

Univerzita Hradec Králové

Přírodovědecká fakulta

Katedra biologie

**Forenzní entomologie: Vliv chemických faktorů na následnou
kolonizaci kadaveru hmyzem**

Bakalářská práce

Autor: Tereza Foltová

Studijní program: B1501 Biologie

Studijní obor: Systematická biologie a ekologie

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

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

Hradec Králové

květen 2019

Prohlášení:

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

V Hradci Králové dne

Jméno a příjmení

Poděkování:

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

Anotace

FOLTOVÁ, T. *Forenzní entomologie: Vliv chemických faktorů na následnou kolonizaci kadaveru hmyzem*. Hradec Králové, 2019. Bakalářská práce na Přírodovědecké fakultě Univerzity Hradec Králové. Vedoucí bakalářské práce doc. Mgr. Petr Bogusch, Ph.D. 37 s.

Tato bakalářská práce se zabývá forenzní entomologií a jejím využitím v případech, kdy je kadaver pozměněn vlivem chemických látek. Forenzní entomologie je vědní obor využívající poznatků o zákonitostech vývoje hmyzu, jejich kolonizaci kadaveru a dalších a dále těchto poznatků využívá při řešení případů.

Hlavním cílem praktické části této práce bylo zjistit vliv chemických faktorů na následnou kolonizaci kadaveru hmyzem. Z chemických látek bylo při terénním pokusu využito kyseliny sírové a hydroxidu sodného a bylo sledováno v jaké míře hmyz kadaver kolonizuje. Dále se jednalo o určení druhů prvních kolonizátorů, o zjištění zastoupení pohlaví a v neposlední řadě určení vlivu chemikálií na následný vývoj hmyzu.

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

Klíčová slova

Forenzní entomologie, sukcese, kadaver, chemické faktory, hmyz, Calliphoridae

Annotation

FOLTOVÁ, T. *Forensic entomology: The effect of chemical factors on the following insect colonization on the cadaver*. Hradec Králové, 2019. Bachelor Thesis at Faculty of Science University of Hradec Králové. Thesis Supervisor doc. Mgr. Petr Bogusch, Ph.D. 37p

This bachelor thesis deals with forensic entomology and its use in cases when the cadaver is altered by the influence of chemical substances. Forensic entomology is a discipline that uses knowledge of insect development patterns, cadaver colonization, and more, and uses this knowledge to solve the criminal cases.

The main aim of the practical part of this study was to determine the influence of chemical factors on the subsequent colonization of cadavers by insects. Sulfuric acid and sodium hydroxide were used in the field trial to compare, which of these chemicals influences the spectrum of species colonizing the cadaver. Furthermore, the determination of the species of the first colonizers, the determination of gender representation and, last but not least, the determination of the impact of chemicals on the subsequent development of insects.

In the theoretical part, the subject of forensic entomology, its procedures and methods and its importance in today's forensic practice are explained in more detail.

Keywords

forensic entomology, succession, cadaver, chemical factors, insect, Calliphoridae

Obsah

| | | |
|-----|--|----|
| 1 | Úvod | 7 |
| 2 | Forenzní entomologie | 8 |
| 3 | Historie forenzní entomologie | 9 |
| 4 | Sukcesní vlny | 11 |
| 5 | Zajišťování entomologických stop | 14 |
| 5.1 | Metody zajišťování entomologických stop | 16 |
| 6 | Deset zlatých pravidel pro sběr důkazního (forenzního) materiálu | 17 |
| 7 | Faktory ovlivňující post mortem interval (PMI) | 18 |
| 8 | Calliphoridae | 19 |
| 8.1 | Kladení vajíček | 19 |
| 8.2 | Činnost larev | 19 |
| 8.3 | Migrace larev a vývoj pupária | 20 |
| 8.4 | Dospělé mouchy | 20 |
| 8.5 | Zástupci | 20 |
| 9 | Praktická část | 21 |
| 10 | Metodika | 21 |
| 11 | Výsledky | 29 |
| 12 | Diskuze | 33 |
| 13 | Závěr | 34 |
| 14 | Seznam použité literatury | 35 |

1 Úvod

Forenzní entomologie je v kriminalistice velmi užitečným vědním oborem, který se posledních přibližně padesát let významně vyvíjí. Přes všechny dosavadní poznatky a zkušenosti s tímto oborem je stále značné množství informací, které nejsou známé, proto je stále nutné provádět experimenty a pokusy, aby se zlepšily dosavadní znalosti a znalecké výstupy tohoto oboru. Cílem této práce je především získat poznatky, které by v budoucnu mohly být nápomocny při řešení případů, ve kterých byl kadaver pozměněn vlivem chemických látek.

Část práce je zaměřena na teoretický popis forenzní entomologie, její význam, historii a základní poznatky o kolonizaci kadaveru hmyzem a o sběru entomologického materiálu. V neposlední řadě je v práci uveden stručný popis čeledi Calliphoridae a její využití ve forenzní entomologii.

2 Forezní entomologie

Forezní (kriminalistická) entomologie představuje vědní obor, který pro forezní účely využívá poznatků o jednotlivých řádech hmyzu (Eliášová a Šuláková, 2012). Její využití je založeno na znalostech o hmyzu a jiných bezobratlých, především poznatcích o vlivu na mrtvá lidská těla a zvířecí kadavery při jejich rozkladu a jejich vývojových cyklech, a tyto znalosti jsou použity při vyšetřování skutečností v oblasti občanského a trestního práva. Tento obor můžeme rozdělit na tři základní kategorie: problematika potravinářských škůdců, oblast parazitů zvířat a člověka a v neposlední řadě stanovení doby smrti (post mortem intervalu PMI - doba, která uplynula od úmrtí až do nález mrtvol (Šuláková, 2006)) u lidských těl (Šuláková 2014).

Daněk (1980) uvádí ještě další příklady možnosti využití entomologie v kriminalistice, například zjišťování příčin náhlé smrti, vliv existence hmyzu na příčiny a podmínky vzniku dopravních nehod nebo podíl hmyzu na příčinách a vzniku některých nemocí z povolání.

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

Rozklad živočišných těl je spojen se sukcesí (časově zákonitý sled) saprofágního (mrchožravého) hmyzu, především much. Značnou výhodou pro forezní praxi je skutečnost, že hmyz reaguje na mrtvé tělo velice rychle a na místě nález mrtvol se nachází jako první, neboť je vybaven velmi vnímavými smysly, hlavně čichem a lákají ho látky uvolňované mrtvým tělem (Povolný, 1978).

Z kriminalistického hlediska se forezní entomologie uplatňuje zejména v případech, kdy byla mrtvola vystavena působení vnějších faktorů, což znamená především u mrtvol volně exponovaných. V dílčím společenstvu nalézáme na mrtvole zejména druhy z řádu Coleoptera (brouci; přibližně 50 %), dále Diptera (dvoukřídli; asi 35 %). Další procenta připadají motýlům (Lepidoptera), z nich zejména zavíječům, dále blanokřídlym (Hymenoptera), jako jsou cizopasně vosy a mravenci, a dalším organismům, například roztočům, řasám či plísním a houbám (Šuláková, 2006).

Nejvýznamnější čeledi z řádu Diptera (dvoukřídli) využívané při řešení trestných činů jsou Calliphoridae (bzučivkovití), Sarcophagidae (masařkovití) a Muscidae (mouchovití). Důležitým poznatkem je, že tyto čeledi jsou heliofilní a jsou aktivní pouze ve dne, kdy kladou vajíčka. Tato skutečnost pomáhá určovat relativně přesnou dobu, kdy bylo tělo exponováno. Například najde-li vyšetřovatel brzo ráno již zakladenou mrtvolu musí usuzovat, že mrtvé tělo je exponováno již od předchozího večera, neboť v průběhu noci nejsou mouchy aktivní a nekladou na kadaver (Povolný, 1978).

3 Historie forenzní entomologie

První zdokumentovaný případ, kdy bylo využito forenzní entomologie, pochází ze 13. století od čínského právníka a vyšetřovatele Sung Tzu v knize s názvem „Hsi yuan chi lu“ (lze přeložit jako „Ospravedlnění od křivd“). Využití entomologie popsal na případu ubodaného muže poblíž rýžového pole a podezřelým byl rolník. Proto byli den po činu požádáni všichni dělníci z pole k předložení svých pracovních nástrojů. Všechny nástroje sice vypadaly čistě, ale neviditelné (tzv. latentní) stopy krve lákaly mouchy pouze k jednomu a díky tomu se podařilo získat doznání pachatele vlastního tento nástroj (Benecke, 2001).

Další informace o hmyzu na mrtvých tělech byly získány během let 1346 – 1351, kdy v Evropě zahubil mor až třetinu obyvatel. Všude bylo tolik mrtvých těl, které přeživší nestačili pohřbívat, že to umožnilo detailní zkoumání rozkladného procesu a pozorování činnosti hmyzu na mrtvolách. V této době se začínají objevovat také umělecká díla znázorňující náznaky vzájemného vztahu mrtvých těl a hmyzu (Benecke, 2008).

Obdobně jako v každém oboru i ve forenzní entomologii bylo nejdříve nutné vymýtit základní pověry a předsudky. Stejně jako lidí dříve věřili, že Země je plochá a Slunce obíhá kolem Země, brali jako samozřejmost, že larvy se přirozeně, jakoby z ničeho, objevují na hniječím masu. Roku 1668 italský fyzik Francesco Redi provedl pokus se dvěma kusy masa. Jedno zabalil do gázy a druhé nechal volně ložené. Na volně exponované maso mouchy nakladly vajíčka a z těch se brzy vylíhly larvy, ale na zabalené maso se larvy neobjevily, nacházela se zde pouze vajíčka na povrchu gázy (Hadley, n.d.).

Dalším důležitým krokem byl roku 1767 poznatek Carla von Linéeho, že tři mouchy jsou schopné zlikvidovat koně stejně rychle jako lev, poukazoval tím na masu larev, které mouchy produkují (Campobasso et al., 2001).

První případ moderního využití forenzní entomologie je datován do roku 1855, kdy francouzský lékař Louis Francois Etienne Bergeret využil její principy ke stanovení post mortem intervalu (PMI) u případu mrtvého dítěte nalezeného v krbu bytu, který před nálezem obývalo postupně několik rodin. Na základě nalezených puparií masařek a brouků dokázal určit dobu, po kterou bylo mrtvé dítě uschované v krbu, a tím také, která rodina jej tam ukryla. Dalším poznatkem byla práce německého lékaře Hermanna Reinharda z roku 1881, která představovala první systematickou studii forenzní entomologie. Reinhard pracoval s exhumovanými těly a usoudil, že larvy nacházející se na mrtvolách mají spíše souvislost s jejich životem na kořenech rostlin, než s mrtvými těly (Benecke, 2001).

Ve stejné době lékař Jean Pierre Megnin začal vyvíjet teorii o ekologických vlnách hmyzu na mrtvolách, tedy informace o tom, jak se jednotliví zástupci hmyzu na mrtvole střídají. Všechny své poznatky z oboru forenzní entomologie sepsal v knize „La faune des Cadavers“ (Fauna mrtvolná). Popisuje zde sukcesní vlny různých expozičních, morfologické znaky různých tříd hmyzu a příklady využití entomologie v praxi. Kniha představovala stěžejní práci, jejíchž poznatky se aplikovaly ve forenzní praxi až do padesátých let 20. století. V neposlední řadě svou prací inspiroval další vědce ke zkoumání tohoto oboru, a proto je oprávněně považován za průkopníka moderní forenzní entomologie (Benecke, 2008).

Odlišnosti v zastoupení a činnosti hmyzu na mrtvých tělech byly ukázány v jiném případě z léta 1919. Syn zavraždil své rodiče a po tři týdny uchovával jejich mrtvoly ukryté. Ačkoli zavraždil oba rodiče ve stejnou dobu, byla těla překvapivě nalezena v odlišných stadiích dekompozice. Obézní tělo matky, která byla střelena do srdce, bylo nadmuté, oční bulvy zničeny larvami a mozek byl činností larev v tekutém stavu, avšak vnitřní orgány byly nedotčené a bez přítomnosti larev. Oproti tomu hubené tělo otce bylo kompletně kolonizované larvami a všechny vnitřní orgány byly zničeny. Důvodem vyššího počtu larev na těle otce byl fakt, že byl nejen postřelen, ale měl po těle i několik bodných ran, což lákalo mouchy ke kladení vajíček nejen do obličejové části, ale i do otevřených ran (Benecke, 2001).

Zajímavý případ o využití nečekané skupiny hmyzu popsal Hubert Caspers v roce 1950. V tomto případě využil chrostíky jako nástroj forenzního vyšetřování. Na základě jejich přítomnosti na mrtvole byl schopen potvrdit přenesení těla z místa činu na místo nálezu. Stačily k tomu pouze dobré znalosti o tomto hmyzu (Benecke, 2001).

V 60. až 80. letech 20. století byla forenzní entomologie udržována a rozvíjena primárně lékařem Marcelem Leclecqem a profesorem jménem Pekka Nuorteva (Benecke, 2001).

Od té doby probíhaly výzkumy a aplikace forenzní entomologie ve Spojených státech, Rusku, Kanadě, Francii a Japonsku a stejně tak i v Anglii a Indii. V dnešní době jsou výzkumy a poznatky používány k řešení kriminálních činů, vražd a jiných případů po celém světě (Benecke, 2008).

4 Sukcesní vlny

Hmyz nalézáný na těle může být v soudním lékařství i vyšetřovacím týmům velmi nápomocný. Činnost jednotlivých bezobratlých na rozkladu kadaveru, jejich zastoupení, střídání a vliv, lze označit jako sukcesi saprofágních organismů na mrtvole, kdy tyto organismy navštěvují tělo v tzv. sukcesních vlnách. Klimaxem (konečným stadiem) v těchto případech je označován stav, kdy zůstávají pouze kosterní zbytky a na jejich rozkladu se již bezobratlí nepodílejí (Eliášová et Šuláková, 2012).

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

Dle Daňka (1990) u mrtvol volně exponovaných v terénu v klimatických podmínkách střední Evropy lze rozlišit osm sukcesních vln (fází). Jednotlivé fáze jsou doplněné o některé poznatky Eliášové a Šulákové (2012) a Šulákové (2014).

Průběh jednotlivých vln a jejich zástupci jsou následující:

-1. sukcesní vlna (fáze): Označuje fázi bezprostředně po smrti. Charakteristickými zástupci této vlny jsou mouchy, které láká zápach krve, čerstvého masa a potu, a to především pokud smrt nastala následkem poranění. Pokud oběť již za života krvácí a je bezmocná, může kolonizace a zaklazení nastat ještě před smrtí. Nejvýznamnějšími zástupci této vlny jsou dle Daňka (1990) především mouchy z čeledi Calliphoridae (bzučivkovití), a to zejména *Calliphora vicina* (bzučivka obecná) a *Calliphora vomitoria* (bzučivka rudohlavá), dále pak zelené kovově lesklé mouchy rodu *Lucilia*. Mohou se zde vyskytovat i zástupci čeledi Muscidae (mouchovití) jako například *Musca domestica* (moucha domácí). Šuláková (2014) do této vlny řadí také druhy *Protophormia terraenovae* a *Phormia regina*.

-2. sukcesní vlna (fáze): Tato fáze nastává ve chvíli, kdy se v těle začínají tvořit plynné látky, které tělo nadouvají a tělo začíná páchnout. V této fázi hmyz láká uvolňovaný plyn a za příznivých klimatických podmínek může fáze nastat již druhý den. Na tělo začínají nalétávat mouchy rodu *Lucilia*, dále zástupci čeledi Sarcophagidae (masařkovití), a to především masařka *Sarcophaga carnaria* (Daněk, 1990). Šuláková (2014) však uvádí, že kriminalistická praxe zpochybňuje její přímou vazbu na mrtvoly. Také v literatuře často uváděná *Musca domestica* (moucha domácí) se na mrtvolách vyskytuje jen vzácně.

Dále probíhá činnost larev much z 1. vlny a z čeledi Calliphoridae se zde začínají objevovat druhy *Protophormia terraenovae* nebo *Cynomya mortuorum*. Také se zde již začínají nacházet první zástupci nekrofágních brouků z rodu hrobařík (*Nicrophorus*) či mrchoužrouti.

-3. sukcesní vlna (fáze): Pro tuto fázi je typický proces zmýdelnění, tělo je biochemicky aktivní a nastává fermentace tuků. Vyvíjí se těkavá kyselina máselná, která dále láká mouchy z čeledi Muscidae (mouchovitých). Z nových nekrofágních brouků zaznamenáváme kožojedy (Dermeestidae) a pestrokrovečnický (Cleridae). Šuláková (2014) uvádí jako typického zástupce pro tuto fázi mouchu *Hydrotea ignava*.

-4.sukcesní vlna (fáze): Tělo je i nadále biochemicky aktivní a nastává fermentace proteinů, někdy též nazývána „sýrová fermentace“. Látky v této fázi připomínají zápach sýru a z nich láká především mušku sýrohlodku drobnou (*Piophilidae*) a také octomilky (*Drosophilidae*).

-5.sukcesní vlna (fáze): Tato vlna kolonizuje mrtvolu ve chvíli, kdy byla dosaženo stádium čpavkové fermentace. Moucha *Hydrotaea ignava* je lákána amoniakovými parami a kaseózními substancemi. Na tyto látky dále reagují drobné mušky hrbilky (*Phoridae*)

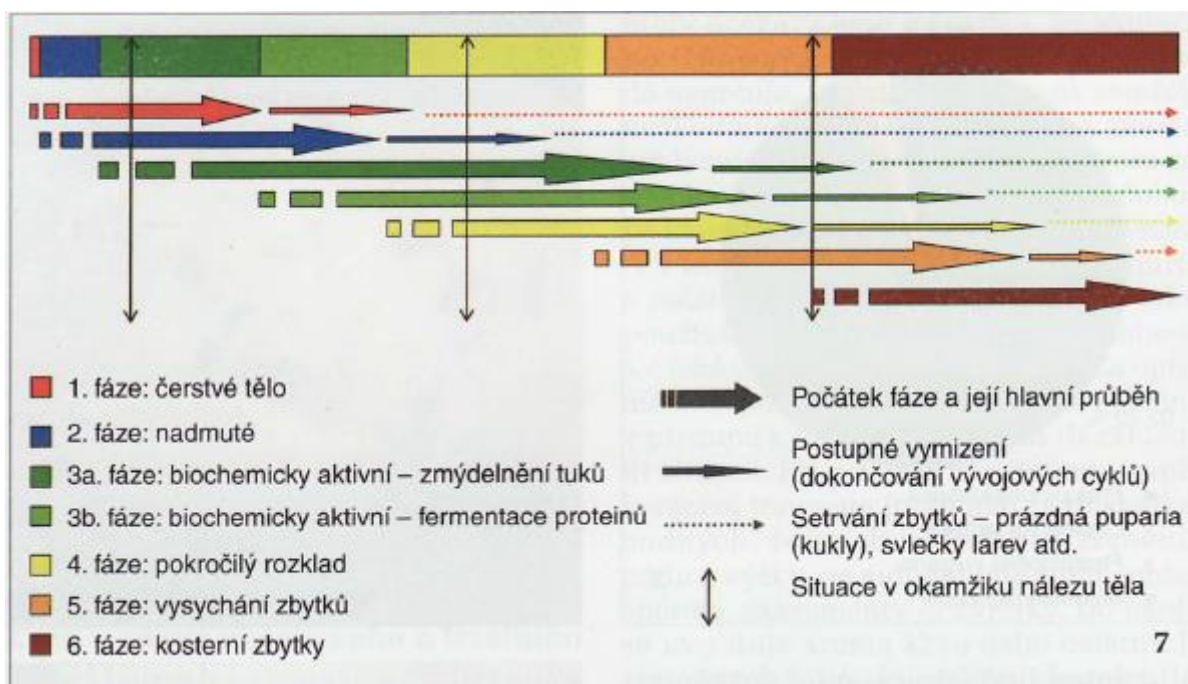
-6.sukcesní vlna (fáze): Jedná se o fázi, kdy začíná docházet k absorpci tekutiny zbývající na mrtvole a k vysychání zbytků měkkých částí. Toto období většinou nastává ke konci prvního roku a ve druhém roku stárí mrtvoly. Nově se zde objevují zástupci brouků z rodu hlodáč (*Trox*) a zbytky mrtvoly začínají kolonizovat různé druhy roztočů (*Acarina*).

-7.sukcesní vlna (fáze): Fáze kosterních zbytků. Kostra je již zcela vysušena, nalézají se zde pouze vysušené chrupavky, zbytky vlasů, popřípadě vazivo. Kostru v této fázi napadá pouze hmyz, který je potravně vázán na sušené maso, suché mršiny, kosti, kůži, peří apod. Nejčastěji se zde můžeme setkat s kožojedy a rušníky. Může se objevovat také mol či zavíječ. Tato fáze se však ve volném terénu téměř nevyskytuje, protože na mrtvolu neustále působí různé povětrnostní vlivy.

-8.sukcesní vlna (fáze): Jedná se o vlnu poslední a nastává, pokud mrtvola zůstala ležet v terénu více než 3 roky. Hlavními kolonizátory této fáze jsou roztoči (*Acarina*), ale je možný ještě výskyt brouků čeledi vrtavcovití (*Ptinidae*).

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

Tab. 1: Prolínání jednotlivých sukcesních fází (Převzato: Šuláková, 2014)



Mezi další významné faktory ovlivňující sukcesi je nutné vzít v potaz vlastnosti mrtvého těla, což znamená: stáří, váhu, pohlaví, příčinu smrti, stupeň fermentativní autolýzy, oblečení, rozsah poranění, ochlupení apod. (Daněk, 1990).

Všechny výše uvedené skutečnosti mohou významně ovlivnit, urychlit nebo naopak zpomalit rozkladné pochody, což ovlivní výskyt nekrofágní fauny v jednotlivých fázích, a to jak kvantitativně tak kvalitativně (Daněk, 1990).

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

Eliášová a Šuláková (2012) uvádějí zástupce hmyzu, kteří se podílejí na rozkladu kadaveru v uzavřených prostorách, na mrtvolách pohřbených či zahrabaných a v neposlední řadě na mrtvolách ve vodním prostředí.

Uzavřený prostor je často specifický zapojením synantropních druhů hmyzu do rozkladného procesu. Jsou to druhy, které běžně žijí v blízkosti člověka a na rozkladu těla se mohou také podílet. Může se jednat především o mola šatního (*Tineola biselliella*), mouchu domácí (*Musca domestica*) nebo o kožojeda obecného (*Dermestes lardarius*) (Eliášová a Šuláková, 2012).

Do skupiny mrtvol zahrabaných nebo pohřbených spadají všechna těla ukrytá v ilegálních hrobech, které rozdělujeme dle hloubky pohřební na mrtvoly v mělkých hrobech nebo na těla zakrytá a zabalená do různých obalů. Tuto kategorii však také obohacují zástupci nalézání v rakvích legálních hrobů. K mrtvole pohřbené se hmyz může dostat několika způsoby. Některé samičky much kladou na povrch půdy a larvy po vylíhnutí prolézají půdním profilem k mrtvole, jednalo by se například o mouchy rodu *Muscina* z čeledi

Muscidae. Oproti tomu hrbilky (Phoridae) patří mezi drobné mušky, u kterých samice prolézají půdou a kladou vajíčka přímo na mrtvé tělo (Eliášová a Šuláková, 2012).

Ve vodním prostředí nacházíme jedince vhodné pouze k orientačnímu stanovení post mortem intervalu. Zástupci podílející se na rozkladu mrtvoly ve vodě jsou především korýši (Crustacea) a ryby (Pisces), tito zástupci však nejsou typičtí nekrofágové a jejich výskyt není podmíněn přítomností mrtvoly. Na částech volně exponovaných nad hladinou se rozkladu účastní taktéž hmyz. V případě, že je tělo dodatečně vyplaveno na břeh, začínají se uplatňovat odpovídající sukcesní vlny jako u volné expozice (Eliášová a Šuláková, 2012).

5 Zajišťování entomologických stop

Zajišťování entomologických stop z místa trestného činu, především z těla mrtvoly, vyžaduje, stejně jako při zajišťování jakýchkoli biologických stop, používání speciálních ochranných prostředků, aby došlo k zamezení kontaminace místa vyšetřovatelem, zejména vlákny a dalšími materiály. Je doporučeno nosit ochranný oblek, rukavice a ochranné návleky na boty (Amendt et al., 2006)

Při zajišťování entomologických stop můžeme rozlišovat tři, respektive čtyři základní skupiny. Na místě činu odebíráme vzorky z těla mrtvého, z lože mrtvoly a z jejího okolí a následně se odebírá čtvrtý vzorek při pitvě. Každá tato skupina představuje pro sběr jistá specifika a náležitosti (Eliášová a Šuláková, 2012).

Cílem sběru je nalezení a odebrání maxima druhů bezobratlých přítomných na mrtvole, všech zastoupených vývojových stádií, tj. reprezentativního vzorku, obsahujícího stopy všech tvarů a velikostí. Entomologické stopy se zajišťují formou usmrceného a živého vzorku (Šuláková, 2017).

Živý vzorek

Živým vzorkem se myslí vajíčka, larvy a puparia much a kukly brouků nalezené na místě činu, nebo při pitvě z mrtvoly. Součástí živého materiálu je i půda a vegetace sebraná z lože mrtvoly a jejího okolí, ze které se hmyz zajišťuje až v laboratoři. Živý vzorek je důležitý pro následný odchov nižších vývojových stádií a k získání dospělců much a brouků. Důvodem k odchovu je snazší determinace imag, která může být u larev a vajíček problematická, a především ke zjištění doby líhnutí, od které se odpočítávají vývojové cykly při stanovení doby kolonizace. Problematikou živého vzorku je, že živá zvířata potřebují kyslík a jejich vývoj a růst neustále ovlivňují vnější faktory (především teplota a vlhkost). Po zajištění živého vzorku je nutné ho ihned předat ke znaleckému zkoumání, abychom nezvýšili mortalitu vzorku a nenarušili délku vývojového cyklu. Živé vzorky se odebírají do speciálních nádob s odvětráváním (Šuláková, 2017).



Obr. 1: Schématické znázornění zajištění živého vzorku (Převzato: Šuláková, 2017)

Usmrcený vzorek

Usmrcený vzorek obsahuje larvy brouků, veškerá nalezená imaga much, brouků a jiných bezobratlých. Současně se přidává několik vajíček a larev much (kdyby byl poškozen živý vzorek). Usmrcený materiál lze dlouhodobě skladovat. Nevýhoda vzorku spočívá v tom, že vajíčka, larvy a kukly celé řady zástupců nelze přesně determinovat do druhu bez genetické analýzy. Další nevýhodou je, že u vajíček, larev a kulek je těžké určit přesné stáří, neboť hmyz v těchto stádiích setrvává několik hodin až dnů. K usmrcení nižších stádií se používá horká voda (70-90 °C), etanol (70-96%), nebo speciální fixáže. K usmrcení imag much a brouků lze použít ethylacetát nebo diethylether (Šuláková, 2017).



Obr. 2: Schématické znázornění zajištění usmrceného vzorku (Převzato: Šuláková, 2017)

Entomologické stopy z těla mrtvoly

Při odebírání vzorků z těla mrtvoly zajišťujeme všechny nalezené druhy a jejich zjištělná vývojová stádia – vajíčka, larvy, kukly (puparia) i dospělé jedince (imaga). Ve starších literaturách se doporučovalo zajišťovat tzv. nejstarší vývojové stádium, avšak při velké druhové rozmanitosti hmyzu nalézaného na mrtvolách, rozdílné rychlosti vývoje jednotlivých druhů a specifické velikosti, se toto doporučení jeví jako chybné. Uvádělo se, že největší (nejdelší) larvy představují nejstarší entomologický materiál, ovšem malé druhy mají larvy menší, a proto ty nejdelší nemusí být nejstarší. Z tohoto důvodu se zajišťují stopy všech druhů i velikostí. Rovněž se z kadaveru sbírá materiál z celého těla, a ne pouze z míst s největší koncentrací hmyzu. Musíme také brát v potaz, že na mrtvole se vyvíjí více druhů z jedné čeledi zároveň (Amendt et al, 2006; Eliášová a Šuláková, 2012).

Entomologické stopy z lože mrtvoly

Ložem mrtvoly je myšleno místo pod mrtvým tělem a z tohoto místa odebíráme na třech až čtyřech místech vzorky zeminy (i s případnou vegetací, hrabanou, apod.), každý vzorek o objemu přibližně 250 – 500 ml, celkem tedy 1-2l. Vzorky z lože ukládáme do vhodných plastových nádob – skleněných, plastových nebo kovových, lze použít i sáček z pevného igelitu (Eliášová a Šuláková, 2012).

Entomologické stopy ze širšího okolí mrtvoly

Širší okolí mrtvoly je prostor v okruhu do vzdálenosti 2-10 m od kadaveru. Vzdálenost je specifická vzhledem k podkladu, na kterém se tělo nacházelo. Cílem je zajistit migrující larvy a puparia (Eliášová a Šuláková, 2012). Pokud se mrtvola nachází v uzavřených prostorách (v bytě), je dobré prohledat i okolní místnosti, kvůli migraci larev (Amendt et al., 2006).

Entomologické stopy zajištěné při pitvě mrtvoly

Při pitvě je odebírán vzorek z tělních dutin a z oděvu mrtvého. Odebírají se jak živé, tak mrtvé vzorky (Eliášová a Šuláková, 2012).

5.1 Metody zajišťování entomologických stop

K zajišťování entomologických stop ve většině případů postačí 3-4 nádoby, nejčastěji plastové nebo skleněné zkumavky a kontejnery, postačí objem do 100ml. Jednotlivá stádia a skupiny hmyzu se zajišťují různým způsobem (Eliášová a Šuláková, 2012).

Vajíčka

Vajíčka much jsou bělavá až nažloutlá a připomínají piliny. Vzorky se odebírají pomocí entomologické pinzety, špachtle, plastové lžice nebo jiného vhodného nástroje, a to z několika míst na těle v minimálním množství 100 ks. Třetina až polovina se usmrtí vřelou vodou, nebo minimálně 80% ethyl alkoholem a následně se uloží do ethanolu (80% a více). Zbýlá vajíčka se ponechají živá ve společné nádobě. Vajíčka brouků se většinou nezajišťují, při jejich nálezů je možné umístění do nádoby s vajíčky much (Eliášová a Šuláková, 2012).

Larvy

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

Puparia

Puparia much jsou soudečkovité útvary tvořené z pokožky posledního larválního instaru s kuklou uvnitř. Zpravidla jsou světle hnědé až černé barvy. Odebírají se puparia plná (obsahující vyvíjející se imago) i prázdná (po vylíhnutí). Zajišťují se světlá i tmavá, všech velikostí, a to jak z těla, tak z oděvu a okolí mrtvol. Puparia se ponechávají živá v nádobě a odebírají se v minimálním počtu 50 ks. Kukly brouků se na kadaveru z pravidla nevyskytují, mohou se vyskytnout v loži mrtvol. Na mrtvolách v bytech se mohou vyskytovat larvy kožojedů a pestrokrovečníků (Eliášová a Šuláková, 2012).

Imaga (dospělí jedinci)

Dospělci much jsou nezaměnitelní s jinou skupinou hmyzu, dobře létají a k jejich zajišťování se používá entomologická síť. Odchyt živých imag není nezbytný, k usmrcení se používají výpary dietyléteru nebo octanu ethylnatého (případně 70-80% ethanol). V případě nálezu mrtvých imag na těle, či v okolí (v bytech na parapetech), se jedinci odeberou pinzetou a skladují v 70-80% ethanolu. Imaga brouků jsou značně pohyblivá a nezaměnitelná, ukrývají se pod tělem nebo v oděvu. Sbírají se pevnější pinzetou a usmrcují výparem octanu ethylnatého (Eliášová a Šuláková, 2012).

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

6 Deset zlatých pravidel pro sběr důkazního (forezního) materiálu

Benecke (2004) vytvořil seznam důležitých postupů a zásad při zajišťování entomologické materiálu a shrnul je v následujících deseti „zlatých a jednoduchých“ pravidlech:

- 1) Vytvořit důkladnou fotodokumentaci všech míst, ze kterých je materiál odebírán. Stav hmyzu se může velmi rychle změnit, zejména v chladných podmínkách (při uložení vzorků nebo těla do chladícího boxu).
- 2) Fotodokumentaci pořizovat bez použití blesku, larvy světlo odrazí a budou pouze bílé, což ztíží determinaci.
- 3) Na fotografiích používat měřítko.

- 4) Sebrat vždy jednu plnou lžíci hmyzu z minimálně třech míst na těle a na místě činu a uložit je do označených nádob.
- 5) Polovinu vzorku umístit do 98% ethanolu, nepoužívat isopropyl-alkohol nebo formalin.
- 6) Vzorky nejprve usmrtit horkou vodou před uložením do ethanolu.
- 7) Zbylou polovinu vzorků umístit do lednice (ne mrazáku), zajistit větrací otvory a předat hmyz pověřené osobě (vývoj může probíhat i na nízkých teplot). Oddělovat dospělce od larev pokud to bude možné.
- 8) Vše popisovat – lokace, přesný čas, datum, iniciály.
- 9) V případě nejasností a otázek při sběru neváhat kontaktovat forenzního entomologa.
- 10) Determinaci ponechat zkušenému entomologovi.

7 Faktory ovlivňující post mortem interval (PMI)

Post mortem interval (PMI) je doba, která uplynula od úmrtí až do nálezu mrtvoly (Šuláková, 2006). U mrtvol starších než 72 hodin, jsou entomologické metody jedny z nejpřesnějších při stanovení doby úmrtí. Přesto i zde se vyskytují určité nepřesnosti, které musí brát vyšetřovatel v potaz. Forenzní entomolog neurčuje čas, kdy dotyčný zemřel, ale hodnotí pouze bezobratlé, kteří tělo kolonizovali a dobu kolonizace. V tomto spočívá problém, jelikož čas úmrtí a začátek kolonizace se nemusí shodovat, zejména v případech, kdy smrt nastala přirozenou cestou a nejsou přítomna krvácivá traumata (Šuláková, 2014).

Stanovení PMI vychází ze dvou základních poznatků. Je nutno znát délku vývoje jednotlivých druhů a znát údaje o druhovém složení společenstva na mrtvole, které odpovídá konkrétní fázi rozkladu. Přesnost stanovení post mortem intervalu se u krátkodobých PMI (tj. do 3-5 týdnů) pohybuje v rozmezí 1-5 dnů. Výpočet je udáván na určitý den (s přesností 1-2 dny). U starších nálezů se přesnost snižuje na určitý týden či měsíc (Elišková a Šuláková, 2012).

Laupy (1994) ve své práci udává možné faktory ovlivňující délku PMI a je třeba tyto faktory při jeho výpočtu zohlednit. Rozdělil je do tří kategorií:

a) Faktory zkracující délku PMI

- vysoká průměrná denní teplota, malé teplotní výkyvy během dne
- výskyt traumat na těle mrtvoly, její obnažení
- vzestup teploty tkání expozicí nálezu na slunci, přítomnost zdrojů tepla, uvolňování metabolického tepla

b) Faktory prodlužující délku PMI

- omezení přístupu nekrofilního hmyzu – při nálezu mrtvol v bytech, zabalených, zastíněných, částečně přikrytých nebo pohřbených

-nízká průměrná denní teplota, velké výkyvy během dne a dlouhodobé poklesy pod 10°C (možnost výskytu diapauzy, dočasné zastavení růstové a potravní aktivity)

-časový posun

-balzamace, intoxikace těla mrtvoly

c) Faktory měnící délku PMI nekontrolovatelným způsobem

-změna lokalizace mrtvoly během PMI, dodatečné odkrytí nebo naopak pohřbení mrtvoly

8 Calliphoridae

Mouchy z čeledi Calliphoridae (bzučivkovití) jsou typickými zástupci 1.sukcesní vlny. Nalétávají na mrtvolu prakticky okamžitě, neboť jsou lákány zápachem čerstvé krve, masa a potu. Jedná se o leskle modré či zelené podlouhlé mouchy s tělem pokrytým hojnými štětkami, šedou hrudí a lesklým zadečkem. Jejich velikost se pohybuje mezi 9 a 13 mm (Daněk, 1990).

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

Tyto druhy jsou nejdůležitějšími zástupci při stanovení PMI v prvních týdnech. Vývoj prochází stádii: vejce, první, druhý a třetí stupeň larválního vývoje, pupárium a nakonec dospělec (imágo). Vývoj probíhá podle vzoru, který je ovlivněn teplotou a také druhem bzučivky (Anderson, 2005).

8.1 Kladení vajíček

Samice bzučivek kladou oválně protáhlá vajíčka mající délku 1,5 mm ve shlucích čítajících 450 – 1200 kusů. Kladou na mrtvoly, mršiny, maso apod. (Daněk, 1990).

Významné z kriminalistického hlediska je, že mouchy z této čeledi jsou aktivní ve dne, takže nachází-li se vajíčka na mrtvole už v noci, nebo časně z rána, lze usuzovat, že mrtvola byla zakladena už předešlého dne. Velmi však aktivitu much zpomaluje déšť a nízké teploty (Povolný, 1979).

8.2 Činnost larev

Nejčastějšími konzumenty a reducenty mrtvol jsou muší larvy. Činnost larev začíná v ranách, sliznicích úst, nosu, očí a v tělních otvorech. Larvy nepůsobí na mrtvolu pouze mechanicky, ale i činností biochemicky – fermentativní. Larvy zkapalňují substrát mrtvoly proteolytickými, lipolytickými enzymy a kolagenázami, které vylučují převážně mimotělně. Tento mechanismus zabraňuje napadení larvy patogenní mikroflórou kadaveru. Stejně jako je tomu u muších vajíček, i činnost larev významně ovlivňují abiotické faktory a z nich nejvíce teplota a vlhkost. Vývoj larev může významně inhibovat vysoká populační hustota, kontakt s vodou před kuklením, či dlouho trvající sucho. Chlad trvající delší dobu může způsobit tzv. larvální diapauzu. (Povolný, 1979).

8.3 Migrace larev a vývoj pupária

Ve chvíli, kdy se dospělá larva chce kuklit, migruje z mrtvoly a hledá vhodné místo pro kuklení. Délka migrace je druhově specifická, některé druhy se mohou kuklit přímo na mrtvole. V našich podmínkách nález migrujících larev indikuje, že stáří larev je něco přes týden. Dále vzdálenost, jakou larvy při své migraci urazily, je důležitým poznatkem, neboť je známo, jak rychle a jak daleko larvy migrují a lze tedy ze vzdálenosti spočítat, kdy larva začala migrovat. Když larva nalezne vhodné místo, zakuklí se a prodělá proměnu v nepohyblivém pupáriu soudečkovitého tvaru. Tato fáze je velmi citlivá na nízké teploty, sucho, krátkou fotoperiodu apod., které mohou navodit diapauzu. Pupárium je zprvu měkké a bílé, stárím hnědne až černá, proto lze i podle zbarvení odhadnout stáří pupária (Povolný, 1979).

8.4 Dospělé mouchy

Čerstvě vylíhlé mouchy jsou měkké, neboť jsou málo chitinizované. Nález much v tomto stádiu poblíž mrtvoly dokládá, že vývojový cyklus již proběhl a podle druhu a znalosti délky vývoje lze odhadnout stáří mrtvoly (Povolný, 1979).

8.5 Zástupci

Lucilia serricata je typickým zástupcem nekrofágní fauny, jehož výskyt na lidských mrtvolách je dokládán na mnoha případech. Jedná se o zelenou, kovově lesklou mouchu, která klade na mrtvoly nejčastěji do dvou dnů po smrti. *Lucilia serricata* patří mezi světlomilné druhy vyhýbající se zastíněným místům. Vývoj tohoto druhu je velmi rychlý a za optimálních podmínek může proběhnout už za dva týdny. Druh je kosmopolitní a u nás se nachází po celém území (Daněk, 1990). Smith (1986) však uvádí, že se o kosmopolitní druh nejedná.

Calliphora vicina je modrá, kovově lesklá moucha, která klade vajíčka pouze na čerstvé mrtvoly, kdy rozklad tkání zatím příliš nepokročil. Obvykle se na mrtvole objevuje do 48 hodin po smrti. Odhadujeme-li délku vývoje, musíme brát v potaz teploty prostředí, neboť nízké teploty vývoj značně zpomalují a prodlužují. Na rozdíl od druhu *Lucilia serricata* klade *Calliphora vicina* vajíčka i na zcela temných místech (Daněk, 1990).

Protophormia terraenovae je moucha tmavě modrého zbarvení. Imaga měří od 8 mm do 12 mm. Larvy tohoto druhu je možné využívat v terapii larvami (Smith, 1986).

9 Praktická část

V praktické části se zabýváme vlivem chemických faktorů na následnou kolonizaci kadaveru hmyzem. Je kladen důraz na první sukcesní vlnu, na její zástupce, velikost a počet jednotlivých zástupců na kadaveru.

Byl proveden terénní experiment, při kterém bylo využito 6 kusů samic kura domácího a chemikálie – hydroxid sodný a kyselina sírová. Cílem experimentu bylo zjistit, zda má chemikálie nějaký vliv na hmyz, který kadaver kolonizuje, na rychlost kolonizace, druhové složení a v neposlední řadě na vývoj jedinců na daných pokusných zvířatech.

10 Metodika

Popis lokality:

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

Nadmořská výška:

255 m n. m.

GPS souřadnice:

50.209334N, 15.693553E

Popis experimentu:

Experiment se skládal ze dvou částí. První částí byla volná expozice, na již zmíněné lokalitě, a druhá část byl následný odchov vajíček až do stavu dospělce v místnosti s konstantními podmínkami. Pro odchov vajíček jsem si zvolila garáž se stálou teplotou a vlhkostí.

Pokusnými objekty bylo 6 kusů samic kura domácího, vážících okolo 1 kg, získaného z Farmy Věkoše Hradec Králové. Zvířata byla usmrcena (všechny objekty stejným způsobem) a poté byla převezena na místo konání pokusu.

Po převezení byly slepice rozděleny celkem do 3 skupin (včetně kontroly), do každé skupiny po 2 slepicích.

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

Varianta A – kyselina:

Dvě slepice byly namočeny na dobu asi 30 sekund do nádoby s 30% kyselinou sírovou (obr. 3), po vyjmutí byly uloženy do plastových beden, přikryty pletivem s oky o velikosti 2 cm x 2 cm a uloženy při tzv. volné expozici (obr. 4).



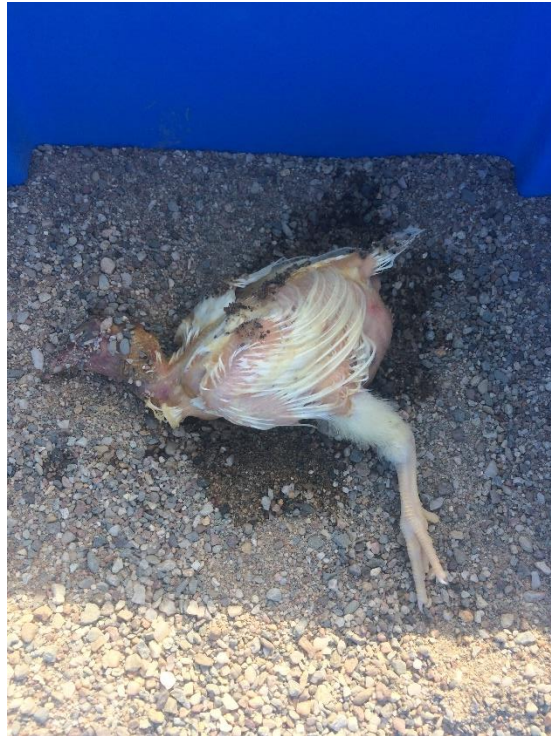
Obr. 3: Namáčení pokusného objektu v nádobě s kyselinou sírovou (autor: Tereza Foltová)



Obr. 4: Fotografie pokusného objektu namočeného v kyselině (autor: Tereza Foltová)

Varianta B – hydroxid:

Další dva kusy drůbeže byly ponořeny do nádoby s nasyceným roztokem hydroxidu sodného a po vyjmutí uloženy do beden jako u předchozí varianty (obr. 5).



Obr. 5: Fotografie pokusného objektu předem namočeného v hydroxidu (Autor: Tereza Foltová)

Varianta C – kontrola:

Poslední dvě kontrolní slepice byly pouze vloženy do beden na vrstvu písku (obr. 6), bedny přikryty pletivem a uloženy do volné expozice.



Obr. 6: Fotografie pokusného kontrolního objektu (Autor: Tereza Foltová)

Všechny bedny byly náležitě popsány variantou a pořadovým číslem (obr. 7) a vystaveny při tzv. volné expozici, která umožnila přístup hmyzu k pokusným objektům. Z důvodu minimalizace vzájemného vlivu pokusných objektů byly bedny rozmístěny po ploše ve tvaru čtverce, ve kterém byly jednotlivé bedny přibližně 3 metry od sebe a namíchaný tak, aby spolu nesousedily stejné varianty pokusu (obr. 8).



Obr. 7: Detailní fotografie popisků na jednotlivých nádobách na experimenty (Autor: Tereza Foltová)



Obr. 8: Rozmístění beden s jednotlivými experimenty (Autor: Tereza Foltová)

Do okolí beden byl umístěn datalogger ke sledování teploty a vlhkosti.

Bedny byly vystaveny při volné expozici maximálně 24 hodin a pravidelně kontrolovány řádově po dvou hodinách, fotografovány (obr. 9) a dále byly zapisovány poznámky o aktivitě a množství much na kadaverech a místech, kde docházelo ke kladení. Po zaklazení kontrolních vzorků byly všechny bedny překryty silonovými punčochami, které bránily dalšímu přístupu hmyzu, opatřeny víkem s otvorem z lisovaného papíru, na okraje víka bylo položeno pár menší kamenů k zatížení a bedny byly přendány do vnitřní expozice (do garáže) k odchovu, tj. k dolíhnutí vajíček, vývinu larev, kuklení a líhnutí dospělců. Rovněž byl umístěn datalogger jako při volné expozici.



Obr. 9: Kontrolní vzorek při první kontrole, objevují se zde první mouchy (Autor: Tereza Foltová)

Testované objekty byly pravidelně kontrolovány, v případě vysychání několikrát roseny čistou vodou z rozprašovače. Po pěti dnech se začala vajíčka líhnout a později larvy migrovat mimo kadaver za účelem kuklení. Zhruba po deseti dnech se larvy začaly kuklit v písku. V tomto stadiu byl kadaver vyjmut z bedny a ponechány pouze kuklící se larvy a samotné kukly, aby mohly dokončit vývojové cykly. Následně bylo sestaveno odchyťové zařízení (obr. 10), vyrobené ze dvou plastových lahví spojených k sobě pomocí tavné pistole, se smrtícím a konzervačním roztokem, připraveným z 6 lžic kyseliny citronové, jednoho litru vody a přibližně 2 ml detergentu, a připevněno k bednám s kuklícími se larvami (obr. 11). Po dalších pěti dnech se z kukel začali líhnout dospělci a pomalu začali migrovat po stěnách bedny směrem ke světlu. Vylíhlá imaga našla do odchyťového

zařízení se smrtícím roztokem připraveným tunelem, vyrobeným z nohavic silonových punčoch a pěnové trubky (obr. 12). Po ukončení experimentu byla imaga z odchyťových zařízení vyjmuta přelitím obsahu odchyťové nádoby přes čajové sítko. Na sítku zachycená imaga byla přesunuta do sklenic s roztokem 70% etylalkoholu a řádně označena, o kterou variantu se jedná (kyselina, hydroxid, kontrola) a číslem pokusu.

Následně byly vzorky determinovány pomocí determinačních klíčů a výsledky zapsány do přehledné tabulky.



Obr. 10: Odchyťové zařízení vyrobené ze dvou plastových lahví (Autor: Tereza Foltová)



Obr. 11: Odchyťové zařízení připevněné k bedně s kuklicími se larvami (Autor: Tereza Foltová)



Obr. 12: Pěnová trubka použitá k výrobě tunelu k odchyťovému zařízení (Autor: Tereza Foltová)

Experiment byl proveden celkem třikrát, v červenci, srpnu a září roku 2019. Z důvodu nepříznivého počasí nebyl první pokus z července 2019 řádně ukončen, tudíž nebyly získány žádné výsledky.

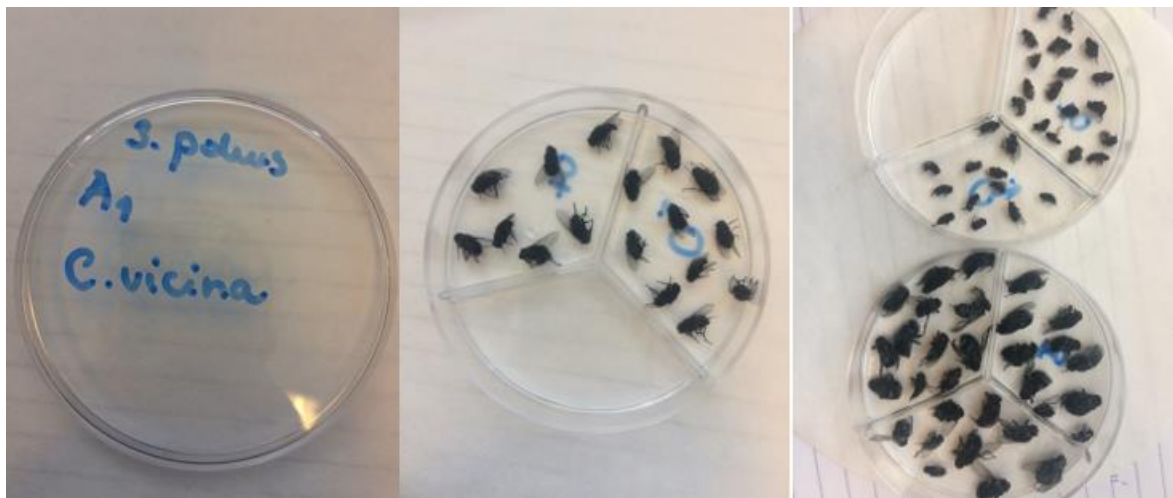
Determinace byla provedena v rámci odborné praxe v Kriministickém ústavu Praha prostřednictvím determinačních klíčů, binomické lupy Zeiss Discovery V.20 (obr. 13) a pomocí srovnávacích entomologických sbírek ústavu. Postup determinace byl průběžně konzultován s odbornou školitelkou plk. Ing. Hanou Šulákovou, Ph.D., která také provedla revizi určeného materiálu.



Obr. 13: Determinace jednotlivých much pomocí binomické lupy (Autor: Tereza Foltová)

Veškerý entomologický materiál byl určen do druhu a roztríděn dle pohlaví (obr. 14). U jednotlivých vzorků byly zapsány všechny nalezené druhy, počet samců a samic a také

byly připsány poznámky o velikosti jedinců (zastoupení minoritních forem). Výsledky byly následně zapsány do přehledné tabulky.



Obr. 14: Třídění jednotlivých druhů a pohlaví (Autor: Tereza Foltová)

Dále byla vyhodnocena data získaná z datalogeru.

11 Výsledky

Celkově bylo získáno 1311 jedinců, z čehož 892 jedinců bylo z 2. pokusu a 419 jedinců z 3. pokusu. Převážně se jednalo o zástupce druhu *Calliphora vicina* (1309 kusů), ovšem v pokusu č.3 ve variantě C2 kontrola se objevil 1 samec *Lucilia sericata* a z řádu brouků 1 samice *Nicrophorus humator*.

Jedinci byli rozděleni podle druhu a pohlaví, následně byl spočítán jejich počet v jednotlivých skupinách a výsledky zapsány do přehledné tabulky (Tab.2). Dále byly uvedeny poznámky o velikosti jednotlivých zástupců.

Tab.2: Tabulka s přehledem jednotlivých zástupců nalezených na pokusných zvířatech (Autor: Tereza Foltová)

| Pokus | Typ | Druh | Samice | Poznámka | Samci | Poznámka |
|----------|-------------|----------------------------|--------|----------------------|-------|----------------------|
| 3. pokus | | | | | | |
| | A1 kyselina | | | | | |
| | | <i>Calliphora vicina</i> | 7 | střední | 10 | Střední |
| | A2 kyselina | | | | | |
| | | <i>Calliphora vicina</i> | 8 | 1x minoritní | 6 | |
| | B2 hydroxid | | | | | |
| | | <i>Calliphora vicina</i> | 44 | 6x velká, 5 střední | 26 | 8 velké, 3 střední |
| | C2 kontrola | | | | | |
| | | <i>Calliphora vicina</i> | 91 | 13x malá, 18x velká | 86 | 14x malá, 7x velká |
| | | <i>Nicrophorus humator</i> | 1 | | | |
| | | <i>Lucilia sericata</i> | | | 1 | |
| | C1 kontrola | | | | | |
| | | <i>Calliphora vicina</i> | 38 | 3x malá | 23 | 1x malá |
| | B1 hydroxid | velké | | | | |
| | | <i>Calliphora vicina</i> | 40 | 10x malá | 38 | 5x malá |
| 2. pokus | | | | | | |
| | B1 hydroxid | Výrazně velké | | | | |
| | | <i>Calliphora vicina</i> | 31 | 5x malá | 22 | 3x střední |
| | A2 kyselina | | | | | |
| | | <i>Calliphora vicina</i> | 169 | 24x malá, 20x velké | 148 | 23x malá, 15 velké |
| | A1 kyselina | malé | | | | |
| | | <i>Calliphora vicina</i> | 55 | 14x malá, 6x větších | 60 | 16x malá, 4x velká |
| | B2 hydroxid | menší | | | | |
| | | <i>Calliphora vicina</i> | 88 | 30x malá | 63 | 26x malá |
| | C2 kontrola | | | | | |
| | | <i>Calliphora vicina</i> | 66 | 10 malá, 6x střední | 66 | 8x malá, 10x střední |
| | C1 kontrola | hodně velké | | | | |
| | | <i>Calliphora vicina</i> | 76 | 8x malá | 48 | 8x malá |

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

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

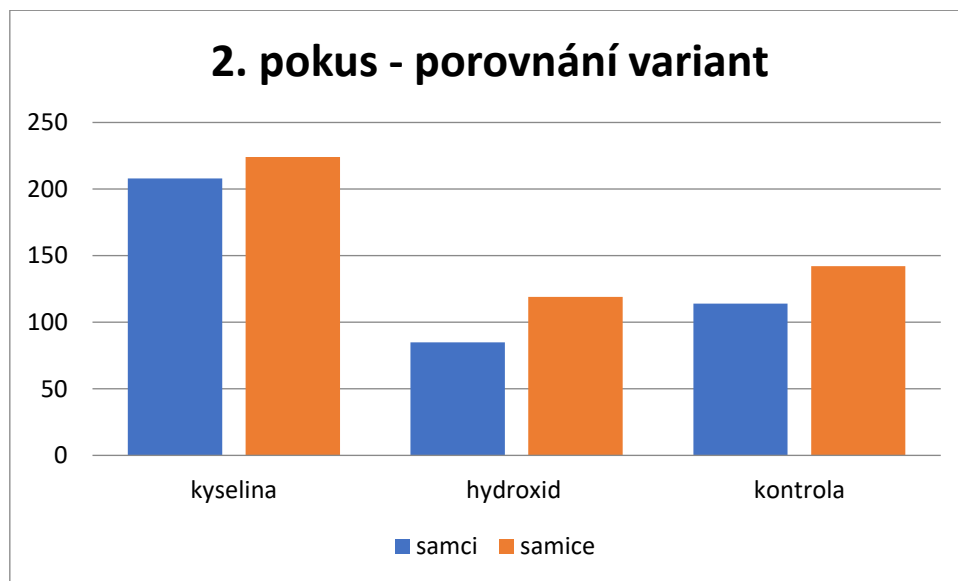
V rámci pokusu vyšlo, že samic druhu *Calliphora vicina* bylo celkově více než samců. Samic celkem bylo 713 jedinců, oproti tomu samců, kterých bylo jen 596 jedinců.

Jedinci ve variantě "kyselina" byli výrazně menší než ve variantě "hydroxid" a než jedinci získaní z kontroly. Způsobeno to bylo pravděpodobně tím, že na kyselině měly larvy méně vhodné podmínky a nekvalitní potravu potřebnou k vývoji. Za těchto zhoršených podmínek se nedostatečně vyvinuly. V případě nevhodné anebo nedostatečné potravy se vyvíjí menší larva, následně také malá kukla a z té se následně líhne malý dospělý jedinec (minoritní forma).

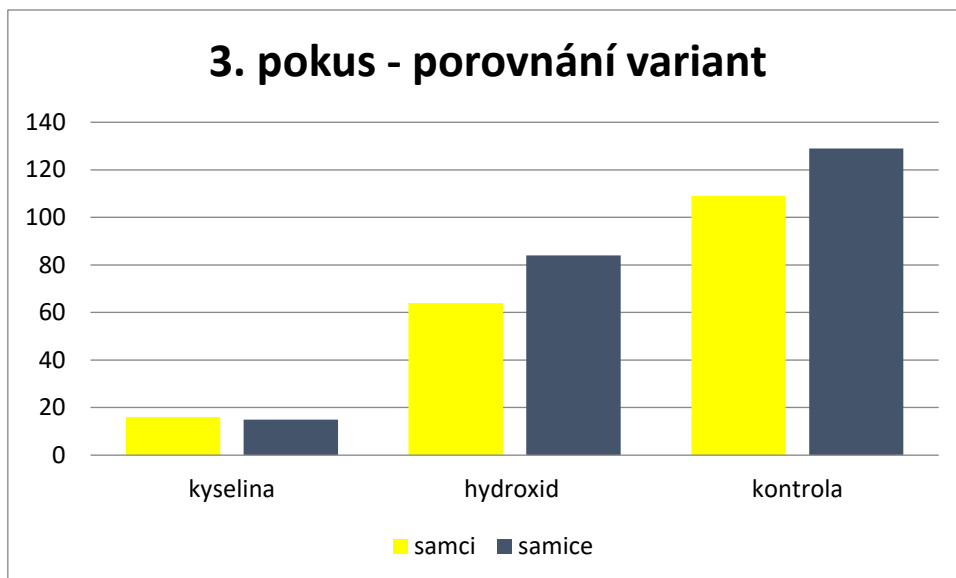
V grafu č.1 vidíme porovnání počtu samců a samic na jednotlivých variantách v průběhu 2. experimentu. Je zde patrné, že samic bylo více než samců na všech variantách.

V grafu č. 2 můžeme vidět zastoupení samic a samců v průběhu 3. pokusu a stejně jako u předchozího grafu je vidět, že samic bylo opět více než samců.

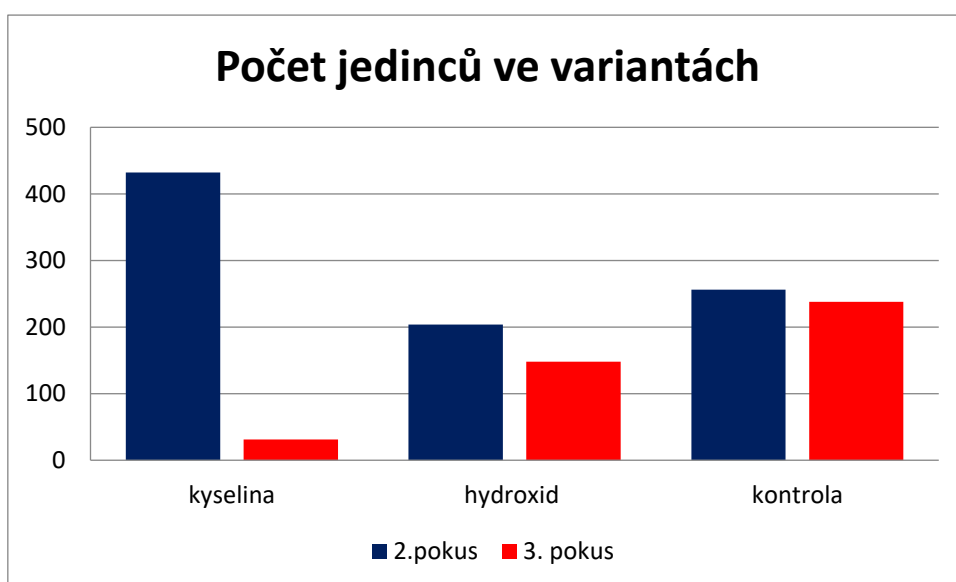
Pokud porovnáme celkový počet jedinců v obou pokusech, počet jedinců ve druhém experimentu je vyšší než počet jedinců ve 3. experimentu (graf 3). Rovněž je zde vidět výrazný rozdíl v zastoupení much na jednotlivých variantách. Ve druhém pokusu se nalézalo nejvíce zástupců na kyselině, oproti tomu ve 3. pokusu jsme nacházeli nejvyšší počet jedinců na kontrolních objektech.



Graf 1: Porovnání počtu samců a samic na jednotlivých variantách – 2. pokus

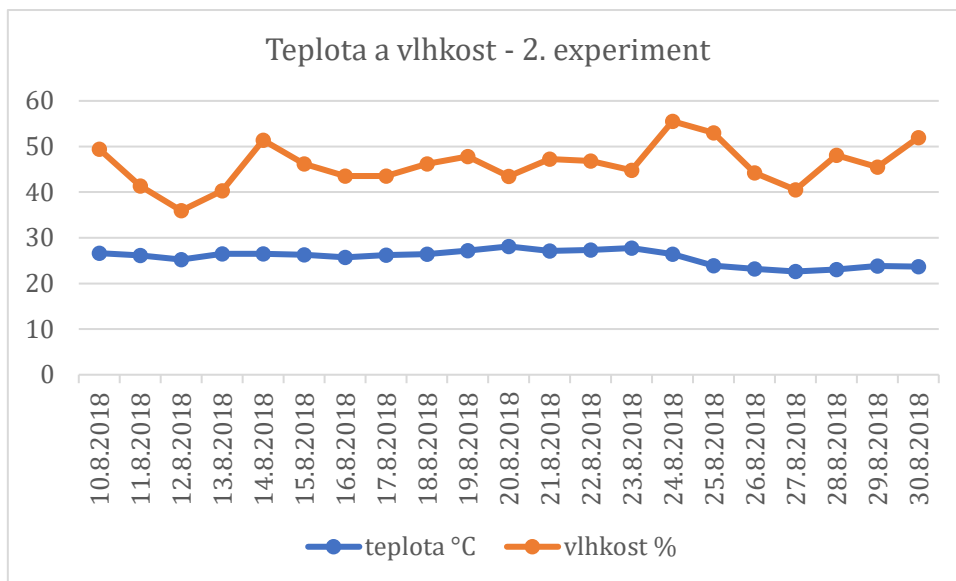


Graf 2: Porovnání počtu samců a samic na jednotlivých variantách – 3. pokus



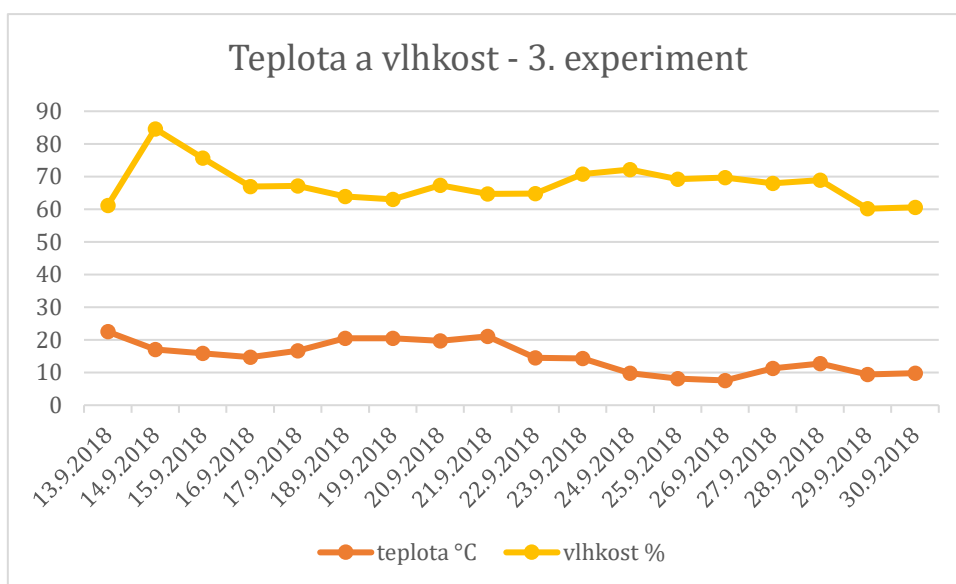
Graf 3: Porovnání celkového počtu jedinců v obou experimentech

Průměrná teplota v průběhu 2. experimentu byla 25,7 °C a průměrná vlhkost byla 46,05%. Nedošlo k žádnému výraznějšímu výkyvu teplot (graf 4).



Graf 4: Průměrné teploty a vlhkost v průběhu 2. experimentu

V průběhu 3. experimentu byla teplota poněkud nižší, průměrná teplota dosahovala pouze 14 °C. Vlhkost se pohybovala okolo 67 %, což bylo vyšší než v předchozím experimentu (graf 5).



Graf 5: Průměrné teploty a vlhkost v průběhu 3. experimentu

12 Diskuze

Průměrné denní teploty v průběhu 2. experimentu se pohybovaly kolem 25 °C, což je teplota, která je optimální pro kladení a vývoj much z čeledi Calliphoridae. Tudíž nelze usuzovat, že by teplota představovala faktor, který výrazně ovlivnil aktivitu samic much, jejich kladení a následný vývoj larev na jednotlivých pokusných objektech.

Naproti tomu ve 3. experimentu se průměrná denní teplota pohybovala okolo 14 °C, a to mohlo zapříčinit menší vzrůst larev a potažmo i dospělých jedinců z důvodu tzv. diapauzy anebo přípravy na ni, kdy dochází ke zpomalení až téměř zastavení biochemických procesů v těle.

Jak ve své práci uvádějí Saunders, et al. (1999), pokud jsou larvy druhu *Calliphora vicina* vystaveny podzimním krátkým dnům, může nastat diapauza začínající krátce po tom, co se larva nakrmí. V případě, že diapauza nastane, jedinci jsou poté menšího vzrůstu.

Dále v přeplněných larválních populacích bylo zjištěno, že menší individua mohou „odložit“ diapauzu a dokončit vývojový cyklus, potom ovšem produkují malá pupária na rozdíl od velkých individuí, u kterých nastane diapauza, jak je očekáváno (Saunders, 1987).

Vše výše uvedené by mohlo být příčinou menšího vzrůstu jedinců ve 3. experimentu. Dalším vysvětlením malého vzrůstu dospělců získaných z varianty s kyselinou může být to, že larvy nekrofágních druhů jsou obecně závislé na množství a kvalitě potravy – při jejím nedostatku anebo pokud je nekvalitní, tak dorůstají menších forem (např. na malých kadáverech) a poté z malých larev jsou malá pupária/kukly a z nich malá imága. Dále může hrát roli populační denzita, jak dokládá ve své práci Creighton (2005) na případu hrobařů.

Ačkoliv se očekávalo, že ve variantě s kyselinou se vyskytne nejméně jedinců, v 2. experimentu ve variantě s kyselinou se objevilo největší množství jedinců z obou pokusů a ve skutečnosti ze všech variant, protože bylo získáno celkem 432 jedinců. Domníváme se, že výskyt mohl být čistě náhodný, nebo zapříčiněn faktorem, který nebyl zaznamenán. Také zde mohlo hrát významnou roli narušení kůže kyselinou a mouchy tak instinktivně poznaly snazší přístup ke kadaveru, a proto ho zakladly více než ostatní pokusná zvířata.

Experiment probíhal již v září roku 2017 ve Špindlerově Mlýně, bohužel však kvůli velmi nízkým teplotám (i pod bodem mrazu) se nepodařilo experiment zdárně ukončit a získat z něj výsledky vhodné pro náš výzkum. Potvrdil se nám zde výrok Šulákové (2014), že aktivita much je závislá na teplotách a na způsobu přezimování jednotlivých druhů. Některé druhy jsou odolnější a lépe snášejí nízké teploty, např. *Calliphora vicina*, nicméně teploty v tomto období již klesly v noci i pod bod mrazu a nebyla zde zaznamenána žádná aktivita much a ani zde nebyly zaznamenány žádné změny na kadáverech a ani za 14 dní nijak nepokročil rozklad pokusných zvířat.

1. experiment roku 2018 proběhl v červenci, ovšem opět nebyl zdárně dokončen. Během volné expozice začalo pršet a do beden s pokusnými zvířaty napršelo přibližně 20 cm vody a znehodnotilo nám to výsledky.

13 Závěr

V teoretické části byl přiblížen hlavní předmět zájmu forenzní entomologie a stručně popsána historie a její vývoj. Byly popsány jednotlivé sukcesní vlny a zástupci v nich se vyskytující. Byl popsán také stručně postup při zajišťování entomologického materiálu. Dále je v teoretické části zkráceně popsána specifikace čeledi Calliphoridae.

Praktická část se zaměřovala na vliv chemických faktorů na následnou kolonizaci kadaveru. Chtěli jsme zjistit, zda chemikálie má nějaký vliv na preferenci při kolonizaci, na druhové složení a v neposlední řadě na velikost jednotlivých zástupců z řádu Diptera. Vzhledem k působení neznámých faktorů se nám nepodařilo jednoznačně prokázat vliv chemikálie na preferenci při kolonizaci, neboť jsme očekávali, že na kyselině bude zástupců nejméně, avšak v jedné variantě pokusu se nám toho tvrzení nepodařilo potvrdit. V případě přesnějších výsledků bych doporučovala pokus zopakovat více krát a pokud by se výsledky chtěli uplatnit na lidský kadaveru, bylo by lepší pokus provést na větších pokusných objektech, například na kadaveru prasete domácího.

14 Seznam použité literatury

- AMENDT, J., CAMPOBASSO, C. P., GAUNDRY, E., REITER, C., LEBLANC, H. N., HALL, M. J. R. 2006. Best practice in forensic entomology — standards and guidelines. *International Journal of Legal Medicine*. **121**: 90 – 104.
- ANDERSON, G. S. 2005. Effects of arson on forensic entomology evidence. *Canadian Society of Forensic Science Journal*. **38** (2): 49 – 67.
- BENECKE, M. 2001. A brief history of forensic entomology. *Forensic Science International*. **120**: 2 – 14.
- BENECKE, M. 2004. Forensic Entomology: Arthropods and Corpses. *Forensic Pathology Reviews*. **2**: 207 - 240.
- BENECKE, M. 2008. A brief survey of the history of forensic entomology. *Acta biologica Benrodis*. **14**: 15 – 38.
- BYRD, J. H., CASTNER, J. L. 2010. *Forensic entomology: the utility of arthropods in legal investigations*. CRC Press. Boca Raton. 682 pp. ISBN: 978-0-8493-9215-3
- CAMPOBASSO, C. P., DI VELLA, G., INTRONA, F. 2001. Factors affecting decomposition and Diptera colonization. *Forensic Science International*. **120** (1 – 2): 18 – 27.
- CREIGHTON, J.C. 2005. Population density, body size, and phenotypic plasticity of brood size in a burying beetle. *Behavioral Ecology*. **16**: 1031-1036.
- DANĚK, L. 1980. *Možnosti využití entomologie v kriminalistice*. *ČS Kriminalistika* **8**(1): 44-55.
- DANĚK, L. 1990. *Možnosti využití entomologie v kriminalistice*. Kriminalistický ústav, Praha, 142 pp.
- DRABER-MOŇKO, A. 2004. *Calliphoridae: Plujki (Insecta: Diptera)*. Muzeum i Instytut Zoologii PAN, Warszawa, 658 pp. ISBN 83-881-4702-1

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

HADLEY, D. n. d. An Early History of Forensic Entomology, 1300 - 1900. [online] [citace 2019-03-08] Dostupné z: http://insects.about.com/od/forensicentomology/p/early_forensic_ento_history.htm (poslední přístup: 19.4.2019).

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

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

POVOLNÝ, D. 1979. Některá hlediska praktického využití hmyzu v kriminalistice. *Kriminalistický sborník* **10**: 620 – 632.

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

SAUNDERS, D. S. 1997. Under-sized larvae from short-day adults of blow fly, *Calliphora vicina*, side-step the diapause programme. *Physiological Entomology* **92**: 249-255.

SAUNDERS, D. S., I. WHEELER a A. KERR. 1999. Survival and reproduction of small blow flies (*Calliphora vicina*; Diptera: Calliphoridae) produced in severely overcrowded short-day larval cultures. *European Journal of Entomology* **96**: 19 – 22.

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

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

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

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