve vodě, jak silná je parazitce bzučivek atd.) bude ovšem vzájemný poměr těchto tří druhů různý. Tak je např. podmínkou nástupu bzučivky *Lucilia sericata* určitá teplota povrchu mrtvoly. K jejímu zahřátí může dojít buď delším osluněním nebo vlastním mikrofágním rozkladem. V prvním případě bude *Lucilia sericata* výrazně dominovat, *Calliphora vicina* silně ustoupí a *Protophormia terranova* se bude projevovat různě v závislosti na průměrné teplotě stanoviště. V nížině se téměř neuplatní, do vyšších poloh jí bude přibývat. Na zdechlině spočívající v noře převládne *Calliphora vicina* (případně *Calliphora vomitoria*). Později nastoupí *Protophormia terranova*, zatímco druhy rodu *Lucilia* budou silně zredukovány nebo se vůbec neuplatní. Zcela jinak by vypadala sukcese v jižních šířkách, kde by bzučivky druhů *Protophormia terranova* a *Calliphora vicina* se na rozkladu vůbec nepodílely. Naopak v podmínkách subarktických by výrazně převládla *Protophormia terranova* (Povolný, 1982).

Důležité je, že zástupci nejvýznamnějších čeledí (Calliphoridae, Sarcophagidae, Muscidae) jsou většinou heliofilní a v každém případě aktivní pouze za dne, kdy jediné

dochází ke kladení vajíček. Proto nález vajíček na jinak intaktní mrtvole v noci nebo časně ráno dokládá, že tělo bylo exponováno již den předtím (Povolný, 1978). Obecně je významné, že zakrytí mrtvoly půdou má za následek úplné vyřazení bzučivek (*Calliphoridae*), jinak hlavních likvidátorů mrtvol (Daněk, 1990).

3.5 Faktor chladu a nízkých teplot při vývinu hmyzu

Teploty, za nichž určité vývojové stadium (instar) je schopné prodělavat vývin, se nazývají efektivní teploty. Zatímco horní hranice efektivní teploty je obvykle tak vysoko, že nemusí být prakticky brána v úvahu, pohybuje se její dolní hranice kolem 10 °C (Povolný, 1982). Celá řada studií byla zaměřena na vliv teploty na vývojové cykly bzučivek, s cílem určit efektivní teploty, resp. teploty minimální, maximální a optimální, které jednotlivé druhy k svému vývinu požadují (Anderson, 2000; Byrd et Allen, 2001; Clarkson et al., 2004; Davison, 1969; Marchenko, 2001). Larvy vylíhnuté na podzim ještě za efektivních teplot pokračují ve své činnosti, postupně však souhrou snižujících se teplot a krátkého se dne upadají do diapauzy. Tím ustává odbourávání mrtvoly hmyzem, který může pokračovat ve své činnosti až na jaře příštího roku po opětovném zvýšení teplot prostředí (Povolný, 1982). Řada druhů, jako chladnomilnější bzučivky rodu *Calliphora* a *Protophormia*, nemají vyhraněnou diapauzu, jejich vývin je pouze nízkými teplotami pozastaven a může pokračovat dále (u diapauzujících kukel při delším ochlazení teprve po následném výrazném zvýšení teploty, prodloužení fotoperiody apod.) (Povolný, 1979). Smrt vlivem nízkých teplot nastává u hmyzu v rozsahu od -15 °C do -30 °C, existují však velké rozdíly mezi druhy (Knipling et Sullivan, 1957).

Mrtvoly exponované během zimy, kdy není aktivní žádný nekrofágní hmyz, budou mít menší faunu sestávající se převážně z půdního hmyzu, jako jsou brouci. Proběhlo jen málo pokusů se zaměřením na faunu kadáveru v zimních podmínkách, proto až v roce 1980 bylo zjištěno, že mršinami se přes zimu živí larvy čeledi Trichoceridae (Smith, 1986).

Pokud jsou larvy na mrtvole nalezené v zimě, je snadné dospět k závěru, že larvy se z nakladených vajíček vylíhly na podzim, protože mouchy nekladou vejčka v zimě. Nicméně pokud jsou na mrtvole venku nalezeny larvy na jaře, musíme nejdříve rozhodnout, zda se larvy vylíhly z nakladených vajíček po tání sněhu nebo v předcházejícím podzimu. Pokud existuje mnoho mrtvých larev na mrtvole, kterou jsme našli na jaře, můžeme usuzovat, že vejčka byla nakladena a larvy vylíhnuty v předchozím podzimu (Matoba, 2008).

3.5.1 Vliv zmražení na rozklad kadáveru

Dosavadní literární údaje o rozkladu čerstvých a zmražených kadáverů jsou sporadické. Z hlediska forenzní praxe, především ve smyslu zajišťování entomologických stop a jejich následné skladování a transport ke zkoumání v podchlazeném stavu anebo zajišťování larev při pitvě po předchozím uložení těla v chladicím boxu, se několik autorů věnovalo teplotní rezistenci jednotlivých vývojových stadií (vajíček, larev a pupárií), resp. vlivu podchlazení na jejich následující vývin (Block et al., 1990; Huntington et al., 2007; Johl et Anderson, 1996; Myskowiak et Doums, 2002), vše za účelem minimalizovat případné odchylky ve vývinu hmyzu, a tím chyby při výpočtu post mortem intervalu. Předmětem zkoumání byl i vliv rozmraženého masa jako krmného substrátu při odchovu larev v laboratoři na délku vývojových cyklů (Day et Wallmann, 2006).

Suzutani et al. (1979) prohlásili, že mrtvoly při nízké teplotě za 3-5 měsíců po smrti vykazují stav odpovídající stavu mrtvoly při normální teplotě za 4-7 dnů od smrti. Podobný vliv nízkých teplot potvrdili také Matoba a Terazawa (2008) ve městě Sapporo v severní části Japonska, což je zasněžená oblast v období od prosince do března. Posmrtné změny na kadáverech nalezených venku v chladném období (listopad-duben) v regionu byly výrazně zpožděny v rozkladu ve srovnání s teplým obdobím (květen-říjen), z důvodu nízkých teplot prostředí.

Teprve Micozzi (1986) provedl sérii experimentů, při kterých porovnal rozklad čerstvě zabitého a předem zmraženého kadáveru. Důvodem bylo časté použití zmražených mršin při forenzně entomologických studiích. Ve svých pokusech se soustředil na samotný rozkladný proces tkání a prokázal, že pro čerstvě zabitě (uhynulé) zvíře je typický anaerobní rozklad, který začíná v trávicí soustavě činností bakterií. Vznikající plyny kadáver nafukují a tím vytlačí bakterie do zbytku těla, kde následně degraduje krev a ostatní tkáň. Degradční proces tedy směřuje z útroby těla směrem ven (angl. „inside-out“). Naproti tomu zmražený kadáver po exponování rozmrzá od povrchu směrem dovnitř a jako poslední se uvolňuje trávicí soustava a vnitřní orgány. Z toho důvodu jsou bakterie trávicího traktu „vyřazeny“ z degradačního procesu. Předchozí zmrazení navíc způsobuje mechanické narušení jak kůže, tak ostatních tělních buněk (ledovými krystaly), proto u zmražených kadáverů převládá aerobní rozklad vyvolaný bakteriemi z vnějšího prostředí, který pokračuje směrem dovnitř těla (angl. „outside-in“). Závěrem Micozziho (1986) práce bylo doporučeno používat při forenzně entomologických studiích pouze čerstvě usmrcená nebo uhynulá zvířata a výsledky

získané ze zvířat po rozmrazení aplikovat pouze na lidská těla nalezená po zimním období, resp. za obdobných podmínek (např. na ledovci).

Micozzi (1986) současně uvádí, že zmražený kadáver je rychleji osídlen nekrofágním hmyzem, který spolu s baktériemi z vnějšího prostředí urychluje rozklad. Přes uvedená data se s cíleným porovnáním nekrofauny z čerstvého a zmraženého kadáveru tento autor blíže nezabýval, pouze Mise et al. (2013) zjistili, že předchozí zmražení může redukovat počet druhů brouků, kteří kadáver po rozmrazení kolonizují, při srovnání s čerstvým kadáverem.

3.5.2 Chlad a zástupci z čeledi Calliphoridae

U zástupců čeledi Calliphoridae se předpokládá, že v mírném pásmu se během chladné části roku na rozkladu nepodílí (Smith, 1986). Jistou výjimku představují bzučivky rodu *Calliphora*, u kterých byla zjištěna aktivita imag přes zimní období i v rozmezí teplot -7 až +5 °C, podmínkou však je slunečné počasí (Deonier, 1940; Nuorteva, 1959).

Schroeder et al. (2003) uvádí, že v Německu v chladných měsících byl ve vnitřním prostředí nalezen pouze jeden druh bzučivek a to *Calliphora vicina*, který je aktivní po celý rok. Davies a Ratcliffe (1994) zkoumali rychlost vývinu s ohledem na nízké teploty a sledovali, že *Calliphora vicina* může pokračovat ve vývinu až do 4 °C, nikoli však níže.

Vyšší toleranci vůči nízkým teplotám dokládá také prokázaná aktivita much rodu *Calliphora* na mrtvolách nalezených ve vysokých nadmořských výškách (nad hranicí lesa - Adair, 2008; Adair et Kondratieff, 2006; Faucherre et al., 1999), nebo v jeskyních ve tmě a s celoroční teplotou kolem 5 °C (Faucherre et al., 1999).

Wyss et al. (2003) pozorovali kladení bzučivek na zmrzlou mrtvolu, která ležela pod 50cm sněhu na firnovém poli. Samičky druhů *Calliphora vicina* a *Calliphora vomitoria* se dostaly k tělu otvorem o průměru cca 25 cm a hloubce 50 cm, který vznikl odtánním sněhu nad hlavou mrtvé. Nad vzniklým otvorem byla v době nálezů čilá letová aktivita obou zmíněných druhů bzučivek a v podstatě napomohla při lokalizaci samotného těla. Jejich vajíčka, nalezená na mrtvé, při následném odchovu v laboratorních podmínkách v pořádku dokončila svůj vývin.

4 Materiál a metody

4.1 Popis lokality

Terénní pokus byl proveden ve městě Smečno, ve Středočeském kraji České republiky, zeměpisné souřadnice 50°11'17"S, 14°2'31"V, nadmořská výška 372 m n. m.. Místem exponování kadáverů byla zahrada u rodinného domu v klidné části města, na které jsou okrasné květiny, několik ovocných stromů a malá vodní plocha. Zahrada sousedí s dalšími rozlehlými zahradami. Vývin larev a odběr vylíhnutých imag probíhal uvnitř neosvětlené budovy, která je součástí zahrady.

4.2 Přípravná fáze

4.2.1 Příprava zvířat před pokusem

Na obě opakování pokusu byly použity celkem čtyři kadávery kura domácího, které měly podobnou hmotnost okolo 1,5 kg. Všechny slepice byly usmrceny stejným způsobem useknutím hlavy, aby se minimalizovaly rozdíly mezi oběma variantami použitých sad kadáverů.

Dva kadávery slepic byly dne 19.5.2013 po skonku zabaleny do propylenových pytlů a uloženy do mrazicího boxu při teplotě -22 °C, kde byly ponechány několik dnů, aby se docílilo jejich úplného zmražení. První kadáver byl v mrazicím boxu ponechán do 23.6.2013, termínu prvního pokusu a druhý do 29.7.2013, do začátku druhého pokusu. Zbylá dvě zvířata byla usmrcena vždy před konkrétním exponováním.

4.2.2 Pomocné materiály

Pro exponování byly použity dvě plastové nádoby, které byly uzavřeny v kleci pro zabránění možnosti přístupu jiných živočichů. Při dešťových přeháňkách byla klec z vrchu zakryta plastovou deskou k ochraně kadáverů před vyplavením.

Na vytvoření vhodných podmínek pro vývin larev byl do plastových nádob nasypán sterilizovaný písek ve vrstvě okolo 5 cm. Na obě plastové nádoby byly po obvodu přibližně 5 cm od vrchního okraje nalepeny pásy suchého zipu, na které byl následně zachycen jemný monofil k zajištění individuálních zakrytí kadáverů v plastových nádobách s pískem.

Pro automatický odběr vylíhnutých imag byly vyrobeny odběrové pasti (obr. 1). Pasti byly vytvořeny pomocí jemného monofilu, který byl k plastovému boxu připevněn na nalepené pásy suchého zipu a na jedné straně plastové nádoby byl monofil za pomoci drátu

vyvýšen do špičky. Ve špičce monofilu byla vsunuta trubička, která byla druhým koncem zasunuta do horní části plastové láhve (1,5 l). Plastová láhev byla méně jak z jedné poloviny naplněná roztokem 1,5 l vody, 2 ml 36-38% formaldehydu a 1 ml detergentu (Jar).

Vylíhnutá imaga byla z odchyťových lahví přendána do plastových lahví nebo zkumavek se 70% etanolem.

Klimatické podmínky v době exponování a průměrné denní teploty během celého pokusu při obou opakování byly zaznamenávány pomocí domácí meteorologické stanice SENCOR SWS270 (P.R.C).

4.3 Realizace pokusu

Pokus č. 1 (první opakování) byl zahájen 23.6.2013 a pokus č.2 (druhé opakování) 29.7.2013.

4.3.1 Exponování

Exponovány byly dva kadávery a to jeden zmražený, který byl vyjmut z mrazicího boxu, kde byl umístěn po dobu delší než 1 týden při teplotě nižší než - 22 °C a druhý kadáver, který byl čerstvě po skonu.

Volné exponování u pokusu č. 1 bylo zahájeno 23.6.2013 v 9:45 hodin (obr. 2 a 3) a u pokusu č. 2 bylo zahájeno 29.7.2013 v 8:15 hodin (obr. 4). Volná expozice obou kadáverů byla u obou opakování ukončena po zjištění výskytu larev na obou kadáverech současně.

4.3.2 Vývin larev

V okamžiku, kdy byla vizuálně potvrzena přítomnost prvních larev, byly plastové nádoby s přisýpaným pískem a pokusnými zvířaty zakryty jemným monofilem (obr. 9) a přemístěny do budovy. Následující dny byl minimálně 2x denně kontrolován stav kadáverů a vývin larev. Písek byl každý den rosen vodou pro dosažení optimální vlhkosti k vývinu hmyzu.

4.3.3 Odběr vzorků imag

Po zakuklení všech larev (obr. 19 a 20), byly zbytky kadáverů z plastových nádob odstraněny a nádoby byly opatřeny odběrovými pastmi, které automaticky odchyťovaly nově vylíhnutá imaga (obr. 21 a 22). Z odběrových pastí byly pravidelně každý den odebírány vzorky imag a to tak, že byl obsah odběrových pastí přelit přes sítko, aby byl oddělen hmyz od smrtícího a fixačního roztoku. Následně byl oddělený hmyz uložen do plastových lahví

nebo zkumavek se 70% etanolem. Plastové nádoby s odebranými imagy v etanolu byly označovány u čerstvého kadáveru písmenem C, u zmraženého kadáveru písmenem Z a dvěma číslicemi označující pořadí pokusu a pořadí odběru (obr. 23 a 24).

4.4 Způsoby hodnocení

Pokusná zvířata byla kontrolována minimálně 2 krát denně. Při exponování byl kontrolován výskyt prvních much, vajíček a larev. Při odchovu larev byl vizuálně sledován jejich růst, postupná migrace larev z kadáverů do písku a posléze jejich kuklení.

Rozdíly v druhovém složení mezi variantami se hodnotily determinací imag odchovaných na pokusných zvířatech.

Odchovem získaná imaga byla determinována do druhu. Determinaci odchovaných imag a určení pohlaví much provedla pplk. Ing. Hana Šuláková, Ph.D. z Kriminologického ústavu Praha.

5 Výsledky

První opakování terénního pokusu (pokus č. 1) bylo realizováno v termínu 23.6.2013 až 18.7.2013 a trvalo celkem 26 dnů. Druhé opakování terénního pokusu (pokus č. 2) proběhlo v termínu od 29.7.2013 do 20.8.2013 a trvalo celkem 23 dnů.

Volná expozice pokusných zvířat u prvního opakování trvala od 23.6.2013 čtyři dny (obr. 5) a u druhého opakování od 29.7.2013 dva dny (obr. 6, 7 a 8); při obou pokusech vždy do zjištění přítomnosti larev na obou kadáverech. Klimatické podmínky, které panovaly během volné expozice zvířat při obou pokusech, prezentují tabulky 2 a 3.

Odchov larev u pokusu č. 1 (obr. 11 a 12) probíhal celkem 17 dnů, a to od 27.6.2013 do 13.7.2013, u pokusu č. 2 (obr. 10) trval vývin larev celkem 13 dnů, od 31.7.2013 do 12.8.2013. Hodnoty teplot v době vývinu larev jsou uvedeny v tabulkách č. 4 a 5.

Líhnutí imag při pokusu č. 1 proběhlo u čerstvého kadáveru (obr. 16) od 14.7.2013 do 17.7.2013 a u zmraženého kadáveru od 15.7.2013 do 18.7.2013; při pokusu č. 2 u čerstvého kadáveru od 13.8.2013 do 20.8.2013 a u zmraženého kadáveru (obr. 18) od 13.8.2013 do 18.8.2013.

Porovnání průměrných denních teplot při obou opakování pokusu vyjadřuje graf 1.

5.1 Vizuální hodnocení

U obou opakování byla zaznamenána první aktivita bzučivek již během prvního, resp. druhého dne. U druhého opakování, kdy byly pro hmyz vhodnější klimatické podmínky (vyšší teploty, období bez dešťových srážek (tab. 2 a 3)), se první bzučivky na kadáverech objevily již během několika minut po exponování. Vajíčka a larvy byly u prvního opakování na kadáverech zpozorovány čtvrtý den pokusu a u druhého opakování byla vidět vajíčka již první den a larvy druhý den pokusu.

Na obou čerstvých kadáverech samičky kladly vajíčka zejména v okolí řitního otvoru (obr. 11) a také následný rozklad postupoval od řitního otvoru směrem k hlavě, kdy larvy byly aktivní zejména uvnitř zvířat směrem ven (laterálně). V obou opakováních se larvy kumulovaly na dolní straně těla, resp. na straně přiléhající k podkladu. Četnost vajíček, resp. larev byla u čerstvých kadáverů tak vysoká, že činností bzučivek došlo k rozložení téměř všech měkkých tkání zvířat. Při druhém opakování byl šestý den pokusu kadáver larvami zcela rozložen, zbylo jen peří, kosti a černá hmota (obr. 13), osmý den pokusu byl pozorován úhyn larev z nedostatku potravy (obr. 17), proto bylo do chovné nádoby přidáno hovězí maso o hmotnosti 0,5 kg. Během druhého pokusu byly zaznamenány typické znaky kompetice

o potravu, které se projeví vyšší mortalitou larev a líhnutím imag, která dosahovala pouze 1/2 až 2/3 běžné velikosti.

Na zmražených kadáverech nakladly samičky většinu vajíček na zakrvácená místa na hlavě a krku. Porovnáním rozkladu obou zmražených jedinců byly zjištěny drobné rozdíly v místě kumulace larev. Při prvním pokusu byla většina larev na horní, od podkladu vzdálenější části těla, osmý den pokusu vznikla velká trhlina na svrchní části hrudníku (obr. 15). Zatímco během druhého opakování se tzv. masa larev (angl. maggot mass) vytvořila na straně přiléhající k podkladu. Následný rozklad obou zmražených jedinců postupoval již stejně, od krku směrem kaudálně a současně od povrchu těla mediálně (dovnitř). U zmražených zvířat zůstal řitní otvor činností hmyzu neporušený a v době kuklení larev na zmražených kadáverech zbývala řádově 1/3 měkkých tkání (obr. 14). Při prvním opakování byl u zmraženého kadáveru při porovnání s čerstvým kadáverem interval líhnutí o den opožděn.

Počet jedinců much, kteří se na kadáverech vyvíjeli, byl u dominantních druhů vždy nižší u zmražené varianty. U druhého opakování byl u zmraženého kadáveru výrazně menší počet imag vůči čerstvému kadáveru, tomu odpovídal i menší počet odběrů.

5.2 Druhové složení

Při obou opakování pokusu se jednalo pouze o zástupce druhů z čeledi Calliphoridae. U pokusu č. 1 byly u čerstvého a zmraženého kadáveru zastoupeny druhy *Calliphora vicina*, *Lucilia sericata* a *Lucilia illustris* (Meigen, 1826). Mezi odchovanými jedinci byl u zmraženého kadáveru navíc druh *Lucilia ampullacea* Villeneuve, 1922. U pokusu č. 2 se jednalo u čerstvého a zmraženého kadáveru o stejné druhy a to *Lucilia sericata*, *Phormia regina* (Meigen, 1826) a *Protophormia terraenovae*.

5.3 Zhodnocení terénních pokusů

V průběhu pokusu č. 1 bylo odebráno celkem 4439 ks much, přičemž byl větší počet imag u čerstvého kadáveru oproti zmraženému, a to konkrétně 2450 ks much z čerstvého kadáveru a 1989 ks much ze zmraženého kadáveru (graf 7).

Procentuální zastoupení jednotlivých druhů bylo u obou kadáverů (čerstvého i zmraženého) obdobné (graf 3 a 4). U čerstvého kadáveru byl dominantním druhem *Calliphora vicina* (83,1 %), dalšími zastupenými druhy byly *Lucilia sericata* (14,6 %) a *Lucilia illustris* (2,4 %). Na zmraženém kadáveru byli zjištěni zástupci celkem čtyř druhů, a to *Calliphora vicina* (82,2 %), *Lucilia sericata* (15,1 %), *Lucilia illustris* (3,2 %) a *Lucilia*

ampullacea (0,5 %). Počet odchovaných imag uvedených druhů z obou variant prezentuje graf 2.

Determinace imag byla zaměřena i na určení pohlaví. Procentuální poměr samců a samic jednotlivých druhů u čerstvé varianty vyjadřuje graf 5 a u zamražené graf 6.

Při druhém opakování pokusu bylo odebráno celkem 5371 ks much, větší počet imag byl shodně jako při prvním opakování u čerstvého kadáveru, ale rozdíl byl mnohem výraznější. Z čerstvého kadáveru bylo odchováno 4649 ks much a ze zmraženého 722 ks much (graf 13).

Procentuální poměr jednotlivých druhů byl také jako při pokusu č. 1 u obou kadáverů (čerstvého i zamraženého) vzájemně srovnatelný (graf 9 a 10). Na čerstvém kadáveru byl dominantním druhem *Lucilia sericata* (94,6 %), dále už v podstatně menším zastoupení se jednalo o druhy *Phormia regina* (4,8 %) a *Protophormia terraenovae* (0,6 %). U zmraženého kadáveru byl stejný dominantní druh *Lucilia sericata* (98,6 %), ale druhý nejpočetnější byl druh *Protophormia terraenovae* (1,1 %) a nejméně početným druhem byl *Phormia regina* (0,3 %). Počet odchovaných imag z čerstvého a zmraženého kadáveru při druhém opakování pokusu představuje graf 8.

Poměr samců a samic jednotlivých druhů u druhého opakování prezentuje pro čerstvý kadáver graf 11 a pro zmražený graf 12.

6 Diskuze

Na rozkladu obou kadáverů, čerstvého a zmraženého, se při obou opakováních podílely mouchy z čeledi Calliphoridae (Diptera), jmenovitě druhy *Calliphora vicina*, *Lucilia sericata*, *Lucilia illustris*, *Lucilia ampullacea*, *Phormia regina* a *Protophormia terraenovae*. Dominantní zastoupení *Calliphora vicina* při prvním opakování odpovídá klimatickým podmínkám (nízké denní teploty, převládající oblačnost, dešťové přeháňky), které během pokusu panovaly a teplotní preferenci, resp. toleranci uvedeného druhu (Hwang et Turner, 2005; Smith, 1986). Překvapivé je však vysoký podíl druhu *Lucilia sericata* v obou opakováních a v obou variantách. Přes horší teplotní a srážkové podmínky tento teplomilný druh (Povolný, 1979) představoval v prvním pokusu v obou variantách téměř 15 % odchovaných imag (graf 3 a 4). U druhého pokusu to bylo již téměř 99 %, resp. 95 % všech imag získaných z čerstvého, resp. zmraženého kadáveru (graf 9 a 10). Nesouhlasíme s tvrzením Povolného (1979), že *Lucilia sericata* klade výhradně na substrát o teplotě alespoň 30 °C a více, kterou v podmínkách České republiky předpokládá pouze kladení na čerstvě zabité, nebo uhynulý kadáver, event. po delším přímém oslunění. Naše výsledky ukazují, že *Lucilia sericata* klade i na substrát o nižší teplotě a nevyhýbá se ani zmraženému kadáveru. Přikláníme se však k zjištění Cragga (1956), že na substrátu o teplotě 30-40 °C intenzita kladení významně vzrůstá; důkazem je velmi výrazný rozdíl v počtu odchovaných jedinců na čerstvém a zmraženém kadáveru u druhého pokusu (4584 ks, resp. 683 ks; viz graf 8 a tab. 8).

Procentuální zastoupení ostatních, minoritně zastoupených druhů, je v případě obou variant (čerstvý vs. zmražený kadáver) vzájemně srovnatelné (graf 3, 4, 9 a 10). Pouze u *Protophormia terraenovae* není zřejmé, jestli vyšší procentuální zastoupení u zmražené varianty (graf 10) souvisí s preferencí samiček, které přednostně kladly na zmražený kadáver, nebo s nižší kompetiční schopností larev vůči druhu *Lucilia sericata* na čerstvém kadáveru.

Nepotvrdili jsme závěry Miseho et al. (2013), že předchozí zmražení redukuje počet druhů na kadáveru. Naopak jsme u zmražené varianty zaznamenali navíc *Lucilia ampullacea*, který se u čerstvého kadáveru vůbec nevyskytoval. Přesto s ohledem na počet získaných imag (10 ks ve zmražené variantě, viz graf 2 a tab. 7) nelze jednoznačně potvrdit, že zmražení mělo vliv na zvýšení druhové pestrosti. Uvedenou skutečnost bude nutné ověřit dalšími experimenty.

Výsledky našich pokusů potvrdily tvrzení Micozziho (1986), že postup rozkladu těla u čerstvého a zmraženého kadáveru je rozdílný. U čerstvého kadáveru probíhal rozklad z vnitřní strany laterálně, resp. od trávicí soustavy, ve které začal bakteriální rozklad („inside-

out“). U zmraženého kadáveru začala nejdříve degradovat krev na povrchu těla, která rozmrzla jako první. Na to reagovaly samičky bzučivek kladením vajíček právě na zakrvácená místa. Následný rozklad, stejně jako u Micozziho (1986), směřoval od povrchu mediálně („outside-in“).

Nemůžeme potvrdit pozorování Micozziho (1986), že zmražený kadáver se rychleji rozkládá. V našich pokusech, které se zaměřily pouze na první kolonizátory, ze zmražených kadáverů ubylo méně měkkých tkání než z čerstvých, mohlo to však být v důsledku menšího počtu larev, které se na rozkladu podílely (graf 7 a 13).

Dosavadní výsledky ukazují, že „druhovú skladbu“ a „procentuální zastoupení“ prvních nekrofágů, resp. much čeledi Calliphoridae, je na čerstvém i zmraženém kadáveru shodné. Proto zhodnocením přítomnosti / nepřítomnosti těchto časných kolonizátorů nelze patrně použít k prokázání předchozího uložení těla v mrazicím boxu. Obdobné výsledky jsme získali také porovnáním „rychlosti kolonizace“ kadáverů, která, především za vyšších (optimálních) teplot, byla téměř identická. Pozorované zpoždění v aktivitě bzučivek na zmraženém kadáveru při prvním opakování, lze vysvětlit dalšími faktory (např. nižší teplotou během pokusu), nikoli jen předchozím zmražením zvířete.

Současná data naznačují, že k prokázání předchozího zmražení by bylo možné použít počet jedinců (množství larev), kteří se na rozkladu podílí. V obou sériích jsme zjistili, že na čerstvém kadáveru bylo v souhrnu vždy více larev (jedinců) než na zmraženém. Dle našeho názoru je však nezbytné hodnotit pouze dominantně zastoupené druhy, protože u minoritně zastoupených se může jednat pouze o nahodilý výskyt. Přesto i tento způsob identifikace původně zmraženého kadáveru naráží na skutečnost, že počet samic, resp. nakladených vajíček a následně aktivních larev, neovlivňuje pouze „stav“ mrtvol, ale celá řada jiných faktorů (Šuláková, 2006). Dokazují to i naše výsledky, kdy za optimálních podmínek (vysokých teplot při druhém pokusu) byl počet jedinců s dokončeným vývinem 4649 ks u čerstvého kadáveru ku 722 ks ze zmraženého kadáveru, avšak při nižších teplotách se tento rozdíl již značně snížil (2450 ks z čerstvého kadáveru ku 1999 ks u zamraženého kadáveru).

7 Závěr

Cílem práce bylo vypracovat rešerši zaměřenou na problematiku rozkladu kadáveru po předchozím zmražení, zejména zda zmražení kadáveru před samotnou volnou expozicí ovlivňuje rozkladné procesy, rychlost kolonizace a druhové složení dvoukřídlých při volné expozici. Následně ověřit literární data formou terénního pokusu. Hlavní výsledky z této bakalářské práce byly publikovány (Šuláková et al., 2014b).

Naše data ukázala, že rozdíl v druhovém složení dvoukřídlých při kolonizaci hmyzu u čerstvého a předem zmraženého kadáveru nebyl experimentem prokázán. Oba kadávěry byly v rámci každého opakování vždy kolonizovány stejnými zástupci bzučivek (Diptera, Calliphoridae). Odpovídající bylo i procentuální zastoupení jednotlivých druhů.

Významný rozdíl byl sledován v celkovém počtu jedinců (larev), kteří se podíleli na rozkladu. V obou případech byl vyšší počet jedinců u čerstvého kadáveru oproti kadáveru zmraženému. U druhého opakování byl rozdíl velmi značný. Přesto porovnáním podmínek během jednotlivých opakování je zřejmé, že počet jedinců neovlivnila pouze varianta pokusu (čerstvý vs. zmražený), ale také další faktory, zejména aktuální klimatické podmínky.

Naše experimenty prokázaly, že „rychlost kolonizace“, resp. nálet prvních samiček a jejich kladení, se mezi čerstvým a zmraženým kadáverem významně neliší. V případné zpoždění v kolonizaci bylo pozorováno na předem zmraženém kadáveru. Je však nezbytné upozornit, že nebylo výrazné (1 den) a současně jej ovlivnily další faktory, zejména aktuální klimatické podmínky, při kterých byla všeobecně nižší aktivita hmyzu a docházelo k pomalejšímu rozmrazání kadáveru. U pokusu, který probíhal za optimálních podmínek, nebylo obdobné zpoždění zjištěno.

Nejvýraznějších rozdílů bylo dosaženo porovnáním postupu rozkladného procesu, resp., na kterých částech těla rozklad započal a kde končil. U obou opakování experimentu docházelo k rozkladu u čerstvého kadáveru od trávicí soustavy směrem ven, zatímco zmražený kadáver byl rozkládán od povrchu dovnitř, tímto naše experimentální data potvrdila literární údaje.

Kombinací všech sledovaných faktorů bylo možné po vzájemném porovnání rozlišit předem zmražený a čerstvý kadáver, přesto pro definitivní potvrzení vlivu předchozího zmražení na následnou kolonizaci hmyzem a ustanovení závěrů použitelných v rámci kriminalistické praxe bude nezbytné provést další sérii experimentů.

8 Seznam literatury

Adair, T.W. 2008. *Calliphora vicina* (Diptera: Calliphoridae) Collected from a Human Corpse Above 3400 m in Elevation. J. Forensic Sci. 53(5). 1212–1213.

Adair, T.W., Kondratieff, B.C. 2006. Three Species of Insects Collected from an Adult Human Corpse Above 3300 m in Elevation: A Review of a Case from Colorado. J. Forensic Sci. 51(5). 1164–1165.

Ames, C., Turner, B. 2003. Low temperature episodes in development of blowflies: implications for postmortem interval estimation. Medical and Veterinary Entomology. 17. 178–186.

Anderson, G.S. 2000. Minimum and Maximum Development Rates of Some Forensically Important Calliphoridae (Diptera). J. Forensic Sci. 45(4). 824–832.

Archer, M.S., Elgar, M.A. 2003. Yearly activity patterns in southern Victoria (Australia) of seasonally active carrion insects. Forensic Sci. Int. 132. 173–176.

Arnaldos, M.I., Romera, E., Presa, J.J., Luna, A., García, M.D. 2004. Studies on seasonal arthropod succession on carrion in the southeastern Iberian Peninsula. Int. J. Legal Med. 118. 197–205.

Arnaldos, M.I., Sánchez, F., Alvarez, M.D., Garcia, M. D. 2004. A forensic entomology case from the Southeastern Iberian Peninsula. Aggrawal's Internet J. Forensic Med. Toxicol. 5. 22–25.

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

Benecke, M. 2004. Forensic entomology: Arthropods and corpses. Tsokos M. (ed.) Forensic Pathology Review. Vol. 2. Humana Press. Totowa (USA). 1/21–21/21.

Block, W., Erzinclioglu, Y.Z., Borland, M.R. 1990. Cold resistance in all life stages of two blowfly species (Diptera, Calliphoridae). Med. and Vet. Ent. 4. 213–219.

Bornemisza, G.F. 1957. An analysis of arthropod succession in carrion and the effect of its decomposition on the soil fauna. Aust. J. Zol. 5. 1–12.

Byrd, J. H., Allen, J.C. 2001. The development of the black blow fly, *Phormia regina* (Meigen). Forensic Sci. Int. 120. 79–88.

Byrd, J. H., Castner, J.L. (eds) 2010. The Utility of Arthropods in Legal Investigations. Forensic Entomology. 2nd ed. CRC Press, Boca Raton. 1–681.

Campobasso, C.P., Vella, G. D., Introna, F. 2001. Factors affecting decomposition and Diptera colonization. Forensic Science International. 120. 18–27.

- Clarkson, C.A., Hobischack, N.R., Anderson, G.S. 2004. A comparison of the development rate of *Protophormia terraenovae* (Robineau-Desvoidy) raised under constant and fluctuating temperatures regimes. *Can. Soc. Forensic Sci. J.* 37(2). 95–101.
- Cragg, J.B. 1956. The olfactory behaviour of *Lucilia* species (Diptera) under natural conditions. *Ann. Appl. Biol.* 44. 467–471.
- Daněk, L. 1980. Možnosti využití entomologie v kriminalistice. *Čs. Kriminalistika XIII.* č. 1. 44–46.
- Daněk, L. 1990. Možnosti využití entomologie v kriminalistice. *Kriminalistický ústav VB. Praha.* 11–15.
- Davies, L., Ratcliffe, G. G. 1994. Development rates of some preadult stages in blowflies with reference to low temperatures. *Med. Vet. Entomol.* 8. 245–254.
- Davison, T.F. 1969. Changes in temperature tolerance during the life cycle of *Calliphora erythrocephala*. *J. Insect Physiol.* 15. 977–988.
- Day, D.M., Wallman, J.F. 2006. A comparison of frozen/thawed and fresh food substrates in development of *Calliphora augur* (Diptera: Calliphoridae) larvae. *Int. J. Legal Med.* 120. 391–394.
- Deonier, C.C. 1940. Carcass temperatures and their relation to winter blowfly populations and activity in the Southwest. *J. Econ. Entomol.* 33. 166–170.
- Faucherre, J., Cherix, D., Wyss, C. 1999. Behavior of *Calliphora vicina* (Diptera, Calliphoridae) under extreme conditions. *J. Insect Behav.* 12. 687–690.
- Gruner, S.V., Slone, D.H., Capinera, J.L. 2007. Forensically Important Calliphoridae (Diptera) Associated with Pig Carrion in Rural North-Central Florida. *J. Med. Entomol.* 44(3). 509–515.
- Huntington, T.E., Higley, L.G., Baxendale, F.P. 2007. Maggot Development During Morgue Storage and Its Effect on Estimating the Post-Mortem Interval. *J. Forensic Sci.* 52(2). 453–458.
- Hwang, C., Turner, B.D. 2005. Spatial and temporal variability of necrophagous Diptera urban to rural areas. *Med. Vet. Entomol.* 19. 379–91.
- Innes, B. 2010. Vědci proti zločinu – svět moderní forenzní vědy. *Naše vojsko, s.r.o. Praha.* S. 11, 117–122.
- Johl, H.K., Anderson, G.S. 1996. Effects of refrigeration on development of the blow fly *Calliphora vicina* (Diptera: Calliphoridae) and their relationship to time of death. *J. Enomol. Soc. Brit. Columbia.* 93. 93–98.

Knipling, E. B., Sullivan, W.N. 1957 Insect mortality at low temperatures. In: Smith, K.G.V. 1986. Manual of forensic entomology. British Museum. Natural History. London. 13–35.

Kubík Š., Országh I. 2009: Calliphoridae Brauer & Bergenstamm. 1989. In: Jedlička L., Kúdela M. & Stloukalová V. (eds): Cheklist of Diptera of the Czech Republic and Slovakia. Electronic vision 2. <http://zoology.fns.uniba.sk/diptera2009> + CD-ROM. ISBN: 978-80-969629-4-5.

Marchenko, M.I. 2001. Medicolegal relevance of cadaver entomofauna for the determination of the time of death. Forensic Sci. Int. 120. 89–109.

Matoba, K., Terazawa, K. 2008. Estimation of the time of death of decomposed or skeletonized bodies found outdoors in cold season in Sapporo city, located in the northern district of Japan. Legal Medicine 10. 78–82.

Micozzi, M.S. 1986. Experimental Study of Postmortem Change Under Field Conditions: Effects of Freezing, Thawing, and Mechanical Injury. J. Forensic Sci. 31(3). 953–961.

Mise, K.M., Corrêa, R.C., Almeida, L.M. 2013. Coleopterofauna found on fresh and frozen rabbit carcasses in Curitiba, Paraná, Brazil. Braz. J. Biol. 73(3). 543–548.

Myskowiak, J.B., Doums, C. 2002. Effects of refrigeration on the biometry and development of *Protophormia terraenovae* (Robineau-Desvoidy) (Diptera: Calliphoridae) and its consequences in estimating post-mortem interval in forensic investigations. Forensic Sci. Inter. 125. 254–261.

Nuorteva, P. 1959. Studies on the significance of flies in the transmission of poliomyelitis. The composition of blowfly fauna in different parts of Finland during the year 1958. Ann. Entomol. Fenn. 31. 137–162.

Pavel, V., Chutný, B., Petrusková, T., Petrusek, A. 2008. Blow fly *Trypocalliphora braueri* parasitism on Meadow Pipit and Bluethroat nestlings in Central Europe. J. Ornithol. 149. 193–197.

Povolný, D. 1978. Hmyz v kriminologii. Vesmír. 57. č. 7. 205 – 208.

Povolný, D. 1979. Některá hlediska praktického využití hmyzu v kriminalistice. Kriminalistický sborník č. 10. 620–630.

Povolný, D. 1982. Několik úvah o osudech mrtvol obratlovců v přírodě. Živa. 1982 (1). 24–28.

Rodriguez, W. R. 1997. Decomposition of buried and submerged bodies. In: Haglund, M. A. Sorg. (Eds.). Forensic Taphonomy: The Postmortem Fate of Human Remains. CRC Press. Boston. p. 459–467.

Rodriguez, W. C., Bass, W. M. 1985. Decomposition of buried bodies and methods that may aid in their location. *J. Forensic Sci.* 30. 836–852.

Rognes, K. 2013. Fauna Europaea: Calliphoridae. In: Pape T. & Beuk P. (eds): *Fauna Europaea: Diptera, Brachycera*. Fauna Europaea version 2.6. většina údajů nezměněna od r. 2010. přístup: 15.01.2014.

Schroeder, H., Klotzbach, H., Püschel K. 2003. Insects' colonization of human corpses in warm and cold season. *Legal Medicine*. 5. 372–374.

Smith, K.G.V 1986. *A manual of forensic entomology*. British Museum. Natural History. London. 11–35.

Suzutani, T., Ishibashi, H., Endo, M. 1979. Studies on medico-legal diagnosis in cold district. *Hokkaido J Med Sci.* 54. 329 – 349. In: Matoba K., Terazawa K. 2008. Estimation of the time of death of decomposed or skeletonized bodies found outdoors in cold season in Sapporo city, located in the northern district of Japan. *Legal Medicine*. 10. 78–82.

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

Šuláková, H. 2012. Forenzní entomologie. In Štefan J., Hladík J. a kol. *Soudní lékařství a jeho moderní trendy*. Grada Publishing. Praha. s. 315–325. ISBN: 978-80-247-3594-8.

Šuláková, H., Barták, M. 2013. Forensically important Calliphoridae (Diptera) associated with animal and human decomposition in the Czech Republic: preliminary results. *Časopis Slezského zemského muzea Opava*. roč. 62. č. 1. s. 255–266.

Šuláková, H., Roznes, K., Barták, M., Kubík, Š. 2013. Calliphoridae (Diptera) of Vráž nr. Písek (Czech Republic). In: Kubík, Š., Barták, M. (eds): *Sborník prací z mezinárodního workshopu „Workshop on biodiversity, Jevany“*, Česká zemědělská univerzita v Praze: 381–388.

Šuláková, H., Barták, M., Vaněk, J. 2014a. Bzučivkovití (Diptera, Calliphoridae) české části Krkonoš. *Opera Corcontica*: in press.

Šuláková, H., Harakalová, L., Barták, M. 2014b. Effect of freezing on the initial colonization of the carcass with necrophagous organisms. *Časopis Slezského zemského muzea Opava*. roč. 63. s. 29–37: in press.

Tantawi, T.I., El-Kady, E.M., Greenberg, B., El-Ghaffar, H. 1996. Arthropod Succession on Exposed Rabbit Carrion in Alexandria. Egypt. *J. Med. Ent.* 33(4). 566–580.

Watson, E.J., Carlton, C.E. 2005. Insect Succession and Decomposition of Wildlife Carcasses During Fall and Winter in Louisiana. *Journey medici Entomology*. 42. 193–203.

Wyss, C., Cherix, D., Michaud, K., Romain, N. 2003. Pontes de *Calliphora vicina*, Robienau-Desvoidy et de *Calliphora vomitoria* (Linné) (Dipteres, Calliphoridae) sur un cadavre humain enseveli dans la neige. *Revue internationale de crimilologie et de police technique et scientifique*. 56(1). 112–116.

9 Seznam obrázků, tabulek a grafů

Obrázek 1 - Odběrová past	42
Obrázek 2 - Exponování kadáverů u pokusu č. 1	42
Obrázek 3 - Pokus č. 1: uložené kadavéry v nádobách při exponování	43
Obrázek 4 - Pokus č. 2: uložené kadavéry v nádobách při exponování	43
Obrázek 5 - Pokus č. 1: 2. den exponování zmraženého kadáveru	44
Obrázek 6 - Pokus č. 2: 1. den exponování čerstvého kadáveru	44
Obrázek 7 - Pokus č. 2: 1. den exponování zmraženého kadáveru	45
Obrázek 8 - Pokus č. 2: nakladená vejčička u zmraženého kadáveru 1. den pokusu.....	45
Obrázek 9 - Pokus č. 1: zakrytí zmraženého kadáveru monofilem 4. den pokusu.....	46
Obrázek 10 - Pokus č. 2: larvy u čtvrtého kadáveru 4. den pokusu.....	46
Obrázek 11 - Pokus č. 1: larvy na konečníku u čerstvého kadáveru 5. den pokusu.....	47
Obrázek 12 - Pokus č. 1: larvy u zmraženého kadáveru 5. den pokusu	47
Obrázek 13 - Pokus č. 2: čerstvý kadáver rozložený larvami 6. den pokusu	48
Obrázek 14 - Pokus č. 2: zmražený kadáver 6. den pokusu	48
Obrázek 15 - Pokus č. 1: vzniklá trhlina u zmraženého kadáveru 8. den pokusu	49
Obrázek 16 - Pokus č. 1: larvy nově na noze čerstvého kadáveru 9. den pokusu	49
Obrázek 17 - Pokus č.2: larvy zakrnělé a umírající u čerstvého kadáveru 8.den pokusu.....	50
Obrázek 18 - Pokus č. 2: larvy v písku u zmraženého kadáveru 8. den pokusu.....	50
Obrázek 19 - Pokus č. 1: písek u zmraženého kadáveru pokrytý kuklami 11. den pokusu.....	51
Obrázek 20 - Pokus č. 1: písek u čerstvého kadáveru pokrytý kuklami 11. den pokusu.....	51
Obrázek 21 - Vylíhnutá imaga v odběrové pasti	52
Obrázek 22 - Utopená imaga v roztoku formaldehydu s jarem.....	52
Obrázek 23 - Pokus č. 1: odebraná imaga v etanolu.....	53
Obrázek 24 - Pokus č. 2: odebraná imaga v etanolu.....	53

Tabulka 1 - Zařazení čeledi Calliphoridae v biologické klasifikaci	21
Tabulka 2 - Klimatické podmínky při pokusu č. 1	54
Tabulka 3 - Klimatické podmínky při pokusu č. 2	54
Tabulka 4 - Hodnoty teplot při vývinu larev u pokusu č. 1	54
Tabulka 5 - Hodnoty teplot při vývinu larev u pokusu č. 2	54
Tabulka 6 - Taxonomické členění čeledi Calliphoridae - 61 druhů, které byly zaznamenány v České republice (Kubík a Országh, 2009; Pavel et al., 2008; Šuláková et al. 2013 a 2014a)	55
Tabulka 7 - Pokus č. 1: počet odebraných/odchovaných imag jednotlivých druhů u obou variant podle dnů (C = čerstvý, Z = zmražený)	57
Tabulka 8 - Pokus č. 2: počet odebraných/odchovaných imag jednotlivých druhů u obou variant podle dnů (C = čerstvý, Z = zmražený)	61
Graf 1 - Porovnání průměrných denních teplot při 1. a 2. opakování s vyznačením jednotlivých fází experimentu (větší čtverce a kosočtverce definují začátky a konce jednotlivých fází: exponování - vývin larev - líhnutí imag)	57
Graf 2 - Pokus č. 1: počet odchovaných imag jednotlivých druhů	58
Graf 3 - Pokus č. 1: procentové zastoupení druhů podílejících se na rozkladu čerstvého kadáveru	58
Graf 4 - Pokus č. 1: procentové zastoupení druhů podílejících se na rozkladu zamraženého kadáveru	59
Graf 5 - Pokus č. 1: procentuální poměr samců a samic jednotlivých druhů u čerstvého kadáveru	59
Graf 6 - Pokus č. 1: procentuální poměr samců a samic jednotlivých druhů u zamraženého kadáveru	60
Graf 7 - Pokus č. 1: porovnání počtu všech odchovaných imag u zamraženého a čerstvého kadáveru	60
Graf 8 - Pokus č. 2: počet odchovaných imag jednotlivých druhů	62
Graf 9 - Pokus č. 2: procentové zastoupení druhů podílejících se na rozkladu čerstvého kadáveru	62
Graf 10 - Pokus č. 2: procentové zastoupení druhů podílejících se na rozkladu zamraženého kadáveru	63
Graf 11 - Pokus č. 2: procentuální poměr samců a samic jednotlivých druhů u čerstvého kadáveru (stupnice grafu je pro přehlednost zobrazena v rozmezí od 20 % do 70 %)	63
Graf 12 - Pokus č. 2: procentuální poměr samců a samic jednotlivých druhů u čerstvého kadáveru (stupnice grafu je pro přehlednost zobrazena v rozmezí od 35 % do 65 %)	64
Graf 13 - Pokus č. 2: porovnání počtu všech odchovaných imag u zamraženého a čerstvého kadáveru	64

10 Samostatné přílohy



Obrázek 1 - Odběrová past



Obrázek 2 - Exponování kadáverů u pokusu č. 1



Obrázek 3 - Pokus č. 1: uložené kadavéry v nádobách při exponování



Obrázek 4 - Pokus č. 2: uložené kadavéry v nádobách při exponování



Obrázek 5 - Pokus č. 1: 2. den exponování zmraženého kadáveru



Obrázek 6 - Pokus č. 2: 1. den exponování čerstvého kadáveru



Obrázek 7 - Pokus č. 2: 1. den exponování zmraženého kadáveru



Obrázek 8 - Pokus č. 2: nakladená vajíčka u zmraženého kadáveru 1. den pokusu



Obrázek 9 - Pokus č. 1: zakrytí zmraženého kadáveru monofilem 4. den pokusu



Obrázek 10 - Pokus č. 2: larvy u čtvrtého kadáveru 4. den pokusu



Obrázek 11 - Pokus č. 1: larvy na konečníku u čerstvého kadáveru 5. den pokusu



Obrázek 12 - Pokus č. 1: larvy u zmraženého kadáveru 5. den pokusu



Obrázek 13 - Pokus č. 2: čerstvý kadáver rozložený larvami 6. den pokusu



Obrázek 14 - Pokus č. 2: zmražený kadáver 6. den pokusu



Obrázek 15 - Pokus č. 1: vzniklá trhlina u zmraženého kadáveru 8. den pokusu



Obrázek 16 - Pokus č. 1: larvy nově na noze čerstvého kadáveru 9. den pokusu



Obrázek 17 - Pokus č. 2: larvy zakrnělé a umírající u čerstvého kadáveru 8.den pokusu



Obrázek 18 - Pokus č. 2: larvy v písku u zmraženého kadáveru 8. den pokusu



Obrázek 19 - Pokus č. 1: písek u zmraženého kadáveru pokrytý kuklami 11. den pokusu



Obrázek 20 - Pokus č. 1: písek u čerstvého kadáveru pokrytý kuklami 11. den pokusu



Obrázek 21 - Vylíhnutá imaga v odběrové pasti



Obrázek 22 - Utopená imaga v roztoku formaldehydu s jarem



Obrázek 23 - Pokus č. 1: odebraná imaga v etanolu



Obrázek 24 - Pokus č. 2: odebraná imaga v etanolu

Tabulka 2 - Klimatické podmínky při pokusu č. 1

Pořadí dne pokusu	1.	2.	3.	4.
Datum	23.6.2013	24.6.2013	25.6.2013	26.6.2013
Maximální teplota	25,1 °C	17 °C	15 °C	12,6 °C
Vlhkost vzduchu	64%	95%	90%	66%
Dešťové srážky	0 mm	7,6 mm	21 mm	1 mm
Rychlost vzduchu	10,8 km/h	18 km/h	2 km/h	2 km/h
Tlak vzduch	1014 hPa	1016 hPa	1018,4 hPa	1022,8 hPa

Tabulka 3 - Klimatické podmínky při pokusu č. 2

Pořadí dne pokusu	1.	2.
Datum	29.7.2013	30.7.2013
Maximální teplota	34,8 °C	28,1 °C
Vlhkost vzduchu	71%	75%
Dešťové srážky	0 mm	0 mm
Rychlost vzduchu	10,8 km/h	28,8 km/h
Tlak vzduch	1009,6 hPa	1010,9 hPa

Tabulka 4 - Hodnoty teplot při vývinu larev u pokusu č. 1

Pořadí dne pokusu	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	17.	18.	19.	20.	21.
Datum (rok 2013)	27.6.	28.6.	29.6.	30.6.	1.7.	2.7.	3.7.	4.7.	5.7.	6.7.	7.7.	8.7.	9.7.	10.7.	11.7.	12.7.	13.7.
Maximální teplota (°C)	16	19	19	17	24	27	25	24	23	23	24	25	26	26	17	21	22

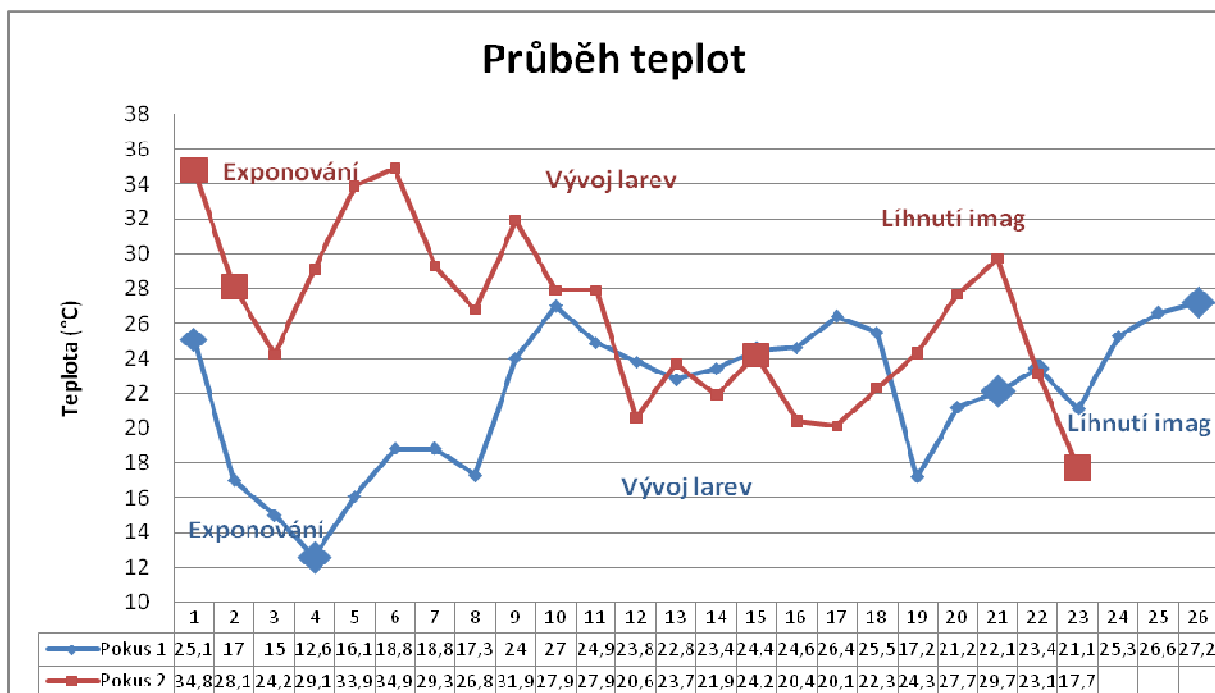
Tabulka 5 - Hodnoty teplot při vývinu larev u pokusu č. 2

Pořadí dne pokusu	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.
Datum (rok 2013)	31.7.	1.8.	2.8.	3.8.	4.8.	5.8.	6.8.	7.8.	8.8.	9.8.	10.8.	11.8.	12.8.
Maximální teplota (°C)	24	29	34	35	29	27	32	28	28	21	24	22	24

Tabulka 6 - Taxonomické členění čeledi Calliphoridae - 61 druhů, které byly zaznamenány v České republice (Kubík a Országh, 2009; Pavel et al., 2008; Šuláková et al., 2013 a 2014a)

Podčeleď	Rod	Druh
Calliphorinae	<i>Bellardia</i> Robineau-Desvoidy, 1863	<i>Bellardia bayeri</i> (Jacentkovský, 1937)
		<i>Bellardia obsoleta</i> (Meigen, 1830)
		<i>Bellardia pandia</i> (Walker, 1849)
		<i>Bellardia polita</i> (Mik, 1884)
		<i>Bellardia stricta</i> (Villeneuve, 1926)
		<i>Bellardia vespillo</i> (Fabricius, 1794)
		<i>Bellardia viarum</i> (Robineau-Desvoidy, 1830)
		<i>Bellardia vulgaris</i> (Robineau-Desvoidy, 1830)
	<i>Calliphora</i> Robineau-Desvoidy, 1830	<i>Calliphora loewi</i> Enderlein, 1903
		<i>Calliphora stelviana</i> (Bauer & Bergenstamm, 1891)
		<i>Calliphora subalpina</i> (Ringdahl, 1931)
		<i>Calliphora uralensis</i> Villeneuve, 1922
		<i>Calliphora vicina</i> Robineau-Desvoidy, 1830
Chrysomyinae	<i>Cynomya</i> Robineau-Desvoidy, 1830	<i>Cynomya mortuorum</i> (Linnaeus, 1761)
	<i>Onesia</i> Robineau-Desvoidy, 1830	<i>Onesia austriaca</i> Villeneuve, 1920
		<i>Onesia floralis</i> Robineau-Desvoidy, 1830
		<i>Onesia kowarzi</i> Villeneuve, 1920
		<i>Onesia zumpti</i> Schumann, 1964
Chrysomyinae	<i>Trypocalliphora</i> Peus 1960	<i>Trypocalliphora braueri</i> (Hendel, 1901)
Chrysomyinae	<i>Chrysomya</i> Robineau-Desvoidy, 1830	<i>Chrysomya albiceps</i> (Wiedemann, 1819)
	<i>Phormia</i> Robineau-Desvoidy, 1830	<i>Phormia regina</i> (Meigen, 1826)
	<i>Protocalliphora</i> Hough, 1899	<i>Protocalliphora azurea</i> (Fallen, 1817)
		<i>Protocalliphora falcozi</i> Seguy, 1928
Helicoboscinae	<i>Protocalliphora peusi</i> Gregor & Povolný, 1959	
	<i>Protophormia</i> Townsend, 1908	<i>Protophormia terraenovae</i> (Robineau-Desvoidy, 1830)
Helicoboscinae	<i>Eurychaeta</i> Brauer & Bergenstamm, 1891	<i>Eurynchaeta palparis</i> (Robineau-Desvoidy, 1830)

Luciliinae	<i>Lucilia</i> Robineau-Desvoidy, 1830	<i>Lucilia ampullacea</i> Villeneuve, 1922 <i>Lucilia bufonivora</i> Moniez, 1876 <i>Lucilia caesar</i> (Linnaeus, 1758) <i>Lucilia illustris</i> (Meigen, 1826) <i>Lucilia pilosiventris</i> Kramer, 1910 <i>Lucilia regalis</i> (Meigen, 1826) <i>Lucilia richardsi</i> Collin, 1926 <i>Lucilia sericata</i> (Meigen, 1826) <i>Lucilia silvarum</i> (Meigen, 1826)
Melanomyinae	<i>Angioneura</i> Brauer & Bergenstamm, 1893	<i>Angioneura acerba</i> (Meigen, 1838) <i>Angioneura cyrtoneurina</i> (Zetterstedt, 1859) <i>Angioneura fimbriata</i> (Meigen, 1826)
	<i>Eggisops</i> Rondani, 1862	<i>Enggisops pecchiolii</i> Rondani, 1862
	<i>Melanomya</i> Rondani, 1856	<i>Melanomya nana</i> (Meigen, 1826)
	<i>Melinda</i> Robineau-Desvoidy, 1830	<i>Melinda gentilis</i> Robineau-Desvoidy, 1830 <i>Melinda viridicyanea</i> (Robineau-Desvoidy, 1830)
Polleniinae	<i>Morinia</i> Robineau-Desvoidy, 1830	<i>Morinia doronici</i> (Scopoli, 1763)
	<i>Pollenia</i> Robineau-Desvoidy, 1830	<i>Pollenia amentaria</i> (Scopoli, 1763) <i>Pollenia angustigena</i> Wainwright, 1940 <i>Pollenia atramentaria</i> (Meigen, 1826) <i>Pollenia dasypoda</i> Portschinsky, 1881 <i>Pollenia griseotometosa</i> (Jacentkovský, 1944) <i>Pollenia hungarica</i> Rognes, 1987 <i>Pollenia labialis</i> Robineau-Desvoidy, 1830 <i>Pollenia mayeri</i> Jacentkovský, 1941 <i>Pollenia moravica</i> (Jacentkovský, 1941) <i>Pollenia pediculata</i> Macquart, 1834 <i>Pollenia rudis</i> (Fabricius, 1794) <i>Pollenia similis</i> (Jacentovský, 1941) <i>Pollenia tenuiforceps</i> Seguy, 1928 <i>Pollenia vagabunda</i> (Meigen, 1826) <i>Pollenia vera</i> Jacentkovský, 1936 <i>Pollenia viatica</i> Robineau-Desvoidy, 1830
Rhiniinae	<i>Stomorhina</i> Rondani, 1861	<i>Stomorhina lunata</i> (Fabricius, 1805)

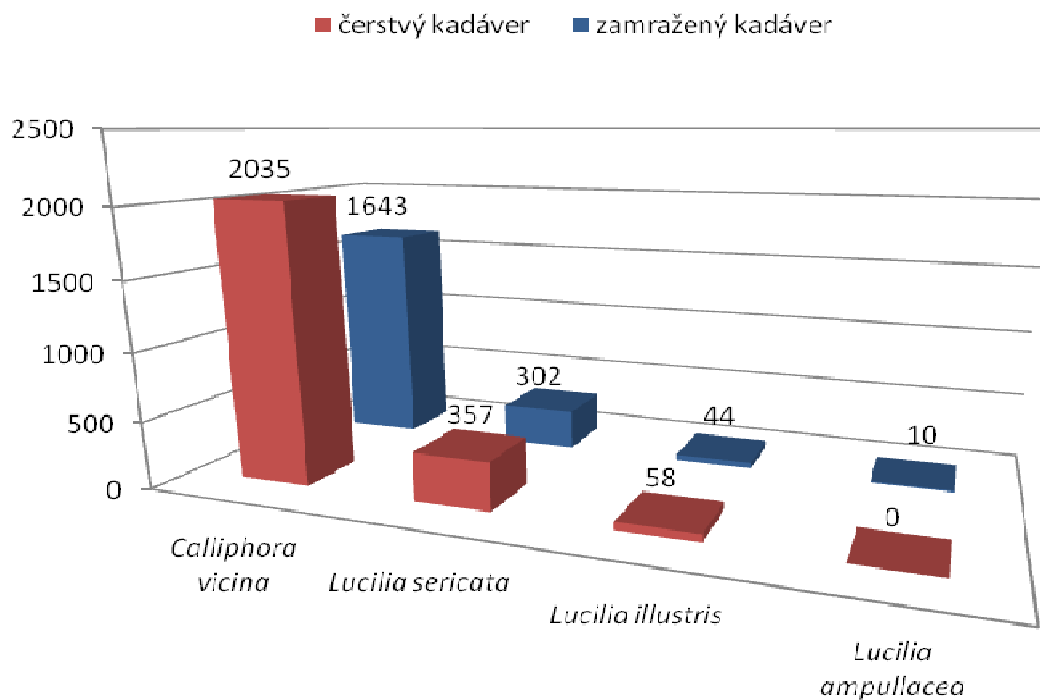


Graf 1 - Porovnání průměrných denních teplot při 1. a 2. opakování s vyznačením jednotlivých fází experimentu (větší čtverce a kosočtverce definují začátky a konce jednotlivých fází: exponování - vývin larev - líhnutí imag)

Tabulka 7 - Pokus č. 1: počet odebraných/odchovaných imag jednotlivých druhů u obou variant podle dnů (C = čerstvý, Z = zmražený)

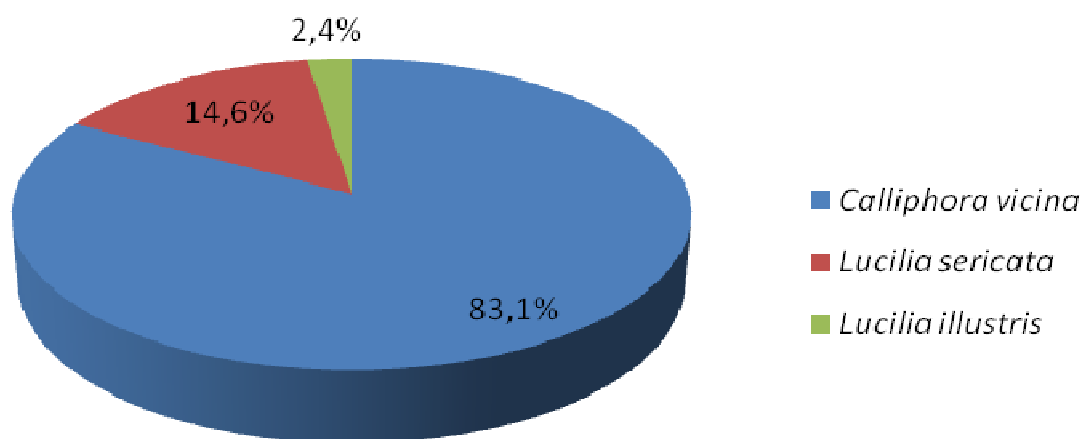
varianta / výběr (datum)	<i>Calliphora vicina</i>			<i>Lucilia sericata</i>			<i>Lucilia illustris</i>			<i>Lucilia ampullacea</i>			Celkem
	samců	samic	Celkem	samců	samic	Celkem	samců	samic	Celkem	samců	samic	Celkem	
C 1.1 (14.7.2013)	450	544	994	54	58	112	13	4	17				1123
C 1.2 (15.7.2013)	468	459	927	113	100	213	22	4	26				1166
C 1.3 (16.7.2013)	65	36	101	17	8	25	9	1	10				136
C 1.4 (17.7.2013)	10	3	13	4	3	7	3	2	5				25
Celkem C	993	1042	2035	188	169	357	47	11	58				2450
Z 1.1 (15.7.2013)	239	300	539	93	121	214	25	1	26	0	0	0	779
Z 1.2 (16.7.2013)	415	401	816	33	47	80	8	2	10	2	0	2	906
Z 1.3 (17.7.2013)	156	92	248	0	3	3	1	5	6	5	1	6	257
Z 1.4 (18.7.2013)	31	9	40	2	3	5	0	2	2	1	1	2	47
Celkem Z	841	802	1643	128	174	302	34	10	44	8	2	10	1989
Celkem C a Z	1834	1844	3678	316	343	659	81	21	102	8	2	10	4439

Pokus č. 1: zastoupené druhy a počty odchovaných imag [ks]



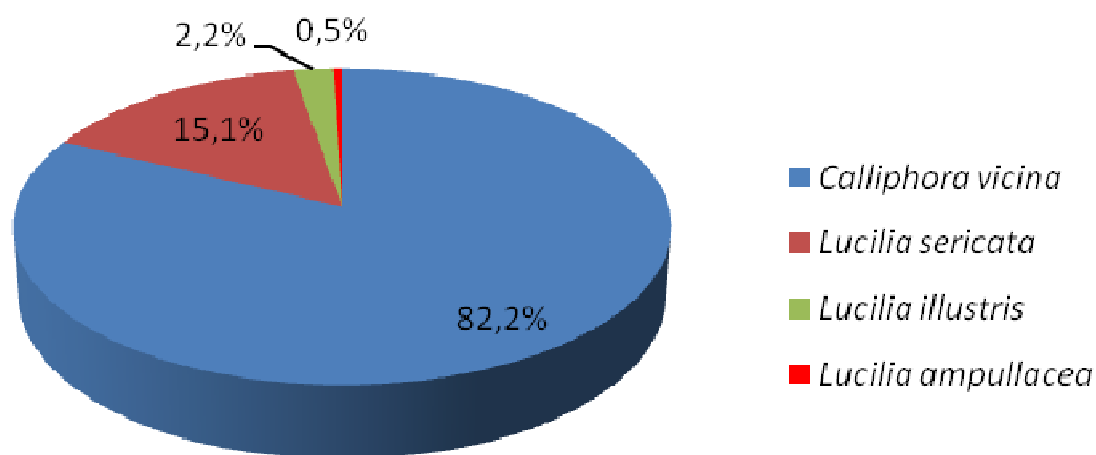
Graf 2 - Pokus č. 1: počet odchovaných imag jednotlivých druhů

Čerstvý kadáver - procentové zastoupení druhů



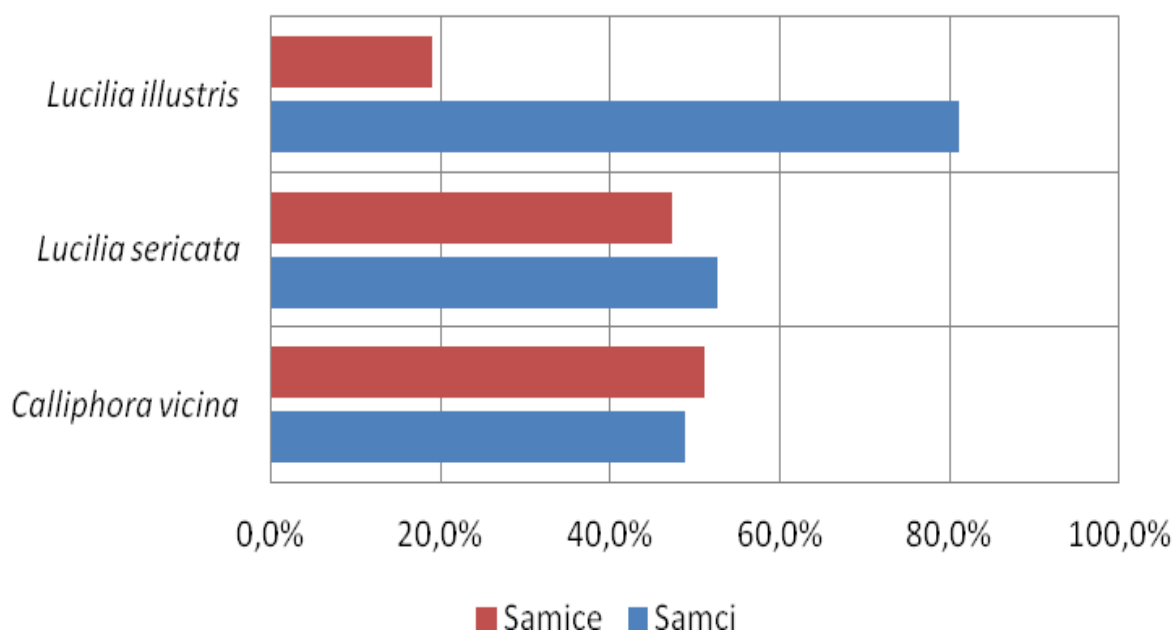
Graf 3 - Pokus č. 1: procentové zastoupení druhů podílejících se na rozkladu čerstvého kadáveru

Zamražený kadáver - procentové zastoupení druhů



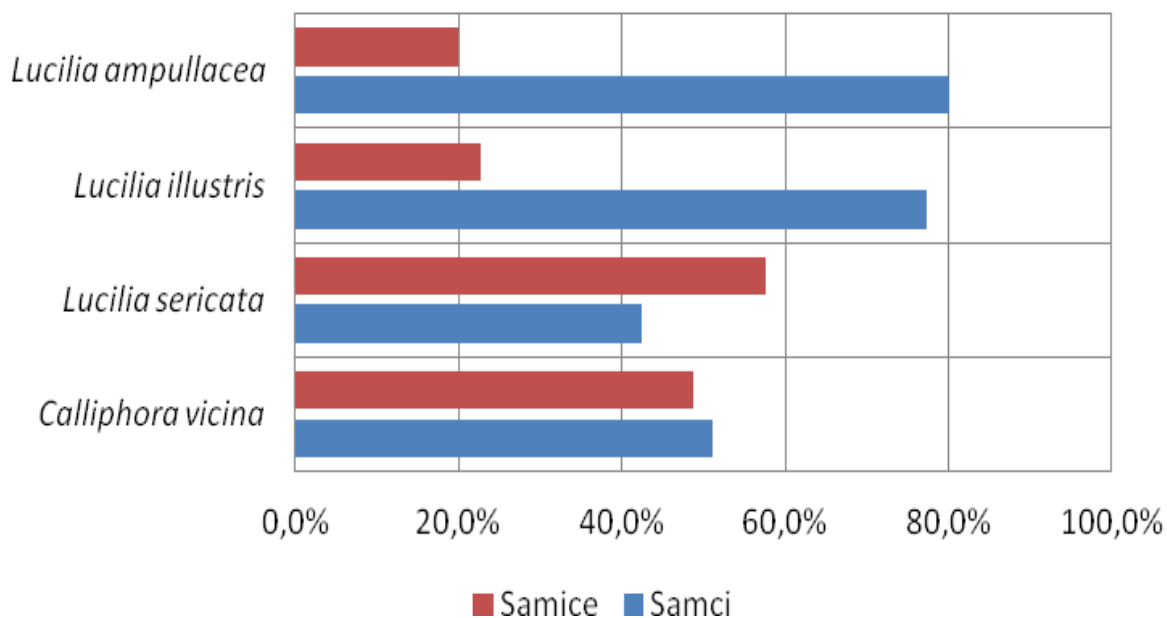
Graf 4 - Pokus č. 1: procentové zastoupení druhů podílejících se na rozkladu zamraženého kadáveru

Pokus č. 1: procentové zastoupení samců a samic u čerstvé varianty



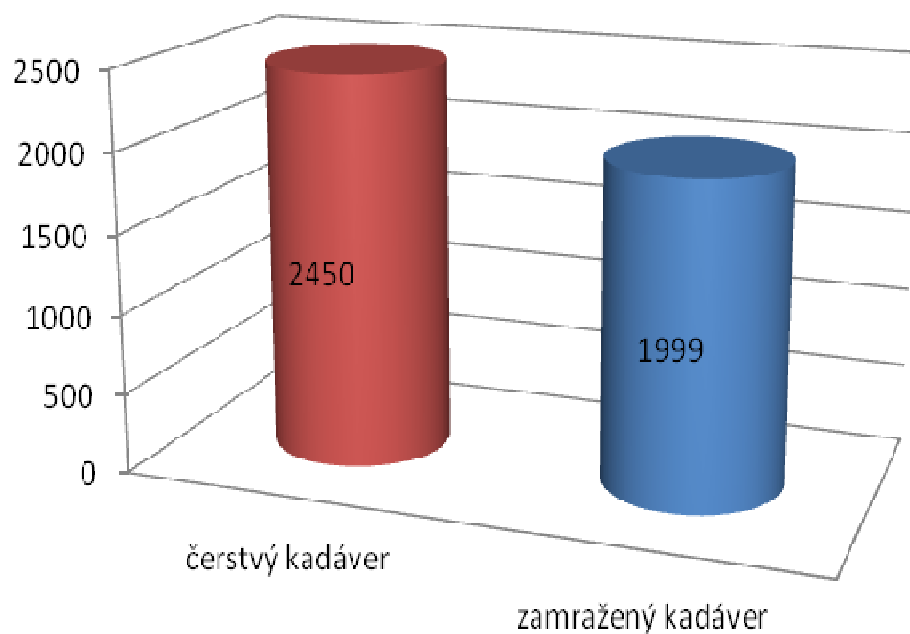
Graf 5 - Pokus č. 1: procentuální poměr samců a samic jednotlivých druhů u čerstvého kadáveru

Pokus č. 1: procentové zastoupení samců a samic u zamražené varianty



Graf 6 - Pokus č. 1: procentuální poměr samců a samic jednotlivých druhů u zamraženého kadáveru

Pokus č. 1: porovnání počtu imag [ks]

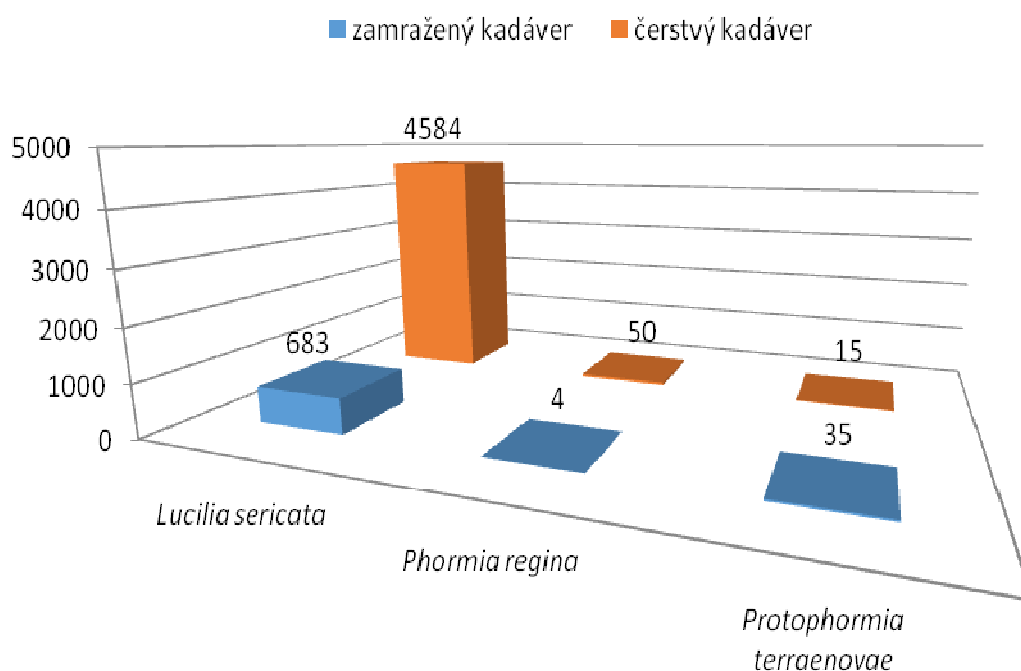


Graf 7 - Pokus č. 1: porovnání počtu všech odchovaných imag u zamraženého a čerstvého kadáveru

Tabulka 8 - Pokus č. 2: počet odebraných/odchovaných imag jednotlivých druhů u obou variant podle dnů (C = čerstvý, Z = zmražený)

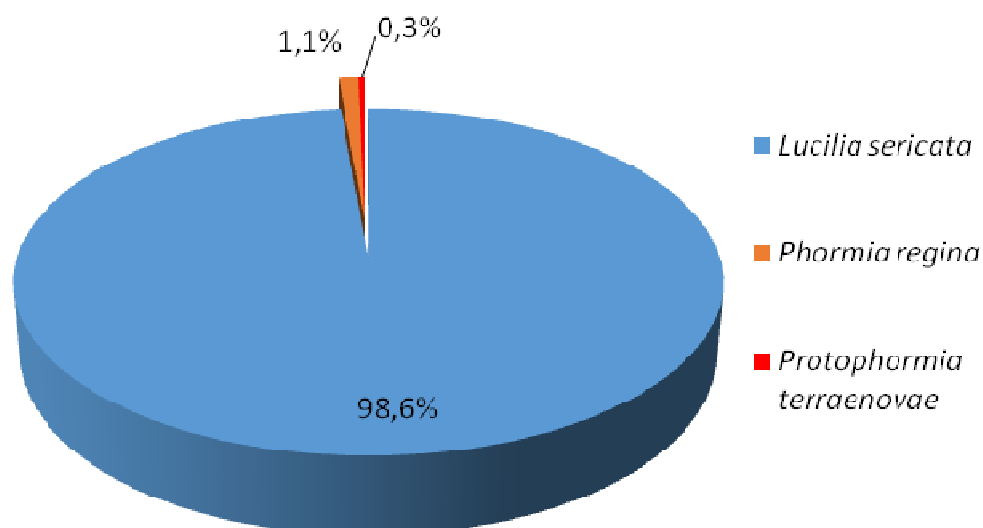
varianta / výběr (datum)	<i>Lucilia sericata</i>			<i>Phormia regina</i>			<i>Protophormia terraenovae</i>			Celkem
	samců	samic	Celkem	samců	samic	Celkem	samců	samic	Celkem	
C 2.1 (13.8.2013)	0	0	0	6	20	26	0	0	0	26
C 2.2 (14.8.2013)	1	0	1	11	12	23	0	0	0	24
C 2.3 (15.8.2013)	160	151	311	1	0	1	4	3	7	319
C 2.4 (16.8.2013)	293	558	851	0	0	0	1	0	1	852
C 2.5 (17.8.2013)	492	685	1177	0	0	0	3	2	5	1182
C 2.6 (18.8.2013)	583	849	1432	0	0	0	1	0	1	1433
C 2.7 (19.8.2013)	295	327	622	0	0	0	0	0	0	622
C 2.8 (20.8.2013)	91	99	190	0	0	0	1	0	1	191
Celkem C	1915	2669	4584	18	32	50	10	5	15	4649
Z 2.1 (13.8.2013)	0	0	0	2	1	3	0	0	0	3
Z 2.2 (14.8.2013)	4	0	4	0	1	1	0	0	0	5
Z 2.3 (15.8.2013)	99	49	148	0	0	0	11	9	20	168
Z 2.4 (16.8.2013)	148	98	246	0	0	0	2	2	4	250
Z 2.5 (17.8.2013)	69	84	153	0	0	0	8	3	11	164
Z 2.6 (18.8.2013)	52	80	132	0	0	0	0	0	0	132
Celkem Z	372	311	683	2	2	4	21	14	35	722
Celkem C a Z	2287	2980	5267	20	34	54	31	19	50	5371

Pokus č. 2: zastoupené druhy a počty odchovaných imag [ks]



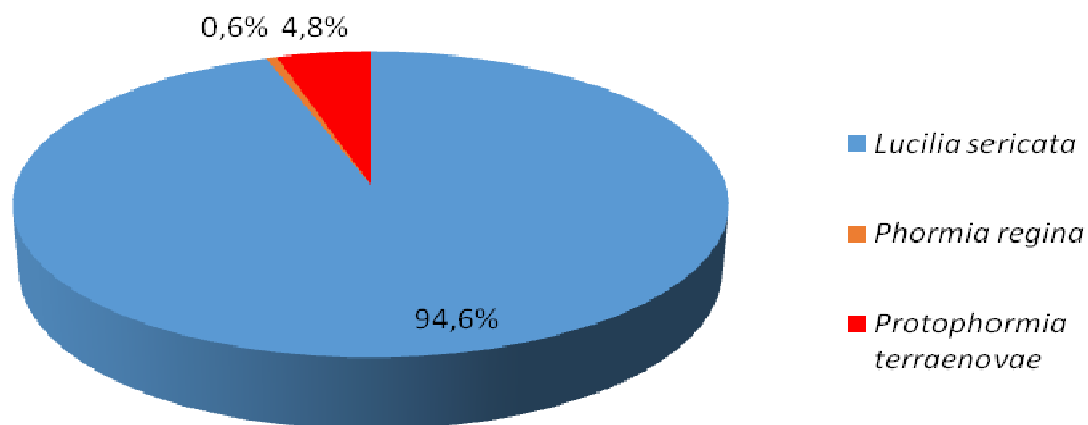
Graf 8 - Pokus č. 2: počet odchovaných imag jednotlivých druhů

Čerstvý kadáver - procentové zastoupení druhů



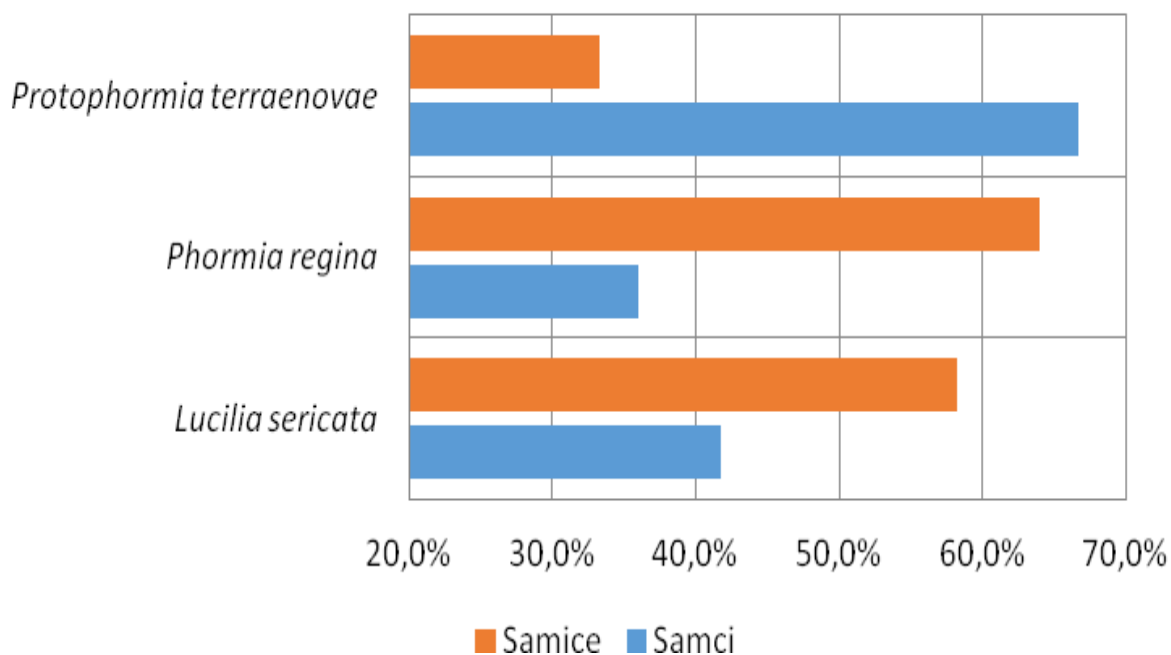
Graf 9 - Pokus č. 2: procentové zastoupení druhů podílejících se na rozkladu čerstvého kadáveru

**Zamražený kadáver -
procentové zastoupení druhů**



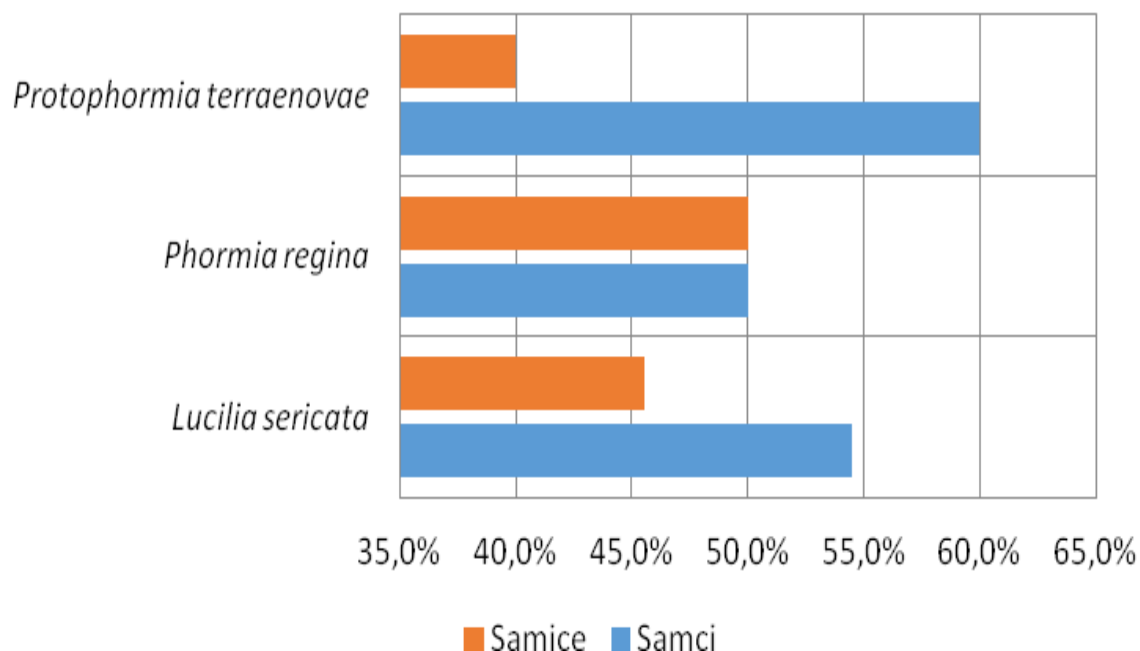
Graf 10 - Pokus č. 2: procentové zastoupení druhů podílejících se na rozkladu zamraženého kadáveru

**Pokus č. 2: procentové zastoupení samců a samic u
čerstvé varianty**



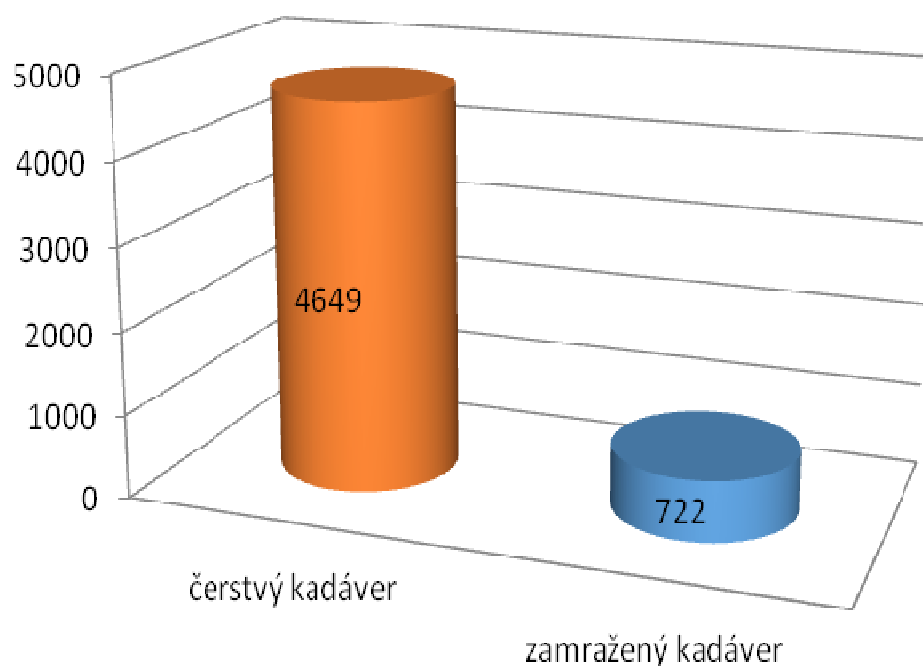
Graf 11 - Pokus č. 2: procentuální poměr samců a samic jednotlivých druhů u čerstvého kadáveru (stupnice grafu je pro přehlednost zobrazena v rozmezí od 20 % do 70 %)

Pokus č. 2: procentové zastoupení samců a samic u zamražené varianty



Graf 12 - Pokus č. 2: procentuální poměr samců a samic jednotlivých druhů u čerstvého kadáveru (stupnice grafu je pro přehlednost zobrazena v rozmezí od 35 % do 65 %)

Pokus č. 2: porovnání počtu imag [ks]



Graf 13 - Pokus č. 2: porovnání počtu všech odchovaných imag u zamraženého a čerstvého kadáveru