

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra zoologie a rybářství



**Vliv pohřbení kadaveru na dokončení vývoje larev
čeledi Calliphoridae**

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Martin Štěrba

Vedoucí práce: RNDr. Miroslav Barták, CSc.

© 2016 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci „Vliv pohřbení kadaveru na dokončení vývoje larev čeledi Calliphoridae" jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autor uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 8. 4. 2016

Poděkování

Rád bych touto cestou poděkoval vedoucímu své diplomové práce prof. RNDr. Miroslavu Bartákovi, CSc., za rady, vstřícný přístup a vedení při zpracování této diplomové práce. Také bych chtěl poděkovat Ing. Vandě Klimešové za její pomoc při zpracování výsledků experimentů a Ing. Josefu Kratinovi a Ing. Miroslavu Férovi za rozbor půdy pro DP.

Souhrn

Diplomová práce se zabývá tématem forenzní entomologie a využití jejích poznatků. Forenzní entomologie patří mezi nástroje využívané v kriminalistické i civilní praxi k zjišťování okolností praktických případů nejčastěji spojených s nálezem mrtvého těla. V kriminalistice napomáhá při stanovení doby úmrtí jedince, kde patří mezi důležité nástroje. Je uváděno, že již 72 hodin po úmrtí jedince jsou metody forenzní entomologie jedněmi z nepřesnějších při stanovování doby smrti. V pozdějších fázích rozkladu mají často nezastupitelnou úlohu. Forenzní entomologie může dopomoci i k získání dalších informací důležitých pro vyšetřování, např. pomáhá určit, jestli se po smrti s tělem nemanipulovalo, nebo analýzou larev lze zjistit, jestli nebyl člověk před smrtí intoxikován. Při přesunu těla pachatelem či pachateli, lze analýzou lidské DNA larev nalezených na primárním místě uložení zjistit totožnost mrtvého, někdy i lokalizaci jeho těla.

Základním tématem této práce je možnost využití čeledi Calliphoridae (bzučivkovití) ve specifických případech, jmenovitě u mrtvol, které byly dodatečně pohřbeny až po zaklazení vajíčky této čeledě. Cílem výzkumu bylo zjistit, jestli jsou zástupci čeledi Calliphoridae schopni dokončit svůj vývojový cyklus na substrátu, který je dodatečně zakopán. Výsledky experimentů měly zodpovědět, jestli lze tuto čeleď využít u těl, která byla pachatelem dodatečně pohřbena, k zjištění, kdy byla pohřbena. Základní hypotéza, že zástupci čeledi Calliphoridae nebudou schopni dokončit svůj vývin na dodatečně zakopaném těle, a to ani v případě, že kolem těla bude vzduchová kapsa zajištěna pevnou krabicí, nebyla zcela potvrzena. Během prvního roku nebyl nalezen žádný jedinec, který by byl schopný prodělat celý vývin od larvy až po dospělce. Ve druhém experimentálním roce bylo zjištěno, že několik jedinců dokončilo celý vývin, a to jak ve variantě volně zakopaného těla, tak ve variantě těla v krabici. Jednalo se ve všech případech o druh *Lucilia caesar* (Linné, 1758).

K dokončení vývinu v druhém experimentálním roce mohlo dopomoci složení půdy. Půda v druhém experimentálním roce byla vyhodnocena jako typ jemněpísčité hlína, která měla na rozdíl od půdy z prvního roku dominantní zastoupení v nejmenších, jílnatých půdních částech. Díky tomu měla tato půda větší stupeň provzdušněnosti a tím také větší obsah kyslíku oproti půdě z prvního roku. Právě vyšší přítomnost vzduchu, potažmo kyslíku mohla dopomoci ke kompletnímu dokončení vývinu zaznamenaného u druhu *Lucilia caesar*.

Klíčová slova: Forenzní entomologie, Calliphoridae, dodatečné zakopání, dokončení vývinu

Summary

The thesis deals with the topic of forensic entomology and the use of its knowledge. Forensic entomology is one of the tools used in forensic and civil practice to determine the circumstances of practical cases most commonly associated with the discovery of a dead body. It helps determine the time of death of an individual in criminology, where it is part of important tools. It is said that already 72 hours after the death of an individual forensic entomology methods are among the most precise ones to determine the time of death. They often play an indispensable role in the later stages of decay. Forensic entomology can also help obtain other information relevant to an investigation. For example, it helps to determine whether a body was manipulated after death, or it can be determined using the analysis of larvae whether an individual was intoxicated before death. When the perpetrator or perpetrators move a body, the identity of the dead, sometimes even the localization of its body, may be found out by using the analysis of the human DNA of larvae.

The basic subject of this thesis is the possibility of using the family Calliphoridae (blow flies) in specific cases, namely in the case of corpses which were subsequently buried after the laying of eggs of this family. The objective of the research was to find out whether the representatives of the family Calliphoridae are able to complete their life cycle on a substrate which is subsequently buried. The results of the experiments should answer the question whether this family could be used for bodies which were subsequently buried by the offender to determine when they were buried. The basic hypothesis that the representatives of the family Calliphoridae would not be able to complete their development on a subsequently buried body, not even in the case that an air pocket around the body would be ensured by a solid box, was not fully confirmed. During the first year, no individual was found that would be able to go through the entire developmental cycle from a larva to an adult. In the second experimental year, it was found that some individuals completed their whole development, both in the variant of a buried body and in the variant of a body in a box. In all cases, it was the species *Lucilia caesar* (Linnaeus, 1758).

The composition of the soil might have assisted in completing the development in the second experimental year. The soil in the second experimental year has been evaluated as a type of fine sandy clay which was unlike the soil from the first year, dominated by the presence of the smallest clay soil particles. Thanks to this, the soil had a greater degree of airiness and thus larger oxygen content as compared with the soil from the first year. It was

the higher presence of air or oxygen that could have promoted the entire completion of the development of the recorded species *Lucilia caesar*.

Keywords: Forensic entomology, Calliphoridae, additional burial, completion of development

Obsah

1	Úvod	9
2	Cíl práce	10
3	Literární rešerše	11
3.1	Historie forenzní biologie	11
3.2	Dvoukřídlí čeledi Calliphoridae (bzučivkovití)	14
3.2.1	Morfologie, vlastnosti	14
3.2.2	Vývoj much čeledi Calliphoridae	14
3.2.3	Význam dvoukřídlých	17
3.2.4	Místo činu a entomologická evidence	17
3.2.5	Určování PMI	19
3.2.6	Myiáze	22
3.3	Rozklad nad úrovní půdního povrchu	24
3.3.1	Nekrofágní hmyz a teplota.....	24
3.3.2	Skupiny hmyzu na těle a rozkladné vlny	26
3.4	Rozklad pod půdním povrchem	31
3.4.1	Úloha nekrofágních much a čeledi Calliphoridae.....	31
4	Materiál a metodika	38
4.1	Popis lokality	38
4.2	Popis experimentu	38
4.3	Vyhodnocení dat	39
5	Výsledky	42
5.1	Vyhodnocení pokusů	42

6	Diskuze.....	49
7	Závěr	52
8	Seznam literatury	53
9	Přílohy.....	57

1 Úvod

Forenzní vědy se v průběhu minulých desítek let vyvinuly v již téměř nepostradatelnou součást práce bezpečnostních složek při vyšetřování kriminálních činů. Jednou z oblastí napomáhajících k určení okolností vyšetřovaných událostí je také forenzní entomologie, která zkoumá hmyz a jeho vývojová stadia, respektive jejich přítomnost na lidských tělech, tělech živočichů či na místě činu. Ze zastoupení jednotlivých druhů pak pomáhá určit okolnosti úmrtí, především pak zjištění doby, která uplynula od smrti jedince do jeho nálezu.

Tato práce se v teoretické části zabývá historií forenzní entomologie, popisem čeledi Calliphoridae a jejími vztahy k mrtvým tělům, zvláště těm, které byly zakopány a jejich využití ve forenzní praxi. Experimentální část se soustředí na možnost dokončení vývinu zástupců čeledi Calliphoridae na dodatečně zakopaném kadaveru což je důležité ve vztahu k relevanci v určování smrti takového jedince.

2 Cíl práce

Cílem diplomové práce bylo vytvořit literární rešerši na téma vývoje much čeledi Calliphoridae na kadaveru za pomoci databáze „Infozdroje“ ČZU a dalších literárních zdrojů (WOS, Scopus) a ověřit, zda mouchy čeledi Calliphoridae jsou schopné dokončit vývin na kadaverech i po dodatečném zakopání, nebo pohřbení.

H0: Mouchy čeledi Calliphoridae nejsou schopny po dodatečném pohřbení zakladeného kadaveru dokončit svůj vývoj.

3. Literární rešerše

3.1 Historie forenzní biologie

Forenzní entomologie je věda pracující s bezobratlými živočichy vyskytujícími se na kadaverech, jejíž hlavní úlohou v současnosti, je pomoc při určení tzv. *post mortem intervalu* (PMI), tj. doby, která uplynula od smrti organismu (Šuláková a Barták, 2013).

První historicky dokumentované využití hmyzu či obecně členovců pro vyšetření smrti se datuje do dob středověké Číny, konkrétně do 13. století, kdy čínský právník a vyšetřovatel Sung Tzu určil vraha rolníka na základě faktu, že hmyz byl přitahován krví zemřelého, která zaschla na pracovním nástroji jeho vraha. Viník se poté pod tíhou důkazů k činu přiznal. V dobách středověké Evropy se s rozvojem lékařství zvýšil zájem o mrtvá těla. Z té doby jsou známy rozličné malby a zprávy zachycující rozklad lidského těla činnostmi zástupců hmyzu. Nicméně první modernější záznamy o využití hmyzu ve forenzní praxi můžeme vysledovat v 19. století především ve Francii a v Německu. První takový případem, ve kterém byl využit hmyz při určení *post mortem intervalu* (PMI), zdokumentoval v roce 1855 francouzský doktor Bergeret. Přes určité nepřesnosti v interpretaci nalezeného hmyzu se mu podařilo určit dobu úmrtí novorozence a poskytnout první poznatky o vývinu bezobratlých na kadaverech (Benecke, 2001).

V roce 1881 německý lékař Reinhard publikoval první systematickou studii zaměřenou na forenzní entomologii, která se zabývala popisem jednotlivých zástupců hmyzu na rozkládajících se tělech, především much z čeledi hrbilkovití (Phoridae) a zástupců brouků. Zároveň v této době další doktor, Francouz Jean Pierre Mégnin popsal svou teorii, že při rozkladu lidských těl dochází k pravidelnému výskytu hmyzích druhů na lidských mrtvolách v předvídatelných vlnách. Své poznatky publikoval v roce 1894 v přelomové knize *La faune de cadavres* („Fauna mrtvolná“). Ve svém díle rozšířil svou původní teorii o 4 rozkladných vlnách na těle na 8 a zároveň popsal 2 rozkladné vlny u pohřbených těl. V roce 1895 výzkumníci z kanadského Montréalu Wyatt Johnston a Geoffrey Villeneuve začali se systematickými entomologickými studii na lidských mrtvolách. Chtěli zdokonalit Mégninovy poznatky a využít je pro svou geografickou oblast. Podobně skupina M. G. Mottera v USA v letech 1896 a 1897 prozkoumala v oblasti Washingtonu více než 150 exhumovaných těl a vytvořila poznámky týkající se entomologických nálezů, půdních vlivů a hrobů ve kterých se těla nacházela. V letech 1899 a 1900 německý výzkumník Eduard Ritter von Niezabitowski z Krakovské univerzity poukázal, že těla zvířat

a lidí jsou obsazována stejnou hmyzí faunou. Na přelomu století pak došlo k další popularizaci entomologie a rozšíření povědomí o využití hmyzu v objasňování úmrtí (Benecke, 2001).

Ve 20. letech 20. století bylo vydáno větší množství monografií zkoumající forenzně významné druhy hmyzu. V roce 1922 profesor Karl Meixner z Institutu právní medicíny ve Vídni a Innsbrucku publikoval případy urychleného rozkladu těl umístěných ve sklepení institutu, přičemž u dětských těl byl rozklad nejrychlejší. Jeho pozorování poté rozšířil Herman Merkel z Institutu právní medicíny v Mnichově, který dokázal, že okolnosti smrti mohou ovlivnit sukcesi hmyzu na těle. V této souvislosti popsal případ rodičů zavražděných vlastním synem, jejichž těla byla spolu uložena ve sklepě. Přestože matka byla v době smrti obézní a otec štíhlé postavy, právě tělo otce bylo výrazně více napadeno larvami hmyzu. Ukázalo se, že otec byl, na rozdíl od matky, mnohonásobně pobodán a nekrofágní mouchy tak byly přilákány otevřenými ranami, což byl další z důležitých poznatků pro forenzní entomologii. V 50. letech 20. století Hubert Caspers ze zoologického institutu v Hamburku na základě mrtvoly ženy nalezené ve vodním mlýně v roce 1948 popsal využití řádu chrostíci (Trichoptera) při forenzním vyšetřování. Zkoumáním larev chrostíků určil doby smrti ženy a také zjistil, že byla do vody vhozena až týden po smrti (Benecke, 2001).

Od 60. let do poloviny 80. let 20. století se forenzní entomologií zabývali zejména belgický doktor Marcel Leclercq a finský biolog Pekka Nuorteva, kteří se soustředili na její aplikaci v kriminalistické praxi. Následoval základní výzkum a aplikování forenzní entomologie v USA, Rusku, Kanadě, Francii a Japonsku, stejně jako její využití v několika případech v Anglii či Indii, což přispělo k dnes již rutinnímu využívání forenzní entomologie v kriminalistice (Benecke, 2001).

Obecně 20. století může být shrnuto jako popisné období ve forenzní entomologii. Zvýšené vnímání složitosti a proměnlivosti biologie a chování nekrofágního hmyzu začalo pomáhat k utváření poznatků platných pro určování PMI. Wagner v roce 1960 pozoroval rozdíly v kolonizaci těl jedinců léčených léky na bázi tetracyklinu oproti tělům bez této látky a výrazně tak přispěl k založení oboru entomotoxikologie, který se rozrostl především v 80. letech 20. století (Klotzbach et al., 2004).

V posledních desetiletích došlo k výraznému rozvoji forenzní entomologie díky velkému rozvoji techniky a vybavení, vylepšení konstrukcí vědeckých studií a rozvoji spolupráce mezi jednotlivými složkami podílejícími se na jednotlivých kriminalistických

případech - tedy entomology, speciálně školenými policisty a soudními patology (Klotzbach, et al., 2004).

Forezní entomologie je v současnosti metodou užívanou jak v soudním lékařství, tak i při samotných soudních procesech. Na podporu kompetencí a rozvoje forezní entomologie v Evropě byla založena v roce 2002 organizace EAFE (Evropská společnost pro forezní entomologii). V dubnu roku 2003 bylo v Německu ve Frankfurtu nad Mohanem za přítomnosti 75 účastníků z 18 zemí uspořádáno její první zasedání (Klotzbach et al., 2004).

3.2 Dvoukřídlí čeledi Calliphoridae (bzučivkovití)

Zařazení čeledi Calliphoridae do taxonomického stromu:

Říše: Animalia (živočichové)

Podříše: Eumetazoa (praví mnohobuněční živočichové)

Kmen: Arthropoda (členovci)

Podkmen: Hexapoda (šestinozí)

Třída: Insecta (hmyz)

Řád: Diptera (dvoukřídlí)

Podřád: Brachycera (krátkorozí)

Čeď: Calliphoridae (bzučivkovití)

3.2.1 Morfologie, vlastnosti

Dospělí jedinci jsou středně velké až velké mouchy s velikostí těla nejčastěji od 4 mm do 16 mm. Barva těla může být různá, nicméně nejčastěji jsou naše druhy tmavé až černé nebo kovově zelené či modré. Některé druhy žijí synantropně. Calliphoridae jsou také významní z hygienického hlediska, jako přenašeči bakterií, virů, protozoí či helmintů. Řada z nich jsou parazité kroužkovců a měkkýšů (Kubík a Országh 2009; Šuláková et al., 2014a).

3.2.2 Vývoj much čeledi Calliphoridae

Vajíčko. Vajíčka jsou bílé barvy a podlouhlého tvaru. Obvykle jsou kladena ve shlucích na čerstvé kadavery, zejména na přístupné sliznice očí, nozder, uší, úst (tlamy), genitálu, konečníku a také na místa, kde se dostávají do kontaktu s okolním prostředím obnažené tkáně a tělesné tekutiny zemřelého, tedy často v místech zranění a smrtelných krvácejících ran (Bullington, 1998).

Spontánní kladení vajíček probíhá především v prvních 2 - 3 dnech a pokračuje, dokud je mrtvola vhodným substrátem pro vývin larev (Laupy, 1994).

Larva. Z vajíček se v závislosti na teplotě v rozmezí 6 - 40 hodin (Campobasso et al., 2001) líhnou podlouhlé larvy. Tělo larev je segmentované, měkké, krémové až bílé barvy bez nohou a zakončené ústy s háčky sloužícími k přichycení larvy na těle při krmení a sekundárně také k pohybu larvy, který je běžně zajišťován kontrakcemi těla larvy. Vývin larev probíhá přes tři stadia (instary), mezi kterými svlékají svou pokožku a nabývají na váze a délce těla. U jednotlivých instarů dochází k drobným změnám ve struktuře ústních háčků resp. celého

cephalopharingeálního skeletu a dále předních a zadních dýchacích průduchů. Podobu cephalopharingeálního skeletu a dýchacích průduchů lze u larev III. instaru využít k determinaci do druhu (Bullington, 1998). Celkový vývin larvy trvá většinou 3 - 10 dní (Campobasso et al., 2001). Díky silným mandibulám a svalstvu je v přepočtu na biomasu 1g larev schopen rozložit 3,2 - 3,5 g masa. S narůstajícím počtem a biomasou larev se začínají uplatňovat regulační mechanismy a mezidruhová i vnitrodruhová konkurence, dochází k vyvážení aktuální potravní nabídky (tkáň mrtvol) a počtu larev podílejících se na konzumaci těla (Laupy, 1994).

Larvy dvoukřídlých vylučují trávicí enzymy, které pomáhají v rozkladu těla. Dochází také k uvolňování amoniaku, který je toxický pro nekrofilní brouky, omezuje tak jejich aktivitu a zároveň stimuluje nekrofágní mouchy ke kladení vajíček. Teplotní režim je zde určující pro mikrobiální a trávicí enzymatické reakce, které určují potravní aktivitu a tím i rychlost vývoje larev nekrofágních much (Laupy, 1994).

Larvy III. instaru migrují od krmného substrátu, tedy kadaveru, a kuklí se v jeho bezprostředním okolí (Bassanezi et al., 1997; Balme et al., 2012; Byrd 2013). Kukla se tvoří uvnitř soudečkovitého útvaru, který je tvořen pokožkou larvy III. instaru a označuje se puparium (Obenberger, 1964). Z forenzního hlediska jsou puparia velice významná a nalézáme je nejčastěji v blízkém okolí těla mrtvého, popřípadě také na těle samotném. Jedná se o poslední stadium, které můžeme bezpečně spojit s vývinem jedince na nalezeném těle (Bullington, 1998).

Dospělec. Po 6 - 18 dnech (Campobasso et al., 2001) puparium praskne v předem definovaném místě, které se označuje jako příčný (Ortoraffa), nebo kruhový šev (Cyclorrapha). Hlavová část kukly se odlomí jako víčko. Nově vylíhlý dospělec (imago) je bledý, měkký a s nerozvinutými křídly. V následujících minutách až hodinách po vylíhnutí dochází k vypnutí křídel, k vyschnutí a současnému zpevnění vnější kostry jedince, který také získává svou typickou barvu. Během tohoto období, které může trvat až dva dny, mouchy příliš nelétají. K opětovnému rozmnožování nově vylíhlých jedinců dochází teprve po dozrání pohlavních orgánů, které může trvat několik dnů až týdnů (Bullington, 1998).

Pro všechna vývojová stadia, jsou velmi důležitým faktorem mikroklimatické podmínky okolního prostředí. Rozhodujícími jsou především teplota a vlhkost, které mimo optimální rozmezí hodnot často představují hlavní příčinu mortality vajíček, larev a kukel. Vzhledem k tomu, že larvy much jsou poikiloternní, obecně nižší teplota prodlužuje trvání jednotlivých

vývojových stadií v řádu hodin až desítek hodin, při teplotách nízko pod optimem i v řádu týdnů, vyšší teploty naopak mohou vývin urychlovat. Teplota ovlivňuje vývin druhů, rozklad těla a tím i druhové spektrum a dobu jejich výskytu (Campobasso et al., 2001).

Samozáhřev larev

U některých druhů dochází z důvodu nepříznivých faktorů prostředí k diapauze, kdy zpravidla vlivem nízkých teplot vajíčka, larvy anebo kukly dočasně pozastaví anebo výrazně zpomalí svůj vývin. Toto přerušení vývinu se označuje jako diapauza. K přerušení diapauzy a dokončení vývojového cyklu dochází opět při příznivých podmínkách, např. zvýšením teploty a vlhkosti prostředí anebo prodloužením světelné části dne. Některé studie uvádí, že při vyšší koncentraci larev, která se také označuje termínem masa larev (z angl. *maggot mass*), dochází u larev k samozáhřevu a navýšení teploty uvnitř jejich masy až o několik stupňů oproti okolí. Larvy si tak vytváří mikroklima, které jim umožňuje přežít i v nepříznivých podmínkách, např. při teplotách pod hranicí 0 °C. Na tělech, která jsou dodatečně pohřbená, ovšem larvy tuto schopnost ztrácejí. Dodatečně pohřbeným je myšleno tělo pohřbené po zaklazení nekrofágními mouchami, přičemž se na něm nacházejí vajíčka či larvy. Bylo zjištěno, že larvy ve větších koncentracích na těle se vyvíjely rychleji než larvy v koncentracích nízkých (Campobasso et al., 2001, Niederegger et al., 2010).

Mouchy čeledi Calliphoridae nalétávají na kadavery v prvních fázích těsně po smrti a vylíhlé larvy tvoří za optimálních podmínek téměř okamžitě larvální masu, která je schopna většinou 4 - 6 dní po smrti začít produkovat metabolické teplo navyšovat teplotu. Množství vyprodukovaného tepla závisí na velikosti a lokaci masy larev, velikosti kadaveru, hustoty masy larev a také na teplotách půdy a okolního prostředí (Johnson a Wallman, 2014). Jak dodává Laupy (1994), po dosažení prahové hodnoty okolního prostředí (spjaté např. s expozicí na slunci) začíná produkce metabolického tepla stoupat a udržuje se i po následném poklesu teploty. To může snížit mortalitu larev a zkrátit dobu larvální fáze až o 50 %. Byrd a Castner (2010) uvádějí, že teplota uvnitř masy není jednotná. Poukazují na skutečnost, že teplota ve středu masy se oproti jejím okrajům může lišit minimálně o 6 °C. Proto larvy nejsou vystaveny stále stejné teplotě, neboť se kvůli krmění, dýchání a termoregulaci pohybují skrz masu.

Larvy vytvářejí masu ve stadiu druhého instaru a teplota vytvořená uvnitř masy přerůstá okolní, často dosahuje hodnot mezi 27 - 35 °C a může se tak pohybovat jen těsně pod horními letálními hodnotami teplot. Díky stabilní teplotě masy jsou larvy chráněny před většími

výkyvy v teplotě okolí. To ukázaly i další průzkumy – např. když se larvy dostaly do márnice a teplot okolo 4 °C. Zvýšení teplot, je prospěšné pro larvy pravděpodobně i z toho pohledu, že maximalizuje jejich efektivitu produkce proteolytických enzymů, které napomáhají rozkladu tkání (Heaton, 2014).

3.2.3 Význam dvoukřídlých

V současné době registrujeme na území Evropy 115 druhů čeledi Calliphoridae (Rognes 2013), v České republice to je 61 druhů, z nich 51 v Čechách a 57 na Moravě (Kubík a Országh 2009; Chutný et al. 2008; Šuláková et al., 2013 a 2014a). Forezně relevantních je v podmínkách České republiky 13 druhů (Šuláková a Barták, 2013).

Dvoukřídlí jsou důležitou skupinou užívanou ve forenzní entomologii. Jejich výhoda spočívá především ve skutečnosti, že jsou celosvětově rozšířeni, početní a na mrtvých tělech aktivní jako první. Mají relativně předvídatelné chování a krátké, dobře měřitelné vývojové cykly dvoukřídlých poskytující velmi přesné údaje při výpočtu PMI, respektive doby kolonizace (Benecke, 2004; Campobasso et al. 2001; Daněk, 1990). V Evropě jsou dvoukřídlí, jmenovitě čeleď Calliphoridae, dominantní skupinou na rozkládajících se tělech (Martínez – Sánchez et al., 2000).

Grassberger a Frank (2004) popisují, že mouchy mohou nalétávat na tělo již několik minut po exponování (u otevřených ran ještě před smrtí jedince), první nakladená vajíčka v okolí přirozených tělních otvorů lze nalézt již po 3 hodinách od zpřístupnění těla. Po 24 hodinách může začít líhnoutí larev z nakladených vajíček. Zároveň dodávají, že doba rozkladu v městských oblastech se zásadně neliší od doby rozkladu v méně osídlených oblastech či volné přírodě. Dle Daňka (1990) jsou metody forenzní entomologie po 72 hodinách rozkladu přesnější než metody soudního lékařství.

3.2.4 Místo činu a entomologická evidence

Ještě než dojde k samotným výpočtům a vyhodnocováním okolností smrti využitím much čeledi Calliphoridae (a hmyzu obecně), předchází jim procedury s poměrně jasnými pravidly, a to na místě činu i mimo něj. Přítomnost hmyzích zástupců jako indikátorů důležitých forenzních parametrů se začala po celém světě uznávat během posledních let. Analýza a expertní posouzení ze strany forenzního entomologa se stávají s postupem času běžnějšími a pomáhají řešit případy jak z kriminální, tak civilní oblasti. Na místě činu je nutné provést dokumentaci a zajištění entomologického materiálu z těla, pod tělem

a v jeho bezprostředním okolí (které provádí forenzní entomolog nebo kriminalistický technik). Vždy je důležitá i dokumentace okolí – tj. popis prostředí, ve kterém se mrtvola nacházela (Byrd a Castner, 2010).

Důležité jsou také informace o zemřelém, resp. o faktorech, které mohly ovlivnit hmyz na těle (např. užívání drog před smrtí). Je nezbytné znát maximum podmínek na místě činu. Při zajišťování entomologických stop je nutné brát nejen největší larvální jedince, ale i nejmenší (všechny). Také někdy dochází ke sběru živých vzorků, které se v laboratorních podmínkách odchovávají do stadia dospělce - toho se využívá u druhů, jejichž larvy nelze snadno determinovat (Byrd a Castner, 2010).

U případů, kdy došlo k zakopání těl, by měla být řádně prozkoumána půda nad tělem od povrchu až po dno hrobu, neboť v půdním profilu nad tělem lze často nalézt nezanedbatelné množství dospělých jedinců, larev i puparií. Všechna pečlivost při průzkumu či vyzvedávání (u zakopaného kadaveru) a obecně práce na něm a s tím související dokumentace apod., je důležitá, a to nejen pro naprosto správné vyhodnocení okolností smrti (Byrd a Castner, 2010).

Pokud je mrtvola nalezena řádově týdny, měsíce či ještě déle po smrti, je evidence hmyzích druhů z těla často jediným spolehlivým indikátorem doby úmrtí. Hmyzí druh kolonizuje tělo do té doby, do kdy pro něj představuje vhodný zdroj potravy. Každá skupina hmyzu kolonizující tělo ho určitým stylem pozměňuje tak, že již není atraktivní pro vlastní druh, ale zůstává atraktivní pro jiné druhy – tzv. „facilitační“ model sukcese. Důležité je kromě určení aktuálně přítomných druhů na těle, také hledat známky druhů, které na těle byly přítomny a již ho opustily. Zároveň by měly být dokumentovány případné chybějící druhy, které lze na těle vzhledem k podmínkám sukcese předpokládat, nicméně na těle nebyly či nejsou přítomny (Byrd a Castner, 2010).

Vývojová stadia získaná na těle je zpravidla nutné krátkodobě či dlouhodobě konzervovat. Při správně provedené konzervaci je možné determinovat druhy i po několika letech. Při uchovávání živých jedinců se využívá ledniček (4 °C) a larvy by měli být ideálně po 24 hodinách dodány k determinaci. K zabíjení larev much je doporučeno používat horkou vodu (80 °C), naopak u brouků se doporučuje zabíjení chladem (při -20 °C). Konzervace pak probíhá nejčastěji v 80% etanolu (využívá se 70 - 95% etanol) (Heaton, 2014). V dalším průzkumu věnovanému této problematice byly zkoumány vhodné metody konzervace puparií pro další identifikaci. Celá problematika byla rozdělena dle různých typů identifikace. Autoři

pro možnou budoucí izolaci DNA z larev i pro morfologické analýzy uvádějí tuto metodiku: usmrcení puparií v horké vodě (do 80 °C po 30 sekund), poté přesunutí do 80% etanolu a uložení v -20 °C (po dobu 6 - 8 měsíců). Pro dlouhodobější skladování před DNA analýzou se ukazuje jistější využívat uložení v -80 °C. U identifikace z morfologických znaků je zmiňována i varianta uložení ve 4 °C nebo ještě s mezikrokem spočívajícím v uložení vzorku na týden do Kahleova roztoku a následném zmrazení při -20 °C (Brown et al., 2012).

Význam forenzní entomologie může ukázat i stručný popis reálného případu. Na základě entomologických důkazů byla prokázána vina ošetřovatele v sociálních službách v Německu, který se staral o starší dámu v domácnosti. Žena byla nalezena mrtvá ve svém bytě, který byl zcela čistý, až na lehce zanedbanou koupelnu. Bylo nalezeno několik dospělců z rodu *Muscina*, a to na podlaze a parapetu ze severozápadní strany bytu (byt neměl žádná okna na jih). Forenzní entomolog dospěl k závěru, že zajištěné mouchy se vyvinuly na předmětném těle. Tak se podařilo prokázat, že ošetřovatel zanedbal svou povinnost, protože uváděl, že byl na kontrolní návštěvě u poškozené v době, kdy podle zajištěného entomologického materiálu byla dotyčná již mrtvá. Byl zaznamenán další podobný případ, taktéž z Německa, který se týkal zanedbání povinné péče o dítě a kde forenzní entomologie taktéž figurovala jako důkazní materiál. V nepřímém důsledku k tomuto případu dokonce došlo k částečné restrukturalizaci sociálního dohledu (Byrd a Castner, 2010).

3.2.5 Určování PMI

Nejvýznamnější využití dvoukřídlého hmyzu ve forenzní entomologii je v současnosti v určení PMI, tedy doby smrti u nalezeného těla, respektive doby, která od smrti uběhla. Carvalho et al. (2004) upozorňují na některé faktory, které je nutné brát v potaz. Kromě fyzického stavu těla a zastoupení forenzně důležitých druhů hmyzu v jednotlivých oblastech a jejich přítomnosti na těle, zmiňují autoři i další faktory. Jako důležité je nutno vnímat frekvenci a početnost jednotlivých druhů, jejich přesnou determinaci a všechny biotické i abiotické faktory, které by mohly ovlivnit nebo přímo ovlivňují jednotlivé fáze vývinu nekrofágních much na kadaveru, především teplota, vlhkost a celkový vliv podnebí). Byrd a Castner (2010) dodávají, že obecně se PMI posuzuje ze stáří larev (spíše v prvních fázích rozkladu) a ze sukcese hmyzích druhů na těle (pozdější fáze rozkladu).

K určení PMI se po zjištění velikosti nalezených larev, jejich hmotnosti a průměrných teplot prostředí využívá porovnání s vývojovými křivkami larev z laboratorních odchovů za kontrolovaných podmínek - tzn. za jak dlouho dosáhnou larvy z laboratorních odchovů

stejně váhy a velikosti při stejné teplotě (Laupy, 1994). Celosvětově je výzkumů na sukcesi hmyzu dost, většina z nich je spíše ekologického významu, než forenzního (Perez et al., 2014).

Obecně se stanovuje PMI z délky vývoje druhu a druhového zastoupení na těle, které odpovídá určité fázi rozkladu. U krátkodobých PMI (3 – 5 týdnů) se přesnost stanovení pohybuje v rozmezí 1 – 5 dnů. Výpočet je udán s přesností na den \pm 1 až 2 dny. U starších nálezů přesnost klesá na určitý týden měsíc či čtvrtletí. U nálezů starých 1-2 roky je možné určit, že se jedná o mrtvého ze současného, nebo z loňského roku. U nálezů starších dvou let často nelze přesnější počet uplynulých let stanovit (Eliášová a Šuláková, 2012).

Amendt et al. (2011) uvádějí, že dle přítomnosti hmyzu na těle se určuje přesněji tzv. minimální PMI - interval odpovídající první kolonizaci těla (spíše než aktuální čas smrti). Autoři uvádí 3 základní typy diagramů pro výpočet minimálního PMI (doba od prvního naklazení):

1) Diagram závislosti teploty na délce vývinu (s 95% pravděpodobností).

2) Diagram umožňující užití mrtvých larev a fluktuující teploty prostředí – počítá s délkou těla jako znakem věku larev a v porovnání s časem. Všechny velikosti jsou zaneseny do grafu mezi osy x a y, kde x je věk v hodinách od naklazení vajíček a y teplota v °C. Kritika metody poukazuje na úskalí, že délka nemusí vždy přesně odpovídat věku larev, protože se lehce „zkrátí“ před přechodem do dalšího instaru a současně nepostihuje výskyt larev menších než by odpovídalo danému vývojovému stadiu, např. z nedostatku potravy, konkurenci larev při vysoké četnosti a u pomalu se vyvíjejících jedinců („opozdilců“). Model lze využít jen pro larvy nikoli kukly či vajíčka. Navíc délka larvy se může, pokud byly konzervovány, změnit v závislosti na použitém konzervačním prostředku a pak je nutný doplňující model výpočtu. Sběr dat pro tento typ digramu tak musí být poměrně intenzivní a je těžší ho sestavit než předešlý.

3) Modely pracující se sumou teplot. Nejsofistikovanější ze tří metod – nejkomplexněji zohledňují jak velikost, tak stadium larvy, i fluktuující teploty. Pracuje s poznatkem, že teplota významně ovlivňuje vývin (zpomaluje nebo urychluje) a že s určitými teplotními hranicemi vývoj druhu ustává. Pracuje s ADH (součet sumy hodinových teplot) nebo ADD (součet sumy denních teplot) a určuje, za jakého součtu dosáhne daného stupně vývoje.

Kritika spočívá ve velké varianci v dolní a horní teplotní hranici vývoje, které jsou zásadními údaji ve vývoji druhů.

V určitých případech je možné využití molekulárních metod. V rámci vyšetřování je získávána lidská DNA z těla larev. Využívá se, pokud je v blízkosti těla jiný zdroj, který mohl fungovat jako potrava nalezených larev, nebo když se najdou larvy, ale tělo (krmný substrát) chybí. Nález pouhých larev naznačuje, že tělo bylo přítomno, ale bylo následně přemístěno, např. nález larev v jinak prázdném automobilu. Lze také zkoumat DNA samotného hmyzu pro jeho druhovou determinaci (Amendt et al., 2011). Byrd a Castner (2010) uvádějí, že je možné porovnat i různé populace z pohledu geografie, např. zda jsou larvy mezi sebou příbuzné. Samička je po naklazení vajíček schopná klást až za několik dní. V případě, kdy by došlo k nálezu larev, které jsou zcela příbuzné (z jednoho kladení), stejného věku na místě nálezu těla a jinde, kde tělo již není, lze opět předpokládat, že s tělem bylo po smrti manipulováno.

Také Grassberger a Frank (2004) podotýkají, že za určitých okolností mohou dvoukřídlí napomoci k určení, kde se tělo nacházelo a nebylo-li přemístěno – např. pokud na těle nalezneme jiné druhy, než jsou typické pro místo nálezů. Jistota místa úmrtí je každopádně pro správné určení PMI nezbytná.

Faktorem, který může ovlivnit vývin larev je druh substrátu (tkáň), na kterém se larvy vyvíjejí. Již dříve bylo prokázáno, že typ substrátu, může ovlivnit celý vývojový cyklus jedince. Niederreger et al. (2013) provedli na dané téma studii, která měla monitorovat vývoj druhů *Calliphora vicina* a *Calliphora vomitoria* na substrátech z různých druhů zvířat (hovězí, vepřové, krůtí maso) a různých úprav (steakové maso, syrová játra, mleté maso). Rodičovské generace byly odchovány v laboratoři za konstantní teploty 21 °C a relativní vlhkosti vzduchu 60 %. Larvy byly poté drženy při stejných podmínkách za režimu 16 h světla a 8 h tmy, aby zamezili diapauze kvůli nedostatečným světelným podmínkám. Dospělci měli k dispozici vodu i cukr *ad libitum* a bylo jim poskytnuto mleté maso jako substrát k naklazení vajíček. Pokus celkově probíhal ve 3 opakováních s celkem 600 larvami v jednom pokusu.

Larvy druhu *Calliphora vomitoria* se vyvíjely pomaleji na vepřových a hovězích játrech, na krůtím steaku pak nebyly schopny dokončit vývin. Na hovězích játrech již po 4 dnech nebyly nalezeny žádné žijící larvy. Na mletém mase (bez ohledu na druhu) se larvy vyvíjely dobře. Larvy se vyvíjely pomaleji během prvních dvou dnů, a maximální

délky dosáhly během 6. dne vývinu (max. naměřená délka 22,5 mm). Výsledky pro druh *Calliphora vicina* byly v některých bodech odlišné. Kombinace mletého masa z vepřových jater a z hovězích jater byla pro druh *Calliphora vicina* málo výhodná, vývin byl výrazně zpomalený. Na rozdíl od druhu *Calliphora vomitoria* byl vývoj na hovězích játrech možný. Vývojová křivka byla de facto lineární, larvy dosáhly maximální délky během 5. dne vývoje (max. naměřená délka 17 mm). V závěrech autoři uvádějí, že *Calliphora vomitoria* byla ovlivněna substrátem více, je na něj poměrně výrazně citlivá – např. se ukázalo, že larvy mají někdy problém zakuklit se na substrátu, na kterém se vyvíjely. Druh *Calliphora vicina* prokázal větší toleranci ke krmnému substrátu, vývin byl schopen dokončit na všech typech testovaných substrátů. Mleté maso se pak ukázalo jako vhodný zdroj potravy, a to zřejmě díky snadnější dostupnosti živin. Zároveň se ukázalo, že druh zvířete, které slouží jako krmný substrát, nemá velký vliv na dobu vývinu. Rozdíl v délce vývinu ovšem může nastat při krmení na určitých orgánech a tkáních, což potvrzují i předchozí zkoumání (Niederegger et al., 2013).

3.2.6 Myiáze

Některé druhy jsou významné také z hygienického hlediska. Dospělci jsou přitahováni exkrementy, poraněními na těle, ale kromě toho také např. čerstvým či vařeným masem, rybami a mléčnými výrobky. Tím se spousta druhů stává potencionálními přenašeči bakterií, virů, prvoků a parazitických červů. Několik druhů je synantropních a larvy některých palearktických druhů mohou způsobovat onemocnění zvaná myiáze (Šuláková a Barták, 2013).

Myiáze způsobují zdravotní a ekonomické problémy především v chovu hospodářských zvířat, ale také u divokých zvířat, někdy i člověka (Amendt et al., 2011). Jedná se o onemocnění, při kterém larvy zástupců řádu dvoukřídlí parazitují v těle obratlovců, včetně člověka. V roce 1965 F. Zumpt definoval myiázu jako nákazu živého člověka nebo obratlovce larvami dvoukřídlých, které se alespoň po určité období živí odumřelými anebo živými tkáněmi hostitele, jeho tělními tekutinami anebo tráveninou. Tato definice je platná až do současnosti (Šuláková et al., 2014).

Dle Amendta et al. (2011) lze druhy způsobující myiázu podle typu parazitování rozdělit na několik tříd:

- 1) Obligátní - vyvíjejí se pouze v živé tkáni žijících hostitelů – nejsou na mrtvolách

2) Fakultativní - většinou na mrtvolách, mohou být i na živých hostitelích, kde potřebují nějakou predispozici, např. odumřelou tkáň s nekrotickými ložisky, nebo bakteriální napadení kožichu, vlny.

3) Příležitostní - způsobují menší zdravotní problémy, nejsou normálně parazitičtí, do hostitele se dostávají náhodně – pozřením, inhalací. Pro forezní entomologii jsou nejdůležitější druhy patřící mezi fakultativní parazity, které mohou být spojené s výskytem velkých částí nekrotické tkáně, jmenovitě některé druhy čeledí Calliphoridae a Sarcophagidae.

I myiáze lze využít pro forezní účely. Ukazuje to případ z Anglie, kdy byl přiveden k veterináři pes s velkou ranou na noze, ve které se objevili zástupci rodu *Lucilia*, podle jejichž dosaženého stupně vývinu a množství nekrotické tkáně bylo určeno, že ke zranění psa došlo před 30 - 35 hodinami a nikoli ve stejný den, jak tvrdil majitel. Po těchto zjištěních a jejich konfrontaci s výpovědí majitele byl nakonec majitel shledán vinným z týrání zvířat. Podobně lze nalézt i případy z lékařské praxe, kdy došlo podobným způsobem k odhalení týrání dětí. Lze zmínit případ infekce 13. měsíčního dítěte, u kterého byly nalezeny 3-4 dny staré larvy druhu *Musca domestica* (Linné 1758), které se díky špatné hygieně dostaly do rekta dítěte a do výkalů. Dospělci byli pravděpodobně přilákáni výkaly. Pomohly tak jako jeden z důkazů usvědčit rodiče z týrání a následnému odsouzení na 7 let vězení. Jsou popsány i případy infekce (především nasální) z nemocničních zařízení. Zde je úlohou forezního entomologa zjistit dobu kladení - na základě toho lze určit, jestli došlo k infekci v nemocničním zařízení, nebo před hospitalizací. V některých případech dochází k zanedbání péče i k nepřipouštění si možnosti nákazy. Bylo zaznamenáno několik případů u hospitalizovaných důchodců v několika zařízeních v Hongkongu. U některých pacientů trpících demencí, pacienti se sníženou pohyblivostí, a pacientů na přístrojích bylo zjištěno napadení druhem *Chrysomya bezziana* (Villeneuve, 1914), který se v dané oblasti nečekaně přemnožil. Při vyšetřování případu vyšlo najevo, že některá zranění, která poškození měli, nebyla řádně ošetřena a zakryta a pro mouchy byla neodolatelným lákadlem. Metody určení trvání myiáze jsou v tomto případě stejné jako u běžných případů stanovování PMI. Je nutné však brát v potaz působení tepla lidského těla, které je ve většině případů dlouhodobě vyšší, než je teplota prostředí (Amendt et al., 2011).

3.3 Rozklad nad úrovní půdního povrchu

Mouchy z čeledi Calliphoridae náleží mezi nejvýznamnější dekompozitory organického materiálu, zároveň patří mezi nejvíce zastoupené druhy podílející se na rozkladu mrtvol (Campobasso, 2001). Jsou lákány rozkládajícími se lidskými tkáněmi, zvířecími kadavery, výkaly i otevřenými ranami, které jsou zdrojem vlhkosti, cukru a proteinů (Byrd a Castner, 2010).

Dvoukřídlí a brouci patří mezi skupiny, které se přímo aktivně podílejí na rozkladu těla a zároveň urychlují rozkladný proces. Ostatní nalezené skupiny bezobratlých jsou povětšinou predátory těchto hmyzích druhů. Calliphoridae společně s čeledí Muscidae patří mezi skupiny kolonizující mrtvé tělo v prvních vlnách po smrti. Calliphoridae jsou první skupinou napadající mrtvé tělo (Campobasso, et al., 2001). Činností larev dochází za optimálních podmínek k úbytku 80 - 90 % tělesné hmotnosti kadaveru během 7 - 10 dní. V těchto fázích je dekompoziční činnost larev podle některých autorů kvantitativně důležitější než mikrobiální činnost (Laupy, 1994).

Časové rozpětí první kolonizace těla do jeho opuštění zástupci čeledi Calliphoridae se pochopitelně liší i v závislosti na lokalitě, geografické poloze, s tím spojeným klimatem, okolním prostředím a stavu těla nebo oblečení, které může omezit přístup hmyzu (Grassberger a Frank, 2004). Campobasso et al. (2001) popisují přístup hmyzu k tělu jako druhý nejdůležitější faktor ovlivňující kolonizaci a zároveň upozorňují, že vysoká oblačnost zpomaluje kolonizaci těla některými druhy nekrofágních much. Inhibičně působí také déšť a nedostatek denního světla.

3.3.1 Nekrofágní hmyz a teplota

Okolní teplota je nejvýznamnějším faktorem okolního prostředí určujícím délku rozkladu. Nízké teploty uchovávají tělo déle v původním stavu (často až měsíce či roky), naopak vysoké teploty urychlují rozklad okamžitou činností bakterií a dalších organizmů a tím i rychlým nalákáním hmyzu, nejprve much, na rozkládající se tělo. Rozklad tak začíná téměř okamžitě. Obecně by teploty pod 12 °C a nad 30 °C měly být hraniční pro kladení vajíček u většiny druhů, byť např. *Lucilia sericata* (Meigen, 1826) naopak vyhledává vysoké teploty i přes 30 °C. Na druhé straně spektra pak autoři zmiňují druh *Calliphora vicina*, který byl schopen kompletně dokončit svůj vývoj již při teplotě 4 °C (Campobasso, et al., 2001). Amendt et al. (2011) uvádějí, že rozdíl ve vývinu ve vztahu k teplotě může být velký i mezi

blízce příbuznými druhy. Heaton (2014) uvádí, že obecně každý druh má teplotní rozpětí, ve kterém je schopen se vyvíjet, s minimem a maximem a optimální teplotní hladinou. Především při poklesu teplot o několik °C oproti optimu se doba rozkladu larvami často výrazně mění.

Vliv teploty na vývin hmyzu byl pozorován již v 17. století, nicméně metody, které tento vliv využívají pro popis doby smrti, byly vyhotoveny až v 50. letech 20. století (Byrd a Castner, 2010).

Doums et al. (2002) ve svém pokusu umístili vajíčka druhu *Protophormia terraenovae* Robineau – Desvoidy 1830 na 24 - 240 hod do 4 °C a zkoumali jejich vitalitu. Ukázalo se, že vajíčka měla již po 24 hodinách mortalitu 70 %, (kukly potom 81 % po 6 dnech). U larev I. instaru a II. instaru pak byl vývin zpomalen méně než u larev III. instaru a kukel.

Niederegger et al. (2010) zkoumali v německém městě Jena, jaký vliv má na vývin středoevropských forenzně důležitých druhů much teplota stálá oproti proměnlivé a jak ovlivňuje jednotlivé druhy těchto much. Zaměřili se na druhy *Calliphora vicina*, *Calliphora vomitoria*, *Lucilia illustris* (Meigen, 1826), *Lucilia sericata* a *Sarcophaga argyrostoma* Robineau-Desvoidy, 1830. Bylo použito vepřové a hovězí maso. Po naklazení vajíček bylo maso přesunuto do plastových nádob a poté umístěno na 4 různá místa: do speciálně určené místnosti s fluktuující teplotou (od 5 °C do 29 °C), do sklepa s konstantní teplotou 13 °C (průměrná denní teplota v uvedené oblasti a období), dále do konstantně nízké teploty (5 °C v lednici) a konstantně vysoké teploty (29 °C v inkubátoru). Výzkum ukázal, že jednotlivé druhy much se často výrazně liší v délce a úspěšnosti svého vývinu na základě stability a hodnot okolní teploty. Všechny zmíněné druhy se vyvíjely nejrychleji při teplotě 29 °C. Největší výkyvy nastaly u druhu *Lucilia illustris*. Při fluktuujících teplotách byl vývin tohoto druhu v průměru o více než 90 hodin rychlejší než u ostatních, naopak u stálé teploty 13 °C byl výrazně pomalejší (i trojnásobně) než u ostatních zástupců. Zároveň byl vývoj u *Lucilia illustris* při stálé teplotě 13°C čtyřnásobně pomalejší než při proměnlivé teplotě a více než šestinásobně pomalejší než při stálé teplotě 29 °C.

Při teplotě 5 °C pak byl schopen prodělat celý vývin pouze *Calliphora vicina*. U druhů *Calliphora vomitoria* a *Sarcophaga argyrostoma* došlo pouze k zakuklení, a ostatní druhy nedokončily ani larvální vývin. Experiment názorně ukázal význam okolní teploty pro dobu rozkladu, kolonizaci, vývin jednotlivých druhů much, a tím i svou důležitost pro zájmy forenzní entomologie (Niederegger et al., 2010). V pokusu, který provedli Ames a Turner

(2003) s druhy *Calliphora vicina* a *Calliphora vomitoria* pak bylo dokázáno, že ovlivnění vývinu teplotou nezávisí pouze na druhu, ale i na instaru, ve kterém se dané larvy nachází.

Campobasso et al. (2001) na základě studií uvádějí, že určití zástupci čeledi Calliphoridae, např. *Lucilia sericata* v teplejším podnebí a *Calliphora vicina* v chladnějším, představují na kadaveru početně dominantní druhy v prvních stadiích jeho rozkladu, a to jak ve venkovním prostředí, tak i uzavřených prostorech, např. budovách. Grassberger a Frank (2004) zmiňují, že *Calliphora vomitoria* je považován za druh obecně preferující spíše mimoměstské oblasti a *Calliphora vicina* městské oblasti.

Martínez – Sánchez et al. (2000) uvádějí jako faktory koexistence jednotlivých druhů na kadaveru a jejich početnosti úroveň vzájemné mezidruhové (ale i vnitrodruhové) kompetice, geografickou polohu a tím prostředí, ve kterém se larvy vyvíjejí. Kadaver funguje jako zdroj potravy i místo vývinu. Autor dále ve svém článku uvádí, že v severních oblastech Evropy je dominantním druhem vyskytujícím se na mrtvolách během letních měsíců *Calliphora vicina*. V teplejších oblastech jižní Evropy je ovšem tento druh již uváděn jako důležitý v chladnějším měsících roku. V teplých měsících a při vyšších teplotách se již *Calliphora vicina* vyskytoval v menších počtech a dominantními byly druhy rodu *Lucilia*, a to *Lucilia sericata* a *Lucilia caesar* (Linné, 1758).

Právě rod *Lucilia* je uveden jako důležitý rod teplých (letních) měsíců i pro celou oblast střední Evropy. Rod *Calliphora* (*Calliphora vicina*, *Calliphora vomitoria*) je uváděn jako ten lépe snášející nižší teploty s častějším výskytem v jarních a podzimních měsících než *Lucilia* (Martínez – Sánchez et al., 2000). Toto tvrzení je v souladu také s dalším experimentem, který potvrdil druh *Calliphora vicina* jako dominantní v chladnějším měsících (Leccese, 2004).

Byrd a Castner (2010) také předkládají některá další fakta s potenciálem ovlivnit určení doby smrti. *Phormia regina* (Meiden, 1826) je schopna klást na čerstvé mrtvoly, nicméně má v takové chvíli větší úmrtnost larev, časnější migraci před kuklením a menší velikost dospělců, než když kladou až po druhu *Lucilia sericata*.

3.3.2 Skupiny hmyzu na kadaveru a rozkladné vlny

V závislosti na úloze, kterou jednotlivé hmyzí druhy na kadaverech plní, je můžeme rozdělit do několika skupin. Zde je uvedeno rozdělení dle Campobasso et al. (2001):

1) Nekrofágní druhy - živí se rozkládajícím se tělesným materiálem. Dvoukřídli (Calliphoridae, Sarcophagidae) jsou spolu s brouky dominantními druhy této skupiny.

2) Predátoři a paraziti nekrofágních druhů - jedná se o druhou nejdůležitější skupinu na tělech. Jedná se především o brouky, také některé blanokřídlé a částečně i o dvoukřídle. U larev některých druhů dvoukřídlych je popsán kanibalismus.

3) Všežravý hmyz - mohou se krmit jak na rozkládajícím se těle či jeho zbytcích tak jako paraziti ostatních hmyzích druhů na těle. Patří sem kromě brouků např. vosy či mravenci (Campobasso, et al., 2001). Ve větších počtech mohou tyto druhy pozměnit konečnou dobu rozkladu napadáním nekrofágních druhů (Campobasso, et al., 2001, Grassberger a Frank, 2004).

4) Ostatní druhy, jako jsou roztoči, pavouci či motýli. Ty ho používají jako zdroj k obohacení svého prostředí např. jako místo úkrytu, někdy se vrací i pravidelně. I tyto druhy mohou být v některých případech predátory nekrofágních druhů (Campobasso, et al., 2001).

V rámci rozkladu můžeme rozlišit několik stadií dekompozice těla. Například Grassberger a Frank (2004) při svém pokusu s kadaverem prasete rozdělují jeho rozklad na 4 základní fáze: čerstvé, nafouklé, v rozkladném procesu a vysušené - skeletované. Většina autorů však uvádí více fází, např. Daněk (1990) popisuje podle procesů, které na těle probíhají a jednotlivých aktivních druhů hmyzu, rozdělení na 8 rozkladných vln. Názor, na kolik rozkladných vln je nejvhodnější celkovou dekompozici těla rozčleňovat, se ovšem může dle jednotlivých autorů různit.

Následující rozdělení vychází z toho, které uvádí Daněk (1990) a Eliášová a Šuláková (2012). Uvádí pro klimatickou oblast střední Evropy 7 sukcesních vln, ve kterých nalétává hmyz na mrtvé tělo, Daněk (1990) ještě dodává 8 vlnu.

První vlna

První vlna se objevuje těsně po smrti a je charakterizována mouchami, které jsou lákány pachem krve, potu a také čerstvého masa. To platí zvláště v případech otevřených tělesných poranění - pokud je umírající jedinec bezbranný, mohou být vajíčka kladena ještě za živa. U intaktních mrtvol nemusí dojít k počátku kolonizace hmyzem. Právě mouchy čeledi Calliphoridae jsou zástupci typickými pro tuto vlnu, přilétávají také mouchy čeledi Muscidae.

Mohou se objevovat také zástupci čeledi střevlíkovití (Carabidae) a některé druhy vos, škvorů či mravenců.

Druhá vlna

Druhá vlna začíná s tvorbou plyných, tělo nadouvajících látek, které zapáchají a lákají nekrofágní hmyz. V jarních a letních měsících nastává tato fáze za příznivých podmínek podnebí již druhý den po smrti. Tyto zapáchající látky přilákají na tělo další druhy hmyzu - nekrofágní zástupce brouků - hrobaříky (Silphidae), masařky z čeledi Sarcophagidae a nadále pokračuje aktivita druhů z první vlny, tedy i much čeledi Calliphoridae. Mohou se objevit zástupci z čeledi mrchožroutovití (Silphidae), i roztoči (Acarina). Pod mrtvolou se mění nebo mizí některé druhy půdní fauny.

Třetí vlna

Třetí vlna nastává se zmýdelněním tuků a vývinu těkavých mastných kyselin v těle, především kyseliny máselné, které výrazně zapáchají. Objevují se další druhy nekrofágních brouků, především z čeledi Dermestidae (kožojedi). Pokračuje činnost druhů z 2. vlny, kdy jsou zápachem lákáni především zástupci čeledi Muscidae a ve větší míře se objevují biofágní druhy, kteří působí jako predátoři druhů nekrofágních. Z nich můžeme jmenovat např. čeleď Staphylinidae (drabčíkovití). Objevují se také pestrokrovečníci rodu *Necrobia* (Olivier, 1795) z čeledi (Cleridae).

Čtvrtá vlna

Čtvrtá vlna je typická fermentací proteinů, nastávající krátce po fermentaci tuků a která je také nazývána jako sýrová fermentace pro zápach připomínající sýr. Z much jmenujme především čeleď sýrohlodkovití (Piophilidae). V některých případech může docházet k situaci, kdy jsou právě sýrohlodky primární skupinou nalétávající na kadaver. To se děje v případech kdy mouchy předchozích vln nemají k tělu přístup - příkladem může být mrtvola, která se bezprostředně po smrti dostane do vody a k jejímu vyplavení dojde až po několika měsících. Plyné látky lákající mouchy 2. vlny se již nevytvoří a kadaver plně kolonizují právě zástupci nekrofágní fauny typické pro proteinovou fermentaci. Vrcholí výskyt brouků rodu *Necrobia* (Cleridae) a dochází k úbytku mrchožroutivých (Silphidae).

Pátá vlna

Pátá vlna nastává se stadiem čpavkové fermentace, kdy se vytvářejí amoniakové páry a kaseózní substance. V ČR se objevují především drobné mušky z čeledi Phoridae (hrbilkovití), obecně nalézáme díky ubývajícím tělesným tkáním již menší počet dospělců a larev nekrofágních druhů, v důsledku čehož ubývá i jejich predátorů.

Šestá vlna

Šestá vlna nastává s vysycháním všech tekutin na kadaveru a dochází k ní zpravidla na konci prvního roku a ve druhém roce stárí mrtvolu. Typicky nekrofágní druhy se vzhledem k nedostatku potravy objevují již jen ojediněle, stále nalézáme především saprofágní druhy brouků. Na měkkých tkáních a v kostech se mohou vyvíjet ještě mouchy z čeledí sýrohloďkovití a hrbilkovití. Nově se objevují brouci rodu Trox z čeledi hlodáčovitých (Trogidae). Na těle se v této fázi zvyšuje zastoupení roztočů, kteří se živí živočišnými proteiny. Roztoči napadají kostní dřev, kosti tím narušují a urychlují jejich rozpad.

Sedmá vlna

Sedmá vlna nastává ve chvíli, kdy je mrtvola již zcela vysušena a jeví se jako kostra. Chrupavky žebér jsou již rozrušeny, pouze u páteře se vyskytují suché zbytky útroh, především vazivo. Vyskytuje se hmyz napadající suché mršiny, kosti, kůže, peří apod., ale i hmyz napadající látky, kožešiny, koberce, vlnu či potraviny ale i muzejní preparáty či hnijící rostliny. Jedná se o teplomilné a suchomilné druhy. Řadíme sem např. brouky z čeledi vrtavcovití (Ptinidae) a roztoče. Dále můžeme jmenovat kožojedy či moli. Důležité je, že se s nimi můžeme na mrtvole setkat pouze v případě, že tyto ležely dlouhou dobu uvnitř nějakého uzavřeného prostoru, kde na ně nepůsobí různé vlivy vnějšího prostředí. U mrtvol ležících v terénu na volném prostoru se s nimi neseťkáváme.

Osmá vlna

Osmá vlna se může na mrtvole objevit v případě, kdy zůstane ležet v terénu více než tři roky. Objevují se především zástupci roztočů. Je možnost výskytu zástupců čeledi vrtavcovití (Ptinidae), kteří tráví organické zbytky. Nález dalších druhů, např. drbčků (Staphylinidae) je náhodné a pouze v důsledku jejich hledání úkrytu před podnebím a podmínkami prostředí.

Doba trvání jednotlivých vln a výskyt nekrofágní fauny z kvalitativního i kvantitativního hlediska nemá jednotnou podobu. Rozhodující jsou další dílčí faktory, jako jsou podmínky podnebí, vliv stanoviště, kde se mrtvola nachází, a vlastnosti těla, jako je váha, velikost, věk, tučnost, stáří apod. Rozklad ovlivňuje také příčina smrti, případná zranění či oblečení mrtvého. Jednotlivé vlny nelze jednoznačně ohraničit, přechází většinou plynule mezi sebou.

3.4 Rozklad pod půdním povrchem

Campobasso et al. (2001) uvádějí, že rozklad těla pod zemí probíhá obecně pomaleji než nad zemským povrchem, protože půda částečně či úplně (v závislosti na hloubce, ve které se tělo nachází) snižuje teplotu okolo těla, a také přístup rozkladačů ke kadaveru.

3.4.1 Úloha nekrofágních much a čeledi Calliphoridae

Skutečnost, že se tělo po zakopání rozkládá pomaleji, způsobuje několik faktorů: vyloučení některých bakteriálních organismů z procesu, stejně tak obratlovců (mrchožroutů), pokles teploty půdy s narůstající hloubkou zakopání a především vyloučení aktivity hmyzu na mrtvém těle. Fauna na zakopaných tělech, je výrazně ovlivněna množstvím materiálu, nejčastěji zeminy, která tělo pokrývá, přičemž již minimální vrstva hlíny může znemožnit přístup většině much. Důvodem je kromě nutnosti fyzického kontaktu s tělem především vyloučení vnímání pachových signálů. Mnoho chemických receptorů much, včetně chuťových, je uloženo na malých chloupkách exoskeletu. Jsou stimulovány vlhkostí na povrchu těla, sloučeninami bohatými na amoniak a také feromony pro kladení vajíček vypouštěnými dalšími samičkami z okolí. Proto i tenká vrstva může znemožnit (díky inhibici chemických signálů) kladení vajíček. Také bylo pozorováno, že samice mají tendenci klást do místa, kde již kladly jiné samičky. Jedná se pravděpodobně o strategii, která má minimalizovat riziko vysychání a predace během stadia vajíček. Při hlubším pohřbení (v řádu desítek cm) se nedostanou k povrchu pachy vylučované rozkládajícím se tělem téměř nikdy. Masožravci a téměř všechny mouchy jsou z procesu vyloučeny a rozklad proběhne bez jejich účasti. U menší hloubky jsou pachy detekovatelné a masožravci i mouchy mají v závislosti na druhu, výšce zeminy a svých schopnostech možnost se k tělu dostat (Byrd a Castner, 2010).

Podle dosavadních poznatků se druhy čeledi Calliphoridae na rozkladu zakopaných těl nepodílí. Mouchy této čeledi nejsou schopny překonat bariéru v podobě půdního profilu nad tělem, přičemž stačí i několik centimetrů zeminy, aby se mouchy čeledi Calliphoridae již nebyly schopné dostat na tělo. Schopnost pohybu skrz zeminu mají pouze larvy v době po vylíhnutí (Bourel et al., 2004). Podobně se nejsou schopny dostat na tělo i zástupci much z pozdějších sukcesních vln. Proto pokud je i přesto nalezen druh či druhy čeledi Calliphoridae na zakopaném těle, je velmi pravděpodobné, že tělo bylo určitou dobu před zakopáním volně exponováno, což může být klíčové při rekonstrukci událostí vedoucích až k zakopání těla (Byrd a Castner, 2010).

Míra restrikce přístupu u pohřbených těl závisí především na hloubce pohřbení. Činností masožravců může dojít k následnému odkrytí, a tím zpřístupnění těla i pro hmyz, který by byl jinak z rozkladného procesu vyloučen. Lze konstatovat, že v mělkých hrobech proběhne rozklad rychleji než v hlubších, ale pomaleji než na povrchu (Campobasso et al., 2001).

Fremdt a Amendt (2014) ukazují na studie, kdy byly pozorovány nekrofágní mouchy (*Calliphora vicina*) kladoucí vajíčka na půdní povrch nad zakopaným kadaverem v hloubce 30 cm. Autoři však podotýkají, že to neznamená, že larvy jsou skutečně schopny těla dosáhnout.

Experimentů, které popisují možnosti kolonizace kadaverů po pohřbení je poměrně málo, podobně jako výzkumů, jak ovlivní zakopání kadaveru již zakladeného vajíčky much čeledi Calliphoridae následný vývin jejich larev. Jedná se přitom o potencionálně důležitý faktor, který může napomoci zjištění, zda bylo s tělem dodatečně manipulováno a k určení doby, kdy bylo takové tělo zakopáno. S tím je spojena i problematika migrace larev před kuklením, které odlézají za normálních okolností až do vzdálenosti několika metrů od substrátu a poté dochází k jejich zahrabání. Zde může být důležitým poznatkem, jak se migrace projevuje v případě, kdy dojde k dodatečnému zakopání těla a kde je poté možné nalézt larvy. Migrační fáze, kdy se larva již nekrmí a hledá vhodné místo k zakuklení, bývá v takovou chvíli delší a může tak opět ovlivnit správné určení PMI (Fremdt a Amendt, 2014).

Obecně jsou pro forenzní experimenty hodnoceny vepřové kadavery jako nejvhodnější náhražka za lidská těla. Prasata jsou všežravá, intestinální mikroflóra je podobná jako u lidí, mají podobnou stavbu kůže a doba rozkladu je při stejné váze taktéž téměř totožná (Campobasso et al., 2001; Grassberger a Frank, 2004).

Gunn a Bird (2011) ve svém experimentu zkoumali schopnost vybraných druhů čeledi Calliphoridae kolonizovat mělce pohřbené ostatky a jaký vliv bude mít pohřbení na vývin larev. Použili 75 g vepřových jater v několika různých variantách v terénu i v laboratoři. Venkovní pokusy byly provedeny následovně: játra uložená na povrchu, játra pohřbená 5 cm pod zemí, játra pohřbená 5 cm s 30 ml krve nad nimi na povrchu a 30 ml krve na povrchu bez zakopaného masa. Pokusné objekty byly kvůli predátorům vždy přikryté železnou klecí. V pokusu došlo ke třem opakováním. Odchov dospělců probíhal po 3 dny ve venkovním prostředí, vývoj byl poté dokončen v laboratoři. Použita byla provzdušněná i kompaktní zemina, lehce udusaná tlakem plné chovné nádoby po 15 s pro simulaci situace v přírodě (kde

vlivem okolního prostředí a rozkladu těla dochází k určitému sesednutí půdy). V samostatných pokusech prováděných v laboratorních podmínkách byly pohřbeny nakladené návnady v 5 cm, 10 cm, 20 cm a 40 cm hloubkách v plastových kontejnerech a umístěny do konstantní teploty 20 °C. Samice, které kladly na návnady a byly použité v laboratorním pokusu, byly získány odchycem v přírodě, následně byly odchovány 2 generace při 18 - 22 °C s přísunem cukru, sušeného mléka a vody *ad libitum*.

Souhrnná bilance výsledků ukazuje, že druhy *Calliphora vomitoria* a *Calliphora vicina* byly lákány mělce pohřbeným masem, a částečně byly schopny kolonizovat játra pohřbená v 5 cm. Byly nalezeny larvy na mase, ovšem pouze v několika případech a v minimálním množství. Na vzorek se dostaly poté, co došlo k jejich vylíhnutí z vajíček nakladených na povrch zeminy. *Calliphora vicina* byl o něco úspěšnější než *Calliphora vomitoria*, na kadaveru bylo nalezeno více larev. Ovšem ve většině případů nebyly nalezeny larvy ani jednoho z druhů. V hloubce větší než 5 cm, se larvy uvedených druhů již vůbec nevyskytovaly. U druhu *Lucilia sericata* byly nalezeny shluky vajíček, řádově 5 mm pod povrchem u téměř všech variant pohřbených do 5 cm a také u části vzorků pohřbených v hloubce 10 cm. Na vzorcích u obou variant bylo nalezeno několik jeho larev. Všechny tyto obsazené vzorky ovšem byly uloženy v provzdušněné hlíně, v udusané k naklazení nedošlo (Gunn a Bird, 2011).

Z výsledků experimentů se zaklazenými a dodatečně pohřbenými substráty vyplývá, že druhy *Calliphora vomitoria* a *Calliphora vicina* byly schopné pokračovat ve vývoji pod zemí, pokud měly dostatek krmného substrátu, a také v některých případech dokončily svůj vývoj. Larvy směřovaly v téměř vertikálním směru od těla a byly schopny dosáhnout povrchu, poté se po 24 hodinách znovu zahrabat a zakuklit. Larvy rodů *Lucilia* a *Calliphora* umístěné na povrchu se kuklily nejčastěji v hloubce 2 - 4 cm pod povrchem. Larvy *Calliphora vomitoria*, které byly v provzdušněné zemině pohřbeny do hloubek 10 a 20 cm, se kuklily v nepatrně větší hloubce. U larev pohřbených do 10 cm hloubky bylo dokonce až 70 % hlouběji (s největším výskytem okolo 8 cm). U rodu *Lucilia* ovšem docházelo ke kuklení v podstatě jen pod povrchem i u pohřbených variant. Menší procento larev much nedosáhlo povrchu ani ve zkyplené hlíně a mouchy nebyly schopny zcela dokončit svůj vývin, který se přerušil ve stadiu puparia. Druhy byly lákány jen variantou s masem, varianta kde byla pouze krev, nebyla pro mouchy atraktivní, varianta masa s krví na povrchu mouchy lákala, byť krev zde fungovala pravděpodobně spíše jako další výživa pro larvy než jako atraktant (Gunn a Bird, 2011).

Autoři vyvozují závěry, že v provzdušněné (neudusané) hlíně do 5 cm pohřbení jsou schopny druhy *Calliphora vomitoria* a *Calliphora vicina* částečně kolonizovat substrát (byť *Calliphora vomitoria* spíše výjimečně) ovšem pouze larvami, které se dostanou na tělo z vajíček nakladených na povrchu, nikoli samotnými dospělci. V udusané hlíně to však zřejmě není u těchto druhů vůbec možné. Nicméně jednalo se o malé množství, a tak při nálezů většího počtu larev anebo dalších stadií (plných, nebo prázdných puparií, nebo dospělců) na těle pod zemí, lze předpokládat jeho zakopání téměř jistě až po naklazení. V opačném případě by dospělci musely mít přístup k mrtvole v podobě tunelu v zemině, protože prohrabat se samy nemohou. Autoři závěrem dodávají, že dospělé mouchy v pokusu nebyly schopny přežít zasypání a předpokládají, že 48 h po vylíhnutí zcela ztrácí schopnost pohybu skrz zeminu. Autoři dále uvádí, že se nepotvrdila absolutní nutnost much mít fyzický kontakt s tělem. Dále dodávají, že dekompozice těla a jeho kolonizace hmyzem v zemi je ovlivněna nejen stavem zeminy, ale i faktory okolí, např. vlhkostí, geografickou polohou, velikostí těla, ročním obdobím, ale i predátory z řad obratlovců (Gunn a Bird, 2011).

Informace o schopnosti larev čeledi Calliphoridae přežít po pohřbení nebo zakopání těla jsou ve stávající literatuře nicméně nedostatečné. V jednom z experimentů, zkoumali Balme et al. (2012), jestli jsou larvy schopny v laboratorním pokusu přežít a vyvinout se v dospělé i po dodatečném zakopání.

Balme et al. (2012) při svém pokusu využili jílovitou hlínu z lomu Lake Wheeler v Severní Karolíně, která byla nejprve ošetřena mrazem k zabití nežádoucích bezobratlých, poté zvážena, homogenizována pomocí mixéru a doplněna vodou, aby bylo dosaženo 15% vlhkosti. Následně byly do takto upravené hlíny umístěny larvy II. instaru do hloubek 5 cm, 25 cm a 50 cm, v druhé části experimentu larvy III. instaru do hloubky 120 cm. K vylíhnutí imag a jejich dosažení povrchu došlo u všech zastoupených variant, nejúspěšnější ovšem byli dle očekávání jedinci z mělké hloubky zakopání (5 cm a 25 cm). Autoři také zmiňují, že přítomnost dostatečně velkého zdroje potravy v místě zakopání poměrně výrazně zvyšuje šanci larev na přežití a úspěšnou transformaci v dospělé jedince, přičemž se nejedná o velké množství, 50 larvám v II. instaru stačilo 30 g hovězích jater (Balme et al., 2012).

Při experimentu s kadavery prasete Turner a Wiltshire (1999) sledovali, k jakým změnám dochází na pohřbeném těle a okolním substrátu a monitorovali celý průběh rozkladu. K experimentu došlo v anglickém hrabství Hertfordshire u vesnice Essendon. Během studie byly prasečí kadavery pohřbeny do půdy převážně kyselého typu, a to v mělkých hrobech

s 10 cm půdy nad tělem. Pokus byl zahájen na konci prosince a prasata byla zakopána do 5 hodin po usmrcení, bez předchozí možnosti nalétání nekrofágního hmyzu na kadavery a naklazení vajíček.

V dubnu následujícího roku došlo následkem přírodních vlivů k částečnému odkrytí kadaverů, a poté k vyzvednutí mrchožrouty, tím došlo k jejich zpřístupnění pro dvoukřídlé a další hmyz. Až do této doby nebyla aktivita forezních druhů hmyzu na kadaverech pozorována. K odkrytí kadaverů došlo 105. den od jejich zakopání. I po této době byli nalezeni zástupci druhu *Calliphora vicina* nalétávající na kadavery, kteří navíc i nakladli vajíčka. Autoři tak předpokládají, že nízké průměrné teploty ve sledovaném období v kombinaci se specifickými vlastnostmi půdního profilu mohly zastavit rozklad kadaverů do té míry, že i po několika měsících byl stále atraktivní pro hmyz z 1. vlny, které jinak nalétávají bezprostředně po smrti jedince. Zemina nepropouštěla typické pachy rozkládajících se těl, takže i přes nízkou hloubku zakopání nebyla po dlouhou dobu detekovatelná pro mrchožrouty. Taková zjištění při určování PMI u těl, které byly po smrti určitou dobu volně zakopány a poté se dostaly znovu na povrch, upozorňují na nezbytnost zjišťování dalších skutečností. Kromě nutnosti znalosti místního klimatu, také nutnost znát složení půdy a jejích specifických vlastností na rozkladný proces kadaverů (Turner a Wiltshire 1999).

Bourel et al. (2004) zkoumali entomofaunu pohřbených těl v oblasti francouzského města Lille. Cílem experimentu bylo zjistit, jestli jsou některé forezně důležité druhy much typické pro mrtvolu vyskytující se v rakvích či jiných uzavřených nádobách a mohou tak svou přítomností pomoci určit, zda mrtvola byla po své smrti zakopána a nalézala se v podobném uzavřeném prostoru. Konečným výsledkem zkoumání bylo, že některé druhy se skutečně pravidelně vyskytují na mrtvolách, v rakvích a dalších nádobách. Zastoupeny jsou především druhy *Conicera tibialis* (Schmitz, 1925), *Leptocera caenosa* (Rondani, 1880), nebo *Triphleba hyalinata* (Meigen, 1830) a *Ophyra capensis* (Wiedemann, 1818), u kterého samičky kladou larvy především na povrch rakví a druh je uveden jako indikátor skutečnosti, že tělo bylo uloženo ve stísněném prostoru, nikoli nutně v nádobě. Z druhů čeledi Calliphoridae byl nalezen *Calliphora vicina*, a to jen v jednom případě, na těle exhumovaném po 3 měsících. Byrd a Castner (2010) uvádějí, že *Conicera tibialis* je schopen kolonizovat tělo pohřbené i do hloubky 100 cm a že dospělé samičky se mohou k zakopanému tělu opětovně vrátit a osídlit ho dalšími generacemi.

Čeledi Sarcophagidae a Muscidae nejsou automaticky zeminou odříznuty od možnosti klást na kadaver. Sarcophagidae často kladou přímo larvy I. instaru, které běžně prolézají půdou k tělu a osidlují ho (Byrd a Castner, 2010).

Gomes a von Zuben (2005) popisují laboratorní pokus s larvami druhu *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819), při kterém použili čtvercovou nádobu o straně 2 m a hloubce 20 cm, do které byly umístěny larvy. Zjistili, že larvy vylézaly ze substrátu náhodnými směry, nejčastěji za účelem kuklení. Larvy měly ale stále schopnost vyhledávat další zdroje potravy. Vzdálenost (v metrech), kterou byly larvy schopny urazit a hloubka ve které, docházelo ke kuklení, závisely na množství larev v nádobě, a také parazitech a predátorech. Z rodu *Chrysomya* se na rozkladu těla podílejí také *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) a *Chrysomya rufifacies* (Macquart, 1842). *Chrysomya rufifacies* se často vyvíjí o něco rychleji a může tak vytlačovat druh *Chrysomya megacephala*. Obecně patří *Chrysomya rufifacies* mezi druhy velmi úspěšné v mezidruhovém boji, proto jej lze často zajistit jako forezní materiál, i když jsou jedinci tohoto druhu po celou dobu pobytu na těle v poměrně malém množství. Součástí této skutečnosti je fakt, že larvy *Chrysomya rufifacies* jsou kanibalistické. Autoři ještě podotýkají, že *Chrysomya rufifacies* patří mezi druhy se schopností obsadit i mělce zakopaná těla.

Simmons et al. (2010) zkoumali vliv přítomnosti hmyzu na dekompozici těla. Pokusným zvířetem byl králík, a byly provedeny 4 varianty experimentu: zakladený kadaver na povrchu, zakladený a pohřbený kadaver, kadaver bez přístupu hmyzu (muší síť) a okamžitě zakopaný kadaver bez hmyzu. Výsledky ukázaly, že mezi variantami bez hmyzu (tzn. síť a zakopání) nebyl žádný signifikantní rozdíl v rozkladu stejně jako u varianty s hmyzem (povrch, hrob). Zcela zásadní ovšem byl rozdíl mezi variantami bez hmyzu a variantami s hmyzem, kde byl rozklad za přítomnosti hmyzu výrazně rychlejší.

Vliv vlastností půdy

Samostatným faktorem ovlivňujícím rozklad těla při zakopání je pak půda samotná, její složení, vlastnosti a organismy v ní žijící. Z organismů vyskytujících se v půdě potřebují organickou hmotu ke svému životu bakterie a houby. Růst bakterií je ovlivněn přítomností vhodného substrátu (v tomto případě těla a také vlastností půdy) teplotou, vlhkostí, množstvím kyslíku, pH. Mezi 4 - 10 °C se jejich vývoj zásadně zpomaluje, nejvyšší je mezi 15 - 37 °C. Houby pak mají velké množství enzymů, které pomáhají rozkládat organický

materiál. Podobně jako u bakterií jsou ovlivněny teplotou, vlhkostí, obsahem kyslíku v půdě (Byrd a Castner, 2010).

Důležitá může být také interakce mezi tělem na povrchu a půdou pod ním, což je oblast, které se zatím příliš výzkumů nevěnovalo. Vedle interakce jednotlivých druhů hmyzu, může rozklad těla ovlivnit druhové složení v půdním profilu pod ním. Látky vypouštěné z kadaveru mohou degradovat rostliny v nejbližším okolí a dramaticky snížit výskyt druhů v půdě bezprostředně pod tělem, především do 10 cm pod tělem. V případě zakopaných těl v poslední době začaly pokusy na výpočet i tzv. PBI (post burial interval), který má mít za cíl odhalit, kdy došlo k zakopání daného těla. Zjišťuje se možnost zapojení jednotlivých druhů dvoukřídlých do procesu a míra spolehlivosti takové předpovědi. Tyto snahy vycházejí z faktu, že PMI je u zakopaných těl hůře určitelné (Byrd a Castner, 2010). Byrd a Castner (2010) také uvádějí experiment se zakopaným, a později masožravci částečně odhaleným tělem. Zde se ukázalo, že nešlo přesně určit, kdy jedinec zemřel (zřejmě z důvodu zakopání hned po smrti) a určit tak PMI. Bylo možné pouze odhalit, kdy došlo k naklazení vajíček nekrofágními druhy typickými pro volnou expozici, a tím kdy bylo tělo odkryto masožravci.

4. Materiál a metodika

Metodika práce byla zaměřena na realizaci terénního pokusu, který měl zjistit, zda druhy čeledi Calliphoridae jsou schopné dokončit svůj vývin na kadaveru, za předpokladu, že jsou dodatečně zakopány na začátku svého vývojového cyklu, tj. ve fázi vajíčka anebo larvy I. instaru. Pokus byl proveden v jarních a letních měsících roků 2014 a 2015 vždy ve 4 opakováních, celkem tedy v 8 variantách. V každém opakování byly využity 2 kadavery kura domácího (*Gallus gallus* f. *domestica*, Linné, 1758), celkem tedy 16 zvířat.

4.1 Popis lokality

Experimenty v obou letech proběhly ve městě Litvínov, okres Most v severních Čechách, městské části Litvínov 6 - Osada. Zeměpisné souřadnice lokality z 1. série pokusů (rok 2014) jsou 50.609 N, 13.635 E souřadnice pokusů z druhého roku (rok 2015) jsou 50.606 N, 13.633 E. Obě lokace se nacházejí v nadmořské výšce 338 m n. m. Průměrné denní teploty, vlhkost a srážky byly získány z pravidelného měření Českého hydrometeorologického ústavu, stanice Kopisty (přílohy č. 11 a 12). Kadavery byly umístěny na soukromém, z větší části zatravněném pozemku (zahrada), využívaném k pěstování květin a zemědělských plodin. Lokalita z prvního roku se nachází na okraji zahrádkářské kolonie a sousedí s lesním biotopem (smíšený les). Lokalita z druhého roku se nachází cca 50 m od zmíněného lesního biotopu. Samotné kadavery byly před svým zakopáním vystaveny k zaklazení mouchami. V první lokaci se nacházely na hranici jedné z travnatých ploch na okraji zahrady v blízkosti lesa, v druhé lokaci také na travnaté ploše pozemku (příloha č. 13).

4.2 Popis experimentu

Při experimentu byly použity kadavery slepic. Všechny kadavery byly usmrceny stejným způsobem, aby byly co nejvíce minimalizovány rozdíly a tím nepřesnosti v interpretaci. Při každém z 8 opakování byly vždy použity dva kusy drůbeže, jejichž kadavery byly bezprostředně po usmrcení ponechány nejprve volně exponované na zemském povrchu. Oba kusy byly umístěny na plechové podložce opatřené mříží, která měla úlohu bránit přístupu obratlovců, ale byla průchozí pro hmyz (příloha č. 13). Kadavery byly vizuálně sledovány a byla kontrolována míra jejich kolonizace nekrofágními mouchami, především z čeledi Calliphoridae.

Po náletu zástupců čeledi Calliphoridae a vizuálním potvrzení výskytu vajíček, případně larev 1. instaru na kadaverech, byla obě těla dodatečně pohřbena ve dvou různých variantách. Jeden kus byl pohřbený volně do země (kadaver byl v přímém kontaktu se zeminou) a druhý v pevné krabici či bedně, která imitovala rakev a zajišťovala vzduchovou kapsu kolem kadaveru. U obou variant byly kadavery umístěny do hloubky 30 cm. Kontrolním měřením teploty půdy bylo zjištěno, že při zjištěných teplotách druhy čeledi Calliphoridae mohou dokončit svůj vývojový cyklus za jeden až jeden a půl měsíce, proto byly kadavery ponechány pod zemí řádově jeden a půl až dva měsíce a následně vykopány. Měření bylo provedeno digitálním vpichovacím teploměrem Voltcraft DET3R. Při vykopání byl pomocí pinzety zajišťován veškerý entomologický materiál nalezený v půdním profilu nad zvířaty a kolem nich a také hmyz a jeho nižší vývojová stadia na a v kadaverech.

4.3 Vyhodnocení dat

Kadavery byly v zemi ponechány 1,5 až 2 měsíce, aby byl zajištěn dostatečný čas k možnému dokončení vývojových cyklů much čeledi Calliphoridae. Uvedený interval byl vypočten na základě naměřené teploty půdy. Po uvedené době byly oba kadavery vykopány a v zemině nad pokusnými zvířaty a dále přímo na zvířatech, event. v krabici imitující rakev, byly hledány známky přítomnosti much čeledi Calliphoridae, resp. jejich larvy, puparia a imaga, což by potvrdilo pokračující vývin i po dodatečném zakopání.

Základním postupem bylo postupné odkrývání zeminy nad tělem v několika vrstvách a detailní průzkum takto zajištěné zeminy z půdního profilu nad tělem. Všechny materiál byl umístěn do předem připravených plastových nádobek. Nalezené vzorky byly rozděleny dle místa nálezu na vzorky nalezené nad tělem a u těla u volně zakopaného zvířete a na vzorky nalezené nad krabicí a v krabici se zvířetem. Dělení probíhala také na živé vzorky (larvy nekrofágních much), puparia (plná i prázdná) a další vzorky (ostatní hmyz nalezený v profilu hrobu).

Za účelem minimalizace chybného prohlédnutí byla zemina z prostoru nad tělem a z bezprostřední blízkosti těla po terénním průzkumu podrobena dalšímu zkoumání pod binokulární lupou v laboratoři Fakulty agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů České zemědělské univerzity. Nalezený entomologický materiál byl poté předán k determinaci. Determinaci zajištěného hmyzu a jeho vývojových stadií provedla pplk. Ing. Hana Šuláková, Ph.D. Determinaci druhu *Rhagoletis cerasi* provedla z puparií geneticky Ing. Tereza Olekšáková pomocí DNA Barcodingu.

Jako doplňující měření byl proveden rozbor půdy z lokací, kde byly experimenty prováděny. Odběr vzorků půdy pro rozbor byl proveden nářadím zapůjčeným na katedře Pedologie a ochrany půd fakulty Agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů České zemědělské univerzity. Odběr vzorků byl proveden do ocelových válečků, které byly umístěny nakonec speciálně upravené ocelové tyče, která byla i s válečkem zatlučena do půdy. Při zatlučení se váleček z tyče uvolní a poté dojde k jeho vytažení z půdy. Ve válečku samotném je takto vyzvednut neporušený půdní sloupec. Po zvážení válečků se vzorky zeminy byly tyto předány k rozboru a určení základních vlastností půdy (pH, vzdušnost, pórovitost, typ půdy). Rozbory půdy provedl v prvním roce Ing. Josef Kratina a v druhém roce Ing. Miroslav Fér z Katedry pedologie a ochrany půd České zemědělské univerzity.

Výsledky rozboru půdy lokality 1 z roku 2014 ukázaly určitou rozdílnost půdy z jednotlivých hrobů jak v typologii půdy tak jejích vlastnostech. Půda z první půdní sondy (příloha č. 3) z umístění prvního hrobu je hodnocena jako půdní typ slabě hlinitý písek, půda z druhé sondy (příloha č. 4) z umístění druhého hrobu jako jílnatohlinitý písek a půda z třetí sondy (příloha č. 5) z umístění třetího a čtvrtého hrobu jako hlína. Sondy byly umístěny tak, aby byla prozkoumána půda ze všech částí lokality. U vzorku 3 byl také poměrně výrazně větší podíl nejmenších zrnitostních kategorií, tedy nejmenších půdních částí. I díky tomu byla u sondy 3 větší celková pórovitost, naopak provzdušněnost byla větší u sond 1 a 2 (přílohy č. 3, 4 a 5).

Hodnoty testů pH pro vodu se pohybovaly mezi 6,2 - 7,2 a pro KCl se pohybovaly mezi 5,3 - 6,8 s nejvyšší kyselostí u sondy 3 a s nejnižší u sondy 1. Kompletní přehled hodnot (včetně pH), které byly součástí rozboru půdy pro lokalitu 1 z roku 2014, je zaznamenán v přílohách č. 1 a 2.

Rozbor půdy z lokality 2 z roku 2015 ukázal větší jednotnost půdy v typologii i v jejích vlastnostech. V druhém roce byly vyhodnoceny půdní typy ze všech sond (4, 5, 6) jako hlína jemně písčítá. Umístění sond opět rovnoměrně pokrývalo půdu z místa provádění experimentů. Sonda 4 pochází z oblasti prvního hrobu (příloha č. 8), sonda 5 z oblasti druhého a třetího hrobu (příloha č. 9) a sonda 6 z oblasti čtvrtého hrobu, tak aby byla pokryta půda ze všech částí lokace využitě k experimentům. Uniformitu půdy z lokace ukazují i křivky grafů zrnitostního složení půdy a procentuálního zastoupení jednotlivých velikostních

kategorií částic půdy (přílohy č. 8 a 9). U sondy 6 nebylo možno z technických důvodů sestavit křivku zrnitostního složení.

Hodnoty testů pH pro vodu se pohybovaly v téměř totožných hodnotách, v rozpětí mezi 6,9 - 6,96 s nejnižší hodnotou u sondy 5 a nejvyšší u sondy 4. Pro KCl vyšly hodnoty pH v obdobně úzkém rozpětí 5,2 - 5,27, s nejnižší hodnotou u sondy 6 a nejvyšší u sondy 4. Kompletní přehled hodnot (včetně pH), které byly součástí rozboru půdy pro lokalitu 2 z roku 2015, je zaznamenán v přílohách č. 6 a 7.

5. Výsledky

Zajištěné larvy a puparia byly rozčleněny dle použitých variant experimentů (zvíře zakopané na volno a zvíře zakopané v krabici) a byla určena jejich příslušnost k čeledi, rodu a pokud to bylo možné také ke konkrétnímu druhu.

Z nalezených druhů se zástupci čeledí Calliphoridae a Sarcophagidae dostaly na kadavery během doby, kdy byly kadavery volně exponovány na povrchu. Naproti tomu zástupci čeledi Muscidae se zcela nebo z většiny dostaly na kadaver až po zakopání kadaveru a aktivním prolezení larev půdním profilem.

V následujících výpisech jsou uvedeni nalezení zástupci čeledi Calliphoridae a jejich dosažený vývojový stupeň. Ostatní zajištěné hmyzí druhy jsou uvedeny v tabulce na konci této kapitoly.

5.1 Vyhodnocení pokusů

Rok 2014

Experiment č. 1

U zvířete, které bylo zakopáno volně v půdě, probíhal ještě i určitou dobu po zakopání vývoj zástupců čeledi Calliphoridae. Lze předpokládat, že se na něm nacházela stejná nebo podobná skladba druhů, jako na jedinci zakopaném v krabici. Jako nejodolnější druh na volně loženém zvířeti se ukázal *Calliphora vomitoria*, která byl zjištěn u kadaveru ve stadiu puparia. Další druhy čeledi Calliphoridae (popř. také Sarcophagidae) na těle nebyly nalezeny, neboť uhynuly již dříve a byly patrně rozloženy činností larev čeledi Muscidae.

U zvířete v krabici byl všechen hmyz na těle již v době, kdy došlo k jeho zakopání. Po zakopání se již žádný hmyz nemohl kvůli krabici na tělo dostat (tzn., že zde chybí zástupci čeledi Muscidae). Zástupci čeledí Calliphoridae a Sarcophagidae nalezení v krabici taktéž svůj vývin nedokončili a vzhledem k nepřítomnosti čeledi Muscidae nebyli ani rozloženi (uhynulé larvy byly nalezeny ve všech třech instarech).

Nalezený hmyz

Čeď Calliphoridae

Varianta volně

- hlína nad kadaverem:
- 2 larvy III. instaru *Calliphora vomitoria* (Calliphoridae)

na kadaveru:

- 1 plné uhynulé puparium *Calliphora vomitoria* (Calliphoridae) přibližně v polovině metamorfózy

Varianta v krabici

- 68 uhynulých larev I., II. a III. instaru bzučivek *Calliphora vomitoria*, *Calliphora vicina*, *Lucilia* sp. (Calliphoridae)

Experiment č. 2

U pokusu č. 2 lze vyvodit podobné závěry jako u pokusu č. 1. Opět nedošlo k dokončení vývinu nalezených zástupců čeledi Calliphoridae. U volně zakopaného zvířete opět prokázala největší odolnost *Calliphora vomitoria*, nicméně k dokončení vývoje nedošlo.

V krabici došlo k nálezům larev II. a III. instaru čeledi Calliphoridae, ovšem nedošlo k dokončení vývoje. Stejně tak znovu nedošlo ani k rozložení larev.

Nalezený hmyz

Čeď Calliphoridae

Varianta volně

na kadaveru:

- 4 larvy III. instaru druhu *Calliphora vomitoria* (Calliphoridae)

Varianta v krabici

- 40 uhynulých larev II. a III. instaru druhů *Calliphora vomitoria*, *Calliphora vicina*, *Lucilia* sp. (Calliphoridae)

Experiment č. 3

V pokusu č. 3 nedošlo k nálezům téměř žádného hmyzího materiálu v prostoru nad volně zakopaným kadaverem. Jedním z důvodů, které mohly tuto situaci způsobit, mohl být vliv půdy a jejích charakteristik na kadaver (viz příloha 1).

V krabici byly opět nalezeny larvy čeledi Calliphoridae ve II. a III. instaru a také vajíčka a prázdné vaječné obaly. K dokončení vývoje ovšem nedošlo. Stejně tak nedošlo k rozkladu larev.

Nalezený hmyz

Čeď Calliphoridae

Varianta volně

- Nenalezen žádný materiál

Varianta v krabici

- 73 uhynulých larev II. a III. instaru *Calliphora vicina*, *Lucilia* sp. (Muscidae)
- 21 vajíček a prázdných vaječných obalů čeďi Calliphoridae
- 1 imago druhu *Lucilia caesar* (Muscidae). Plně vyvinutá samička, uhynula po naklazení vajíček na začátku pokusu a poté zůstala na těle

Experiment č. 4

V pokusu č. 4 došlo k nálezům larev II. a III. instaru čeďi Calliphoridae. Larvy nebyly schopny dokončit svůj vývoj. Podobně tak v krabici, došlo k nálezům larev Calliphoridae, a to II. a III. instaru. Ani larvy v krabici ovšem svůj vývoj nedokončily, ani nebyly rozloženy.

Nalezený hmyz

Čeď Calliphoridae

Varianta volně

na kadaveru:

- 13 uhynulých larev II. a III. instaru *Lucilia* sp. (Calliphoridae)
- v hlíně nad kadaverem:
- 68 uhynulých larev III. instaru *Calliphora vicina* a *Lucilia* sp. (Calliphoridae)

Varianta v krabici

v krabici:

- 73 uhynulých larev II. a III. instaru *Calliphora vicina* a *Lucilia* sp. (Calliphoridae)
- v hlíně nad krabicí:
- 42 uhynulých larev III. instaru *Calliphora vicina* a *Lucilia* sp. (Calliphoridae)

V prvních třech případech se nedostaly žádné larvy ani do krabice ani z krabice. Ve čtvrtém případě z důvodu narušení, či ne zcela dokonalé těsnosti u jednotlivých hran krabice došlo k úniku části larev do prostoru půdního profilu nad krabicí.

Rok 2015

Experiment č. 5

Došlo k nálezům několika exemplářů z čeledi Calliphoridae, konkrétně rodu *Lucilia*. Jednalo se o larvy III. instaru, ty tak nedokončily svůj vývoj. Ostatní materiál patřil jiným čeledím, konkrétně se zejména jednalo o rod *Hydrotea*.

Nalezený hmyz

Čeď Calliphoridae

Varianta volně

- Hlína nad tělem:
2 uhynulé larvy III. instaru *Lucilia caesar* (Calliphoridae)

Varianta v krabici

- 5 uhynulých larev III. instaru *Lucilia caesar* (Calliphoridae)

Experiment č. 6

Výsledek obdobný jako v 1. pokusu. Opět se objevily zástupci druhu *Lucilia caesar* a ve větším množství zástupci rodu *Hydrotea*.

Nalezený hmyz

Čeď Calliphoridae

Varianta volně

Hlína nad tělem:

- 2 prázdná puparia *Lucilia caesar* (Calliphoridae)

Varianta v krabici

- v hlíně nad krabicí: 1 plné a 1 prázdné puparium *Lucilia caesar* (Calliphoridae)

Experiment č. 7

Opět byli přítomni zástupci rodu *Lucilia*. Tento experiment byl opět výsledkově obdobný, jako předcházející opakování.

Nalezený hmyz

Čeľad' Calliphoridae

Varianta volně

na kadaveru:

- 2 uhynulé larvy III. instaru *Lucilia caesar* (Calliphoridae)
- hlína nad kadaverem:
- 4 uhynulé larvy III. instaru *Lucilia caesar* (Calliphoridae)
 - 1 prázdné puparium *Lucilia caesar* (Calliphoridae)

Varianta v krabici

v krabici:

- 1 uhynulá larva II. instaru bzučivky *Lucilia cf. Caesar* (Calliphoridae)
 - 4 uhynulé larvy III. instaru bzučivky *Lucilia caesar* (Calliphoridae)
- v hlíně nad krabicí:
- 1 plné a 2 prázdná puparia bzučivky *Lucilia caesar* (Calliphoridae)

Experiment č. 8

I v posledním experimentu druhého roku se objevili z čeledi Calliphoridae zástupci stejného druhu z rodu *Lucilia*.

Nalezený hmyz

Čeľad' Calliphoridae

Varianta volně

hlína nad kadaverem:

- 3 plná puparia bzučivky *Lucilia caesar* (Calliphoridae)

Varianta v krabici

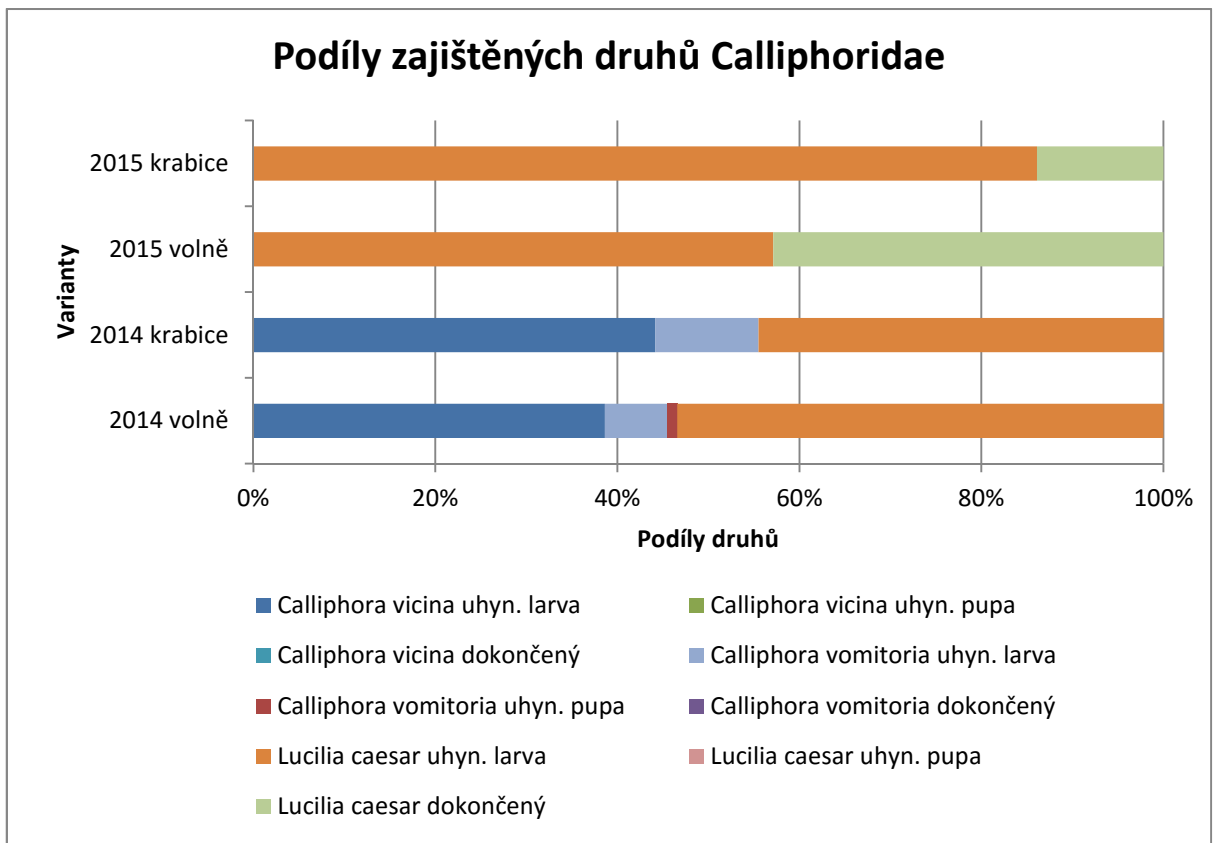
v krabici:

- 17 uhynulých larev II. instaru *Lucilia cf. caesar* (Calliphoridae)
- 4 uhynulé larvy III. instaru *Lucilia caesar* (Calliphoridae)

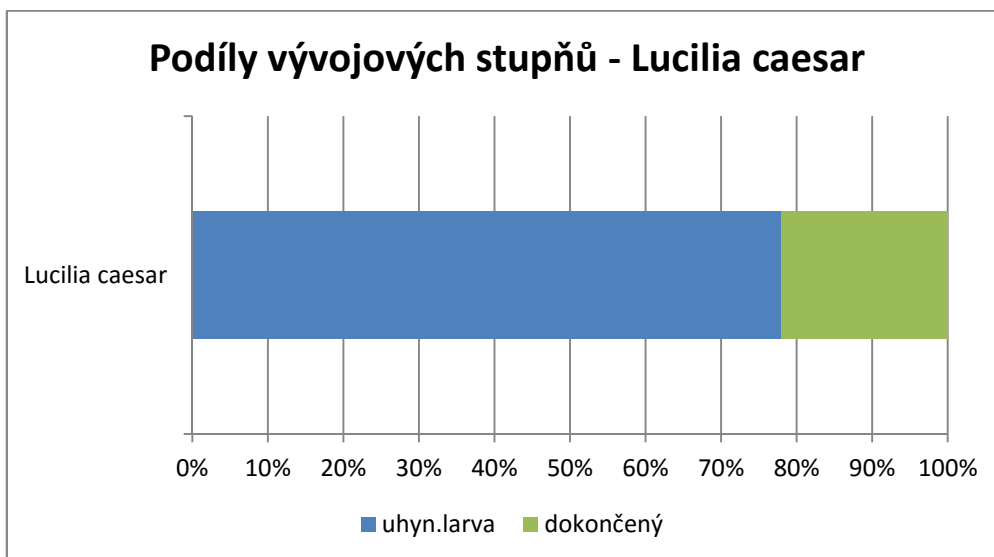
Díky nemožnosti zajistit stoprocentní nepropustnost krabice a deštivějšímu počasí ve sledovaném období došlo v experimentech k částečnému úniku larev z krabic.

V tomto roce se objevili zástupci *Rhagoletis cerasi* (Tephritidae, Diptera), tedy druhu vrtule třešňová. Tato přítomnost nebyla hodnocena statisticky, neboť v přímém sousedství

Graf č. 1: Druhové zastoupení jedinců v jednotlivých variantách za oba roky [%]



Graf č. 2: Podíly vývojových stupňů u druhů s dokončeným vývojovým cyklem – 2. rok



Ve druhém roce došlo k nalezení jedinců schopných dokončit celý vývin, všichni patřili k druhu *Lucilia caesar*. Z celkového počtu nalezených jedinců ($n = 50$) jich 39 uhynulo ve stadiu larvy (78 %) a 11 jich bylo schopno vývoj dokončit (plná živá a prázdná puparia; 22 %). Ve stadiu uhynulé pupy nebyl nalezen žádný z jedinců.

6. Diskuze

Podle dosavadních poznatků, se druhy čeledi Calliphoridae standardně na rozkladu zakopaných těl nepodílí. Dospělci této čeledi nejsou schopni překonat bariéru v podobě půdního profilu nad tělem, přičemž stačí i několik centimetrů zeminy, aby se mouchy čeledi Calliphoridae již nebyly schopné dostat na tělo. Dokáží to pouze čerstvě vylíhlí jedinci do 48 hodin po vylíhnutí. Nalezení většího množství larev much z čeledi Calliphoridae tak poukazuje na dodatečné zakopání předmětného těla (Bourel et al., 2004; Byrd a Castner, 2010; Gunn a Bird, 2011).

Základní hypotézou práce bylo, že mouchy čeledi Calliphoridae nebudou schopny dokončit svůj vývoj na kadaveru, který bude dodatečně zakopán a to ani na variantě, kdy je kadaver umístěn v krabici a je tak okolo něj vzduchová kapsa. Naše výsledky tyto hypotézy zcela nepotvrdily. V prvním roce experimentů nebyla nalezena žádná prázdná či živá puparia čeledi Calliphoridae, která by mohla poukazovat na dokončený kompletní vývin. Byly nalezeny pouze uhynulé larvy II. a III. instaru, a to v obou variantách, které indikují pokračující vývin po zakopání, ale současně neschopnost zastoupených druhů jej dokončit. V jednom případě došlo také k nalezení plného uhnilého puparia, v dalším potom prázdných vaječných obalů (zde se jednalo o variantu v krabici).

I ve druhém roce experimentů byla situace obdobná, zde již ovšem došlo k nálezům plných živých i prázdných puparií s dokončeným vývinem. Všechna uvedená puparia náležela druhu *Lucilia caesar*. Opět ovšem převládaly uhynulé larvy II. a III. instaru, v obou experimentálních variantách. Puparia, která poukazují na možnost dokončit vývin, byla nalezena ve variantě volně zakopaného těla i ve variantě těla zakopaného v krabici.

Pokud se podíváme na úspěšnost jednotlivých druhů, pak v prvním roce evidujeme jako nejvyšší vývojový stupeň pouze larvy II. a III. instaru druhů *Lucilia caesar*, *Calliphora vomitoria* a *Calliphora vicina*. Ve druhém roce se objevoval pouze druh *Lucilia caesar* a bylo nalezeno několik plných a prázdných puparií indikujících schopnost dokončit vývin. Při pohledu na jednotlivé varianty se ovšem neukázalo, že by měla na tento vývin zásadní vliv vzduchová kapsa okolo kadaveru.

Pro forezní praxi se ukazuje významné zjištění, že při dodatečném zakopání larev u volně zakopaných těl (tzn. larvy mají přímý kontakt se zemínou) může nastat degradace larev. To by znamenalo, že po nějaké době nemusí být možné dokázat, že samotné tělo bylo

zakopáno dodatečně (již s nakladenými vajíčky či vylíhlymi larvami), protože uhynulé larvy čeledi Calliphoridae (popř. Sarcophagidae) a jejich zbytky nemusí být v hrobě vůbec nalezeny.

Ve vývinu larev po dodatečném zakopání tak hraje svou roli vliv zeminy, zejména její vlastnosti. V našich experimentech byly pozorovány případy jak dokončeného vývinu larev, tak larev, které vývin nedokončily. V prvním roce nebyla schopnost zástupců čeledi Calliphoridae dokončit vývin potvrzena, ve druhém roce k dokončení vývinu došlo. Hodnoty pH pro H₂O a KCl se mezi jednotlivými lokalitami nijak zásadně nelišily, proto lze usuzovat, že tento faktor neměl na dokončení vývinu významný vliv. Výraznější rozdíl bylo možno zaznamenat u složení půdy. V prvním experimentálním roce, byla půda z hrobů hodnocena jako typy hlína, jílnatohlinitý písek a slabě hlinitý písek s výrazně vyšším podílem větších půdních částic oproti druhému roku (přílohy č. 3, 4, 5). Ve druhém experimentálním roce se jednalo o typ jemněpísčité hlína s dominantním zastoupením v nejmenších, jílnatých půdních částech (přílohy č. 8, 9). V druhém experimentálním roce tak měla půda větší stupeň provzdušněnosti a tím také větší obsah kyslíku oproti roku prvnímu. Tento fakt mohl dopomoci ke kompletnímu dokončení vývinu zaznamenaného u druhu *Lucilia casear*.

V úspěšnosti dokončení vývinu jistě hraje roli také doba uplynulá od smrti jedince do zakopání jeho těla. Pokud jsou jedinci zakopáni v pozdějších fázích vývinu (s larvami v II. a III. instaru), je pravděpodobnost dokončení vývojového cyklu vyšší, než při zakopání ve stadiu vajíček či larev I. instaru. Z vnějších vlivů je důležitý vliv okolního podnebí a jeho průběh (Balme et al., 2012).

Výsledky experimentů této práce jsou ve většině v souladu s dosavadními poznatky publikovanými v literatuře, byť studií, které by se zabývaly schopností much či jejich larev přežít a vyvíjet se v zemi při pohřbení, či ve srovnatelných podmínkách není v současnosti mnoho. V našich experimentech se zcela nepotvrdila schopnost larev z čeledi Calliphoridae dokončit vývin při dodatečném zakopání. Pokud tuto skutečnost porovnáme s literaturou, Gunn a Bird (2011) podotýkají, že dle jejich výsledků je tento vývin možný, pokud mají larvy dostatečné množství substrátu, na kterém se krmí a vyvíjejí. Larvy obecně, i ty, kterým se podařilo dokončit vývin, od kadaveru odlézaly vertikálním směrem k povrchu, pod nímž se kuklily. To bylo možno pozorovat i ve všech našich experimentech. Uvedené výsledky odpovídají pozorování dalších autorů, kteří zmiňují přítomnost puparií v půdním profilu nad tělem (Fremdt a Amendt, 2014; Gunn a Bird, 2011).

Gunn a Bird (2011) zároveň poukazují na hloubku kuklení larev a její závislost na hloubce zakopání těla. Zmiňují, že larvy, které neprošly dodatečným zakopáním, se kuklily nejčastěji 2 - 4 cm pod půdním povrchem, kdežto larvy, které byly zakopány (v tomto experimentu v 10 a 20 cm pod půdním povrchem), se kuklily řádově o několik centimetrů níže. I zde ale bylo možno nalézt puparia těsně pod povrchem, především u rodu *Lucilia*. V našich experimentech bylo možné najít plná i prázdná puparia v celých 30 cm půdního profilu.

V současnosti také panuje přesvědčení, že dospělé mouchy čeledi Calliphoridae, se nejsou schopny vlastními silami dostat k zakopanému tělu (Bourel et al., 2004). Gunn a Bird (2011) nicméně zmiňují částečnou schopnost larev se na tělo dostat z půdního povrchu, ovšem pouze pokud nad tělem je zemina nějakým stylem narušená, a pouze v omezeném množství. Na toto téma by jistě mohly vzniknout další experimenty potvrzující či vyvracející tyto teorie.

Problematika vývoje nekrofágních much na pohřbeném těle, především čeledi Calliphoridae, zůstává stále nedokonale popsána. Naše výsledky ukazují možnost dokončení vývinu na zakopaném těle, nicméně je zřejmé, že je třeba provést další studie, např. na bližší poznání chemických a dalších vlastností půdy na vývin larev.

7. Závěr

Práce měla pomoci ukázat, zdali jsou mouchy čeledi Calliphoridae schopny prodělat kompletní vývoj od vajíčka po dospělého jedince na kadaveru, který je zakopán dodatečně po zaklazení kadaveru.

V prvním roce experimentů bylo zjištěno, že vývin pod zemí nadále pokračoval, přesto nebyli nalezeni žádní jedinci čeledi Calliphoridae, kteří by dokončili celý vývojový cyklus. V druhém roce bylo nalezeno několik jedinců *Lucilia caesar*, kteří prodělali kompletně celý vývin. Tito jedinci byli nalezeni ve variantě volně loženého zvířete i ve variantě zvířete uloženého v krabici.

Příčinu úspěšného dokončení vývinu lze hledat ve složení půdy v druhém experimentálním roce. Ve druhém experimentálním roce se jednalo o typ půdy s dominantním zastoupením v nejmenších půdních částech. Půda tak měla větší stupeň provzdušnosti a tím také větší obsah kyslíku oproti roku prvnímu. To mohlo dopomoci ke kompletnímu dokončení vývinu zaznamenaného u druhu *Lucilia caesar*.

Nález většího množství jedinců čeledi Calliphoridae s kompletně prodělaným vývinem ukazuje na fakt, že tělo bylo dodatečně zakopáno, ale nemůže sám o sobě říci, kdy k této skutečnosti došlo.

Naše výsledky tak ukázaly, že kompletní vývin na zakopaném kadaveru je možný, ovšem pravděpodobně za určitých, vhodných podmínek z pohledu podnebí a také vlastností půdy, a to takových, které nevykazují v důležitých vlastnostech nestandardní hodnoty. Vždy je proto potřeba brát tyto ukazatele v potaz.

8. Seznam literatury

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

Amendt, J., Richards, C. S., Campobasso, C. P., Zehner, R., Hall, M. J. R. 2011. Forensic entomology: applications and limitations. *Forensic science, medicine and pathology*. 7 (4). 379 - 392.

Balme, G. R., Denning, S. S., Cammack, J.A., Watson, D.W. 2012. Blow flies (Diptera: Calliphoridae) survive burial: Evidence of ascending vertical dispersal. *Forensic Science International*, 216 (1 - 3). 1 - 4

Bassanezi R.C., Leite M.B.F., Godoy W.A.C., Von Zuben C.J., Von Zuben F.J. dos Reis S.F. 1997. Diffusion Model Applied to Postfeeding Larval Dispersal in Blowflies (Diptera: Calliphoridae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*. 92 (2). 281 - 286

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

Benecke, M. 2004. Forensic entomology: Arthropods and Corpses. *Forensic pathology reviews* (2).

Bourel B., Tournel G., Hédouin V. Gosset D. 2004. Entomofauna of buried bodies in northern France. *International Journal of Legal Medicine*. 118. 215 - 220

Brown, K., Thorne, A., Harvey, M. 2012. Preservation of *Calliphora vicina* (Diptera: Calliphoridae) pupae for use in post-mortem interval estimation. *Forensic science international*. 223 (1 - 3). 176 - 183.

Byrd, J. H., Castner, J. L. 2010. *Forensic entomology: The utility of Arthropods in legal investigations*. Second edition. CRC press. Boca raton. 681s. ISBN.:9780849382153

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

Carvalho, L. M. L., Thyssen, P. J., Goff, M. L., Linhares, A. X. 2004. Observations on the succession patterns of necrophagous insects on a pig carcass in an urban area of southeastern Brazil. *Aggrawal's Internet Journal of Forensic Medicine and Toxicology*. 5 (1). 33 - 39.

Daněk L. 1990. Možnosti využití entomologie v kriminalistice. *Kriminalistický ústav VB. Praha*. 1 - 144.

Doums, C., Myskowiak, J. B. 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 Science International*. 125 (2 - 3). 254 - 261.

Elišová, H. a Šuláková, H. 2012. Forezní biologie. In: Štefan, J., Hladík, J. a kol. *Soudní lékařství a jeho moderní trendy*. Grada Publishing. Praha. 281-325. ISBN: 978-80-247-3594-8

Fremdt, H., Amendt, J. 2014. Species composition of forensically important blow flies (Diptera: Calliphoridae) and flesh flies (Diptera: Sarcophagidae) through space and time. *Forensic science international*. 236. 1 - 9.

Gomes, L., Von Zunben, C. J. 2005. Postfeeding radial dispersal in larvae of *Chrysomya albiceps* (Diptera: Calliphoridae): implications for forensic entomology. *Forensic Science International*. 155 (1). 61 - 64

Grassberger M., Frank C. 2004. Initial Study of Arthropod Succession on Pig Carrion in a Central European Urban Habitat. *Journal of Medicine Entomology*. 41(3). 511 - 523

Gunn, A., Bird, J. 2011. The ability of the blowflies *Calliphora vomitoria* (Linnaeus), *Calliphora vicina* (Rob-Desvoidy) and *Lucilia sericata* (Meigen) (Diptera: Calliphoridae) and the muscid flies *Muscina stabulans* (Fallén) and *Muscina prolapsa* (Harris) (Diptera: Muscidae) to colonise buried remains. *Forensic science international*. 207 (1 - 3). 198 - 204.

Heaton, V. 2014. Quantifying the Temperature of Maggot Masses and its Relationship to Decomposition. *Journal of Forensic sciences*. 59 (3). 676 - 682.

Johnson, A. P., Wallman, J. F. 2014. Effect of massing on larval growth rate. *Forensic science international*. 241. 141 - 149.

Klotzbach, H., Krettek, R., Bratzke, H., Püschel, K., Zehner, R., Amendt, J. 2004. The history of forensic entomology in German-speaking countries. *Forensic Science International*. 144. 259 - 263.

Laupy, M. 1994. Post mortem interval a nekrofilní mouchy. *Kriminalistika*, 27 (2). 121 - 135.

Leccese, A. 2004. Insects as forensic indicators: methodological aspects. *Aggrawal's Internet Journal of Forensic Medicine and Toxicology*. 5 (1). 26 - 32.

Martínez - Sánchez, A., Rojo, S., Marcos - García, A. 2000. Annual and spatial activity of dung flies and carrion in a Mediterranean holm-oak pasture ecosystem. *Medical and Veterinary entomology*. 14 (1). 56 - 63.

Niederegger, S., Pastuschek, J., Mall, G. 2010. Preliminary studies of the influence of fluctuating temperatures on the development of various forensically relevant flies. *Forensic Science International*. 199 (1 - 3). 72 - 78

Niederegger, S., Wartenberg, N., Spiess, R., Mall, G. 2013. Influence of food substrates on the development of the blowflies *Calliphora vicina* and *Calliphora vomitoria* (Diptera, Calliphoridae). *Parasitology research*.

Obenberger, J. 1964. *Entomologie V. XXVIII. řád Trcihoptera, XXIX. řád Lepidoptera, XXX. řád Diptera*. Československá akademie věd, Praha. 776 s.

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

Perez, A.E., Haskell, N.H., Wells, J.D. 2014. Evaluating the utility of hexapod species for calculating a confidence interval about a succession based postmortem interval estimate. *Forensic science international*. 241. 91 - 95.

Simmons, T., Cross, P. A., Adlam, R.E., Moffatt, C. 2010. The Influence of Insects on Decomposition Rate in Buried and Surface Remains. *Journal of Forensic sciences*. 55 (4). 889 – 892.

Šuláková, H. a Barták, M. 2013. Forensically important Calliphoridae (Diptera) associated with animal and human decomposition in the Czech Republic: preliminary results. Čas. Slez. Muz. Opava (A). 62. 255 - 266

Šuláková H., Rognes 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., Gregor F., Ježek, J., Tkoč, M. 2014b. Nová invaze do našich obcí a měst: koutule *Clogmia albipunctata* a problematika myiáz. Časopis Živa 1/2014. Praha. s29.

Turner B., Wiltshire P. 1999. Experimental validation of forensic evidence: a study of the decomposition of buried pigs in a heavy clay soil. Forensic Science International. 101. 113 - 122

Elektronické zdroje:

Bullington, S. W. 2008. Blow Flies: Their life cycle and where to look for the various stages. [online]. Dostupné z <<http://www.forensic-ent.com/>>.

Byrd, J. H. 2013. Information about the development and appearance of some common forensically important insects. [online]. Dostupné z <<http://www.forensicentomology.com>>

Kubík Š., Országh I. 2009. Calliphoridae Brauer & Bergenstamm, 1880. In: Jedlička L., Kúdela M. a Stloukalová V. (eds): Checklist of Diptera of the Czech Republic and Slovakia. Electronic version 2. <<http://zoology.fns.uniba.sk/diptera2009>> Accessed 15. 1. 2014

Rognes K. 2013: Fauna Europaea: Calliphoridae In: PAPE T. (ed.): Fauna Europaea: Diptera, Brachycera. Fauna Europaea version 2.6.2. <<http://www.faunaeur.org>>. Most data not changed since 2010. Accessed 15. 1. 2014.

9. Přílohy

Příloha č. 1: Hodnoty pH půdy v roce 2014

Číslo vzorku/Látka	H ₂ O	KCl
1	7,18	6,78
2	6,69	6,30
3	6,28	5,30

Příloha č. 2: Výsledky rozboru půdy v roce 2014

			1	2	3
G_V	g	Hmotnost Kopeckého válečku	95,01	93,11	97,1
G_S	g	Hmotnost hodinového sklíčka	20,04	19,7	19,74
G_A	g	Hmotnost vzorku s přirozenou vlhkostí	280,39	282,05	295,09
G_B	g	Hmotnost vzorku kapilárně nasyceného	283,98	282,49	298,1
G_C	g	Hmotnost vzorku po 30 min. odsávání	281,7	281,41	296,95
G_D	g	Hmotnost vzorku po 2 hod. odsávání	280,94	281,12	296,41
G_E	g	Hmotnost vzorku po 24 hod. odsávání	278,08	278,4	293,33
G_F	g	Hmotnost vzorku při vysušení při 105°C	241,11	236,92	259,4
G_H	g	Hmotnost vzorku po vysušení při teplotě 105°C $G_H = G_F - (G_V + G_S)$	126,06	124,11	142,56
θ_{mom}	% obj.	Momentální vlhkost (G _A - G _F)	39,28	45,13	35,69
θ_{ns}	% obj.	Nasáklivost (G _B - G _F)	42,87	45,57	38,7
θ₃₀	% obj.	Vlhkost 30-minutová (G _C - G _F)	40,59	44,49	37,55
θ_{MKK}	% obj.	Max.kap. Vodní kapacita (G _D - G _F)	39,83	44,2	37,01
θ_{RVK}	% obj.	Retenční vodní kapacita (G _E - G _F)	36,97	41,48	33,93
V_s	cm ³	Objem Kopeckého válečku	100	100	100
ρ_z	(g.cm ⁻³)	Specifická hmotnost	2,35	2,30	2,35
ρ_d	(g.cm ⁻³)	Objemová hmotnost (G _H / V _S)	1,26	1,24	1,43
P	% obj.	Pórovitost celková (ρ _z - ρ _d) 100 / ρ _z	46,29	46,13	39,41
P_k	% obj.	Pórovitost kapilární (θ _{RVK})	36,97	41,48	33,93
P_s	% obj.	Pórovitost semikapilární (θ ₃₀ - θ _{RVK24})	3,62	3,01	3,62
P_n	% obj.	Pórovitost nekapilární (P - θ ₃₀)	5,70	1,64	1,86
V_z	% obj.	Provdzdušněnost (P - θ _{mom})	7,01	1,00	3,72

Příloha č. 3: Druh a zrnitostní kategorie půdy, rok 2014 (sonda č. 1)

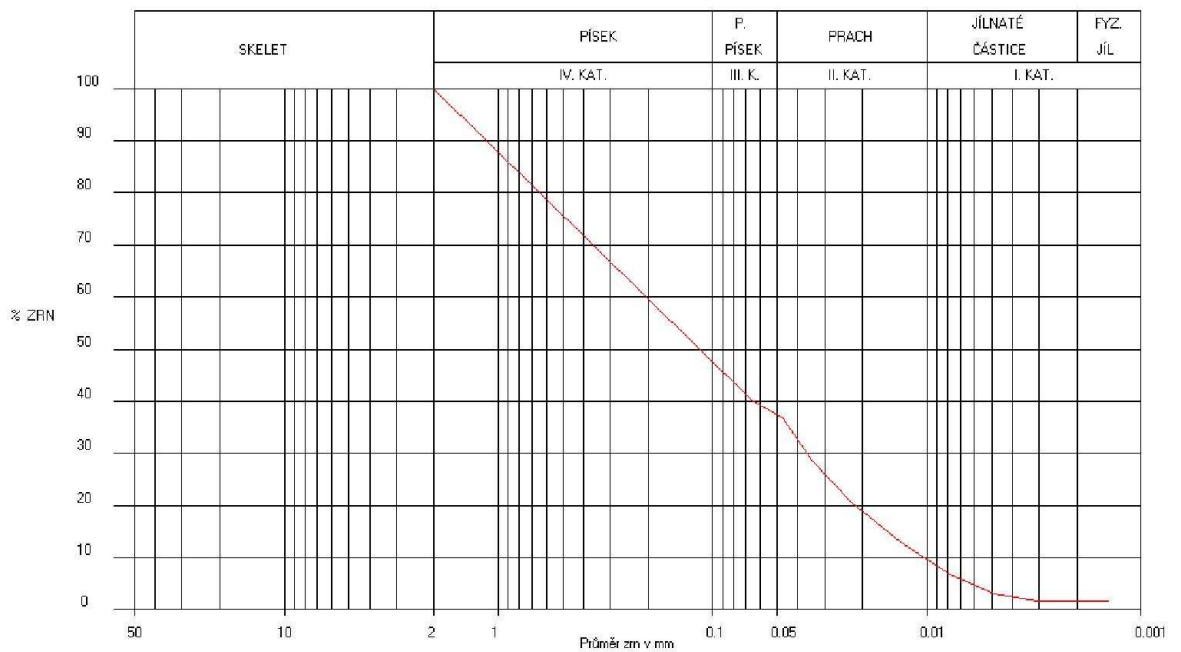
Zrnitostní čára

Půdní druh: Písek slabě hlinitý

Číslo sondy: 1

Zrnitostní kategorie:

< 0,002 mm (fyz. jíł)	1,69 %
< 0,01 mm (I. kat.)	9,58 %
0,01 – 0,05 mm (II. kat)	27,73 %
0,05 – 0,1 mm (III. kat)	10,25 %
0,1 – 2 mm (IV. kat.)	52,42 %



Příloha č. 4: Druh a zrnitostní kategorie půdy, rok 2014 (sonda č. 2)

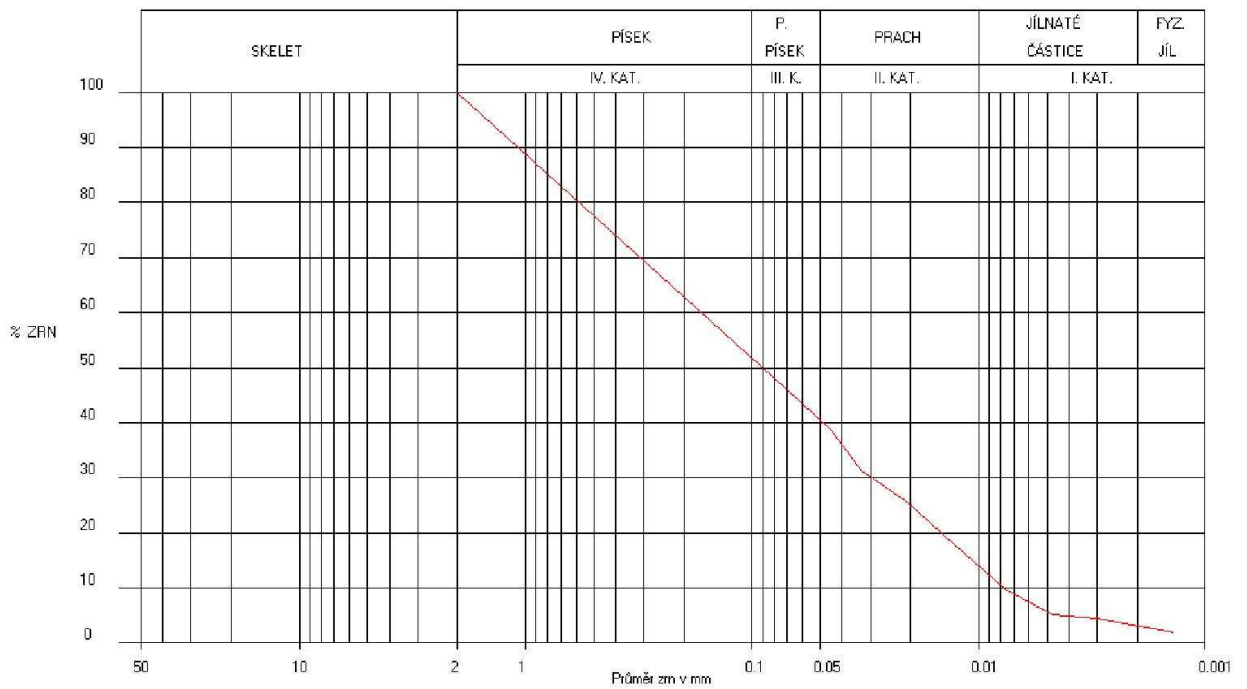
Zrnitostní čára

Půdní druh: Písek jílnatohlinitý

Zrnitostní kategorie:

Číslo sondy: 2

< 0,002 mm (fyz. jííl)	3,12 %
< 0,01 mm (I. kat.)	14,04 %
0,01 – 0,05 mm (II. kat)	26,34 %
0,05 – 0,1 mm (III. kat)	11,30 %
0,1 – 2 mm (IV. kat.)	48,30 %



Příloha č. 5: Druh a zrnitostní kategorie půdy, rok 2014 (sonda č. 3)

Zrnitostní čára

Půdní druh: Hlína

Číslo sondy: 3

Zrnitostní kategorie:

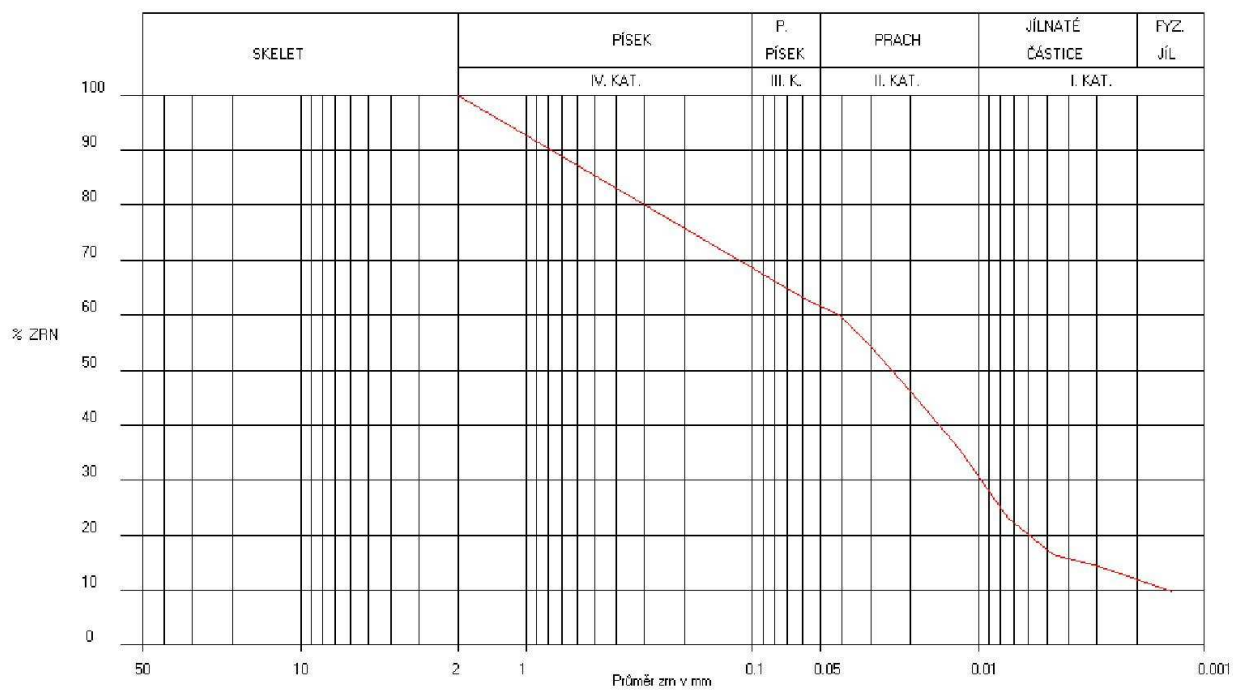
< 0,002 mm (fyz. jíl) 11,90 %

< 0,01 mm (I. kat.) 30,65 %

0,01 – 0,05 mm (II. kat.) 30,95 %

0,05 – 0,1 mm (III. kat.) 7,03 %

0,1 – 2 mm (IV. kat.) 31,35 %



Příloha č. 6: Hodnoty pH půdy v roce 2015

Číslo vzorku/Látka	H ₂ O	KCl
1	6,96	5,27
2	6,90	5,23
3	6,95	5,20

Příloha č. 7: Výsledky rozboru půdy v roce 2015

			4	5	6
G_V	g	Hmotnost Kopeckého válečku	95,01	93,11	97,1
G_S	g	Hmotnost hodinového sklíčka	20,04	19,7	19,74
G_A	g	Hmotnost vzorku s přirozenou vlhkostí	280,39	282,05	295,09
G_B	g	Hmotnost vzorku kapilárně nasyceného	283,98	282,49	298,1
G_C	g	Hmotnost vzorku po 30 min. odsávání	281,7	281,41	296,95
G_D	g	Hmotnost vzorku po 2 hod. odsávání	280,94	281,12	296,41
G_E	g	Hmotnost vzorku po 24 hod. odsávání	278,08	278,4	293,33
G_F	g	Hmotnost vzorku při vysušení při 105°C	241,11	236,92	259,4
G_H	g	Hmotnost vzorku po vysušení při teplotě 105°C $G_H = G_F - (G_V + G_S)$	126,06	124,11	142,56
θ_{mom}	% obj.	Momentální vlhkost (G _A - G _F)	39,28	45,13	35,69
θ_{ns}	% obj.	Nasáklivost (G _B - G _F)	42,87	45,57	38,7
θ₃₀	% obj.	Vlhkost 30-minutová (G _C - G _F)	40,59	44,49	37,55
θ_{MKK}	% obj.	Max.kap. Vodní kapacita (G _D - G _F)	39,83	44,2	37,01
θ_{RVK}	% obj.	Retenční vodní kapacita (G _E - G _F)	36,97	41,48	33,93
V_s	cm ³	Objem Kopeckého válečku	100	100	100
ρ_z	(g.cm ⁻³)	Specifická hmotnost	2,35	2,30	2,35
ρ_d	(g.cm ⁻³)	Objemová hmotnost (G _H / V _S)	1,26	1,24	1,43
P	% obj.	Pórovitost celková (ρ _z - ρ _d) 100 / ρ _z	46,29	46,13	39,41
P_k	% obj.	Pórovitost kapilární (θ _{RVK})	36,97	41,48	33,93
P_s	% obj.	Pórovitost semikapilární (θ ₃₀ - θ _{RVK24})	3,62	3,01	3,62
P_n	% obj.	Pórovitost nekapilární (P - θ ₃₀)	5,70	1,64	1,86
V _z	% obj.	Provdzdušněnost (P - θ _{mom})	7,01	1,00	3,72

Příloha č. 8: Druh a zrnitostní kategorie půdy, rok 2015 (sonda č. 4)

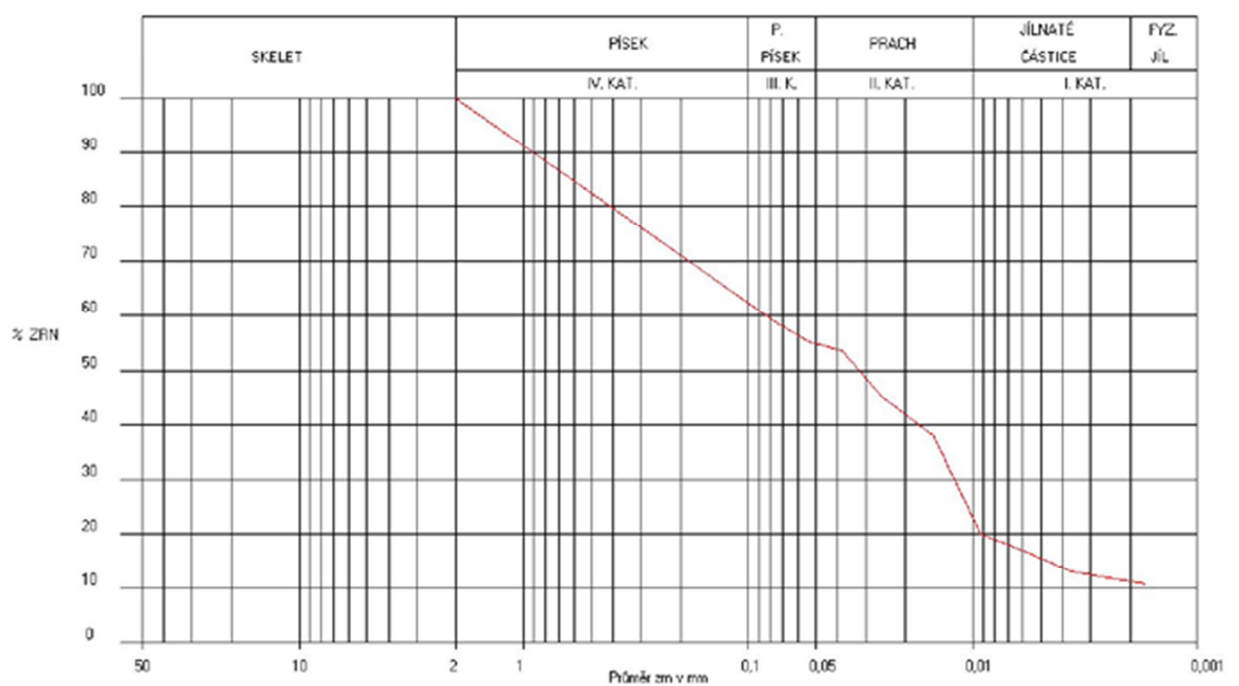
Zrnitostní čára

Půdní druh: Hlína jemněpísčítá

Zrnitostní kategorie:

Číslo sondy: 4

< 0,002 mm (fyz. jíł)	11,06 %
< 0,01 mm (I. kat.)	23,08 %
0,01 – 0,05 mm (II. kat.)	31,84 %
0,05 – 0,1 mm (III. kat.)	7,48 %
0,1 – 2 mm (IV. Kat.)	37,58 %



Příloha č. 9: Druh a zrnitostní kategorie půdy, rok 2015 (sonda č. 6)

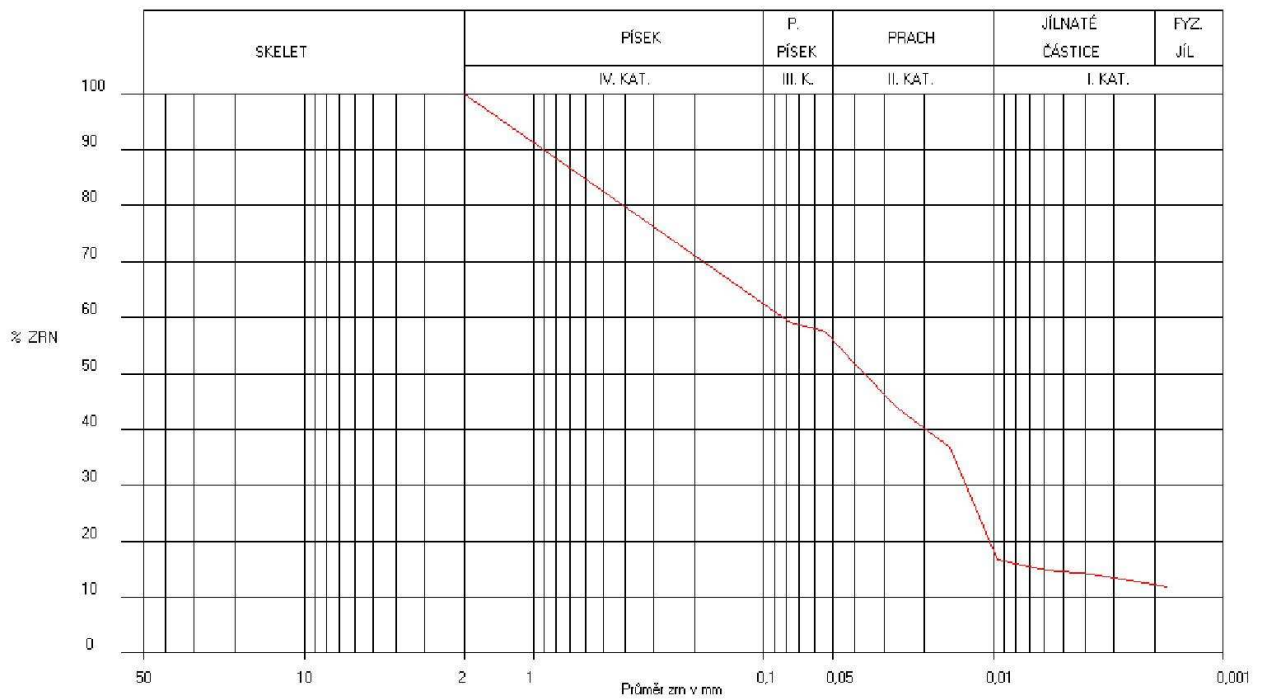
Zrnitostní čára

Půdní druh: Hlína jemněpísčítá

Zrnitostní kategorie:

Číslo sondy: 6

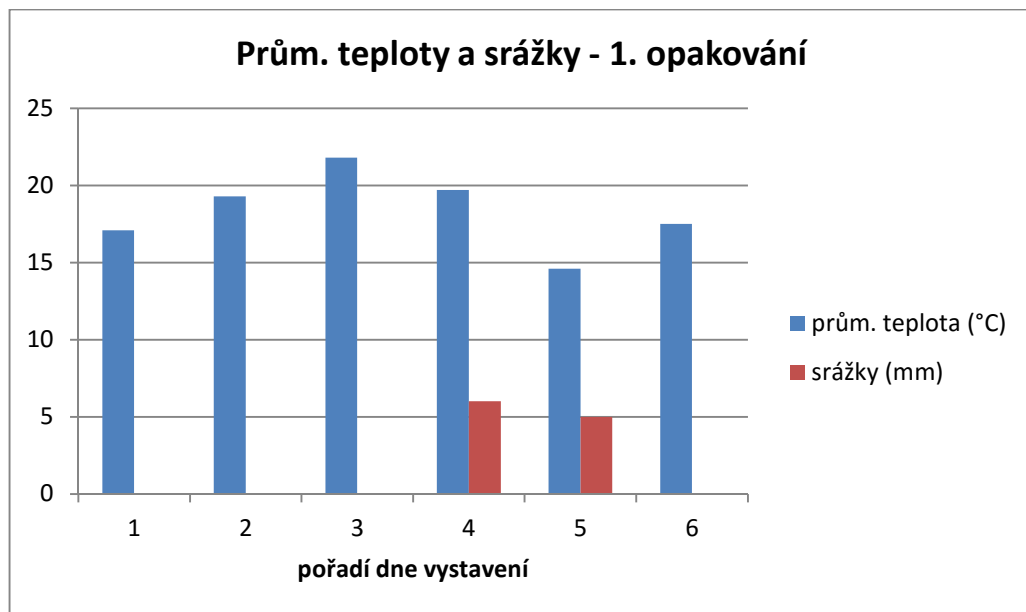
< 0,002 mm (fyz. jíł)	12,18 %
< 0,01 mm (I. kat.)	18,49 %
0,01 – 0,05 mm (II. kat.)	37,34 %
0,05 – 0,1 mm (III. kat.)	6,72 %
0,1 – 2 mm (IV. Kat.)	37,42 %



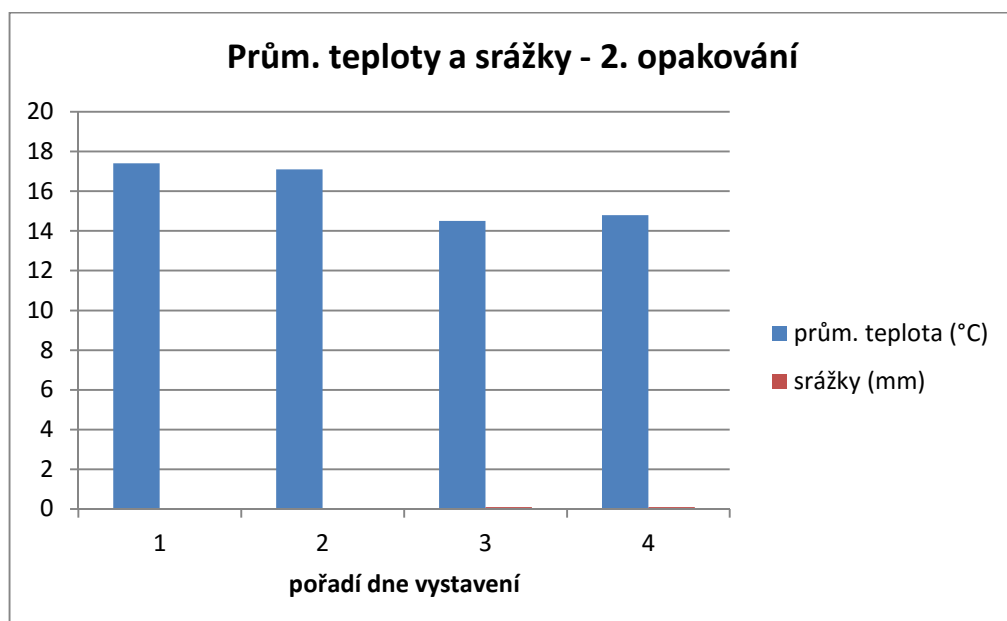
Příloha č. 10: Průměrné denní teploty a denní srážky – vystavení kadaverů

V grafech 1 – 4 jsou znázorněny průměrné denní teploty a denní srážky pro jednotlivé dny, po které byly kadavery vystaveny před svým zakopáním (1. experimentální rok).

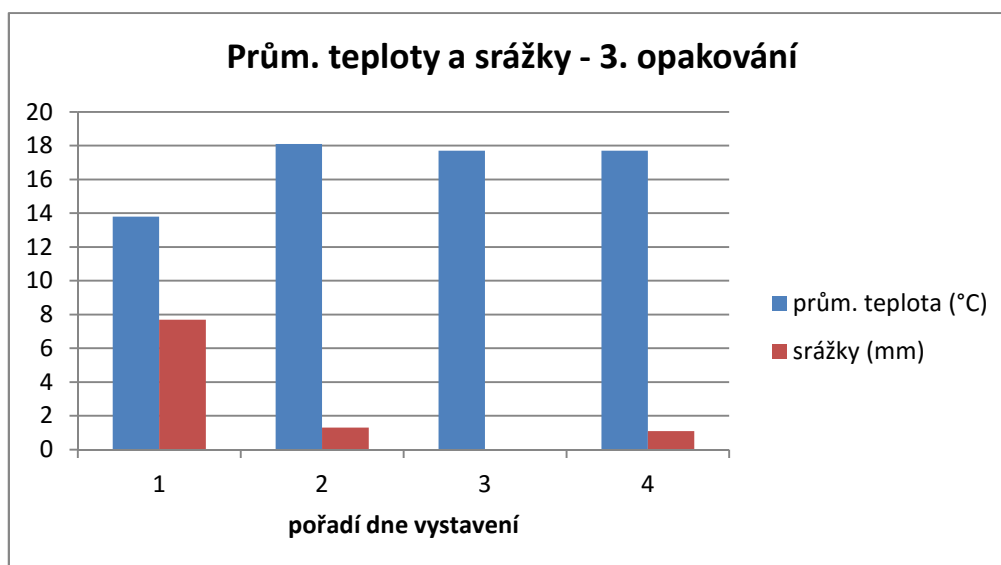
Graf 1: Průměrné denní teploty a denní srážky v době vystavení – 1. opakování
[°C/dny]



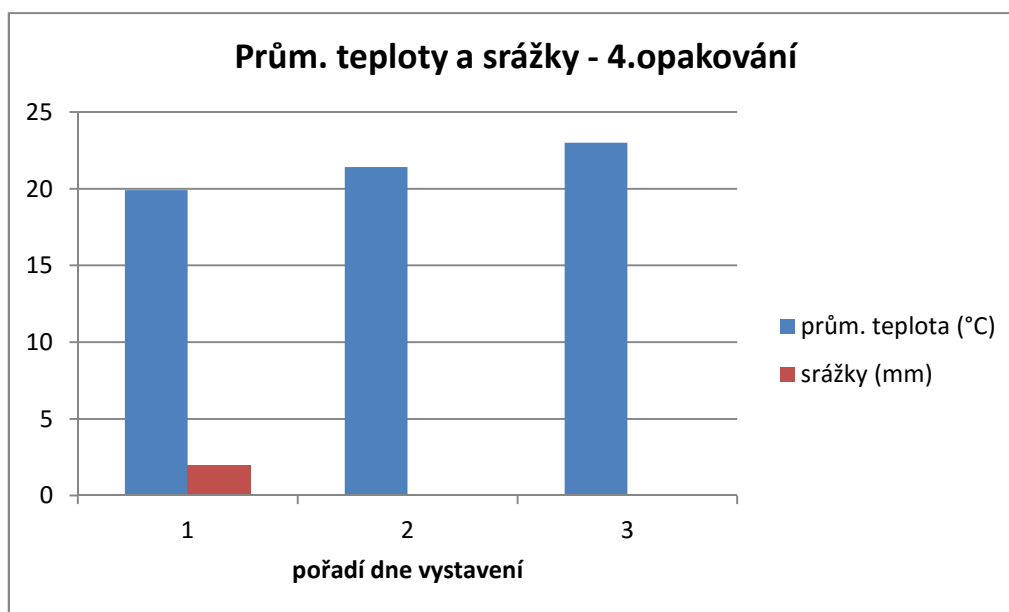
Graf 2: Průměrné denní teploty a denní srážky v době vystavení – 2. opakování
[°C/dny]



Graf 3: Průměrné denní teploty a denní srážky v době vystavení – 3. opakování [°C/dny]



Graf 4: Průměrné denní teploty a denní srážky v době vystavení – 4. opakování [°C/dny]

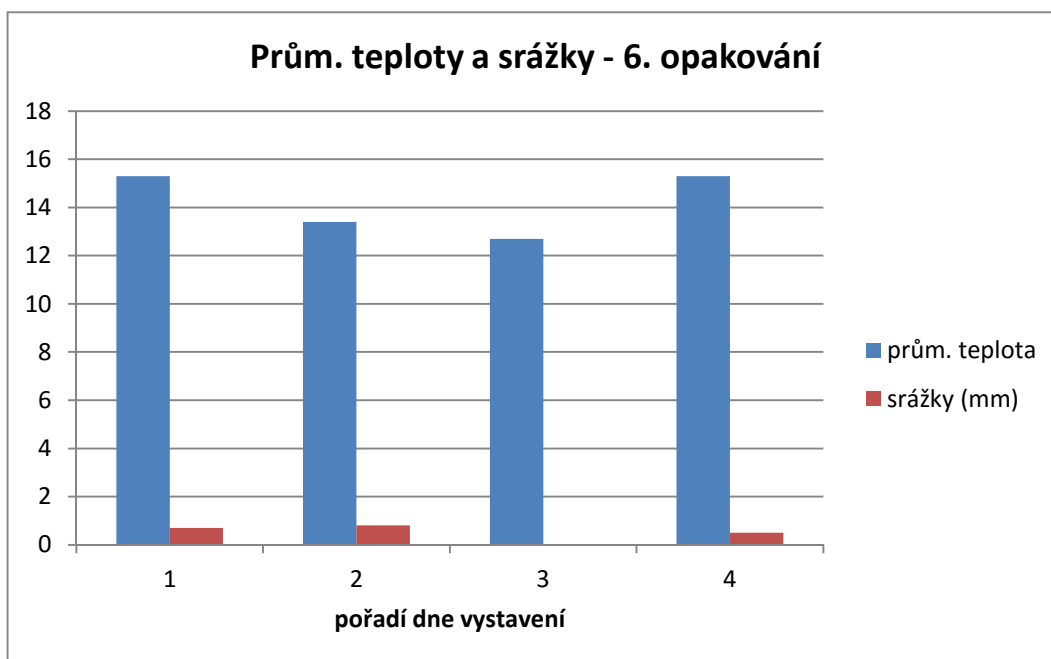


V grafech 5 – 8 jsou znázorněny průměrné denní teploty a denní srážky pro jednotlivé dny, po které byly kadavery vystaveny před svým zakopáním (2. experimentální rok).

Graf 5: průměrné denní teploty a denní srážky v době vystavení – 5. opakování [$^{\circ}\text{C}/\text{dny}$]



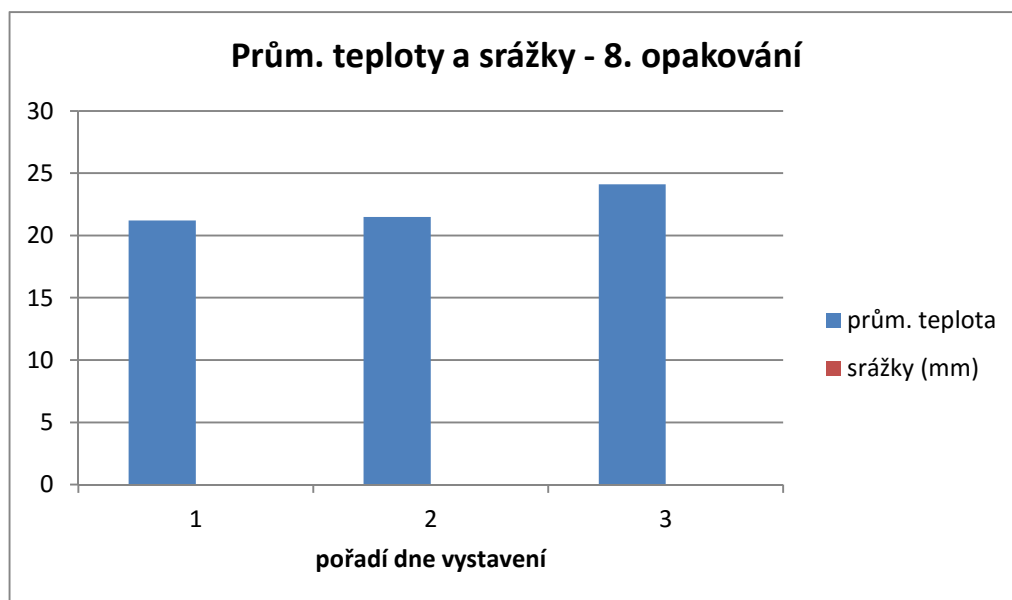
Graf 6: průměrné denní teploty a denní srážky v době vystavení – 6. opakování [$^{\circ}\text{C}/\text{dny}$]



Graf 7: průměrné denní teploty a denní srážky v době vystavení – 7. opakování [°C/dny]



Graf 8: průměrné denní teploty a denní srážky v době vystavení – 8. opakování [°C/dny]



Příloha č. 11: Klimatické podmínky, lokalita 1, rok 2014

Rok	Měsíc	Den	Vlhkost vzduchu (%)	Denní srážky (mm)	Průměrná teplota vzduchu(°C)
2014	05	20	87	0,0	17,1
2014	05	21	75	0,0	19,3
2014	05	22	74	0,0	21,8
2014	05	23	77	6,0	19,7
2014	05	24	94	5,0	14,6
2014	05	25	75	0,0	17,5
2014	05	26	74	11,5	19,8
2014	05	27	96	1,1	17,2
2014	05	28	92	7,4	14,5
2014	05	29	87	0,1	9,2
2014	05	30	81	0,0	12,0
2014	05	31	59	0,0	16,6
2014	06	01	62	0,0	15,0
2014	06	02	67	0,0	14,9
2014	06	03	75	0,0	14,3
2014	06	04	76	1,4	16,6
2014	06	05	69	0,0	14,7
2014	06	06	67	0,0	17,6
2014	06	07	64	0,0	21,1
2014	06	08	65	0,0	24,3
2014	06	09	65	0,0	23,9
2014	06	10	65	0,0	24,1
2014	06	11	77	0,0	23,6
2014	06	12	65	0,0	20,1
2014	06	13	64	0,0	17,5
2014	06	14	73	0,0	15,1
2014	06	15	67	0,0	14,3
2014	06	16	67	0,0	17,1
2014	06	17	71	0,0	16,5
2014	06	18	67	0,0	17,4
2014	06	19	69	0,0	17,1
2014	06	20	72	0,1	14,5
2014	06	21	69	0,1	14,8
2014	06	22	71	0,0	15,9
2014	06	23	62	0,0	15,7
2014	06	24	67	0,4	16,7
2014	06	25	79	32,2	13,3
2014	06	26	60	0,0	15,1
2014	06	27	60	0,1	17,5
2014	06	28	65	3,5	19,8

2014	06	29	87	10,3	16,1
2014	06	30	64	0,9	16,4
2014	07	01	59	0,7	15,8
2014	07	02	48	0,0	18,8
2014	07	03	52	0,0	19,9
2014	07	04	46	1,3	22,9
2014	07	05	85	6,4	19,8
2014	07	06	62	0,0	23,1
2014	07	07	62	3,9	23,5
2014	07	08	76	15,4	21,2
2014	07	09	78	7,7	16,1
2014	07	10	92	7,7	13,8
2014	07	11	76	1,3	18,1
2014	07	12	59	0,0	17,7
2014	07	13	74	1,1	17,7
2014	07	14	72	1,3	19,7
2014	07	15	60	0,0	22,3
2014	07	16	70	0,0	20,7
2014	07	17	71	1,5	21,5
2014	07	18	60	0,0	23,0
2014	07	19	50	0,0	25,2
2014	07	20	51	0,0	26,3
2014	07	21	76	1,7	22,7
2014	07	22	56	0,0	23,6
2014	07	23	46	0,8	22,6
2014	07	24	66	0,0	19,2
2014	07	25	65	0,3	21,1
2014	07	26	55	2,3	24,0
2014	07	27	71	7,2	21,6
2014	07	28	79	1,9	21,2
2014	07	29	88	18,6	20,6
2014	07	30	77	0,0	21,6
2014	07	31	65	0,0	19,1
2014	08	01	68	0,0	20,7
2014	08	02	71	15,4	22,9
2014	08	03	71	0,0	22,1
2014	08	04	91	7,3	17,9
2014	08	05	74	2,0	19,4
2014	08	06	73	0,0	18,8
2014	08	07	72	2,0	19,9
2014	08	08	66	0,0	21,4
2014	08	09	60	0,0	23,0
2014	08	10	62	2,2	23,8
2014	08	11	75	0,1	17,0
2014	08	12	63	0,0	18,3

2014	08	13	81	9,7	16,4
2014	08	14	68	0,8	16,6
2014	08	15	88	4,3	14,0
2014	08	16	66	0,8	16,0
2014	08	17	70	0,0	16,4
2014	08	18	65	0,1	15,5
2014	08	19	66	0,0	14,7
2014	08	20	57	0,1	14,1
2014	08	21	67	0,0	13,6
2014	08	22	79	0,2	12,8
2014	08	23	71	0,8	14,6
2014	08	24	66	0,0	12,3
2014	08	25	67	2,4	13,9
2014	08	26	91	5,3	12,8
2014	08	27	71	0,0	13,8
2014	08	28	69	0,0	14,6
2014	08	29	79	3,0	16,5
2014	08	30	83	4,8	15,4
2014	08	31	89	18,3	14,6
2014	09	01	74	0,4	15,3
2014	09	02	78	0,2	15,0
2014	09	03	79	0,0	15,1
2014	09	04	80	0,0	18,0
2014	09	05	78	0,0	19,1
2014	09	06	78	1,2	19,5
2014	09	07	81	0,0	17,8
2014	09	08	89	6,3	17,8
2014	09	09	77	0,0	15,0
2014	09	10	69	0,0	14,9
2014	09	11	80	10,1	14,3
2014	09	12	87	11,0	16,5
2014	09	13	83	1,1	16,7
2014	09	14	89	0,6	16,6
2014	09	15	77	0,0	18,5
2014	09	16	72	0,0	18,2
2014	09	17	73	0,0	17,2
2014	09	18	75	0,0	16,4
2014	09	19	81	17,5	17,4
2014	09	20	85	12,9	17,0
2014	09	21	84	6,6	15,3
2014	09	22	74	1,8	10,0
2014	09	23	70	0,0	9,0
2014	09	24	82	0,0	8,8
2014	09	25	72	0,0	13,1
2014	09	26	75	0,2	14,9

2014	09	27	74	0,0	13,2
2014	09	28	81	0,0	11,9
2014	09	29	86	0,1	12,6
2014	09	30	89	9,4	14,6
2014	10	01	84	0,7	14,6
2014	10	02	84	0,0	13,2
2014	10	03	83	0,0	11,6
2014	10	04	84	0,0	9,3
2014	10	05	85	0,0	12,5

Příloha č. 12: Klimatické podmínky, lokalita 2, rok 2015

Rok	Měsíc	Den	Vlhkost vzduchu (%)	Denní srážky (mm)	Průměrná teplota vzduchu(°C)
2015	05	22	50	0,0	13,0
2015	05	23	50	0,1	16,6
2015	05	24	70	0,1	15,0
2015	05	25	69	0,9	16,1
2015	05	26	55	0,1	12,4
2015	05	27	56	0,0	11,1
2015	05	28	50	0,4	15,2
2015	05	29	58	0,2	17,1
2015	05	30	53	0,6	14,2
2015	05	31	55	0,0	16,1
2015	06	01	71	8,3	16,2
2015	06	02	65	0,0	18,6
2015	06	03	46	0,0	21,4
2015	06	04	51	0,0	17,3
2015	06	05	53	0,0	19,9
2015	06	06	52	2,0	24,1
2015	06	07	81	1,6	16,6
2015	06	08	71	17,0	14,8
2015	06	09	81	0,5	12,2
2015	06	10	63	0,0	15,6
2015	06	11	65	0,0	17,0
2015	06	12	62	0,0	22,2
2015	06	13	75	10,6	21,4
2015	06	14	79	7,9	19,8
2015	06	15	69	0,0	15,4
2015	06	16	50	0,0	14,4
2015	06	17	54	1,0	15,0
2015	06	18	82	0,7	15,3
2015	06	19	60	0,8	13,4
2015	06	20	69	0,0	12,7
2015	06	21	59	0,5	15,3
2015	06	22	87	10,3	13,0
2015	06	23	68	0,2	12,4
2015	06	24	76	0,1	13,3
2015	06	25	70	0,0	15,7
2015	06	26	68	0,8	18,4
2015	06	27	89	2,2	17,1
2015	06	28	56	0,0	17,3
2015	06	29	67	0,3	18,9
2015	06	30	65	0,0	20,4

2015	07	01	58	0,0	21,9
2015	07	02	57	0,0	23,2
2015	07	03	56	0,0	25,4
2015	07	04	57	0,0	26,7
2015	07	05	70	2,3	24,8
2015	07	06	64	0,0	21,9
2015	07	07	59	9,3	25,4
2015	07	08	56	0,0	20,6
2015	07	09	54	1,4	16,6
2015	07	10	49	0,0	15,7
2015	07	11	54	0,0	19,1
2015	07	12	60	0,7	20,6
2015	07	13	70	0,5	18,1
2015	07	14	75	0,0	20,2
2015	07	15	67	4,9	19,5
2015	07	16	73	0,0	21,9
2015	07	17	58	0,0	25,4
2015	07	18	56	0,0	25,4
2015	07	19	65	0,0	23,4
2015	07	20	61	0,3	21,8
2015	07	21	60	0,0	25,2
2015	07	22	52	0,9	26,8
2015	07	23	59	0,0	22,2
2015	07	24	58	0,9	22,6
2015	07	25	58	0,0	21,4
2015	07	26	46	0,2	17,1
2015	07	27	65	0,4	18,4
2015	07	28	49	0,0	18,6
2015	07	29	57	0,2	15,6
2015	07	30	47	0,0	16,8
2015	07	31	50	0,0	16,8
2015	08	01	51	0,0	20,1
2015	08	02	56	0,0	21,4
2015	08	03	59	0,0	22,8
2015	08	04	49	0,0	26,7
2015	08	05	54	0,0	23,7
2015	08	06	51	0,0	26,3
2015	08	07	42	0,0	28,2
2015	08	08	43	0,0	29,1
2015	08	09	57	0,0	25,6
2015	08	10	48	0,0	28,9
2015	08	11	45	0,0	28,2
2015	08	12	55	0,0	26,8
2015	08	13	55	0,0	27,6
2015	08	14	45	3,3	27,9

2015	08	15	73	0,0	22,8
2015	08	16	89	13,9	19,8
2015	08	17	94	38,1	17,8
2015	08	18	92	15,3	15,6
2015	08	19	85	1,3	16,4
2015	08	20	68	0,0	17,6
2015	08	21	55	0,0	18,3
2015	08	22	57	0,0	17,5
2015	08	23	61	3,1	19,6
2015	08	24	71	4,8	21,2
2015	08	25	75	0,2	15,7
2015	08	26	71	0,0	17,2
2015	08	27	75	0,0	18,7
2015	08	28	78	0,0	21,2
2015	08	29	76	0,0	21,5
2015	08	30	77	0,0	24,1
2015	08	31	71	0,0	25,2
2015	09	01	70	1,5	22,3
2015	09	02	68	0,0	16,2
2015	09	03	78	5,0	15,8
2015	09	04	69	0,0	15,0
2015	09	05	67	0,0	13,9
2015	09	06	70	1,2	12,4
2015	09	07	69	0,1	12,5
2015	09	08	69	0,0	13,2
2015	09	09	62	0,0	13,5
2015	09	10	91	2,5	10,7
2015	09	11	89	0,0	11,9
2015	09	12	84	0,0	14,0
2015	09	13	75	0,0	17,3
2015	09	14	88	1,2	15,0
2015	09	15	81	0,1	14,4
2015	09	16	82	0,0	15,9
2015	09	17	78	3,1	18,1
2015	09	18	83	0,1	14,3
2015	09	19	69	0,1	15,5
2015	09	20	66	0,1	13,4
2015	09	21	78	0,0	11,3
2015	09	22	82	3,3	13,0
2015	09	23	87	0,8	11,5
2015	09	24	80	0,0	10,2
2015	09	25	73	0,0	14,1
2015	09	26	71	0,0	13,2
2015	09	27	78	0,0	9,3
2015	09	28	74	0,0	9,1

2015	09	29	72	0,0	10,1
2015	09	30	63	0,0	10,0
2015	10	01	72	0,0	6,6
2015	10	02	74	0,0	8,8
2015	10	03	78	0,0	10,8
2015	10	04	81	0,0	13,1
2015	10	05	81	0,0	13,1
2015	10	06	86	9,3	14,0
2015	10	07	97	16,2	14,2
2015	10	08	91	1,8	13,4
2015	10	09	83	0,0	11,6
2015	10	10	67	0,0	8,4
2015	10	11	56	0,0	4,7
2015	10	12	72	0,0	3,1
2015	10	13	78	6,0	3,1
2015	10	14	92	8,7	4,9
2015	10	15	98	9,2	8,9
2015	10	16	94	3,3	7,6
2015	10	17	94	8,2	7,3
2015	10	18	93	0,2	6,9

Příloha č. 13: Experimenty – foto

Foto 1: Kadaver slepice připravený před vystavením



Foto 2: Vystavený kadaver, krytý mřížkou před případnými mrchožrouty



Foto č. 3: Kadaver v hrobě před zakopáním (volné ložení)



Foto 4: Detail nakladených vajíček nekrofágních much na smrtelné ráně



Foto 5: Plocha umístění hrobů, lokalita 1, 2014

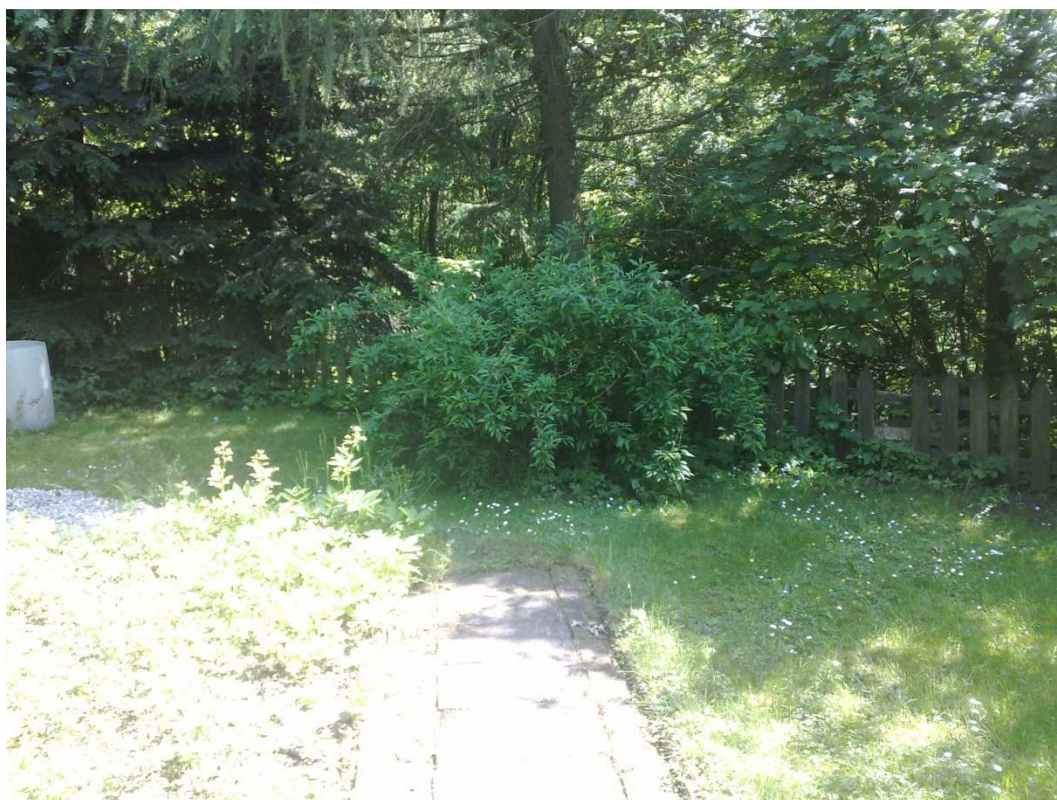


Foto 6: Plocha umístění hrobů, lokalita 2, 2015



Foto 7: Mrtvé imago rodu *Lucilia* na vystaveném kadaveru



Foto 8: Odkrývání zakopaného kadaveru (volné ložení)



Foto 9: Odkrývání zakopaného kadaveru (volné ložení)



Foto 10: Odkrývání zakopaného kadaveru (varianta krabice)



Foto 11: Odkrývání zakopaného kadaveru (varianta krabice)



Foto 12: Detail larev nekrofágních much při vykopání kadaveru (varianta krabice)



Foto 13: Detail - larvy a puparia, 1. opakování, volné ložení



Foto 14: Detail – puparia č. Muscidae, 7. opakování



Foto 15: Detail – larvy č. Muscidae, 8. opakování

