

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

FAKULTA ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2018

Martina Větrovská

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

FAKULTA ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

KATEDRA EKOLOGIE

**VYUŽITÍ HMYZU VE FORENZNÍ
ENTOMOLOGII**

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Vedoucí práce: Ing. Pavel Jakubec, Ph.D.

Bakalant: Martina Větrovská

2018

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta životního prostředí

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Martina Větrovská

Územní technická a správní služba

Název práce

Využití hmyzu ve forenzní entomologii

Název anglicky

Utility of insect in forensic entomology

Cíle práce

- Popsat způsoby využití hmyzu jako bioindikátoru ve forenzní entomologii
- Shrnout nejpoužívanější metody využívané v tomto oboru a popsat jejich výhody a nevýhody se zaměřením především na odhad post mortem intervalu.
- Shrnout skupiny bezobratlých, kteří se využívají nebo mají potencionální využití ve forenzní entomologii.
- Sumarizovat potravní a ekologické vazby těchto organismů na mrtvých tělech velkých obratlovců.
- Navrhnout vhodnou metodiku pro zjišťování termálně sumačních modelů dosud nezkoumaných nekrobiontních organismů.

Metodika

Zpracovat literární rešerši na dané téma.

Doporučený rozsah práce

30

Klíčová slova

forenzní entomologie, post mortem interval, ekologie, hmyz, kriminalistika

Doporučené zdroje informací

AMENDT, J , KRETTEK, R, ZEHNER, R. Forensic entomology . Naturwissenschaften. 2004. 91. 51 – 65 p.
AMENDT, J, RICHARDS, CS , CAMPOBASSO, CP, ZEHNER, R, HALL, MJR. Forensic entomology: applications and limitations . Forensic Science, Medicine and Pathology. 2011 . 7 (4). 379 – 392 p.
Daněk L. 1990: Možnosti využití entomologie v kriminalistice. Čs. Kriminalistika. č. 1. 47- 49.
POVOLNÝ, D. Některá hlediska praktického využití hmyzu v kriminalistice . Kriminalistický sborník. 1979. 10. 620 – 632 s.
ŠULÁKOVÁ, H. Speciální biologie: Využití hmyzu při stanovení post mortem intervalu. Kriminalistický sborník. 2006. 3. 36 – 37 s.

Předběžný termín obhajoby

2017/18 LS – FŽP

Vedoucí práce

Ing. Pavel Jakubec, Ph.D.

Garantující pracoviště

Katedra ekologie

Konzultant

Ing. Martin Novák

Elektronicky schváleno dne 19. 3. 2018

doc. Ing. Jiří Vojar, Ph.D.

Vedoucí katedry

Elektronicky schváleno dne 19. 3. 2018

prof. RNDr. Vladimír Bejček, CSc.

Děkan

V Praze dne 15. 04. 2018

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracovala samostatně pod vedením Ing.Pavla Jakubce, Ph.D. a že jsem uvedla všechny literární prameny, ze kterých jsem čerpala. Prohlašuji, že tištěná verze se shoduje s verzí odevzdanou přes Univerzitní informační systém.

V Praze dne 25.4.2018

.....

Martina Větrovská

Poděkování

Chtěla bych poděkovat vedoucímu práce doktoru Pavlu Jakubcovi, za trpělivost, ochotu a doporučení zdrojů, které mi pomohly ke zpracování této práce. Také mojí dceři Adélce, která mně nechala poměrně v klidu pracovat a po celou dobu studia mi držela palce při všech zkouškách. Dále pak celé rodinně, přátelům a kolegům za podporu a umožnění studia.

V Praze dne 25.4.2018

.....

Martina Větrovská

Abstrakt:

Tato práce je zaměřena na využití hmyzu ve forenzní entomologii. Díky tomu, že hmyz je schopen dostávat se i do těžko přístupných míst, ať už se jedná o uzavřené objekty nebo špatně přístupný terén, mohou jeho jedinci sloužit jako důležitý důkaz v kriminálních případech. V situacích, kdy je nalezeno mrtvé tělo a je podezření, že byl spáchán trestný čin, může být díky zkoumání hmyzu a jeho vztahu k okolí tato skutečnost potvrzena nebo vyvrácena. U případů, kdy je tělo nalezeno v pokročilém stupni rozkladu a není možné čas nebo příčinu smrti stanovit pomocí lékařských a kriminalistických metod, jsou využívány poznatky z oblasti entomologie na hmyzu, který se podílí na rozkladu nalezeného těla. Práce popisuje způsoby využití, které byly použity v minulosti a které se nejčastěji využívají dnes. Pomocí hmyzu je možné poměrně přesně stanovit přibližný čas od smrti, tzv. post mortem interval (PMI) a to na základě zkoumání ekologických vazeb hmyzu v místě nálezu a stáří nalezených nekrofágů. Každý druh má specifické nároky pro svůj vývoj, ať už teplotu prostředí, vlhkost vzduchu nebo půdy, zdroje, kterými se živí atd., v práci jsou popsány tyto ekologické vazby a jejich vliv na přesnost stanovení doby smrti. Díky těmto informacím z ekologie může nést každý jedinec důležitou informaci ve vyšetřování trestné činnosti a pomáhat tak v kriminalistice. Vazby prostředí na vývoj hmyzu jsou entomology zpracovány do různých modelů a ve spolupráci s kriminalisty jsou vyhodnocovány pro využití ve forenzní entomologii. Práce porovnává dostupné metody k určení druhu a stáří hmyzu, jejich výhody, nevýhody a návrh metodiky pro stanovení termálně sumačních modelů druhu *Dermestes frischii* čeledi (Dermestidae) kožojedovití, řádu brouků (Coleoptera), pro využití ve forenzní entomologii.

Klíčová slova: forenzní entomologie, post mortem interval, ekologie, hmyz, kriminalistika

Abstract:

This work is focused on the use of insects in forensic entomology. Thanks to the fact that insects are also able to reach difficult-to-reach places, whether they are closed objects or poorly accessible terrain, their individuals can serve as important evidence in criminal cases. In situations where a dead body is found and there is a suspicion that a crime has been committed, this fact can be confirmed or refuted by examining insects and their relationship to the environment. In cases where the body found is marked by an advanced degree of decay, and the time or cause of death can not be determined by medical and criminal methods, knowledge of entomology is used. The thesis describes the methods that have been used in the past and are most commonly used today. By using insects, it is possible to accurately determine the post mortem interval (PMI), based on the investigation of the ecological links of the insects at the site of detection. Each species has specific requirements for its development, whether ambient temperature, air humidity or soil, sources it feeds etc., in the work are described these ecological links and their influence on the accuracy of determining the time of death. Thanks to this information from ecology, each individual can have important information in crime investigations and help in crime. The interfaces to the development of insects are entomologists processed into various models and in cooperation with criminologists are evaluated for use in forensic entomology. The paper compares the available methods for determining the age of insects, their advantages, disadvantages and the proposal of methodology for the determination of thermal summation models of *Dermestes frischii*, (Dermestidae), order of beetles (Coleoptera), for use in forensic entomology.

Keywords: forensic entomology, Post-mortem interval, ecology, insect, criminology

Obsah:

1. Úvod	1
1.1 Cíle práce	2
2. Co zjišťuje forenzní entomologie.....	3
2.1 Faktory ovlivňující vývoj hmyzu a doby dekompozice	4
2.1.1 Teplota	4
2.1.2 Vlhkost.....	5
2.1.3 Biotické faktory	5
3. Sukcese rozkladu těla.....	6
3.1 Sukcesní vlny	6
3.2 Provedené studie sukcese.....	8
3.3 Vliv pohřbení na kolonizaci pohřbené mrtvoly	8
4. Post mortem interval – PMI.....	10
4.1 Využití PMI	10
4.2 Metody stanovení PMI	10
4.2.1 Lineární model vývoje hmyzu.....	12
4.2.3 Nelineární model.....	13
4.2.4 Vzroce pro výpočet PMI	14
4.3 Stanovení stáří larev pro výpočet PMI	17
4.3.1 Isomorpehn diagram	17
4.3.2 Isomegalen diagram	18
4.3.3 Termálně sumační model.....	18
4.4. Postup odběru vzorků a laboratorního zkoumání.....	19
4.4.1 Určení druhu pomocí DNA	19
4.4.2 Moderní metody pro určení hmyzu (3D skenování)	20
5. Využití hmyzu	21
5.1 Určení SET pro využívané druhy	21
5.2 Návrh metodiky pro zjišťování termálně sumačních modelů dosud nezkoumaných organismů	22
5.2.1 Získání vzorku <i>Dermestes frischii</i>	22
5.2.2 Sledování vývoje a výpočet SET.....	22
6. Diskuse	24
7. Závěr	27
8. Seznam literatury.....	29
9. Seznam obrázků:.....	33

1. Úvod

První zmínky o zkoumání mrtvých těl pochází již ze starověké Číny a Egypta. Čínské záznamy z oblasti forenzní entomologie jsou datovány do 13. století. Ekologická vazba hmyzu na rozkládajícím se těle byla však zkoumána až koncem 17. století (Byrd et Castner, 2009). Francesco Redi byl jedním z prvních vědců, který v roce 1688 uvedl, že výskyt larev hmyzu na kadáverech není náhodný, když popsal vývoj much od naklazení vajíček po larvy. V období 13. - 19. století se rozšířilo studium hmyzu. Získané poznatky byly dále rozvíjeny i v oboru forenzní entomologie a byly položeny základy výpočtu přibližné doby smrti (Mégnin, 1894).

Jako příklad uplatněné forenzní entomologie v praxi se udává případ z roku 1850, kdy při provádění stavebních prací během rekonstrukce penzionu došlo k nálezu mumifikovaného těla dítěte v komínu. Zkoumáním nalezeného hmyzu Dr. Marcel Bergeret (1855) prokázal, že dítě bylo zabito před více než dvěma lety, tedy v době, kdy v budově žili původní majitelé, kteří byli obviněni z vraždy a stávající majitelé byli osvobozeni (Byrd et Castner, 2009, Gennard, 2007). Forenzní entomologie se jako vědní obor nejvíce rozvinula ve druhé polovině 20. století v USA, kdy vědci provedli několik prvních pokusů ke stanovení posloupnosti hmyzu na kadáveru během dekompozice. Jako pokusné vzorky byly použity návnady z těl prasat, které mají během rozkladu podobné vlastnosti jako lidské tělo (Byrd et Castner, 2009).

V současné době se objevují nové metody pro zkoumání hmyzu, ať už pomocí DNA (Boehme et al., 2010), nebo počítačová mikrotomografie (mikro-CT). Vzorkem prochází rentgenové paprsky a pomocí počítače se zobrazují v trojrozměrném modelu (Richards et al, 2012). Vzorky se obarví kontrastní látkou a jsou rentgenovány pomocí tomografu, tento způsob umožňuje detailnější zkoumání anatomie a morfologie hmyzu s rozlišením menším než μm . Díky těmto metodám lze přesněji, rychleji a správně určit druh hmyzu. To umožňuje pracovat s přesnějšími daty a informacemi pro úspěšné odchování jedinců v laboratorních podmínkách.

1.1 Cíle práce

Cílem této práce je:

- Popsat dostupné způsoby pro využití hmyzu ve forenzní entomologii.
- Shrnutí nejpoužívanějších metod využívaných pro stanovení post mortem intervalu.
- Popis skupin bezobratlých, které jsou pro tyto účely využívány a možnosti jejich dalšího zkoumání pomocí moderních technologií.
- Sumarizace ekologických a potravních vazeb organismů na mrtvých tělech.
- Návrh metodiky pro zjišťování termálně sumačních modelů dosud nezkoumaných nekrobiontních organismů.

2. Co zjišťuje forenzní entomologie

Během rozkladu mrtvého těla dochází k degradačním procesům, které mají charakteristické znaky pro každou fázi. Rychlost rozkladu je ovlivněna stavem těla, jeho umístěním, obdobím kdy ke smrti došlo a dostupností pro faunu, která se na dekompozici podílí. Tyto faktory určují výskyt druhů hmyzu, jejich početnost a rychlost vývoje. Forenzní entomologie zjišťuje z přítomnosti a vývojových stupňů hmyzu minimální dobu od smrti jedince k nálezů těla (Klimešová et al, 2015). Tato doba je určena jako post mortem interval (PMI). Zkoumáním posloupnosti hmyzu na kadáveru bylo prokázáno, že hmyz se objevuje na těle v návazných vlnách dle dostupnosti zdroje, který je pro daný druh atraktivní (Šuláková, 2014). Tím může být poměrně přesně odhadnuta doba smrti a hmyz se tak stává důležitým prvkem v kriminální praxi (Klimešová et al., 2015).

Díky toxikologickému vyšetření hmyzu je možné v laboratořích zjistit i přítomnost toxických látek, které v sobě mohla mít oběť před smrtí a jejich vliv na rychlost rozkladu, případně míru zavinění smrti. Toxické látky hmyz metabolizuje pomaleji než člověk, nebo je během svého vývoje nedokáže odbourat vůbec a dají se tak zjistit i s odstupem několika měsíců (Elišová et Šuláková, 2012).

Forenzní patologie je nejpřesnější v rozmezí 48 – 72 hodin po smrti, kdy patolog určí dobu smrti dle posmrtných změn těla na základě biochemické analýzy jako např. koagulace krve (Estracanhollí et al., 2009). Po této době se využívá poznatků ve forenzní entomologii a ta je proto velice důležitou součástí vyšetřování (Campobasso et al., 2001).

Vzhledem k rozmanitosti druhů hmyzu v různých částech světa má každá oblast klíčové druhy nekrofágů, které jsou v dané lokalitě podrobně zkoumány. Při těchto výzkumech se zjišťuje, za jakých podmínek probíhá nebo neprobíhá vývoj a jaká je doba od naklazení vajíček, přes jednotlivé instary až po dospělce. Je však řada druhů, u kterých není dostatek informací, a přestože se na místě nálezů nachází, není možné je použít pro stanovení PMI. Nejčastěji se vyskytují zástupci bzučivkovitých (Calliphoridae), brouci (Coleoptera), mrchožroutovití (Silphidae) a kožojedovitých (Dermestidae) (Klimešová et al., 2015).

U druhů, jejichž vývoj prochází dokonalou proměnou, se využívá měření velikosti instarů. Pokud jsou dostupné informace pro nalezený druh, může entomolog

zjistit, jaký je časový horizont od naklazení vajíček, případně předpokládaný čas potřebný pro proměnu do dalšího stupně. Tato doba se u stejného rodu může lišit, a je proto nutné správné taxonomické určení druhu. Larvy bzučivky zelené (*Lucilla sericata*) se vyvíjí rychleji než larvy bzučivky obecné (*Calliphora vicina*), stejné fáze vývoje larev mohou být odlišného stáří. Z místa nálezu se odeberou vzorky přítomného hmyzu, které jsou podrobeny laboratornímu zkoumání. Kde se zkoumají počty puparií, jejich délka, hmotnost a tvar. Na základě zjištění tak dokáže entomolog porovnáním s referenčními údaji, které byly získány výzkumem druhů v laboratorních podmínkách odhadnout dobu, po jakou se na kadáveru druh vyvíjel (Amendt et al, 2004).

2.1 Faktory ovlivňující vývoj hmyzu a doby dekompozice

Faktory ovlivňující proces rozkladu mohou být biotické a abiotické. Mezi abiotické patří především klimatické podmínky. Teplota prostředí je nejdůležitějším faktorem ve vývoji larev hmyzu i urychlení nebo zpomalení rozkladu těla. Mezi další patří vlhkost vzduchu, expozice vůči slunci, acidita půdy a dešťové srážky. Teplotu kadáveru může ovlivnit nejen teplota okolního prostředí, ale i teplota a energie hmyzu, který ji kolonizuje. Biotické podmínky prostředí určují výskyt druhů, podílejících se na rozkladu. Rozkladem těla dochází k uvolňování těkavých látek (apneumony), které lákají hmyz ke zdroji. Na malé ploše se tak vytváří dílčí společenstvo nekrofágních druhů, které se nazývá merocenóza (Daněk, 1990).

2.1.1 Teplota

Teplota ovlivňuje nejen rychlost procesů rozkladu, ale i aktivitu a rychlost růstu hmyzu a urychluje tak vývoj instarů. Vysoké teploty mohou vývoj instaru nejen zpomalit, ale může dojít i ke smrti jedince, který není dostatečně vyvinut nebo není adaptován na vyšší teploty. Nízká teplota prostředí naopak zpomaluje rozklad i vývoj, kdy může nastat diapauza, tedy stav zastavení vývoje a v extrémních případech může způsobit uhynutí jedinců ve všech stupních vývoje. Také jsou ovlivněny procesy probíhajících posmrtných změn, kdy enzymy a jejich reakce zrychlují nebo zpomalují průběh rozkladu, zejména tvorbu plynů, fermentaci tuků a bílkovin (Šuláková, 2006). Ke zvýšení teploty může dojít i při vytvoření larválních agregací, kdy se larvy shlukují do větších mas a zahřívají se navzájem (Rivers et Dahlem, 2014).

2.1.2 Vlhkost

Vlhkost prostředí je stejně důležitým faktorem jako teplota. Zásadně ovlivňuje přítomnost druhů a tedy i složení společenstva. Kadáver je samostatným ekosystémem a významným zdrojem živin v daném biotopu (Byrd et Castner, 2009). Záleží proto na typu tohoto biotopu, jelikož se výskyt druhů hmyzu váže k typům stanoviště (a to vlhké x suché) , které tato nekrosaprofágní společenstva vyhledávají (Šuláková ,2006).

V biotopech suchých, s vysokými teplotami dochází k rychlému uvolňování plynů v první fázi rozkladu a nastává mumifikace (Galloway et.al,1989). Při tomto procesu dochází k rychlému vysušení měkkých tkání, které tak zůstávají zachovány (Goff, 2009). K mumifikaci může dojít i při velmi nízkých teplotách, ale tento proces pak trvá mnohem déle. Naopak v oblastech s vysokou vlhkostí dochází k rozkladu rychleji. V některých případech jsou již po dvou týdnech pouze kosterní zbytky (Ubelaker,1997). Významný vliv mají dešťové srážky, které mohou zcela zabránit nalétání hmyzu, odplavení jedinců z kadáveru nebo jejich dočasný přesun do úkrytu mimo tělo (Catts et Goff, 1992).

2.1.3 Biotické faktory

Mezi biotické faktory lze zařadit nejen veškeré živočichy, kteří se na rozkladu podílejí, ale i jejich predátory, mikroorganismy, houby a plísně. Jejich výskyt je ovlivněn stavem mrtvoly a mírou narušení těla před smrtí (krvácení, perforace střev, atd.), hmotností, velikostí, množstvím podkožního tuku, věkem, pohlavím, zdravotním stavem, přístupem k tělu (např. oblečení, srst, hloubka pohřbení apod.) (Šuláková 2006). Přítomnost těchto organismů a jejich podíl na rozkladu je dán procesem změn v tzv. sukcesních vlnách (Eliášová et Šuláková, 2012).

3. Sukcese rozkladu těla

Sukcese pochází z latinského slova *successio* – následnost, je ve vztahu k mrtvému tělu brána jako kontinuální proces kolonizace a zániku populací jednotlivých druhů na určitém místě. Přirozený vývoj rozkladu těla prochází několika etapami, které mají určitou časovou posloupnost. Pořadí, v jakém dochází k zpřístupnění živin z těla každého živočicha, je dáno biologickými procesy. Mrtvé tělo je konečnou fází potravního řetězce. Jako první se většinou stává zdrojem potravy nekrofágních obratlovců, kteří po nasycení mršinu opustí. Zatímco nekrofágové z řad členovců se tělem nejen živí, ale i se na něm vyvíjí (Daněk, 1990), hmyz kolonizující mrtvolu nalétá v několika vlnách v různých časových úsecích, podle dostupných živin, které rozkladem uvolňují specifický zápach. Tím je hmyz váben i na větší vzdálenosti (Wall et Warnes, 1994).

V počátku dekompozice dochází k autolýze, při které se rozkládají buňky pomocí enzymů např. lipázy (triacylglycerol acylhydroláza EC 3.1.1.3.), rozkládající tuky na glycerol a mastné kyseliny, proteázy (štěpící bílkoviny) a sacharózy (štěpící cukry). Při probíhajících biochemických procesech vznikají plyny, jejichž zápach je atraktivním pro hmyz, kterým je vnímán jako signál jím přitahován ke zdroji. Nejrychleji dochází k rozkladu tkání mozku a jater (Vass, 2001). Následuje hnilobný rozklad tkání, na kterém se podílejí bakterie. Jsou uvolňovány plyny, jako je sirovodík, oxid siřičitý, oxid uhličitý, metan, vodík a amoniak. Současně vzniká těkavá kyselina máselná a propionová. Probíhá aktivní dekompozice, kdy jsou bílkoviny rozloženy bakteriemi na mastné kyseliny (Vass, 2001). Specifické aroma uvolněných plynů tak přitahuje v určité fázi rozkladu jiný druh hmyzu.

3.1 Sukcesní vlny

Počet sukcesních vln závisí na podmínkách v biotopu, ve kterém došlo k nálezů těla. Záleží také na velikosti mrtvého živočicha. Níže je uvedeno osm sukcesních vln podle Daňka (1990), Eliášové a Šulákové (2012).

1. Čerstvé tělo - první vlna hmyzu se objevuje bezprostředně po smrti, je ovlivněna poraněním těla. Pokud na těle není žádné poškození (krvácení),

nemusí být v počátku kolonizováno hmyzem. V první vlně se nejčastěji objevují velké mouchy, bzučivky (Calliphoridae).

2. Nadmuté tělo – v těle se začínají tvořit plynné látky, které tělo nadýmají a uvolňuje se zápach, který vábí další hmyz. Tento proces je ovlivněn teplotou prostředí, při vyšších teplotách se proces zrychluje a k uvolňování plynů může v letních měsících dojít již druhý den. Larvy much z první vlny požírají měkké tkáně. Nalétávají další mouchy a kladou další vajíčka. Na kadáveru se již vyskytují i zástupci nekrofágních brouků, např. hrobařici a mrchožrouti (Silphidae).
3. Tělo biochemicky aktivní (fermentace tuků) – při procesu zmýdelnění tuku dochází ke vzniku těkavých mastných kyselin (např. kyselina máselná), jejichž silný zápach láká další hmyz. Objevují se predátoři, kteří se živí larvami i dospělci nekrofágů. Jsou to např. drabčíkovití (Staphylinidae) a mršníci (Histeridae); larvami much se živí dospělci i larvy těchto brouků.
4. Tělo biochemicky aktivní (fermentace proteinů) – v další vlně dochází k fermentaci proteinů. Během tohoto procesu se uvolňují látky, které zapáchají jako sýr a jsou atraktivní pro mušky sýrohlodky (Piophilidae) a octomilky (Drosophilidae). Ubývá svalová hmota a jiné měkké tkáně, proto s úbytkem zdrojů dochází i ke snížení počtu nekrofágů na kadáveru. Naopak v jeho blízkosti probíhají biologické cykly larev některých druhů much a brouků s kratším vývojovým stadiem.
5. Tělo v pokročilém stádiu rozkladu (čpavková fermentace) – při čpavkové fermentaci se uvolňují amoniakální páry, které přitahují mušky hrbilky (Phoridae). Jedinci dospělých nekrofágů se vyskytují pouze v malém počtu a tím dojde i k poklesu biofágů, kteří se jimi živí.
6. Vysychání zbytku měkkých tkání – tekutiny jsou absorbovány a spotřebovány hmyzem podílejícím se na rozkladu. Část kadáveru je již kostra. Typičtí nekrofágové se téměř nevyskytují. Na mrtvole již není dostatek živin pro vývoj larev ani potrava pro dospělé. V této vlně se vyskytují druhy roztočů (Acari), kteří se živí kostní dření a urychlují rozpad kostí. Tento proces nastává zhruba po roce od smrti.
7. Kosterní zbytky – tělo je již zcela vysušeno a zůstává pouze kostra. Mohou zůstat zachovány chrupavky a vazivo, ochlupení nebo vlasy. Na těle se nacházejí živočichové, kteří se živí sušeným masem, rohovinou, kůžemi,

peřím atd., jsou to např. brouci z čeledi vrtavcovitých (Ptinidae) a roztoči. Mrtvoly nalezené v uzavřených prostorech mohou být kolonizovány teplomilnými a suchomilnými druhy např. kožojedy a moly (Tineidae).

8. Sukcesní vlna - nastává u mrtvol starších než tři roky, pokud byla vystavena účinkům rozkladu, na místě jsou objeveny pouze kosterní zbytky. Objevují se stejné druhy jako v sedmé vlně, zejména roztoči. Možný je i výskyt vrtavcovitých, kteří rozkládají organické zbytky. Drabčíkovití se mohou vyskytnout pod kostrou nebo v jejích dutinách, které využívají jako zimoviště nebo ochranu před povětrnostními vlivy (Daněk, 1990), (Šuláková et Eliášová, 2012).

3.2 Provedené studie sukcese

Ke zjištění posloupnosti hmyzu na mrtvole bylo provedeno několik modelových studií, kdy bylo v různém prostředí umístěno několik vzorků pokusných zvířat. V našich podmínkách byla provedena studie: “Využití čeledi Piophilidae (Diptera) ve forenzní praxi“, kterou provedla Hrdinová et al. (2012) na praseti domácím (*Sus scrofa f. domestica*). Pokusné zvíře bylo umístěno v Praze - Troji, tělo bylo volně exponováno. Bylo zjištěno, že sýrohločky se mohou vyskytnout při příznivých klimatických podmínkách již v prvních dvou vlnách, největší aktivita však byla potvrzena ve stádiu biochemického rozkladu (Smith 1986; Arnaldos et al. 2005). Obdobná studie byla provedena pro určení PMI na mrtvolách nalezených uvnitř venkovské usedlosti v Madridu, kterou provedl García-Rojo et al. v roce 2009. García – Rojo rozděluje sukcesí do pěti stádií (mrtvola čerstvá, nafouklá, aktivní rozklad, pokročilý rozklad a skeletonizace). Těla byla nalezena v pokročilém stadiu rozkladu a díky odebrání vzorků hmyzu, kolonizujícímu rozkládající se tělo, bylo zjištěno, že početnost jedinců byla nízká. To ukazuje na nedostupnost mrtvého těla v počáteční fázi, což potvrdilo, že s těly nebylo manipulováno a smrt osob nastala uvnitř domu (García-Rojo et al., 2009).

3.3 Vliv pohřbení na kolonizaci pohřbené mrtvoly

Pohřeb je pradávným způsobem odstranění uhynulých těl zvířat nebo zemřelých lidí. Pohřbení těla však používají k zakrytí stop i pachatelé trestných činů, většinou tak jednají v časové tísní a hloubka uložení těla je důležitým faktorem pro průběh jeho rozkladu (Singh et al., 2016). Některé druhy much jsou vábeny pachy

vycházejícími z podzemí, kladou vajíčka do půdních štěrbin (Rodrigueze et Bass, 1985) a jejich larvy jsou schopné dostat se do hloubky až 30 cm pod povrchem. Larvy se však nemusí dostat až k mrtvole (VanLaerhoven et Anderson, 1999). Vajíčka mohou být nakladena na části těla ještě před pohřbením a larvy se pak vyvíjí pod povrchem, což bylo potvrzeno u bzučivky rudohlavé (*Calliphora vomitoria*) a bzučivky zelené. Dospělci pak vylézají na povrch. Tyto informace mohou přispět k přesnějšímu určení PMI (Singh et al,2016).

4. Post mortem interval – PMI

Post mortem interval je odhad doby, kdy nejpravděpodobněji nastala smrt. Doba je stanovena podle výpočtu PMI, kdy se používají známá data, kterými jsou okolní teplota, relativní vlhkost, stav rozkladu. Vass stanovil v roce 2010 dva vzorce pro výpočet PMI, dle způsobu umístění těla - s přístupem vzduchu a bez přístupu vzduchu. Další možností je využití modelových diagramů, které jsou přesnější, ale nejsou dostupné u všech známých druhů (Rivers et Dahlem, 2014).

4.1 Využití PMI

V prvních hodinách po smrti většinou určuje dobu smrti forenzní patolog na základě fyziologických procesů, které jsou známé z lékařství. Stanovení entomologicky odvozených informací může být pouze doplňujícím údajem pro zpřesnění doby úmrtí, nebo vyvrácením odhadů stanovených pouze podle fyziologických a biochemických procesů. K první kolonizaci hmyzem může dojít krátce po smrti nebo těsně před ní, zvláště při poranění těla. V prvních 48 - 72 hodinách je přesnější využití medicíny, po 72 hodinách je přesnější stanovení pomocí nekrofágního hmyzu (Goff, 2009).

4.2 Metody stanovení PMI

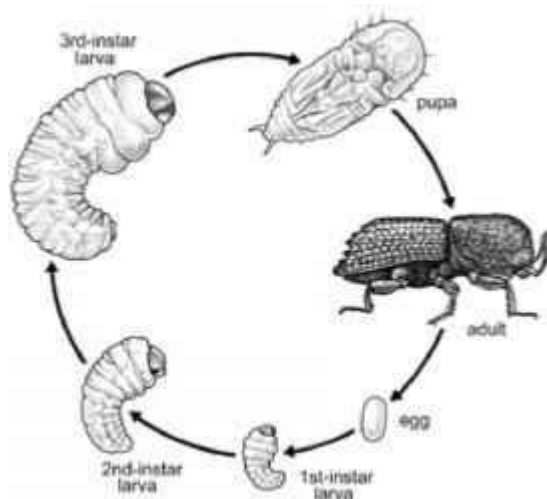
Jak je uvedeno výše, metody pro stanovení PMI jsou matematické vzorce nebo diagramy s využitím znalostí sumy efektivních teplot (SET) konkrétního druhu. Pro co největší přesnost získaných výsledků jsou důležitá následující kritéria:

1. Musí se jednat o druh, který potřebuje pro svůj vývoj mrtvé tělo
2. Dospělé samice nenakladly vajíčka nebo larvy ještě na živého jedince
3. Existuje termálně sumační model nebo vývojový diagram
4. Fáze vývoje hmyzu může být přesně odhadnuta (k danému druhu je dostatek informací).

Nejdůležitější je správné zařazení taxonu nalezeného hmyzu. Pokud není dostatek informací k vývojovým fázím, není možné nalezené jedince využít ke stanovení PMI. Některé druhy hmyzu mohou být heterotermické, a pokud metoda vychází z výpočtu podle teploty potřebné k dosažení vývojového stupně, mohlo by dojít ke zkreslení dat (Rivers et Dahlem, 2014). Když jsou vybrány vhodné vzorky nalezené na těle a v jeho okolí, je část odebrána živá a umístěna do inšektária, kde je živena

vepřovým masem, které je podobné lidskému a jedinci jsou v laboratorních podmínkách chováni do dospělosti. Časové a teplotní údaje jsou zaznamenávány a tyto údaje slouží jako vstupní data pro výpočet doby úmrtí. Část vzorku je vypreparována a podrobena analýze, např. na přítomnost toxických látek (Hátlová, 2012).

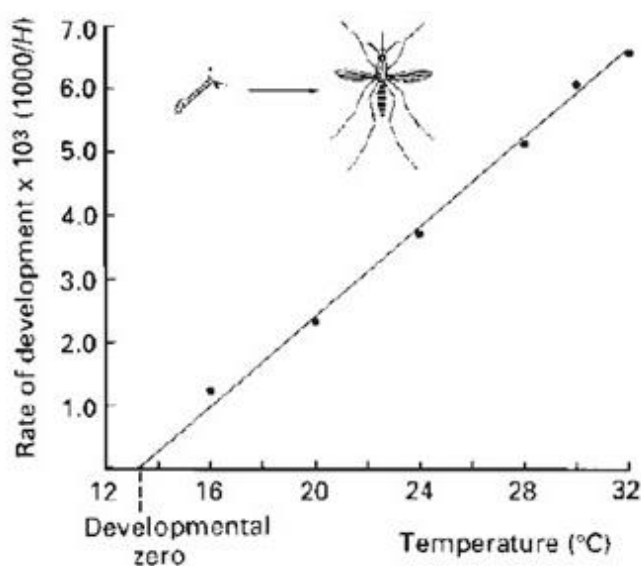
Rychlost vývoje hmyzu závisí nejvíce na teplotě, protože většina druhů ji nedokáže regulovat a je závislá na teplotě prostředí. Byly proto stanoveny teplotní charakteristiky vývoje. Délka vývoje vychází z počtu dnů od naklazení vajíček k líhnutí nebo následným svlékáním jednotlivých instar, času kuklení a přeměny v dospělého (obr. 1) a je vyjádřena jako podíl celkové doby trvání jednotlivé fáze vývoje za jednotku času (Regnière et al. ,2012).



Obr. 1. Proměna dokonalá (Johnson et Lyon, 1991)

4.2.1 Lineární model vývoje hmyzu

Vývoj začíná na spodním prahu vývoje (SPV), který představuje minimální teplotu, při které je hmyz schopen vývoje. Suma efektivních teplot (SET) je součtem denních teplot – denní stupně (měřené ve °C), tyto teploty jsou v rozsahu od minimální teploty po dosažení optimální teploty potřebné pro dokončení vývoje, obr. 2 (Honěk et Kocourek, 1990).

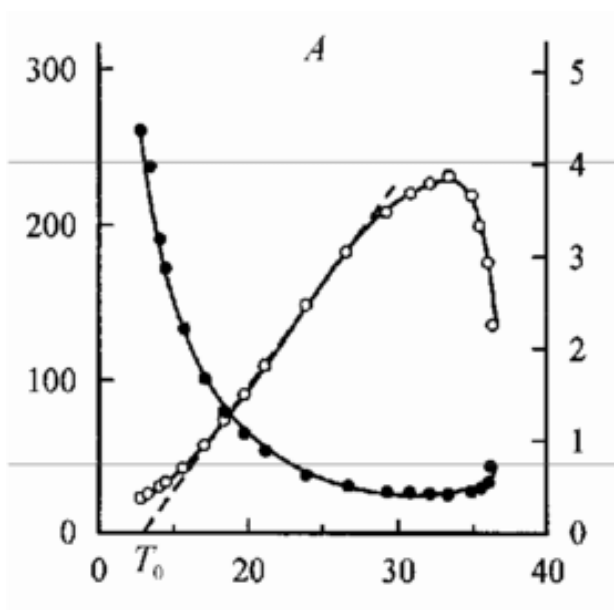


Obr. 2. Suma efektivních teplot SET (Meleovsky et Lopatina, 2010)

Dle těchto parametrů můžeme určit lineární závislost rychlosti vývoje hmyzu na teplotě. Při poklesu teplot pod minimum se vývoj zastaví a stejná situace nastává při překročení bodu optima, kdy dochází ke zpomalení vývoje nebo úmrtí jedince. V omezeném rozpětí teplot se tedy uvažuje s lineárním vztahem rychlosti vývoje a teplotou okolí (Wagner et al., 1984).

4.2.3 Nelineární model

Tento model zohledňuje situaci, kdy vztah mezi teplotou a rychlostí vývoje není lineární blízko spodního prahu vývoje (SPV) a může pokračovat i pod touto hranicí a stejně tak i nad hranici horního prahu vývoje (HPV) (Karimi – Malati at. Al, 2014). Vychází z toho, že při teplotě odpovídající spodnímu prahu není vývoj nulový (viz obr 3.), ale je příliš pomalý na to, aby se dal experimentálně určit. Při hranici mezních teplot je míra přežití velmi nízká (Campbell et al. 1974, Wagner et al., 1984).



Obr. 3 Křivka vývoje pod hranicí SPV (E. Kipyatkov, V et Lopatina, Elena (2010)

Používá se výpočet podle navržených modelů. Jedním z modelů je Brierův model 1. a Brierův model 2., kde T_{\min} – dolní mez teploty, T_{\max} – horní mez teploty a – konstanta m. m-konstanta je parametr tvaru rozložení křivky, která vyjadřuje schopnost hmyzu přežít při vysokých teplotách. Oba modely umožňují odhad optimální teploty, kdy je vývoj nejrychlejší (Briere at al., 1999).

$$\text{Model Briere 1: } \frac{1}{D} = a \cdot T \cdot (T - T_{\min}) \cdot \sqrt{T_{\max} - T}$$

$$\text{Model Briere 2: } \frac{1}{D} = a \cdot T \cdot (T - T_{\min}) \cdot (T_{\max} - T)^{1/m}$$

Modelů pro výpočet teplot a srážek existuje několik a jsou využívány především v zemědělství pro vytvoření opatření proti škůdcům, protože teplota ovlivňuje i počet generací dospělých jedinců v jednom roce (Rožnovský et al., 2010).

4.2.4 Vzorce pro výpočet PMI

Dle Vasse (2011) se PMI vypočítá ze vzorce:

$$PMI_{\text{Aerobic}} = \frac{1285 \times \left(\frac{\text{dekompozice}}{100}\right)}{0,0103 \times \text{teplota} \times \text{relativní vlhkost}}$$

Tento vzorec je stanoven pro aerobní rozklad.

- 1285 je konstanta reprezentující empiricky stanovenou hodnotu ADD (součet denních stupňů) při které dochází k uvolnění těkavých mastných kyselin (VFA) z měkkých tkání
- Dekompozice je hodnota nebo rozmezí mezi 1 až 100, která představuje nejlepší odhad rozsahu celkového rozkladu měkké tkáně
- 0,0103 je konstanta představující empiricky určené opatření vlivu vlhkosti na rozkladné rychlosti
- Teplota je hodnota ve stupních Celsia (°C) buď průměrná teplota na místě v den, kdy bylo tělo objeveno, nebo průměrná teplota po určitou dobu
- Vlhkost je hodnota mezi 1 až 100, což představuje buď hodnotu průměrné vlhkosti na místě v den nálezu mrtvoly, nebo průměrnou vlhkost během určité doby

Hodnotu dekompozice stanovuje soudní lékař nebo antropolog, který určí kolik procent měkkých tkání je rozloženo. Pokud je na mrtvole odhadnuto 50% rozložení, potom je čitatelem vzorce I. $1285 (50/100) = 1285 (0,5) = 642,5$ (Vase, 2010). Přibližné procentuální hodnoty stupně rozkladu jsou uvedeny v tabulce 1. Určují se dle stádia rozkladu od čerstvé mrtvoly po skelet.

Stage	Decomposition range under warm conditions	Decomposition range under cold conditions
Fresh	1–10%	1–20%
Bloat	11–35%	21–45%
Decay	36–85%	46–85%
Dry	86–100%	86–100%

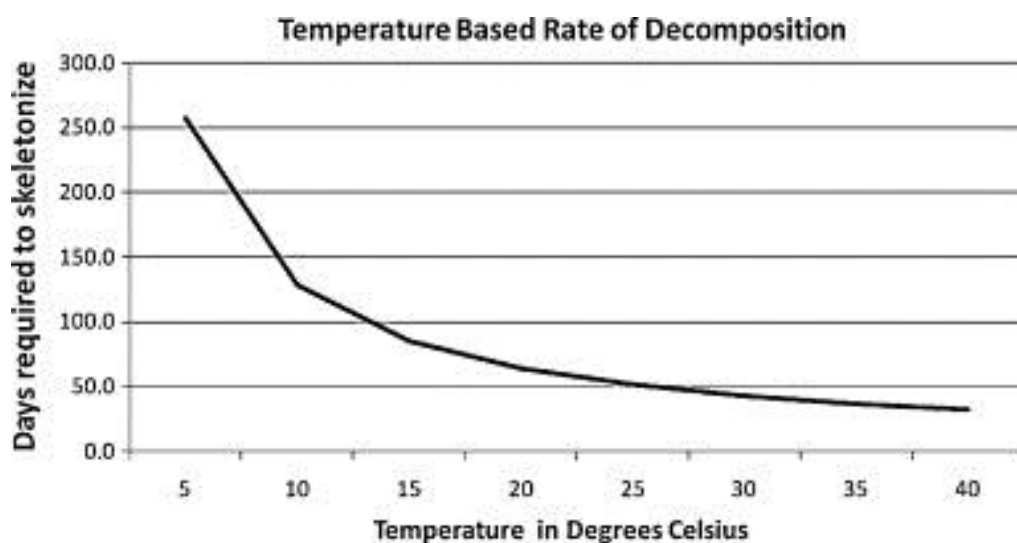
Tab.1– procenta rozkaldu dle stavu těla (Vass, 2010)

Konstanta 1285 je přibližná hodnota, kdy končí proces uvolňování těkavých mastných kyselin; tento vzorec se tedy používá, pokud se na těle objevuje měkká tkáň.

Hodnota 0,0103 je empiricky odvozená konstanta, kdy je předpokládaná rychlost rozkladu těla ovlivněna vzdušnou nebo zemní vlhkostí. Tyto údaje byly odvozeny po zkoumání vlivu vlhkosti na rozklad za více než deset let.

Teplota udávaná ve °C se uvažuje buď jako teplota v době nálezů, nebo jako průměrná teplota několika předchozích dní, z údajů meteorologických stanic v blízkosti nálezů. Počet zahrnutých dnů pro odhad je dán požadovanou přesností PMI (dny, týdny, měsíce). Průměrná rychlost rozkladu v závislosti na teplotě je uvedena na obrázku 4.

Vlhkost je uvedena v %, tedy hodnotou 1-100. Stejně tak jako u teploty, lze vlhkost doplnit, jako vlhkost v době nálezů nebo průměrnou vlhkost za určité období. Zdrojem údajů je též nejbližší meteorologická stanice od místa nálezů.



Obr.4 – průměrná rychlost rozkladu (Vass, 2010)

Pro anerobní rozklad u pohřbených těl je PMI stanoveno jako:

$$PMI_{\text{Anerobic}} = \frac{1285x \left(\frac{\text{dekompozice}}{100} \right) x 4,6 \text{ adiporace}}{0,0103x \text{ teplota } x \text{ vlhkost půdy}}$$

- 1285 je konstanta empiricky stanovena jako BAAD (burial accumulated degree days), což je součet denních stupňů u pohřbených těl, při kterých se přestávají uvolňovat těkavé tuky z rozkládajících se měkkých tkání.
- Dekompozice je procentuální dohad rozkladu těla v hodnotě 1-100
- 4,6 je konstanta zohledňující zpomalení rozkladu z důvodu nedostatku kyslíku
- Adipocere je multiplikativní hodnota založená na odhadovaném% tuku na těle (viz tabulka 2).
- 0,0103 je konstanta vlivu vlhkosti na rozklad těla
- Teplota udává teplotu půdy v hrobu v době nálezu, případně průměrnou teplotu ve sledovaném čase
- Vlhkost půdy je udávána hodnotou 1 až 100, dle vlhkosti půdy v době nálezu nebo ve sledovaném čase

Vzorec pro výpočet ADD:

$ADD = \text{čas (dny)} \times (\text{teplota} - \text{teplota spodního prahu vývoje})$, jednotkou jsou denní stupně °D (Riveres at Dahlem, 2010).

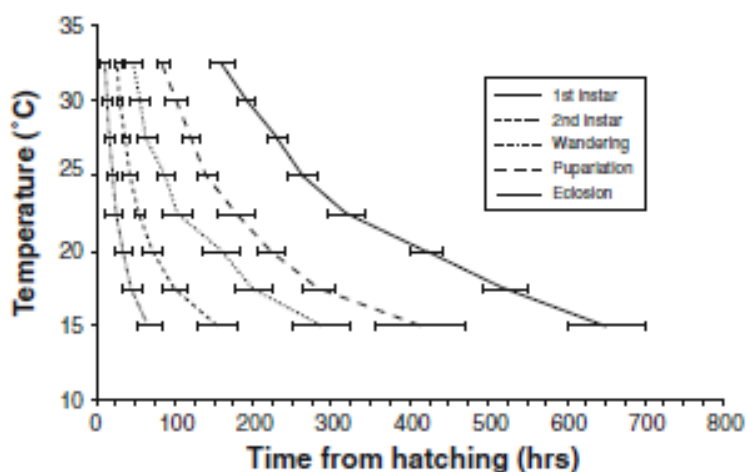
Přesnost stanovení PMI u krátkodobých post mortem intervalů (od 72 hodin do 5-ti dnů), bývá v rozmezí 1-5 dnů. Výsledkem takového výpočtu je konkrétní den \pm 1-2 dny. Nálezy po delší době udávají PMI s přesností na týdny či měsíce. Nálezy po roce až dvou jsou odhadovány na roky, kdy záleží na stavu nálezu (Eliášová et Šuláková, 2012)

4.3 Stanovení stáří larev pro výpočet PMI

Modelování vývoje hmyzu pomocí zaznamenaných vývojových hodnot v laboratorních podmínkách, které jsou vyhodnoceny diagramem, zobrazují teplotu v době vývoje (nejčastěji konstantní) a čas vývoje jednotlivých stádií (Amendt et al,2011). Základním modelem je Isomorpehn diagram, dále se používá Isomegalen diagram a Termálně sumační model.

4.3.1 Isomorpehn diagram

Základním diagramem je Isomorpehn diagram, který zobrazuje vývoj od líhnutí vajec k dospělci na ose X a teplotu na ose Y, viz obr 5.

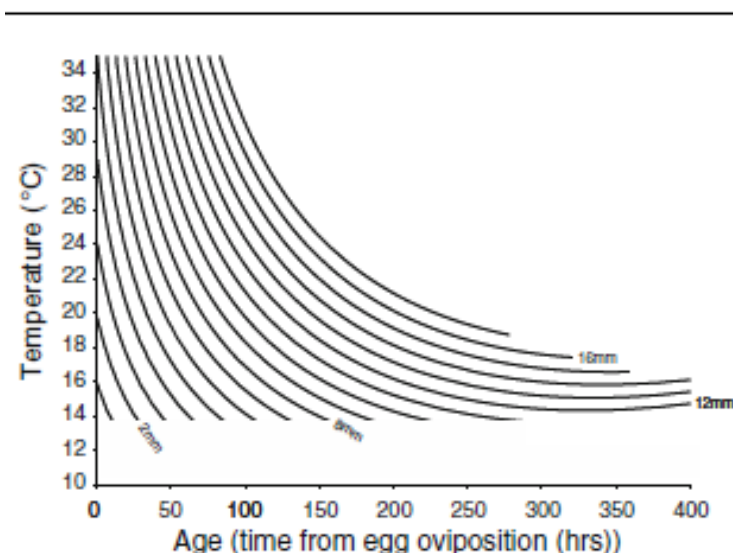


Obr.5 – Isomorphen diagram (Amendt et al., 2011)

Každá křivka v tomto modelu zobrazuje jedno vývojové stádium. Určení fáze vývoje nejstaršího nalezeného nedospělého hmyzu na kadáveru a výpočtu průměrné teploty v místě nálezu, je možné stanovit pomocí tohoto diagramu PMI_{min} a PMI_{max} (Grassberger et al., 2001). Výhodou použití toho modelu je jeho jednoduchost a snadná prezentace. Jeho nevýhodou je, že v případech, kdy kolísají teploty a ve výpočtu je tedy uvažován jejich průměr, mohou být výstupy nepřesné. Nejpřesnější výsledky jsou, pokud je odebrán vzorek živých jedinců a je v laboratoři odchován do dalšího stupně při konstantní teplotě (Amendt et al., 2011).

4.3.2 Isomegalen diagram

Zobrazuje křivky, které modelují velikost larvy (délka, hmotnost nebo šířka - osa Z) jako měřítko věku, teplotu (osa Y) a čas (osa X), viz obr. 6. Velikost larvy v čase zohledňuje i kolísání teplot v prostředí a je tedy přesnější pro stanovení PMI_{min}. Křivky diagramu popisují velikost larev od vylíhnutí vajíček po počátek kuklení, každá křivka představuje určitou velikost larvy. Je proveden odběr vzorků největších larev, které jsou v laboratoři identifikovány a měřeny (Amendt et al., 2011). Naměřené hodnoty jsou zpracovány spolu se záznamy teplot v okolí (Villet et al., 2010). Výhodou tohoto diagramu je zohlednění změn teplot během vývoje, nevýhodou je, že velikost larev nemusí vždy odpovídat stáří larvy (Adams et Hall, 2003). Na rozdíl od Isomorphen diagramu, který zobrazuje celý vývoje jedince, je Isomegalen diagram vytvořen pouze pro porovnání larev.



Obr.6 Isomegalen diagram (Amendt et al., 2011)

4.3.3 Termálně sumační model

Termálně sumační model je nejsložitějším modelem pro stanovení PMI. Zahrnuje komplexní data, a to vztah velikosti hmyzu, okolní teploty a dobu potřebnou pro vývojové stádium. Vyhodnocení těchto údajů pro stanovení PMI spočívá ve využití lineární regrese pro analýzu vývojových údajů druhů hmyzu, které se používají pro forenzní účely. Z provedených studií jsou do databází zanesena data o rychlosti vývoje druhu v závislosti na teplotě. Tedy součtu teplotních stupňů potřebných pro dokončení jednotlivých fází, kdy se teploty počítají od minimální

prahové teploty. Tato metoda je označována jako model sumy efektivních teplot (SET) nebo také akumulované hodinové stupně (ADH). Na ose X je znázorněn čas, který je potřebný pro vývoj při teplotě akumulovaných stupňů na ose Y. PMI_{min} je stanoven minimálním počtem dnů nebo hodin, které uplynuly od naklazení vajíček do doby nálezu při zjištěných teplotách. Vztahuje se k vývojově nejstaršímu nalezenému jedinci identifikovaného druhu (Richards et Villet, 2008).

Vzhledem k možným nepřesnostem lineární metody, způsobených kolísáním teplot, dochází k chybám výpočtu, kdy se larvy vyvíjí pomaleji nebo se vývoj zastaví úplně, existují také nelineární modely založené na výzkumu vývoje hmyzu pod prahovou hodnotou teploty vývoje, kterou uvažují modely lineární. Nevýhodou těchto modelů je časová náročnost, kdy musí být provedeno větší množství měření a určen vyšší rozsah teplot (Wagner et al., 1984).

4.4. Postup odběru vzorků a laboratorního zkoumání

Nejdůležitějším vstupem pro výpočet je správné určení kolonizujícího hmyzu. Entomolog na místě nálezu odebere vzorky kolonizujícího hmyzu, které se podrobí zkoumání v laboratoři, kde roztřídí nalezený hmyz do čeledí a následně determinuje druh (Šuláková et Barták, 2013). Část odebraného hmyzu je konzervována a podrobena preparaci. Část je ponechána živá a v laboratorních podmínkách se odchovává do dalších stádií nebo dospělosti (Hátová, 2012). K tomu, aby byl odchov úspěšný, je nutné mít definované podmínky pro vývoj jednotlivých druhů hmyzu (teplota, vlhkost, podmínky pro kuklení apod.).

4.4.1 Určení druhu pomocí DNA

Pro využití hmyzu je správné taxonomické zařazení nalezených jedinců. Z časových důvodů a nedostatečných znalostí nebo rizik spojených s chovem hmyzu v laboratorních podmínkách, kdy není jisté, zda se podaří úspěšně odchovat nalezené larvy, je možné pomocí moderních technologií zařadit druh pomocí DNA (Boehme et al., 2009). Vzhledem k tomu, že některé druhy much mají podobné larvy, je složité nalezený vzorek správně zařadit. V posledních desetiletích byly provedeny výzkumy velkého množství druhů, které na základě nukleotidu, specifického pro daný druh,

vyhodnocují sekvence určitých genů. Gen pro podjednotku I mitochondriální kódovaná cytochromová oxidáza (COX). Tato data jsou dostupná v NCBI (National Center for Biotechnology Information). Díky této metodě je možné alternativně určit celé jedince, jejich fragmenty i prázdné pupy (Amendt et al. 2011).

4.4.2 Moderní metody pro určení hmyzu (3D skenování)

Další moderní metodou pro určení larev nebo instarů je skenování pomocí počítačové tomografie s výstupem do 3D modelu. Při skenování hmyzu je pomocí počítačového programu detailně zobrazena morfologie jednotlivých instar během metamorfózy. Vzorky byly zkoumány pomocí "mikro-CT", kdy je zobrazování rentgenovým zářením ve 3D stejnou metodou, jaká se používá při vyšetření CT (nebo "CAT") v nemocnici, ale v malém měřítku s výrazně větším rozlišením. Ve skutečnosti představuje 3D skenování mikroskopií, kde jsou části vnitřní struktury objektů zobrazovány.

Richards et al. (2012) provedl studii, kdy byly vzorky mouchy *Calliphora vicina* odchovány a postupně odebírány v laboratorním insectariu. Pomocí micro-CT a počítačového programu pak byl složen 3D model. Z výsledku je patrné, že jsou na skenovaných vzorcích dobře patrné hlavní znaky druhu, které jsou důležitým ukazatelem pro stanovení stáří vzorku a mohou pomoci přesněji stanovit PMI. (Richards et al., 2012).

5. Využití hmyzu

Hmyz využívá každé mrtvé tělo několika ekologicky různými způsoby. Nekrofágní druhy, mezi něž patří zástupci čeledi bzučivkovitých (Calliphoridae), brouci (Coleoptera Linnaeus, 1758), mrchožrouti (Silphidae) a kožojedi (Dermestidae), se živí přímo mrtvým tělem. Predátoři a parazité těchto nekrofágů jsou stejně důležité pro využití ve forenzní entomologii. Jsou to například brouci čeledi drabčikovitých (Staphylinidae) a zástupci řádu dvoukřídlých (Diptera), kteří se stávají predátory během vývoje. Mezi tyto predátory patří z bzučivkovitých (Calliphoridae) rod *Chrysomya* (Robineau-Desvoidy, 1830) nebo z čeledi moučovitých (Muscidae) rod *Hydrotea* (Robineau-Desvoidy, 1830).

Omnivorní druhy jsou zejména vosy (Vespoidea) a mravencovití (Formicidae), dále to mohou být zástupci řádu brouků (Coleoptera), kteří se živí rozkládajícím se tělem i jeho kolonizátory. Druhy z řádu chvostoskoků (Collembola) a pavouci (Araneae) na mrtvole žijí, kdy pavouci mohou být predátoři much na kadáveru (Smith, 1986).

5.1 Určení SET pro využívané druhy

Jak je uvedeno v předchozích kapitolách, stěžejním údajem pro forenzního entomologa je dostupnost údajů k nalezenému druhu. Pro zkoumané druhy se vypočítává tzv. suma efektivních teplot (SET). Efektivní teplota je definována jako teplota, při které se ten který druh vyvíjí nejrychleji. Při dosažení spodní nebo horní hranice SET se vývoj zpomalí nebo zastaví. Suma těchto efektivních teplot je součet efektivních teplot za počet dní, po které trvá vývin k přechodu do dalšího stádia. Tento údaj vychází z předpokladu, že hlavním kritériem pro délku vývinu je okolní teplota (Šuláková, 2012). Dle provedené studie Šulákové a Bartáka (2013) na tělech pokusných prasat bylo zjištěno v jarním a letním období početně rozdílné zastoupení druhů. V jarním období byla dominantním druhem *Protophormia terraenovae* z čeledi bzučivkovitých. V letním období *Lucilia silvarum* z čeledi bzučivkovitých. Vzhledem k velkému množství nekrofágních druhů, které se na rozkladu podílí, neznáme všechny SET.

5.2 Návrh metodiky pro zjišťování termálně sumačních modelů dosud nezkoumaných organismů

Na území České republiky byl zaznamenán výskyt zhruba padesáti druhů brouků z čeledi kožojedovitých *Dermestidae*. Z dostupných informací je patrné, že tento hmyz se může vyvíjet v řádu týdnů až dvou let (Háva, 2011). Vzhledem k dlouhému vývoji může být v termálně sumačních modelech zaznamenán delší časový horizont a vliv teplot na dobu vývoje. Samice klade asi 100-200 malých bílých vajec, o která pečuje cca 10 dnů. Vajíčka jsou nakladena v nějaké skulině, ale vždy blízko ke zdroji potravy. Z vajec se potom líhnou larvy.

5.2.1 Získání vzorku *Dermestes frischii*

Pro získání larev kožojeda obecného bude na čtyřech vybraných stanovištích umístěna návnada usmrceného potkana obecného (*Rattus norvegicus*). Návnady budou zabaleny do králíkářského pletiva, aby nedošlo k poškození nebo odvezení predátory. Na návnadách bude sledován proces sukcese a zaznamenána doba prvního výskytu *Dermestes frischii*. Vzorky dospělců budou odebrány entomologickou pinzetou, uloženy živé do zkumavky a pak budou přemístěny do klimatické komory, kde bude umístěna návnada vepřového masa, která bude sloužit jako zdroj potravy. Vzhledem k tomu, že samice kladou vajíčka do štěrbin, bude v chovné nádobě podestýlka z pilin a větve.

5.2.2 Sledování vývoje a výpočet SET

Podle počtu vylíhnutých larev, kdy je průměr 150 vajíček, budou vzorky rozděleny do tří skupin po cca 50 kusech, kdy každá skupina bude chována při stejné relativní vlhkosti 50% a teplotně budou rozděleny na vývoj při konstantní teplotě 10°C, 20°C a 30°C. Budou prováděny kontroly chovu v intervalu 12 hodin, kdy bude kontrolována mortalita a uhynulí jedinci budou odebráni a případně preparováni.

Po dokončení prvního svlékání bude vytvořen termálně sumační model k prvnímu instaru na základě součtu hodinových stupňů. Takto budou vytvořeny modely pro každou skupinu až do doby zakuklení. Dále bude zaznamenána doba kuklení v závislosti na teplotě pro každou skupinu. Lineární metodou tak budou odvozeny SET pro interval od 10°C do 30°C při relativní vlhkosti 50%. Teploty a

vlhkost pro stanovení modelu jsou zvoleny s ohledem na výskyt v podmínkách ČR od jara do podzimu.

6. Diskuse

Stanovení post mortem intervalu pomocí forenzní entomologie je i přes různé přístupy uvedených autorů nejpřesnějším způsobem odhadu doby smrti, pokud tato doba přesahuje 72 hodin (3 dny) od úmrtí. Do této doby jsou přesnější metody patologické (Estracanholli et al. 2009). Forenzní entomolog však může tyto údaje zpřesnit, jelikož hmyz nalétá na dobře dostupná těla krátce po smrti. V případech, kdy má oběť zranění, může naopak hmyz PMI zkreslit, protože ke kolonizaci mohlo dojít již za života (Šuláková, 2006). Názory na nástup kolonizace hmyzu a jeho podíl na dekompozici dle jednotlivých druhů se však liší. Daněk (1990), Eliášová a Šuláková (2012) uvádějí, že tělo prochází během rozkladu osmi sukcesními vlnami. García-Rojo et al. (2009) dělí sukcesi jen na pět stádií rozkladu. Záleží tedy na lokalitě, ve které studie sukcesních procesů probíhá. García – Rojo et al. (2009) provedl studii na nalezených tělech v Madridu, kde je vyšší průměrná teplota a hmyz se tak vyvíjí mnohem rychleji než v podmínkách mírného pásma (dle Šulákové). Šuláková a Eliášová rozdělují fázi biochemicky aktivní dle fermentace tuků a fermentace proteinů, García-Rojo et al. uvádějí pouze jednu aktivní fázi. Dalším rozdílem v počtu sukcesních vln je počet vln kosterních zbytků, které Šuláková dělí na dvě, dle stáří skeletu, kdy v osmé vlně uvádí stáří delší než tři roky od smrti (Šuláková et Eliášová, 2012). Nejdůležitější pro forenzní entomologii jsou fáze nadmuté a biochemicky aktivní tělo, kdy je možné odebrat nejvíce vzorků hmyzu a stanovit tak nejpřesněji PMI.

Dle dostupných údajů v místě nálezu je možné zvolit metodu pro stanovení post mortem intervalu. Pro metodu matematickou dle Vasse (2010) je nejdůležitější teplota, relativní vlhkost v místě nálezu a dále procento rozkladu těla, které stanoví soudní lékař. Ostatní údaje jsou dány konstantou; díky tomuto postupu lze určit PMI téměř okamžitě, protože parametry dosazované do rovnice jsou měřené na místě. Tento hrubý odhad může být dále doplněn přesnějším stanovením dle metody termálně sumačních teplot nebo diagramů na základě odebraných vzorků hmyzu z těla a okolí v místě nálezu, jak uvádí Amendt et al. (2011) a taky Byrd et Castner (2010). Totéž můžeme uplatnit i v případě náletu pohřbeného těla, kde se do rovnice dosazuje vlhkost a teplota půdy (Vass, 2010).

Po odebrání vzorků hmyzu z místa nálezu těla jsou tyto taxonomicky zařazeny entomologem. U vybraných vzorků, které jsou vhodné k pro další

zkoumání, tedy ty pro které známe model SET, Izomorphen diagram nebo Isomegalen diagram. Z Isomegalen diagramu můžeme po přeměření velikosti larvy získat rychle přibližnou dobu smrti, je však důležité správně určit druh hmyzu, což u larev stejných rodů může být složité Amendt et al.,(2011). Díky moderní metodě lze určit druh pomocí DNA Amendt et al. (2011), Boehme et al., (2009). Stanovením PMI dle diagramu Isomegalen však může dojít k chybě, protože jak uvádí Adams et Hall (2003), velikost larvy nemusí odpovídat jejímu přesnému stáří, jelikož larvy se před svlékáním mohou zmenšit, případně mohou být menší z důvodu nedostupnosti potravy při velkém počtu jedinců na kadáveru.

Přístup ke stanovení termálně sumačních modelů se liší především ve využití teploty se vztahem lineárním k vývoji a vztahem nelineárním. Zatímco u lineárního modelu je efektivní jeho rychlejší stanovení a je tak dostupný pro více druhů (Wagner et al., 1984), nelineární model je složitý a vyžaduje delší výzkum prahových teplot pro jednotlivé druhy (Karimi - Malati et al. 2014). U Isomorphen diagramu prezentovaném Grassbergem et al.,(2001) se uvažuje teplota průměrná, což při kolísání teplot v jarních a podzimních měsících může způsobovat nepřesnosti v určování doby vývoje. Amendt et al. (2011) uvádí, že v případě potřeby větší přesnosti je vhodné odebrat vzorek a v laboratorních podmínkách odchovat k dalšímu stupni při konstantní teplotě. Největší rozdíly v době pro dosažení dalšího stupně jsou při teplotách na hranici spodního vývojového prahu (Grasseberger et al., 2001).

Nejpočetněji jsou při kolonizaci ve všech stupních rozkladu zastoupeny čeledi bzučivkovitých a moučovitých, kdy každá oblast má svůj dominantní druh. Na našem území jsou to především čeledi bzučivkovitých, kdy máme 61 druh, z toho 13 z nich je kriminalisticky relevantních (Šuláková, 2014). Bzučivky mají tedy velký kriminalistický význam, neboť na mrtvolu kladou vajíčka, aby larvy měly po vylíhnutí zdroj potravy a nalétají v první sukcesní vlně. Z brouků, kteří se objevují ve druhé vlně, je u nás nejvýznamnější mrchožrout pobřežní (*Necrodes littoralis*), který má dle Šulákové (2014) v praxi větší využití než hrobařící rodu *Nicrophorus* (Daněk, 1990), protože se na těle zdržují pouze dospělci. Mravencovití jsou důležitým druhem pro sukcesi (Smith, 1968), ale jejich využití pro forenzní entomologii není vhodné, protože se na těle objevují náhodně podle atraktivity a dostupnosti zdrojů. Na těle se ale nevyvíjí a není tak možné stanovit, jak dlouho se na něm nacházejí (Šuláková 2014). Stejně tak pavouci, kteří působí

jako predátoři kolonizujících much a vyskytují se v okolí kadáveru nebo na kosterních zbytcích v posledních stádiích rozkladu. Kožojedi se na mrtvole vyskytují většinou od třetí sukcesní vlny a mohou být přítomni až do páté vlny, vzácně až do vlny sedmé. Z tohoto důvodu jsem zvolila pro novou navrženou metodiku výzkum *Dermestes frischii*, protože je typickým zástupcem u nás se vyskytujících kožojedů a objevuje se na volně exponovaných mrtvolách, zatímco kožojed obecný (*Dermestes lardarius*) se vyskytuje spíše jako domácí nebo skladový škůdce a může se objevit na mrtvolách v uzavřených objektech (Šuláková ,2014).

Posloupnost a vazby hmyzu na sukcesní vlny jsou důležitým indikátorem pro prvotní odhad stáří těla (dny, týdny, měsíce). Tato posloupnost je u všech dostupných studií stejná nebo velmi podobná. Liší se spíše druhy a početnost zástupců s ohledem na roční období.

Ať už tedy forenzní entomolog použije k určení PMI metodu matematickou (Vass, 2010) nebo určení dle diagramu (Grssberger et al.,2001), vždy je nejdůležitější odebrat vzorky hmyzu, který je vhodný pro další zkoumání dle kritérií v kapitole 4.2 Metody stanovení PMI. Jejich vhodným zpracováním a zvolenou metodou tak co nejpřesněji odhadnout dobu, po kterou se hmyz vyvíjel. Z dostupných znalostí a informací a s využitím moderních metod tak může být díky hmyzu přesně stanoven post mortem interval, který je klíčový pro vyšetřování kriminalistů.

7. Závěr

Cílem této práce bylo zpracování literární rešerše k problematice využití hmyzu ve forenzní entomologii a sumarizování dostupných údajů k jednotlivým ekologickým vazbám ve společenstvu na kadáveru v různých podmínkách biotopů a vlivu okolního prostředí na získané entomologické vzorky. Zjištění výhod a nevýhod používaných metod pro stanovení post mortem intervalu v daných podmínkách. Po prostudování dostupné vědecké literatury mohu říci, že i když počátky zkoumání hmyzu a jeho vlivu na rozklad těl pochází z období starého Egypta a Číny (Byrd et Castner, 2009), není ani v dnešní době dostatek informací k zástupcům hmyzu, které lze využívat ve forenzní entomologii.

Práce popisuje dostupné metody a získaná data, díky kterým lze využít hmyz jako bioindikátor ve forenzní entomologii. Dosavadní studie hmyzu vykazují v mnoha případech nepřesnosti, které mohou mít vliv pro určení co nejpřesnější doby smrti, která je důležitým vodítkem pro kriminalisty ve vyšetřování trestných činů. V současné době nejpoužívanější metoda lineární závislosti teploty na vývoj hmyzu má řadu zastánců, protože je nejjednodušším způsobem pro výpočet odhadu PMI. Získané výsledky jsou srozumitelné a dobře interpretovatelné v soudních řízeních. Díky přesnějšímu měření a novým technologiím lze v budoucnu očekávat, že bude stoupat význam nelineárních výpočtů, které jsou přesnější. Vzhledem ke specifickým potřebám a rozdílným dobám délky vývoje vlivem teploty, je v budoucnu mnoho možností pro další studie k navržení termálně sumačních modelů nových druhů a aktualizaci známých dat.

Navržení metodiky pro zjišťování termálně sumačních modelů dosud nezkoumaných nekrobiontních organismů má tedy potenciál ve využití pro další doplnění důležitých údajů pro forenzní entomologii. Nejvíce údajů a provedených studií je pro čeled' moučovití, protože mouchy jsou prvními kolonizátory a jsou přítomné i v dalších sukcesních vlnách. Méně je zkoumána čeled' kožojedovití, proto jsem si pro návrh metodiky pro zjištění termálně sumačních modelů zvolila druh kožojeda *Dermestes frischii*.

V současné době se forenzní entomologie jako vědní obor dostává do zájmu nejen vědců, kteří se tímto oborem zabývají, ale i laické veřejnosti, a to zásluhou stoupající popularity kriminálních seriálů. Díky dnešním technologiím se ve výzkumu hmyzu otevírají nové možnosti. S pomocí digitálních nástrojů mohou být

dosavadní poznatky zpřesněny. Rozšíření entomologických údajů k jednotlivým druhům hmyzu pomůže k odstranění chyb při stanovení doby smrti. Nové studie a aplikace moderních zařízení ve studiích provedených tak mohou být klíčové pro vyřešení řady kriminálních případů nebo případů týrání a zanedbání péče (Šuláková, 2014)

8. Seznam literatury

- Amendt J., Krettek R., Zehner R., 2004: Forensic entomology. *Naturwissenschaften*, 91: 51-65.
- Arnaldos M. I., Garcia M. D., Romera E., Presa J. J., Luna A., 2005: Estimation of postmortem interval in real cases based on experimentally obtained entomological evidence. *Forensic Science International* 149: 57-65.
- Boehme P., Amendt J., Disney R. H. L., Zehner R., 2010: Molecular identification of carrion-breeding scuttle flies (Diptera: Phoridae) using COI barcodes. *International Journal of Legal Medicine*, 124: 577-581.
- Briere J. F., Pracros P., Le Roux A. Y., Pierre J. S., 1999: A novel rate model of temperature-dependent development for arthropods. *Environmental Entomology* 28: 22-29.
- Byrd J.H., Castner J.L., 2009: *Forensic Entomology: The Utility of Arthropods in Legal Investigations*. CRC Press, Boca Raton, FL, 705 s.
- Campobasso C.P., Di Vella G., Introna F., 2001: Factors affecting decomposition and Diptera colonization. *Forensic Science International* 120: 18–27.
- Campbell A., Frazer B. D., Gilbert, N. G. A. P., Gutierrez, A. P., Mackauer M., 1974: Temperature requirements of some aphids and their parasites. *Journal of applied ecology* 431-438.
- Catts E. P., Goff, M. L., 1992: Forensic entomology in criminal investigations. *Annual review of Entomology* 37: 253-272.
- Daněk L., 1990: Možnosti využití entomologie v kriminalistice. *Kriminalistický Ústav*. Praha, 142 s
- Eliášová H., Šuláková H., 2012: Forenzní biologie. In: Štefan J.(ed.): *Soudní lékařství a jeho moderní trendy*. Grada Publishing, Praha, 281-325.
- Estracanhalli É. S., Kurachi C., Vicente J. R., de Menezes P. F. C., Bagnato V. S., 2009: Determination of post-mortem interval using in situ tissue optical fluorescence. *Optics Express* 17: 8185-8192.
- Gennard D. E., 200. *Forensic Entomology. An Introduction*, England: 1-17.

Galloway A., Birkby W. H., Jones A. M., Henry T. E., Parks, B. O., 1989: Decay rates of human remains in an arid environment. *Journal of Forensic Science* 34: 607-616.

García-Rojo, A. M., Honorato, L., González, M., & Téllez, A. (2009). Determinación del intervalo postmortem mediante el estudio de la sucesión de insectos en dos cadáveres hallados en el interior de una finca rústica en Madrid. *Cuadernos de Medicina Forense* 56: 137-145.

Goff M. L., 2009: Early postmortem changes and stages of decomposition. In *Current concepts in forensic entomology*. Springer Netherlands: 1-24.

Hátlová, P., 2012: Larvy, bzučivky i brouci jako pomocníci při stanovení času vraždy. *Právo* 185: 11.

Háva J., 2011: Brouci čeledi kožojedovití (Dermestidae) České a Slovenské republiky. Beetles of the family Dermestidae of the Czech and Slovak Republics. *Entomologické klíče/Entomological keys*. Academia, Praha, 104 s.

Hrdinová M., Šuláková H., Barták M., 2013: Využití čeledi Piophilidae (Diptera) ve forenzní praxi. In: Kubík Š., Barták M.: *Workshop on biodiversity*, Jevany. Česká zemědělská univerzita v Praze, Praha: 170-184

Honěk A., Kocourek, F., 1990: Temperature and development time in insects: a general relationship between thermal constants. *Zoologische Jahrbücher, Abteilung für Systematik, Ökologie und Geographie der Tiere* 117: 401-439.

Klimešová V., Barták M., Šuláková H., 2015: Forenzní entomologie a její využití v kriminalistické praxi. Conference: *Junior Forensic Science Brno 2015*, Vysoké učení technické v Brně, Brno: 153-158.

Mégnin, P., 1894: *Faune des cadavres*.

Régnière J., Powell J., Bentz B., Nealis V., 2012: Effects of temperature on development, survival and reproduction of insects: experimental design, data analysis and modeling. *Journal of Insect Physiology* 58: 634-647.

Richards, C.S., Villet, M.H.:2008: Factors affecting accuracy and precision of thermal summation models of insect development used to estimate post-mortem intervals. *International Journal of Legal Medicine* 122: 401-408.

Richards C. S., Simonsen T. J., Abel R. L., Hall M. J., Schwyn D. A., Wicklein M., 2012: Virtual forensic entomology: improving estimates of minimum post-mortem interval with 3D micro-computed tomography. *Forensic science international* 220: 251-264.

Rivers D. B., Dahlem, G. A., 2014: *The science of forensic entomology*. John Wiley & Sons. Hoboken, 382 s.

Rodriguez, W. 3., Bass, W. M.,1985: Decomposition of buried bodies and methods that may aid in their location. *Journal of Forensic Science* 30: 836-852.

Rožnovský J. Fukalová P., Chuchma F., Středa T., 2010: „Rožnovský, J. Litschmann, T. (ed): „Voda v krajině“, Lednice 31.5. – 1.6.2010

Smith K. G. V. 1986: In: Arnaldos, M. I., García. M. D., Romera E., Presa J. J. & Luna A. 2005. Estimation of postmortem interval in real cases based on experimentally obtained entomological evidence. *Forensis Science International* 149: 61.

Singh R., Sharma S., Sharma A., 2016: Determination of post-burial interval using entomology: A review. *Journal of forensic and legal medicine* 42, 37-40.

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

Šuláková H., 2014: Forezní entomologie–když smrt je začátek. *Živa* 2014/5., 250-256.

Ubelaker D. H., 1997: Taphonomic applications in forensic anthropology. *Forensic taphonomy: the postmortem fate of human remains*: 77-90.

VanLaerhoven S. L., Anderson G. S.,1999: Insect succession on buried carrion in two biogeoclimatic zones of British Columbia. *Journal of Forensic Science* 44: 32-43.

Vass A. A., 2001: Beyond the grave-understanding human decomposition. *Microbiology today* 28: 190-193.

Vass A. A., 2011: The elusive universal post-mortem interval formula. *Forensic science international* 204: 34-40.

Villet M. H., Richards C. S., Midgley J. M., 2009: Contemporary precision, bias and accuracy of minimum post-mortem intervals estimated using development of carrion-feeding insects. In *Current concepts in forensic entomology*. Springer Netherlands: 109-137

Wagner T. L., Wu H. I., Sharpe P. J., Schoolfield R. M., Coulson R. N., 1984: Modeling insect development rates: a literature review and application of a biophysical model. *Annals of the Entomological Society of America* 77: 208-220.

Wall R., Warnes M. L., 1994: Responses of the sheep blowfly *Lucilia sericata* to carrion odour and carbon dioxide. *Entomologia experimentalis et applicata* 73: 239-246.

9. Seznam obrázků:

Obrázek č. 1: Proměna dokonalá (Johnson & Lyon 1991.)

Obrázek č. 2: Suma efektivních teplot - SET, (Igor Maleovský)

Obrázek č.3: Křivka vývoje pod hranicí SPV (E. Kipyatkov, V et Lopatina, Elena. 2010)

Obrázek č.4: Průměrná rychlost rozkladu (Vass, 2010)

Obrázek č.5: Isomorphen diagram (Amendt et al., 2011)

Obrázek č.6: Isomegalen diagram (Amendt et al., 2011)

Tabulka č.1: procenta rozkladu dle stavu těla (Vass, 2010)