

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra zoologie a rybářství



**Česká zemědělská
univerzita v Praze**

**Schopnost čeledi Calliphoridae dokončit vývojové cykly
po dodatečném zakopání kadáveru**

Bakalářská práce

Hana Zapletalová

Veřejná správa v zemědělství a krajině

**Vedoucí práce: prof. RNDr. Miroslav Barták, CSc.
Konzultantka práce: plk. Ing. Hana Šuláková, Ph.D.**

© 2021 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Schopnost čeledi Calliphoridae dokončit vývojové cykly po dodatečném zakopání kadáveru" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího a konzultantky bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 1. 5. 2021

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala prof. RNDr Miroslavu Bartákovi, CSc. za jeho vstřícný přístup a vedení při zpracování této bakalářské práce. Rovněž bych chtěla poděkovat plk. Ing. Haně Šulákové, Ph.D. za její odborné rady, lidský přístup, trpělivost a čas, který mi věnovala. Bez její pomoci a energie, kterou do této oblasti vkládá, by tato práce vznikala jen velmi obtížně. Své poděkování bych také ráda směřovala kpt. Ing. Vandě Klimešové za její pomoc v oblasti genetické determinace. V neposlední řadě také děkuji své rodině za nesmírnou trpělivost.

Schopnost čeledi Calliphoridae dokončit vývojové cykly po dodatečném zakopání kadáveru

Souhrn

Bakalářská práce je zaměřena na oblast forenzní entomologie s cílem shromáždit dostupné informace a vypracovat literární přehled o schopnosti čeledi Calliphoridae (bzučivkovití) dokončit vývojové cykly po dodatečném zakopání kadáveru a toto následně terénním experimentem ověřit.

Literární rešerší zaměřenou na čeled' Calliphoridae a vliv dodatečného zakopání na její vývin bylo zjištěno, že uvedenou problematikou se zabývá pouze několik málo autorů. Nejpřínosnější informace přinesly práce Balme et al. (2012) a Gunn a Bird (2011). Obě práce se zabývaly mimo jiné schopností čeledi Calliphoridae dokončit svůj vývin po dodatečném pohřbení. Výsledky uvedené v těchto pracích však nelze plošně aplikovat z důvodu omezeného rozsahu obou experimentů. V práci Balme et al. (2012) je experiment prováděn v simulovaném prostředí se třemi vývojovými stadii (larvy II. a III. instaru a puparia), nikoliv však s vajíčky dané čeledi. Ve druhé zmíněné práci Gunn a Bird (2011) v experimentu využili puparia i vajíčka much čeledi Calliphoridae, avšak jednalo se o laboratorní prostřední s udržovanou konstantní teplotou 25 °C.

Z uvedeného důvodu byl realizován terénní experiment, jehož cílem bylo ověřit, zda i nejnižší vývojová stadia čeledi Calliphoridae budou schopna svůj vývoj po dodatečném zakopání ve venkovním prostředí dokončit. Při experimentu bylo použito šest kadáverů kura domácího (*Gallus gallus f. domestica* Linnaeus, 1758) dodatečně zakopaných po volné expozici a zaklazení mouchami. Experiment byl rozdělen na dvě varianty. V první variantě byly tři kadávěry po zaklazení mouchami uloženy do kartonové krabice imitující rakev anebo obdobný obal a poté zakopány. Ve variantě druhé, byly tři zaklazené kadávěry pohřbeny volně v přímém kontaktu s půdou.

V obou variantách experimentu byla nalezena prázdná puparia rodu *Lucilia* z čeledi Calliphoridae. Výsledky pokusu tedy potvrdily, že nižší vývojová stadia čeledi Calliphoridae jsou schopna dokončit svůj vývojový cyklus po dodatečném zakopání kadáveru i mimo simulované prostředí. Výsledek experimentu navíc ukázal rozdíl mezi variantami, respektive způsobem pohřbení, a to v celkovém počtu odebraných zástupců, s větším množstvím odebraného materiálu v případě kadáverů pohřbených v krabici (pevném obalu). Zároveň pokus prokázal vliv zakopání kadáveru v krabici na jeho rozklad, kdy rozklad kadáverů zakopaných v krabici probíhal pomaleji než ve variantě kadáverů volně ložených v půdě. Poznatky této práce doplňují doposud publikovaná data v oblasti schopnosti vývinu čeledi Calliphoridae po dodatečném zakopání kadáveru ve venkovních podmínkách a poukazují na vliv pevného obalu na rozklad kadáveru a počet zástupců nekrofágního hmyzu.

Klíčová slova: forenzní entomologie, Calliphoridae, larva, dodatečné pohřbení

The potentiality of Calliphoridae to complete developmental cycles after additional burrowing of a cadaver

Summary

The bachelor's thesis focuses on the field of forensic entomology with the aim to gather available information and produce a literary overview the ability of the family Calliphoridae (blow flies) to complete its development cycles after the additional burial of the cadaver and verify this through a field experiment.

A literature research focused on the family Calliphoridae and the influence of additional burial on its development revealed that only a few authors deal with this subject. The most useful information was provided by the work of Balme et al. (2012) and Gunn and Bird (2011). Both works dealt, among other things, with the ability of the family Calliphoridae to complete its development after additional burial. However, the results reported in these works cannot be applied widely due to the limited scope of both experiments. In Balme et al. (2012) the experiment is performed in a simulated environment with only three developmental stages (II. and III. instars of larvae and puparia). In the work of Gunn and Bird (2011) the experiment used puparia and eggs of flies of the family Calliphoridae, but it was based in laboratory environment with a constant temperature of 25 °C.

For this reason, the field experiment was carried out with the aim to confirm if the lowest developmental stages of the family Calliphoridae will be able to complete its development cycle after additional burrowing in outdoor conditions. Total number of six cadavers of the domestic chicken (*Gallus gallus* f. *domestica* Linnaeus, 1758) were used in the experiment and subsequently buried after the oviposition by flies. There were two variants of the experiment. The first one involved three cadavers which were initially placed in the cardboard box imitating a coffin or similar packaging and then buried. In the second one, the three cadavers were buried freely, with direct contact with the soil.

The number of empty puparia of *Lucilia* spp. from the family Calliphoridae, were found in both variants of the experiment. These results confirmed the potentiality of the lower developmental stages of the family Calliphoridae to complete its development cycle after additional burrowing of the cadaver. The outcome of the experiment also showed a discrepancy between the two variants. In particular, it revealed the difference in the number of arthropod specimens, with the larger number of samples collected in the variant with the burial in the box (solid packaging). It also revealed the effect of the burial in the box on the decay as these showed a slower rate of decay than the freely buried ones. The findings of this work complement the data published so far in the field of the ability of the family Calliphoridae to develop after additional burial in outdoor conditions and point to the effect of solid packaging on the decomposition of cadaver and the number of necrophagous insects.

Keywords: Forensic entomology, Calliphoridae, larvae, additional burrowing

Obsah

1	Úvod	9
2	Cíl práce	10
3	Literární rešerše	11
3.1	Historie forenzní entomologie	11
3.2	Význam forenzní entomologie	12
3.3	Zajišťování entomologických stop	14
3.4	Vztahy mezi živými a mrtvými organismy	17
3.5	Sukcese	18
3.5.1	Sukcesní vlny a stadia rozkladu	18
3.5.2	Faktory ovlivňující sukcesi	24
3.6	Rozklad pod půdním povrchem	26
3.6.1	Specifika sukcese pod půdním povrchem	26
3.6.2	Čeled' Calliphoridae na pohřbených kadáverech	28
3.7	Myiáze	29
3.8	Dvoukřídlí čeledi Calliphoridae	31
3.8.1	Taxonomické zařazení	31
3.8.2	Morfologie a vývoj	32
3.8.3	Významní zástupci čeledi Calliphoridae ve forenzní praxi	34
4	Metodika	35
4.1	Popis lokality	35
4.1.1	Charakteristika pozemku	35
4.1.2	Půda	35
4.1.3	Meteorologická data	35
4.2	Popis experimentu	36
4.3	Odběr a hodnocení vzorků	36
4.3.1	Entomologické vzorky	36
4.3.2	Tafonomické změny	37
5	Výsledky	38
5.1	Entomologické vzorky	38
5.1.1	Kadávery ve volné expozici	38
5.1.2	Kadávery pohřbené v krabici	38
5.1.3	Volně pohřbené kadávery	39
5.2	Tafonomické změny na kadáverech	39
5.2.1	Kadávery pohřbené v krabici	39
5.2.2	Volně pohřbené kadávery	40

5.3	Zhodnocení výsledků	40
6	Diskuze.....	41
7	Závěr	43
8	Literatura	44
9	Samostatné přílohy.....	I

1 Úvod

Forenzní entomologie využívá poznatků o hmyzu a ostatních bezobratlých při vyšetřování skutečností a ověřování důkazů v rámci občanského a trestního práva (Amendt et al. 2010; Šuláková 2014). Entomologické metody se řadí mezi jedny z nejpresnějších při stanovení doby smrti, jelikož pracují s hodinami a dny. V podmínkách střední Evropy lze takto přesně spočítat počátek kolonizace zpravidla během prvních tří až šesti týdnů od expozice těla (Šuláková 2014).

Jedno z nejčastějších využití pro forenzní entomologii nacházíme při určování délky intervalu mezi úmrtím člověka a nalezením jeho ostatků. V tomto případě je využíváno znalostí rozkladného procesu a zástupců hmyzu, kteří se na degradaci podílejí (Šuláková 2014). Metody forenzní entomologie mohou pomoci se zodpovězením i dalších důležitých otázek například zda bylo s tělem po smrti manipulováno, odhalit výskyt traumat na těle, objasnit příčinu úmrtí a v neposlední řadě nám může v některých případech pomoci objasnit totožnost oběti (Byrd & Castner 2009; Singh et al. 2009; Amendt et al. 2011).

Ve většině případů se mezi první kolonizátory řadí mouchy, konkrétně z čeledi Calliphoridae (bzučivkovití). Bzučivky jsou schopny lokalizovat mrtvé tělo s velkou prostorovou přesností a naklást svá vajíčka během minuty až hodiny od úmrtí (Amendt et al. 2011; Šuláková 2014).

Průběh samotné kolonizace je předvídatelným procesem v každém typu prostředí a jakékoli odlišnosti mohou forenzního entomologa upozornit na vnější zásah do průběhu sukcese, například přesun mrtvoly, vyhrabání pozůstatků zvířaty, ale i naopak dodatečné zakrytí nebo zakopání těla (Šuláková 2014; Byrd & Tomberlin 2019). Právě problematice vlivu dodatečného zakopání kadáveru na vývin nižších stadií čeledi Calliphoridae, respektive jejich schopnosti svůj vývin dokončit, se tato práce zabývá.

2 Cíl práce

Cílem bakalářské práce je vypracování literární rešerše na téma: Schopnost čeledi Calliphoridae (bzučivkovití) dokončit vývojové cykly po dodatečném zakopání kadáveru a v následné experimentální části ověřit, zda vajíčka a larvy čeledi Calliphoridae pokračují ve svém vývinu i po dodatečném pohřbení kadáveru do mělkého hrobu.

H0: Nižší vývojová stadia nekrofágních druhů čeledi Calliphoridae jsou schopná po dodatečném zakopání kadáveru dokončit svůj vývojový cyklus.

3 Literární rešerše

3.1 Historie forenzní entomologie

První zmínka o využití hmyzu při vyšetřování trestného činu pochází z Číny, ze 13. století. Případ je zdokumentován právníkem Sung Tzu v knize nazvané Hsi yüan chi lu („Vymítání zla“) a pojednává o případu, kdy tělo farmáře bylo s několika bodnými ranami od srpu nalezeno na rýžovém poli. Všichni podezřelí museli předložit své srpy na zem a vrah byl usvědčen pomocí bzučivek, které byly vábeny reziduálními zbytky krve na jednom z nástrojů (Benecke 2001). Činnosti much na mrtvých tělech se věnoval i významný biolog Carl von Linné, který již v roce 1767 shrnul svá stěžejní pozorování do věty, že „*tři mouchy sežerou koně stejně rychle jako lev*“. Poukazoval tím na masu larev, které mouchy mohou dosáhnout, a jejich neuvěřitelnou schopnost rychlé likvidace měkkých tkání kadáveru (Daněk 1990; Campobasso et al. 2001).

Jedny z prvních záznamů o využití hmyzu při forenzní praxi vznikaly v 19. století, především ve Francii a Německu během masových exhumací (Benecke 2001).

V roce 1855 dal francouzský lékař Bergeret d'Arbois vzniknout základům moderní forenzní entomologie zdokumentováním případu, kdy i přes určité nepřesnosti v interpretaci nalezeného hmyzu určil dobu úmrtí novorozence a poskytl první poznatky o vývinu bezobratlých na mrtvých tělech (Benecke 2001).

Německý lékař Reinhard v roce 1881 publikoval první systematickou studii zaměřenou na forenzní entomologii, ve které se zabýval popisem zástupců hmyzu na rozkládajících se kadáverech, především much z čeledi Phoridae a zástupců brouků (Benecke 2001). Přibližně ve stejném období začíná francouzský lékař Jean Pierre Mégnin rozvíjet svou teorii o předvídatelných ekologických vlnách nekrofágního hmyzu na mrtvolách a o jeho vývojových cyklech. V roce 1894 vydává na svou dobu stěžejní forenzně entomologickou knihu s názvem *La Faune de cadavres* („Fauna mrtvolná“), ve které rozšiřuje svou původní teorii čtyř sukcesních vln u volně exponovaných těl na osm (Mégnin 1894). V roce 1895 knihu využili jako inspiraci pro experimenty dva kanadští vědci Johnston a Villeneuve a zdůraznili, že při využití Mégningovi teorie je nutné vzít na vědomí i lokalitu a klimatické podmínky (Benecke 2001).

V roce 1922 německý profesor Meixner publikoval případy rychlého rozkladu kadáverů nacházejících se ve sklepení a poznamenal, že u dětských těl dochází k rychlejšímu rozkladu. Tato pozorování pak rozšířil Merkel popisem případu rodičů zavražděných vlastním synem. Tělo otce bylo i přes jeho štíhlou postavu výrazně napadeno larvami hmyzu oproti tělu matky, která byla v době smrti obézní. Vyšlo najevo, že otec byl mnohonásobně pobodán a mouchy tak byly přilákány uvolněnou krví a přednostně kladly do otevřených ran. Opět se jednalo o další důležitý poznatek forenzní entomologie, a sice že okolnosti úmrtí mohou ovlivnit sukcesi mrtvého těla nekrofágním hmyzem (Benecke 2001).

Zajímavý případ popsal Hubert Caspers v roce 1950, kdy využil chrostíky jako nástroj forenzního vyšetřování. Na základě jejich přítomnosti na mrtvole, výborné znalosti jednotlivých fází jejich vývinu a zejména poznatku o tom, kdy a jak si larvy tohoto hmyzu vytváří ochranné schránky, prokázal, že u nalezené zavražděné dívky došlo k dodatečnému přenesení jejího mrtvého těla z místa činu na místo nálezu (Benecke 2001).

V druhé polovině dvacátého století sehráli důležitou úlohu ve vývoji forenzní entomologie belgický lékař a vědec Leclercq a finský profesor Nuorteva, kteří dopomohli k rozvoji této vědy po celém světě (Daněk 1990; Benecke 2001).

Forenzní entomologie je stále mladá vědní disciplína, i když se využívá více než 150 let. Jednou z nejdůležitějších výzev pro budoucnost je kombinace experimentálních dat a praxe. Faktory, které hrají roli na místě činu, jsou v různých částech světa velmi variabilní. Zlepšit stávající znalosti této problematiky lze pouze prostřednictvím zvýšeného počtu podrobných a kvalifikovaných pozorování (Singh et al. 2009).

3.2 Význam forenzní entomologie

Forenzní entomologie je věda, která studuje hmyz živící se mrtvolami (Joseph et al. 2011). Poznatky se využívají v kriminalistice a na základě poznatků o jednotlivých řádech hmyzu a vývojových cyklech napomáhá při odhalování trestných činů (Amendt et al. 2011). Využívá k tomu především saprofágní organismy a z nich zejména nekrofágy (Straus & Porada 2017).

Hmyz, nebo jeho pozůstatky, nalézáme jak na místech činu, tak v archeologickém kontextu. V případě správného sběru a analýzy, lze hmyz využít jako relevantní nástroj při rekonstrukci minulých událostí forenzních či archeologických (Joseph et al. 2011).

Forenzní entomolog může využít svých znalostí v několika oblastech. Nejvýznamnější informací, kterou hmyz může poskytnout o okolnostech smrti je tzv. post mortem interval (PMI). Hmyz může navíc poskytnout důležité informace o důvodu a způsobu úmrtí, případném přemístění těla, přítomnosti toxinů a drog v těle, expozici těla před pohřbením s determinací místa úmrtí nebo poskytnout detaily ohledně skrytí těla (Byrd & Castner 2009; Singh et al. 2009; Joseph et al. 2011).

Pro pochopení a rekonstrukci minulých událostí je důležitá interakce mezi všemi specialisty, kteří na místě činu pracují, nebo se podílejí na archeologickém výzkumu (Joseph et al. 2011).

Při každé forenzní nebo archeologické rekonstrukci je nezbytné myslet na tzv. 6W's, z anglického Who, What, When, Where, Why a How (kdo, co, kdy, kde, proč a jak), a k jejich zodpovězení je prvním krokem přesné určení zastoupených druhů hmyzu (Schotsmans et al. 2017).

Forenzní entomolog při nálezů pozůstatků studuje nejen hmyz, který je přítomen na mrtvole v době objevu těla, ale současně shromažďuje důkazy, které na místě zůstaly po předchozích kolonizátorech. Zároveň zaznamená i druhy, které na mrtvole chybějí, přestože jejich přítomnost lze za normálních okolností a dle aktuálního stupně rozkladu na těle očekávat. Teprve z komplexní analýzy všech těchto informací lze určit přesnou dobu smrti (Byrd & Tomberlin 2019).

Délku intervalu mezi úmrtím člověka a nalezením mrtvoly (PMI) lze stanovit dle složení společenstva hmyzu na kadáveru a podle stupně vývoje jeho nižších vývojových stadií, jmenovitě vajíček, larev a puparů či kukel (Šuláková 2006; Šuláková 2014).

Eliášová a Šuláková (2012) uvádějí, že stanovení PMI vychází ze dvou základních poznatků. Jedním z nich je nutná znalost délky vývoje jednotlivých druhů a druhým je znalost druhového složení společenstva na mrtvole dle konkrétní sukcesní fáze mrtvoly. U krátkodobých PMI (tj. do tří až pěti týdnů) se přesnost stanovení post mortem intervalu pohybuje v rozmezí jednoho až pěti dnů. U nálezů starších se přesnost snižuje až na určitý týden nebo měsíc.

Dle Campobasso et al. (2001) spolehlivost odhadu PMI pomocí procesů souvisejících s dekompozicí (jako je například posmrtná ztuhlost, posmrtné skvrny či chladnutí) v závislosti na čase značně klesá. Parametry získané a vyhodnocené patologem jsou velmi cenné pro stanovení PMI, avšak dle Andersonové (2005) se na ně lze spolehnout pouze v prvních 24 až 72 hodinách po smrti.

Kashyap a Pillay (1989) studií společenstva hmyzu, které pozorovali při kolonizaci šestnácti kadáverů, potvrdili, že PMI stanovené za pomoci forenzní entomologie je oproti ostatním přístupům statisticky více přesné. Rozdíl mezi policejními záznamy o čase smrti, které byly určeny převážně na základě svědeckých výpovědí, a PMI odvozenými na základě dekompozice těla a ostatních faktorů (autopsie) nebo PMI založených na entomologických důkazech, jednoznačně indikovaly při odhadu času úmrtí nadřazenost entomologických postupů (Kashyap & Pillay 1989).

Přestože Laupy (1994) uvádí, že problematika spolehlivého určování post mortem intervalu není i přes několik desítek let trvající úsilí odborníků spolehlivě vyřešena a lze se domnívat, že i v budoucnu bude představovat téma, ke kterému se budou experti vracet. Šuláková (2014) již uvádí entomologickou metodu jako jednu z nejpřesnějších pro stanovení doby smrti, pokud úmrtí nastalo před více než 72 hodinami. Zdůrazňuje však, že forenzní entomolog neurčuje čas, resp. dobu úmrtí, pouze analyzuje hmyz odebraný na těle mrtvého a stanovuje dobu kolonizace mrtvoly. Zde je nutné brát v úvahu další faktory, které mají na kolonizaci vliv, protože úmrtí a začátek kolonizace se mohou, ale také vůbec nemusejí shodovat (Šuláková 2014).

3.3 Zajišťování entomologických stop

Úkony spojené s forenzní entomologií nezačínají v laboratoři, ale na místě nálezu těla, nebo v místě úmrtí. Mnoho forenzně významných členovců nenalézáme na mrtvolách a pozůstatcích, ale v jejich okolí, a dokonce i v půdě pod kadáverem (Byrd & Castner 2009).

Jako stěžejní oblast ve forenzní entomologii vidí Gennard (2007) v rychlosti sběru entomologických vzorků. Pokud je třeba zajistit vzorky z místa činu, očekává se, že se tak stane neprodleně, a to především ze dvou důvodů. Prvním důvodem je, že mrtvola prochází neustálým procesem rozkladu, ke kterému také přispívají vylíhnuté larvy. Druhým důvodem je změna prostředí místa činu v návaznosti na nutné postupy a provedené kroky pro zajištění hygienických opatření. Oba důvody mohou vést ke zkreslení sesbíraných vzorků a mohou tak mít negativní dopad na vyřešení celého případu. Pro urychlení celého procesu je tedy vhodné mít připravené například přenosné zavazadlo se všemi potřebami pro správný a rychlý sběr materiálu (Gennard 2007).

Odběr vzorků provedený až po odstranění pozůstatků z místa nálezu má vždy za následek méně uchovaných důkazů, než kdyby byl použit standardní postup, a jako takový může mít negativní dopad na následnou analýzu. Pro co nejpřesnější dokumentaci a shromáždění fauny je proto důležité hmyz odebírat ještě před odstraněním těla z místa činu (Byrd & Castner 2009).

S ohledem na to, že pro některý hmyz jsou stěžejní krmné oblasti uvnitř těla, je část sběru nutné provádět také před nebo během pitvy. Jako nejpřesnější se v těchto situacích jeví sběr ve třech krocích, kdy dojde ke sběru vzorků na místě činu, konkrétně z těla. Po odstranění těla následuje sběr materiálu z jeho okolí. Posledním krokem je pak ohledání a sběr vzorků z těla během autopsie (Byrd & Castner 2009).

Klíčovými prvky při využívání hmyzu jako forezních indikátorů je samotné rozpoznání daného hmyzu jako entomologického důkazu, dokumentace, sběr a jeho přeprava z lidských nebo zvířecích pozůstatků. Přesné určení vzorků až na úroveň druhů (za pomoci jiných metod než DNA) lze dosáhnout pouze pokud na odebraných vzorcích nedojde k porušení morfologických charakteristik. U živých vzorků lze identifikaci druhů pomoci tak, že se umožní jejich vývin v pokročilejší stadium, které má lépe identifikovatelné znaky. Konzervované vzorky jsou naopak zásadní při prokázání stupně vývinu, kterého hmyz dosáhl přesně v okamžiku nálezu těla. Samotná konzervace zabraňuje možným nepřesnostem v odhadu stadia vývinu, které mohou vzniknout při nesprávně zdokumentované teplotě během přepravy nebo skladování (Byrd & Castner 2009).

Kromě vlastního sběru vzorků, musí policejní orgán důkladně zdokumentovat okolnosti úmrtí, včetně veškeré aktivity hmyzu, vytvořit evidenční štítky pro všechny shromážděné entomologické vzorky a zdokumentovat environmentální stanoviště v místě nálezu spolu s meteorologickými údaji (Byrd & Castner 2009). Gennard (2007) uvádí jako obecné pravidlo pro sběr a správné označení vzorků štítek se základními informacemi jako například datum

sběru, místo sběru apod. Šuláková (2006) navíc doporučuje pořízení fotodokumentace z místa činu, eventuálně videozáznamu, a přikládá důraz na zdokumentování rostlinstva, případných vodních ploch, nerovnosti terénu apod.

Zajišťování entomologických stop lze dle Byrda a Castnera (2009) rozdělit do následujících kroků:

Pořízení fotografií a písemných záznamů o celkovém charakteru místa činu je prvním velmi důležitým krokem a pomáhá znalci k určení druhů hmyzu, které by se v dané oblasti měly vyskytovat. V případě, že se tento hmyz na mrtvole nevyskytuje, může to indikovat manipulaci s tělem po smrti.

Pořízení fotografií a písemných záznamů o přítomném hmyzu na mrtvém těle a v jeho okolí, by mělo začínat nejprve z větší vzdálenosti od těla, a to ještě předtím, než někdo přistoupí k pozůstatkům. Minimalizovat vyrušení hmyzu svou přítomností může vyšetřovatel i tak, že bude obezřetný a nezastíní mrtvolou svým vlastním stínem.

Sběr meteorologických dat je kritickou součástí analýzy při stanovení doby kolonizace. Doba, kterou potřebuje hmyz pro průběh životního cyklu, je závislá na teplotě a vlhkosti daného prostředí. Doporučeným minimem měření pro dokumentaci jsou teplota vzduchu, teplota povrchu těla a terénu, teplota mezi tělem a povrchem terénu, teplota ze středu tzv. masy larev a teplota půdy. V této fázi by měl vyšetřovatel také zdokumentovat dobu vystavení těla na přímém slunci, stín, případné umístění oken k pozici těla apod.

Sběr entomologických vzorků před odstraněním těla z místa činu začíná odchyčením létajícího hmyzu nad tělem a v jeho blízkosti. K odchyčení se využívá entomologická síť. Konec sítě s obsahem živého hmyzu je poté vložen do nádoby, ve které dojde k jeho usmrcení.

Ke sběru hmyzu lezoucího na těle a v jeho okolí se používají ochranné rukavice nebo entomologická pinzeta. V této fázi mohou vzorky obsahovat hmyz z řádu Coleoptera (brouci), mravence, včely a vosy z řádu Hymenoptera (blanokřídlí), jedince z řádu Hemiptera (polokřídlí), Collembola (chvostokoci) a nově vylíhlé jedince z řádu Diptera (mouchy).

Sběr entomologických vzorků z těla začíná poté, co byly zajištěny ostatní vzorky výše uvedených bodů. Je velmi důležité sbírat vzorky pouze jasně viditelné tak, aby nedošlo k manipulaci s tělem a omezit na minimum narušení jakékoliv části oblečení, bezprostředního okolí pozůstatků a těla samotného. Typickým nálezem jsou v této fázi vajíčka a různé velikosti larev. Průměrné množství vzorku je 50 až 100 kusů a ty by po sběru měly být zakonzervovány. Aby bylo možné zdokumentovat různé vývojové fáze, je nutné odebrat vzorky nejmenších i největších larev z různých částí těla a ty uložit odděleně se záznamem lokality sběru a teploty z dané oblasti. Poté se přistupuje ke sběru živých vzorků, které po dokončení vývinu slouží k identifikaci druhu. Živý materiál se skladuje ve speciálních sběrných nádobách s přístupem vzduchu a s přidáním substrátu (například zeminy) a krmiva pro vyvíjející se larvy (například vepřové maso).

Při sběru entomologických vzorků mimo tělo je nezbytné se soustředit na hmyz, který potencionálně dokončil krmnou fázi a tělo opustil. Z pohledu forenzní entomologie je tento materiál extrémně významný, protože se obecně jedná o starší hmyz, než je ten nalezený na mrtvole. Pokud se jedná o místo činu ve venkovních prostorách, lze nalézt hmyz zahrabaný v okolí kadáveru až 2,5 cm pod ornici v perimetru až 6 m od těla, v husté vegetaci nebo v okolí kmenů stromů a pod spadánými větvemi. Půda z okolí nálezu by měla být prosátá, aby i sebemenší nález hmyzu, nebo jeho části, mohl být zdokumentován. Tento materiál by měl být sbírán a uchován stejným způsobem jako v předchozím bodě.

Sběr materiálu z místa nálezu po odstranění těla probíhá dle stejného doporučení jako v předchozích bodech. U těl nalezených ve venkovním prostředí a kolonizovaných velkým množstvím hmyzu zůstane po odstranění těla na povrchu terénu spousta hmyzu v různých stádiích vývinu. Vzorky by měly obsahovat všechna stadia vývinu a opět by měla být část zakonzervována a část uchována živá. Do další nádoby jsou sesbírány vzorky materiálu z okolí (např. listy, tráva, kůra a půda) které jsou poté podrobeny podrobnému výzkumu v laboratoři, kde se hledá další možná fauna. Vzorky půdy se odebírají z místa činu a z různých částí pod tělem, protože mohou obsahovat nejen hmyz ale i biochemické složky z rozkladných procesů.

Sběr entomologických vzorků v průběhu pitvy by v ideálním případě měl provádět stejný člověk, který odebíral hmyz na místě činu. Tento sběr je prováděn ve spolupráci se soudním lékařem. Tato spolupráce často pomáhá forenzní entomologii využít veškerého svého potencionálu. Vzorky jsou odebrány ze špatně přístupných míst a případně z oděvu. Části těla mohou být podrobeny detailnímu zkoumání pod mikroskopem pro identifikaci velmi malých druhů (např. blechy, klíšťata, roztoči, vši a hnidy). Po otevření těla a lebky jsou i tato místa důkladně prohledána a nalezený materiál uložen a zdokumentován dle místa nálezu.

Opatření dat z nejbližší meteorologické stanice je nutné i za předcházející období v rozmezí jednoho a dvou týdnů před hrubým odhadem úmrtí, nebo zpětně do doby, kdy byl jedinec prokazatelně na živu. Tato data jsou přístupná z meteorologických stanic a při vyhodnocování údajů je možné využít spolupráce s meteorologem. Pro korelaci dat je důležité provést na místě činu periodické měření teploty ve třech až čtyřech měřeních během 24 hodin po následující tři až čtyři dny.

Postup sběru entomologického materiálu z pohřbených pozůstatků je skoro identický s výše uvedenými body. Je vhodné, aby sběr vzorků prováděl člověk se zkušenostmi z oblasti archeologické exhumace. Vzorky jsou opět rozděleny dle oblasti nálezu a část materiálu je zakonzervována a část vzorků ponechána na živu pro přesnou determinaci druhu. Zemina nad nálezem, pod mrtvolou i z okolí místa činu by měla být prosátá a důkladně prohledána (Byrd & Castner 2009).

3.4 Vztahy mezi živými a mrtvými organismy

Pro forenzní entomologii a její praktické využití je důležitá znalost několika principů.

Jedním z nejzákladnějších jsou vazby mezi živými a mrtvými organismy s ohledem na zákonitosti potravních vztahů (Šuláková 2014).

Mrtvé tělo živočicha představuje pro hmyz snadno dostupnou a lehce stravitelnou potravní zásobu ve formě bílkovin (Daněk 1990; Šuláková 2006). V přírodě se takové tělo stává charakteristickým objektem určitého biotopu, na kterém se začínou vytvářet dílčí společenstva určitých druhů biocenózy, která mají pouze dočasné trvání (Daněk 1990). Dobu trvání výskytu lze uvádět ve dnech, v měsících a ojediněle i v letech (Šuláková 2006).

Možnosti forenzní entomologie spočívají ve skutečnosti, že nekrofágní obratlovci se u kadáveru objevují buď jednotlivě, nebo v malém počtu a prakticky ihned po nasycení odcházejí, tím po nich nezůstává časová stopa, kterou by bylo možné měřit. Naproti tomu pro nekrofágy z řad členovců mrtvola představuje dlouhodobý zdroj potravy a zejména dle jejich vyvíjejícího se potomstva, které se na kadáveru soustředí v hojném počtu (Daněk 1990), lze počítat časové intervaly (Šuláková 2014).

Na kadáveru lze rozlišit čtyři ekologicky rozdílné kategorie hmyzu, které se na procesu rozkladu mrtvého těla mohou podílet (Smith 1986; Campobasso et al. 2001; Šuláková 2014):

1. Nekrofágní druhy hmyzu, které se živí přímo mrtvým tělem a významně se tak podílejí na jeho rozkladu. Z dvoukřídlých se jedná převážně o zástupce čeledí Calliphoridae (bzučivkovití) a Sarcophagidae (masařkovití) a z řádu brouci jde o zástupce čeledí Silphidae (mrchožroutovití) a Dermestidae (kožojedovití).
2. Predátoři a parazité nekrofágních druhů hmyzu jsou druhou nejrozšířenější skupinou a živí se ostatními druhy hmyzu a členovců vyskytujícími se na kadáverech. Jde především o zástupce řádu brouci z čeledí Staphylinidae (drabčíkovití) a Silphidae (mrchožroutovití) a zástupce řádu dvoukřídlí čeledě Calliphoridae (bzučivkovití) a Stratiomyidae (bráněnkovití). Někteří zástupci dvoukřídlých se stávají predátory až v posledním stupni larválního vývoje jako je tomu například u rodu *Chrysomya* (Robineau-Desvoidy, 1830) z čeledi Calliphoridae (bzučivkovití).
3. Omnivorní druhy hmyzu, jako například vosy, mravenci a někteří brouci, se živí jak na kadáveru, tak jeho kolonizátory. Velké populace tohoto hmyzu tak ovlivňují dobu rozkladu mrtvého těla samotným snižováním populace nekrofágních druhů.
4. Adventivní druhy hmyzu pochází z okolního prostředí vegetace nebo půdy. Jedná se například o roztoče, pavouky nebo motýly, kteří kadáver využívají jako součást nebo rozšíření svého přírodního prostředí. Mohou se z nich stát predátoři přítomných nekrofágů.

3.5 Sukcese

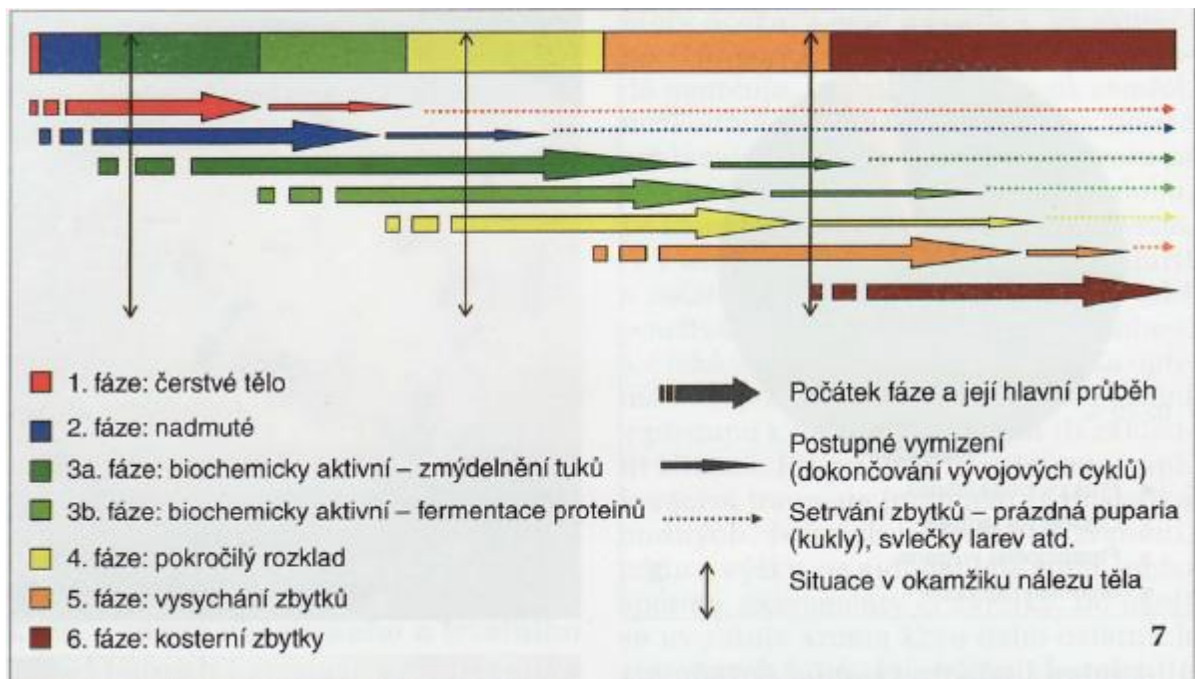
Hmyz kolonizuje kadáver v časově predikovatelném sledu. Některé druhy jsou přitahovány krátce po smrti, jiné během aktivního rozkladu a další preferují suchou kůži a kosti. Jakmile pro ně tělo přestane být atraktivní, migrují (Byrd & Tomberlin 2019). Obdobně i nová imaga, která se na kadáveru vylíhla, zpravidla shledávají mrtvolu jako nevhodný zdroj k opětovnému kladení a odlétají klást na jiný substrát (Šuláková 2014). Po ukončených generačních cyklech zůstávají na mrtvole anebo v jejím okolí pouze zbytky hmyzu, například svlečky larev a prázdná puparia, které dokládají jejich předchozí přítomnost (Byrd & Tomberlin 2019). S ohledem na přítomnost chitinu v exoskeletu jsou tyto zbytky velmi odolné a tyto fragmenty je možné využít k identifikaci hmyzu, který se na rozkladu podílel, i po mnoha letech (Schotsmans et al. 2017). Časový sled, ve kterém se druhy nekrosapofágního hmyzu na mrtvole objevují a střídají, se v ekologii nazývá sukcese (Šuláková 2006).

Povolný (1978) uvádí sukcesi jako zákonitý pochod, kdy se stářím mrtvoly je zákonitě spjaté i vývojové stadium určitého hmyzu a každý nekrofágní hmyz, zejména mouchy, může mít indikační význam.

3.5.1 Sukcesní vlny a stadia rozkladu

Počátek sukcese je dán okamžikem „zpřístupnění“ mrtvoly hmyzu (Šuláková 2006) a postupuje takovou rychlostí, že některé sukcesní fáze, zejména ty počáteční, zahrnují pouze jednu generaci daného druhu nebo skupiny druhů (Straus & Porada 2017). Při dostatku teoretických znalostí a praktických zkušeností lze podle složení společenstva hmyzu na kadáveru a stupně vývoje jeho nižších vývojových stadií (vajíček, larev a puparií) odvodit stáří mrtvoly s přesností až na dny (Šuláková 2006).

Podle různých hledisek probíhá sukcese v pěti až osmi vývojových vlnách (Šuláková 2006). Oproti tomu Grassberger a Frank (2004) definují ve svém pokusu na kadáverech prasat čtyři stadia rozkladu - tělo čerstvé, nafouklé, v rozkladném procesu a vysušené/skeletované. Rozdělení do čtyř fází pozorovali také Campobasso et al. (2001). Podle jejich výsledků nelze jednotlivé fáze sukcese považovat za jasně identifikovatelná stadia, která se od sebe odlišují, ale spíše jako sekvence jevů, které se překrývají a kombinují v nepřerušném procesu, dokud nedojde ke kompletnímu rozkladu organické hmoty (Campobasso et al. 2001).



Obrázek 1: Prolínání jednotlivých sukcesních fází (převzato Šuláková 2014)

Rozhodujícím faktorem, zda celý proces proběhne ve třech v pěti, šesti nebo až osmi vlnách, je podle Šulákové (2014) především oblast, v níž k rozkladu dochází. Jako příklad uvádí jižní Evropu, kde obecně panují vyšší teploty a rozklad tak postupuje rychleji a sukcesních vln je méně.

J. A. Payne a D. A. Crossley navrhli v roce 1966 stupnici, která rozlišuje samotná stadia rozkladu. Tuto stupnici, doplněnou o vlastní pozorování v České republice, popisuje Šuláková (2014) a rozlišuje tak v České republice sukcesních vln šest, resp. sedm a v uzavřených prostorách až osm (Daněk 1990; Šuláková 2006). Sukcesní fáze dle Peyna a Crossley s úpravou pro podmínky České republiky lze obecně popsat následovně (Daněk 1990; Šuláková 2006; Šuláková 2014):

První sukcesní vlna – čerstvé tělo

Je počátkem sukcese a začíná bezprostředně po smrti. V případě bezmocného jedince s krvácivými traumaticy může docházet ke kladení vajíček již na živé tělo (Daněk 1990; Šuláková 2014).

V této fázi se typicky objevují dvě skupiny bezobratlých. První skupinu představuje řád blanokřídlí (Hymenoptera), především některé druhy vos a mravenců. Z pohledu forenzní entomologie nemá tato skupina velký význam, protože uvedení zástupci se živí přímo tkáněmi mrtvého a na těle se zdržují pouze po dobu přijímání potravy. Vzhledem k tomu, že se opakovaně vracejí, nelze tak dle nich stanovit dobu kolonizace. Druhou skupinou jsou bzučivky (Calliphoridae), které patří mezi nejvýznamnější zástupce nekrofágního hmyzu v České republice a jsou při výpočtu doby kolonizace rozhodující. Nejčastější zastoupení v podmínkách České republiky mají zelené bzučivky rodu *Lucilia* Robineau-Desvoidy, 1830, modré rodu

Calliphora Robineau-Desvoidy, 1830 a dále *Protophormia terraenovae* (Robineau-Desvoidy, 1830) a *Phormia regina* (Meigen, 1826) (Šuláková 2014). Daněk (1990) zmiňuje v této vlně i zástupce řádu brouci z čeledi střevlíkovití (Carabidae) a jako významného zástupce uvádí i mouchu domácí (*Musca domestica* Linnaeus, 1758) z čeledi mouchovití (Muscidae). Dle Šulákové (2014) i Strause a Porady (2017) se moucha domácí na mrtvolách vyskytuje jen vzácně. Ojediněle je možné se s ní setkat na mrtvolách uvnitř bytu nebo v blízkosti hospodářských zařízení (Šuláková 2014).

Druhá sukcesní vlna – nadmuté tělo

Během této fáze se činností bakteriálního rozkladu v trávicím traktu začínají tvořit plynné látky a za optimálních podmínek (při vysokých teplotách například v létě) tato vlna může nastat již během několika hodin po smrti (Campobasso et al. 2001; Šuláková 2014).

Ve druhé vlně na kadáver stále nalétají další dospělci známí z první vlny a nově se objevují mouchy z čeledi mouchovití (Muscidae) a masařkovití (Sarcophagidae) (Eliášová & Šuláková 2012; Šuláková 2014). Nejčastěji citovaným druhem masařky je *Sarcophaga carnaria* (Linnaeus, 1758), která je v Mégninově práci uváděna jako forenzně významná. V České republice a okolních státech je ale na kadáverech z 95 % zastoupen druh *Sarcophaga (Liopygia) argyrostoma* (Robineau-Desvoidy, 1830) (Šuláková 2014). V oblastech mírného pásu masařky nepředstavují běžné zástupce na lidských mrtvolách, v literatuře je však jejich forenzní význam značně přeceňován. V našich podmínkách se s jejich larvami na volně exponovaných kadáverech v přírodě setkáme zcela výjimečně. Typické jsou na tělech nalezených v uzavřených prostorách, například v bytech (Straus & Porada 2017). Z mouchovitých se objevuje především rod *Muscina* Robineau-Desvoidy, 1830, jehož zástupci mohou v některých případech nahradit bzučivky v roli prvních kolonizátorů (Šuláková 2014). Z řad bzučivek se v této vlně objevuje především rod *Lucilia* a druhy *Protophormia terraenovae* a *Cynomya mortuorum* (Linnaeus, 1761) (Daněk 1990).

V této vlně nalézáme také první zástupce nekrofágních brouků z čeledi mrchožroutovití (Silphidae), kteří reagují na uvolňovaný rozkladný plyn. Nejvýznamnějším druhem na lidských mrtvolách je *Necrodes littoralis* (Linnaeus, 1758), jehož larvy se na mrtvých tělech vyskytují pravidelně v hojném počtu, proto lze tento druh zahrnout do kalkulace doby kolonizace. Mezi další zástupce druhé vlny řadíme z mrchožroutů rod *Thanatophilus* Leach, 1815, především druhy *Thanatophilus sinuatus* (Fabricius, 1775) a *Thanatophilus rugosus* (Linnaeus, 1758) (Straus & Porada 2017). Často zmiňovaní hrobařiči rodu *Nicrophorus* Fabricius, 1775 mají ve forenzní praxi minimální význam, protože se na lidském těle zdržují pouze dospělci (Šuláková 2014).

Poslední typickou skupinou druhé sukcesí vlny jsou parazitoidní druhy z řádu Hymenoptera, z nichž největší význam mají zástupci nadčeledí Chalcidoidea (chalcidky) a Ichneumonoidea (lumci). Samičky těchto druhů kladou vajíčka do larev i kulek ostatního hmyzu. Vylíhlé larvy poté cizopasí uvnitř hostitele, kterým se živí a poté se v něm i kuklí. Vzhledem k pevné vazbě jejich vývojového cyklu na přítomnost hostitele z řad

nekrosaprofágů, na nichž parazitují, mohou tyto druhy blanokřídlých sloužit při výpočtu doby kolonizace (Šuláková 2014).

V rámci druhé fáze dochází po několika dnech v důsledku ztráty chlorofylu k odbarvení trávy pod mrtvolou a nastává zpomalení růstu vegetačního krytu, značně se mění také samotné složení půdní fauny (Daněk 1990; Šuláková 2014).

Třetí sukcesní vlna – biochemicky aktivní rozklad

Tuto fázi charakterizuje proces zmýdelnění tuků. Vznikají těkavé mastné kyseliny, zejména kyselina máselná, na jejíž aroma reagují zejména mouchy rodu *Hydrotaea* Robineau-Desvoidy, 1830 (Muscidae), konkrétně *Hydrotaea ignava* (Harris, 1780), která je v podmínkách České republiky na lidských mrtvolách zastoupena nejčastěji. Samičky kladou do lože mrtvoly, jelikož na těle se v té době nachází již tisíce larev bzučivek. Larvy I. instaru se živí rozkladnou tekutinou, která prosakuje z těla do půdy. Od II. instaru jsou larvy dravé a začínají kolonizovat samotnou mrtvolu. Mrtvolu plně využijí až poté, co ji většina zástupců čeledi Calliphoridae opustí z důvodu zakuklení (Šuláková 2006; Šuláková 2014). Nadále se objevují další jedinci nekrofágních brouků z druhé vlny, kteří na kadáveru setrvávají delší dobu (Daněk 1990).

Z nekrofágních brouků nově zaznamenáváme zejména čeledě Dermestidae (kožojedovití) a Cleridae (pestrokrovečnickovití). Ze zástupců čeledi Dermestidae se jedná jmenovitě o druhy *Dermestes frischii* (Kugelann, 1792), *Dermestes murinus* (Linnaeus, 1758) a *Dermestes undulatus* (Brahm, 1790). Z čeledi Cleridae nalézáme pouze zástupce rodu *Necrobia* Latreille, 1797 (Daněk 1990; Šuláková 2014), respektive všechny tři druhy zastoupené v České republice: *Necrobia violacea* (Linnaeus, 1758), *Necrobia rufipes* (De Geer, 1775) a vzácně *Necrobia ruficollis* (Fabricius, 1775) (Šuláková 2014).

Spolu s nekrofágními brouky na mrtvolu přilétá značné množství biofágů, kteří se živí larvami již přítomných much (Daněk 1990). Z čeledi Staphylinidae jde především o zástupce rodů *Philonthus* Stephens, 1829 a *Aleochara* Gravenhorst, 1802 a v neposlední řadě druhy *Omalium rivulare* (Paykull, 1789), *Ontholestes tessellatus* (Geoffroy, 1785), *Ontholestes murinus* (Linnaeus, 1758) a *Creophilus maxillosus* (Linnaeus, 1758) (Daněk 1990; Šuláková 2014). *Creophilus maxillosus* se na mrtvole pravidelně rozmnožuje a řadí se tak mezi významné druhy využitelné při výpočtu doby kolonizace (Šuláková 2014).

Mezi další zástupce v této fázi rozkladu uvádí Daněk (1990) a Šuláková (2014) brouky z čeledi Histeridae (mršníkovití), jmenovitě rody *Hister* Linnaeus, 1758 a *Saprinus* Erichson, 1834, jmenovitě nejčastěji druhy *Margarinotus brunneus* (Fabricius, 1775) a *Saprinus semistriatus* (Scriba, 1790). Z čeledi Nitidulidae (lesknáčkovití) se objevují převážně druhy rodů *Nitidula* Fabricius, 1775 a *Omosita* Erichson in Germar, 1843 (Daněk 1990), především druhy *Omosita discoidea* (Fabricius, 1775) a *Glischrochilus quadrisignatus* (Say, 1835) (Šuláková 2014).

V této fázi rozkladu se zejména pod neoblečeným tělem do značné míry vyvíjí dílčí přechodná společenství rostlinných a živočišných druhů, která lákají řadu saprofágních druhů

z čeledi Staphylinidae a některé zástupce rodů *Aphodius* Illiger in Kugelann, 1798 a *Onthophagus* Latreille, 1802 z čeledi Scarabaeidae. Často lze zaznamenat druh *Anoplotrupes stercorosus* (Hartmann in L.G. Scriba, 1791), který je přitahován zápachem uvolněných výkalů poté, co dojde k perforaci dutiny břišní žaludku a střev. Zápach žluklého tuku láká z řádu motýli zavíječe *Aglossa pinguinalis* (Linnaeus, 1758) z čeledi Pyralidae (Daněk 1990).

Čtvrtá sukcesní vlna – fermentace proteinů

Fermentace bílkovin, též tzv. sýrová fermentace, nastává na kadáveru krátce po fermentaci tuků (Daněk 1990; Šuláková 2006). Vytvářejí se kaseózní látky a na kadáveru lze pozorovat hmyz, lákán aromatem připomínají přezrálý sýr (Šuláková 2006). Objevují se mouchy z čeledi Piophilidae (sýrohloďkovití), jejichž larvy mohou zkroucením těla skákat (Daněk 1990; Šuláková 2014). V České republice je běžným druhem, který se v hojném počtu objevuje téměř na všech mrtvolách, *Stearibia nigriceps* (Meigen, 1826) (Šuláková 2014). Daňkem (1990) uváděný druh *Piophila casei* (Linnaeus, 1758) se dle Šulákové (2014) v našich podmínkách vyskytuje pouze vzácně na mrtvolách v domácnostech a řadí se spíše ke skladištním škůdcům s lokálním výskytem.

Ve čtvrté fázi sukcese nalézáme dle Daňka (1990) nově druhy *Drosophila funebris* (Fabricius, 1787) z čeledi Drosophilidae (octomilkovití), *Sepsis fulgens* (Migen, 1826) z čeledi Sepsidae (kmitalkovití), *Madiza glabra* (Fallen, 1820) z čeledi Milichiidae (zavalitkovití), *Eristalis tenax* (Linnaeus, 1758) z čeledi Syrphidae (pestřenkovití) a *Fannia canicularis* (Linnaeus, 1761) z čeledi Fanniidae (slunilkovití) (Daněk 1990).

Podle Daňka (1990) ve čtvrté vlně vrcholí výskyt brouků z čeledi Cleridae, kteří byli přilákání ve třetí vlně zápachem zmýdelňovacích procesů. Objevují se všechny tři naše druhy *Necrobia violacea*, *Necrobia ruficollis* a *Necrobia rufipes* (Šuláková 2014), které patří mezi typické biofágy a živí se larvami much a jiných drobných nekrofágů (Daněk 1990). Jak ubývá svalové hmoty a měkkých tkání, úměrně klesá i kvalitativní a kvantitativní zastoupení typických nekrofágů, zejména z čeledi Silphidae. Na mrtvole, pod ní a v jejím okolí probíhají biologické cykly larev některých druhů much a brouků s kratším vývojovým stadiem (Daněk 1990).

Šuláková (2014) na aktivní biochemický rozklad nahlíží jako na komplexní sukcesní fázi, protože s předchozí fází sukcese, kdy dochází ke zmýdelnění tuků, může probíhat prakticky současně. Uvádí tedy čtvrtou vlnu společně s vlnou předcházející.

Pátá sukcesní vlna – čpavková fermentace

Stadium se vyznačuje čpavkovou fermentací zbytků měkkých tkání, které přitahuje další bezobratlé uvolňováním amoniakových par s nakyslým zápachem kaseózních substancí (Daněk 1990; Šuláková 2014). V prostředí České republiky pozorujeme především druh *Hydrotaea ignava* z čeledi Muscidae (Daněk 1990), který je podle Klimešové et al. (2016) nejpočetnějším nekrofágním zástupcem. Objevují se drobné mušky z čeledi Phoridae (hrbilkovití), především druh *Phora aterrima* (Fabricius, 1794) a *Megaselia rufipes* (Meigen,

1804) (Daněk 1990). Z důvodu výrazného úbytku „množství potravy“, dochází k poklesu počtu typických nekrofágů a úměrně tak i k nápadnému snížení počtu biofágů, kteří ji využívali jako potravu (Daněk 1990; Šuláková 2006).

Šestá sukcesní vlna – vysychání zbytků měkkých tkání

Podle Daňka (1990) toto období nastává zpravidla na konci prvního roku a ve druhém roce stárí kadáveru. Zbytky měkkých tkání postupně vysychají (Šuláková 2014) a mrtvola se místy začíná jevit jako kostra (Daněk 1990). Nově začínají zbytky tkání kolonizovat brouci z čeledi Trogidae (hlodáčovití), především *Trox scaber* (Linnaeus, 1767) a *Trox sabulosus* (Linnaeus, 1758) (Daněk 1990; Šuláková 2014). Nalézáme je pod suššími částmi kadáveru, pod kostmi, v dutinách velkých kostí, pod zaschlou kůží, ve vlasech apod. (Daněk 1990).

Poměrově se začíná zvyšovat zastoupení roztočů (Acari), kteří jsou přítomni již od první sukcesní vlny s prvním hmyzem. Mnoho roztočů se na mrtvolu dostává za pomoci hmyzu, přichycením na jejich těle. Tento způsob přemístění se nazývá forézie (Šuláková 2014). Roztoči se živí zbytky proteinů živočišného původu, napadají kostní dřev a narušují kosti (Šuláková 2006).

Zcela ojediněle nalézáme v tomto stadiu typické nekrofágy, protože současná fáze kadáveru jim ani jejich potomstvu již neposkytuje dostatek potravy (Daněk 1990).

Sedmá sukcesní vlna – kosterní zbytky

Objevuje se pouze u mrtvol, která zůstala ležet v terénu více než tři roky. Na pozůstatcích nalézáme především zástupce řádu Acari. Nově se objevují vrtavci z čeledi Anobiidae (podčeleď Ptininae), někdy uváděni jako čeleď Ptinidae (Šuláková 2014). V případě nálezu zástupců z čeledi Staphylinidae, jde zpravidla o náhodné přezimování nebo o vyhledání úkrytu před pro danou čeleď nepříznivými vlivy.

Osmá sukcesní vlna

Tuto vlnu charakterizuje již zcela vysušená mrtvola, která se jeví jako kostra (Daněk 1990). Z důvodu nepřetržitého působení různých povětrnostních vlivů na kadáver ve volné expozici se zástupci této sukcesní vlny na mrtvole téměř nevyskytují (Daněk 1990). Tělo v této fázi nalézáme pouze v uzavřených prostorách (Šuláková 2006).

Ojediněle na místě zůstávají vyschlé chrupavky a vazivo, vlasy a tělní ochlupení (Šuláková 2014). Pro tuto fázi je typický výskyt suchomilných a teplomilných druhů hmyzu (Šuláková 2006). Podle Daňka (1990) je v tomto období zastoupen hmyz, který napadá suché mršiny, sušené maso, kosti, rohovinu kůže či přírodovědecké sbírky. V domácnostech tento hmyz často nalézáme na látkách, vlně, kobercích kožešinách, přírodovědeckých sbírkách i v různých potravinách (Šuláková 2006).

3.5.2 Faktory ovlivňující sukcesi

Campobasso et al. (2001) rozdělují faktory na vnitřní (např. věk, konstituce těla, důvod smrti, integrita mrtvolky) a vnější (např. teplotu okolí, vlhkost vzduchu a povětrnostní podmínky).

Dle Šulákové (2006) lze zahrnout mezi nejvýznamnější faktory, které ovlivňují vývoj hmyzu na mrtvolách a tím sukcesi (např. rychlost přechodu jednotlivých fází sukcese) následující faktory:

Stav mrtvolky – zda a případně jaká poranění jsou na těle, možné krvácení a např. perforaci střev. Dále také hmotnost mrtvolky, množství podkožního tuku, věk, pohlaví, zdravotní stav a oblečení.

Teplota prostředí – má vliv na výskyt, aktivitu i samotný vývoj jednotlivých nekrofágů (zda došlo nebo nedošlo k přerušení vývoje hmyzu a tím ke zpomalení nebo úplnému zastavení vývoje, tzv. diapauze). Teplota také ovlivňuje výrazně časovou souslednost jednotlivých sukcesních vln, snížením teploty dochází k pozdější tvorbě plynů, pozdější fermentaci tuků a následně bílkovin.

Vlhkostní poměry – určují zásadním způsobem složení zástupců hmyzu. Mnoho druhů vyhledává suché prostředí, jiné druhy preferují spíše vlhko. Například mrtvolu, která se nachází ve vlhkém prostředí a na které po rozkladu zbyly jen kosti, nebudou kolonizovat druhy hmyzu sedmé případně osmé sukcesní vlny, ale lze v tomto případě očekávat například větší výskyt nejrůznějších plísňů, řas a hub.

Typ prostředí – ovlivňuje přístupnost těla pro hmyz a zastoupení jednotlivých druhů hmyzu. Jiné složení hmyzu bude v uzavřených prostorech a jiné v otevřené krajině nebo lesním porostu).

Vliv ostatních organismů – ostatní organismy mohou zapříčinit sekundární poškození mrtvého těla, jeho rozčlenění, roznos jeho částí po krajině apod.

Laupy (1994) rozděluje faktory ovlivňující délku PMI do tří kategorií:

Faktory zkracující délku PMI – vysoká průměrná denní teplota, malé výkyvy teploty během dne, výskyt traumat na mrtvole, obnažení těla, vzestup teploty tkání při expozici kadáveru na slunci, přítomnost zdrojů tepla, uvolňování metabolického tepla.

Faktory prodlužující délku PMI – omezení přístupu nekrofágního hmyzu (např. mrtvolky v uzavřených bytech, zabalené, zastíněné, částečně přikryté nebo pohřbené), nízká průměrná denní teplota, velké výkyvy teploty během dne a dlouhodobé poklesy pod 10 °C (možnost diapauzy), balzamování a intoxikace těla mrtvolky.

Faktory měnící délku PMI nekontrolovatelným způsobem – změna umístění těla před jeho nálezem, dodatečné odkrytí kadáveru, nebo naopak jeho dodatečné pohřbení.

Tabulka 1: Faktory a jejich vliv na rychlost rozkladu těla a kolonizující faunu (převzato Schotsmans et al. 2017)

Faktor	Vliv na sukcesi
Teplota	V optimálním rozmezí platí, čím vyšší teplota, tím rychleji dochází ke kolonizaci. Teplota vychylující se z optimálního rozmezí má za následek pozdržení nebo zastavení kolonizace.
Děšť	Pozdrží nálety hmyzu a může mít vyplavující efekt na vajíčka a larvy vyskytující se na mrtvole. Bylo zdokumentováno, že pouze několik druhů je schopno létat za deště.
Roční období	V létě je kolonizace rychlejší s porovnáním s ostatními fázemi roku zimním obdobím.
Prostředí	U těl v otevřeném prostředí dochází ke kolonizaci rychleji v porovnání s uzavřeným prostředím. Nadmořská výška může mít také za následek pozdržení náletů hmyzu.
Vnitřní/vnější prostředí	Umístění těla ve vnitřním prostředí oddaluje kolonizaci, kdy například <i>Musca domestica</i> a <i>Megaselia scalaris</i> (Loew, 1866) patří mezi první kolonizátory.
Skrytí těla	Zakopání nebo překrytí těla prodlužuje čas, kdy dochází ke kolonizaci. Zakopání nemá vliv na rychlost kolonizace poté, co tělo dosáhne teploty prostředí. Zakopání může vytvořit podmínky pro kolonizaci několika společenstev (vln) ve stejnou dobu v závislosti na obsahu vody v jednotlivých tělesných tkáních. Pouze několik druhů kolonizuje zakopané mrtvoly.
Oděv	Oblečení a případně další materiály, ve kterých může být tělo zabaleno oddalují dobu kolonizace. Nemají významný vliv na složení společenstva hmyzu.
Zranění	Přítomnost krve může zrychlit kolonizaci, nemá ale významný vliv na složení společenstva hmyzu.
Příčina smrti	Zranění na těle může zrychlit kolonizaci, smrt oběšením nebo sebevraždou za pomoci výfukových plynů naopak kolonizaci prodlužuje. Oběšená mrtvola není kolonizována pozemní faunou.

Matuszewski et al. (2014) se ve svém experimentu zaměřili na význam velikosti mrtvoly a oděvu na sukcesi kadáveru prasete. Výsledkem bylo zjištění, že lehké oblečení nemělo žádný význam na průběh aktivní fáze rozkladu na kadáveru. Oblečené mrtvoly však vykazovali delší přítomnost larev čeledi Piophilidae, které pravidelně kolonizují mrtvoly v pozdějším stadiu rozkladu. Menší vliv oblečení byl pozorovatelný pouze v pozdější části rozkladu, v tzv. pokročilém rozkladu. Matuszewski et al. (2014) připouští, že použití více vrstev oděvu, nebo silnějšího oblečení může mít významnější vliv na průběh sukcese.

Mezi další významné faktory lze zařadit antibiotika, drogy a jedy (jako například kyanid), které brání samotným procesům probíhajícím při rozkladu (Fiedler & Graw 2003).

3.6 Rozklad pod půdním povrchem

Zbavení se mrtvoly je obvykle hlavní obtíží a starostí vraha a často zvolenou metodou je pohřbení (Byrd & Tomberlin 2019). Gunn & Bird (2011) řadí pohřbení mrtvoly pravděpodobně nejběžnějšímu způsobu, který si pachatel zvolí při snaze zamaskovat trestný čin. Amendt et al. (2010) řadí nález pohřbené mrtvoly mezi neobvyklé případy, které se často stávají mediální senzací.

Pohřbení dospělého člověka do tradiční hloubky legálního hrobu (řádově 2 m) vyžaduje nejen hodně práce, ale i času. Čím delší dobu stráví zločinec s obětí, tím je vyšší šance, že dojde k jeho odhalení díky přenosu důkazních materiálů na oběť nebo přistižení pachatele při činu. Z tohoto důvodu je většinou tělo pohřbeno do rychle vytvořeného, mělkého hrobu (Byrd & Castner 2009).

Rozklad kadáveru probíhá v mělkých hrobech rychleji v porovnání s hlubšími hroby, avšak pomaleji než u těl volně exponovaných (Campobasso et al. 2001). Pozůstatky pohřbené hluboko v půdě nebo v rakvi se rozpadají pomaleji než ty, které jsou pohřbeny v mělkých hrobech (Buekenhout et al. 2018).

3.6.1 Specifika sukcese pod půdním povrchem

Rozdíly mezi podmínkami rozkladu pod zemí a podmínkami sukcese na povrchu souvisejí s mrchožrouty, kolonizujícím hmyzem a teplotními změnami (Fiedler & Graw 2003).

Dle mnohých autorů již mělké zakrytí mrtvoly půdou má za následek úplné vyřazení čeledi Calliphoridae z kolonizace těla, která bývá hlavním dekompozitorem kadáveru při volné expozici (Smith 1986; Daněk 1990; Campobasso et al. 2001; Bourel et al. 2004; Gunn 2006; Gennard 2007).

Dle Dvořáka (2000) je rychlost rozkladu závislá na půdních podmínkách. Délku sukcese ovlivňuje zejména provzdušnění půdy (Dvořák 2000; Prokeš 2007; Straus & Porada 2017), její vlhkost, teplota a půdní typ (Dvořák 2000).

Bez dostatečného množství kyslíku se rozklad značně zpomaluje. Ani v případech porézních půd nejsou podmínky s ohledem na aktuální obsah kyslíku v půdě tak optimální jako při pohřbení těla uvnitř dutého prostoru. Z tohoto důvodu je možné pozorovat kontrast mezi uložením mrtvoly do volné hlíny nebo pohřbením v rakvi (Prokeš 2007).

Gunn (2006) uvádí přibližně čtyřikrát delší dobu rozkladu u pohřbených kadáverů než u těl volně exponovaných na povrchu. Mušičí larvy jsou schopny během jediného týdne zredukovat až 90 % původní váhy mrtvoly, pokud je tělo odkryté (zejména bez oděvu). U pohřbeného kadáveru je to po šesti týdnech pouze 20 % váhy (Daněk 1990). Sukcese je zde dle Šulákové (2014) natolik pomalá, že jeden konkrétní druh, nebo skupina druhů, mohou setrvat na mrtvole i po několik generací. Autoři Buekenhout et al. (2018) i Fiedler a Graw

(2003) uvádějí, že dle Casperova pravidla, které porovnává rychlost rozkladu na vzduchu, pod zemí a ve vodě, odpovídá týden degradace těla vystaveného při volné expozici době šesti až osmi týdnům rozkladu u pohřbené mrtvoly.

Neschopnost některých druhů nekrofágního hmyzu kolonizovat pohřbený kadáver je způsobena především zamezením fyzického kontaktu hmyzu s tělem a současně vyloučením vnímání pachových signálů těla hmyzem. U hlouběji pohřbených těl (v řádově desítkách centimetrů) se pachy nedostávají k povrchu téměř nikdy, a tím je tak vyloučena kolonizace prakticky všech velkých much i masožravců (Byrd & Tomberlin 2019).

Na volně exponovaných mrtvolách nalézáme jiné složení nekrofágního hmyzu než na pohřbených tělech (Straus & Porada 2017). Nekrofágní hmyz kolonizuje pohřbená těla v určité posloupnosti. Nejprve se na mrtvole objevují roztoči (Acarina) a poté postupně hrbilkovití (Phoridae), výkalnicovití (Scatopsidae), octomilkovití (Drosophilidae) mrvnatkovití (Sphaerocidae), střevlíkovití (Carabidae) a chvostokoci (Collembola) (Gennard 2007).

K zakopanému kadáveru proniká hmyz hned několika způsoby (Straus & Porada 2017). Některé druhy například kladou vajíčka na povrch půdy a larvy se po vylíhnutí prohrabávají k mrtvole, kde se živí a vyvíjejí. Mezi tyto druhy patří samičky rodu *Morpholeria* Garrett, 1921 z čeledi Heleomyzidae (lanýžkovití) (Smith 1986). Dalším příkladem jsou samičky z čeledi Muscidae, rodu *Muscina* (Povolný 1978; Eliášová & Šuláková 2012). Ve studii Bourela et al. (2004) se na exhumovaných kadáverech vyskytoval z mochtotivých nejčastěji druh *Hydrotaea capensis* (Wiedemann, 1818).

Podle složení půdy, zejména obsahu vzdušného kyslíku a vlhkosti, mohou larvy kolonizovat tělo v hloubce 30 cm až 50 cm (Gunn & Bird 2011), ojediněle i přes jeden metr (Straus & Porada 2017). Do této hloubky dokáže proniknout i drobné mušky čeledi Phoridae, které kladou vajíčka přímo na mrtvolu (Povolný 1978; Daněk 1990). Gunn (2006) uvádí schopnost čeledi Phoridae, jmenovitě druhu *Conicera tibialis* (Schmitz, 1925) kolonizovat kadáver jeden a více metrů pod zemí, Bourel et al. (2004) u stejné čeledi uvádí až dva metry. Čleď Phoridae se podle Campobasso et al. (2001) téměř vždy nachází na kadáverech, které byly zakopány a tím částečně chráněny před kolonizací vyššími zástupci řádu Diptera.

Bourel et al. (2004) identifikovali na 22 exhumovaných lidských mrtvolách v severní Francii 10 druhů hmyzu, 5 z nich se objevilo na více než jednom těle. Z čeledi Muscidae, konkrétně *Hydrotaea capensis*, z čeledi Phoridae se jednalo o druhy *Conicera tibialis* a *Megaselia rufipes* (Meigen, 1804), z čeledi Phoridae druh *Triphleba hyalinata* (Meigen, 1830) a z čeledi Scathophagidae druh *Leptocera caenosa* (Rondani, 1880).

Podstatný rozdíl mezi pohřbeným a volně exponovaným tělem umožňuje zjistit, zda mrtvola byla pohřbena ihned po smrti, později v řádu několika hodin, nebo až za několik dní. V případě nálezu čeledi Calliphoridae na pohřbeném těle je více než jisté, že bylo určitou dobu před zakopáním volně exponováno (Daněk 1990; Byrd & Tomberlin 2019). Daněk (1990) v tomto případě uvádí, že k zakopání došlo nejdříve den po smrti. V případě nálezu brouků z čeledi Histeridae došlo k zahrabání těla až po třech dnech (Daněk 1990). Najdeme-li

u kadáveru v hrobě zástupce druhu *Conicera tibialis* jedná se o tělo, které bylo pohřbeno před více než jedním rokem, možná i více (Gennard 2007). Naopak absence čeledi Calliphoridae nebo Sarcophagidae může indikovat, že tělo bylo pohřbeno záhy po úmrtí (Amendt et al. 2010). Tyto informace mohou být klíčové při rekonstrukci událostí vedoucích k zakopání těla (Byrd & Tomberlin 2019).

Amendt et al. (2010) sumarizovali informace autorů Amendta et al. (2004) a Gennarda (2007). Ti se soustředili na hlavní zástupce forenzně významného hmyzu a mezi nejvíce zastoupené druhy na exponovaných kadáverech řadí hmyz z řádů Diptera a Coleoptera. Tento seznam poté Amendt et al. (2010) porovnávali s různými studii o druzích objevujících se na zakopaných kadáverech v rozdílných hloubkách od několika autorů (Megnin 1894; Smith 1986; Turner & Wiltshire 1999; Bourel et al. 2004 a další). Složení populace bylo rozděleno do pěti hlavních kategorií dle hloubky pohřbení:

- velmi mělké,
- mělké s hloubkou 10 až 30 cm,
- hluboké s hloubkou 40 až 60 cm,
- velmi hluboké s hloubkou od 92 cm a více,
- pohřbení v rakvi.

V mělkém hrobě byla rozmanitost druhů větší. Čeleď Calliphoridae byla reprezentována v hojném počtu jak v mělkých hrobech, tak na kadáverech pohřbených v rakvích. Po pohřbení je zřejmá převaha čeledí Muscidae a Phoridae (Amendt et al. 2010).

U velmi hlubokých hrobů je aktivita hmyzu velmi nízká a studie ukazují pouze několik málo druhů z nichž mezi nejvýznamnější patří druhy z řádu Coleoptera, konkrétně z čeledi Staphylinidae (drabčíkovití), která byla v této kategorii identifikována jako jediná z řádu Coleoptera (Amendt et al. 2010).

Pohřbení těla mění již prokázanou hierarchii kolonizace hmyzu u volně exponovaných kadáverů, kdy dochází k diskriminaci primárně a sekundárně významných druhů. Doba úmrtí, pohřbení i expozice mrtvého těla nebo kadáveru před samotným pohřbením má vliv na složení hmyzu, který se účastní sukcese. U kadáveru pohřbeného v rakvi mohou hrát roli i kulturní zvyklosti, kdy může být mrtvola volně exponována před samotným uložením do rakve a pohřbením. Delší doba expozice mrtvého těla umožňuje hmyzu snadnější kolonizaci (Amendt et al. 2010).

3.6.2 Čeleď Calliphoridae na pohřbených kadáverech

Na základně dosavadních poznatků se čeleď Calliphoridae na rozkladu zakopaných těl nepodílí z důvodu neschopnosti imag z této čeledi překonat bariéru v podobě půdního profilu nad mrtvolou, a to i v případě, pokud se jedná o několik centimetrů zeminy. Schopnost pohybu v půdě mají pouze larvy po vylíhnutí (Bourel et al. 2004).

Práci zpracovanou Lundtem v roce 1964 řadí Singh et al. (2009) mezi první studie, které berou v úvahu i schopnost muších larev prohrabat se půdním profilem k zakrytému tělu. Lundt v této práci uvádí, že bzučivky mohou být kompletně vyřazeny při pohřbení, resp. překrytí těla 2,5 cm zeminy (Lundt 1964; Singh et al. 2009).

Oproti tomu Fremdt a Amendt (2014) poukazují na studie, kdy byly pozorovány nekrofágní mouchy, konkrétně druh *Calliphora vicina* (Robineau-Desvoidy, 1830), kladoucí vajíčka na půdní povrch nad kadáverem zakopaným v hloubce 30 cm. Dle autorů to však neznamená, že larvy jsou skutečně schopny dosáhnout pohřbeného těla.

Amendt et al. (2010) ve své práci uvádí studii Rodrigueze a Basse z roku 1985, během které bylo zpozorována nejen snaha dospělců z čeledi Calliphoridae se dostat ke kadáveru skrz malé prasklinky a štěrbinu na povrchu půdy, ale i kladení vajíček po vydatném dešti do prasklin v zemi. Dle Amendt et al. (2010) patří čeleď Calliphoridae mezi běžně se vyskytující druhy v mělkých hrobech.

I Gunn a Bird (2011) zkoumali schopnost vybraných druhů čeledi Calliphoridae kolonizovat mrtvolu pohřbenou v mělkém hrobě a vliv pohřbení na vývin larev. Za pomoci experimentů došli k závěru, že *Calliphora vicina* a *Calliphora vomitoria* (Linnaeus, 1758), jsou schopny kolonizace kadáverů překrytých 5 cm vzdušné zeminy. *Lucilia sericata* (Meigen, 1826) je schopna využít mrtvá těla v hloubce až 10 cm pod zemí, i když s proměnlivou úspěšností. Ani u jednoho z druhů nebylo prokázáno, že by ke kladení vajíček striktně vyžadovali přímý kontakt s kadáverem. Ke kolonizaci mrtvolu jsou schopni využít prasklin v půdě nad kadáverem. Ty mohou vznikat postupným nadýmáním těla nebo sesedáním půdy při rozkladu kadáveru (Gunn & Bird 2011).

Experimentů zaměřených na kolonizaci mrtvol po pohřbení, nebo zakopání kadáveru již zakladeného vajíčky much čeledi Calliphoridae je poměrně málo. Jedná se přitom o potencionálně důležitý faktor, který může napomoci určit, zda bylo s tělem dodatečně manipulováno a určit dobu pohřbení těla (Fremdt & Amendt 2014). Informace zabývající se dodatečným pohřbením těl jsou v stávající literatuře nedostatečné (Balme et al. 2012).

Balme et al. (2012) při svém pokusu použili jílovitou hlínu, do které následně umístili larvy II. instaru do hloubek 5 cm, 25 cm a 50 cm a larvy III. instaru v hloubce 120 cm. K vylíhnutí imag a jejich dosažení povrchu zeminy došlo ve všech případech. Dle očekávání k nejúspěšnějším patřili jedinci z hloubky 5 cm a 25 cm. Podle autorů přítomnost dostatečného množství potravy v místě zakopání kadáveru výrazně zvyšuje šanci larev na přežití a jejich úspěšný vývin až v dospělé jedince (Balme et al. 2012).

3.7 Myiáze

V rámci forenzní entomologie je využíván hmyz jako evidence v kriminalistickém vyšetřování případů týkajících se lidí, domácích zvířat a volně žijících živočichů. Jeden

z teoretických pilířů v této disciplíně je založen na faktu, že mouchy kolonizují tělo po smrti (Vanin et al. 2017).

Toto pravidlo, že nekrofágní hmyz je přitahován pouze mrtvým tělem, má však své výjimky. Takovou výjimkou jsou myiázy, kdy dochází k napadení živých obratlovců larvami much (Zumpt 1965; Byrd & Castner 2009). Myiázy způsobují nejen zdravotní, ale i ekonomické problémy převážně v chovu hospodářských zvířat, ale i zvířat volně žijících (Amendt et al. 2011).

V extrémně vzácných situacích (Byrd & Castner 2009) se toto onemocnění může týkat i člověka (Byrd & Castner 2009; Amendt et al. 2011) a pokud tato situace nastane, může dojít k nadhodnocení PMI (Byrd & Castner 2009).

Jedním neodmyslitelným problémem v případě myiáz a určením doby, kdy došlo k zanedbání péče, je schopnost člověka, který myiázu řeší, rozpoznat potencionální důkazy. Dokonce i v lékařské komunitě stále existují snahy odstranit larvy z těla co nejrychleji. Takové konání však často vede ke ztrátě cenných informací, které by bylo možné využít ve vyšetřování. Toto jednání se ještě zřetelněji objevuje u sociálních pracovníků, pediatrů a záchranářů. Příliš často je jejich první reakcí snaha o co nejrychlejší odstranění larev z infikovaného zranění, zlikvidování vzorků a následné ošetření rány (Amendt et al. 2010).

Autoři Amendt et al. (2010) jako příklad uvádějí 16 měsíční dítě nalezené v roce 2007 na Havaii. Dítě neslo známky dehydratace, zneužívání a po těle mělo nekrotické rány s viditelnou přítomností larev. I když byla přítomnost larev zaznamenána, nedošlo ke sběru vzorků a jejich zdokumentování. Ve výsledku tak byly potencionálně hodnotné informace o období zneužívání a zanedbání dítěte ztraceny (Amendt et al. 2010).

Vanin et al. (2017) ve své práci uvádějí případ, kdy byla na zahradě u domu nalezena živá, 85letá žena v bezvědomí, z velké části kolonizována larvami much z čeledi Calliphoridae. Žena na zahradě ležela čtyři dny, než byla objevena záchranáři a larvy much byly nalezeny na spojivkách, v průduškách, konečníku a pochvě. V tomto případě i když byla žena nalezena živá, larvy ve spojitosti s prostředím a teplotou těla indikovaly minimální PMI v rozmezí 1,5 až 2,5 dní. Žena byla ošetřena a hospitalizována, objevila se u ní bakteriální pneumonie a záhy tetanus, který byl příčinou jejího úmrtí dva měsíce po hospitalizaci (Vanin et al. 2017).

Tento případ ukazuje, že v případě mrtvého těla čas, kdy hmyz počal tělo kolonizovat nemusí vždy odpovídat času úmrtí. Proto je důležitá spolupráce mezi forenzním patologem a forenzním entomologem, zejména při podezřelých podmínkách a zvláště pak, pokud je mrtvola čerstvá (Vanin et al. 2017).

Druhy způsobující myiázu rozdělují Amendt et al. (2011) dle typu parazitování do tří skupin:

Obligátní – neobjevují se na mrtvolách a vyvíjejí se pouze v živých tkáních žijících hostitelů.

Fakultativní (tzv. fakultativně myiatické) – nalézají se převážně na mrtvolách, pro svou přítomnost na živých hostitelích potřebují nějakou predispozici, například bakteriální napadení kožichu, vlny nebo odumřelou tkáň s nekrotickými ložisky.

Příležitostní – nejsou běžně parazitující a způsobují jen menší zdravotní problémy. Na živého hostitele se dostávají náhodně například pozřením nebo inhalací.

Pro forenzní entomologii jsou nejdůležitější druhy ze skupiny fakultativních parazitů, konkrétně některé druhy z čeledi Calliphoridae a Sarcophagidae (Amendt et al. 2011).

Byrd a Castner (2009) uvádějí u popisu následujících druhů ze skupiny fakultativních a příležitostných parazitů schopnost způsobovat myiázy:

Muscidae: *Muscina stabulans* (Fallén, 1817)

Calliphoridae: *Calliphora vicina*

Calliphoridae: *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819)

Calliphoridae: *Lucilia cuprina* (Wiedemann, 1830)

Calliphoridae: *Lucilia sericata*

Calliphoridae: *Phormia regina*

Calliphoridae: *Protophormia terraenovae*

Fanniidae: *Fannia canicularis*

Sphaeroceridae: *Poecilosomella angulata* (Thomson, 1869)

Phoridae: *Megaselia scalaris*

Psychodidae: *Psychoda alternata* (Say, 1824)

Ze skupiny fakultativních myiatických druhů uvádí Šuláková et al. (2014b) pro střední Evropu druhy *Lucilia sericata*, *Calliphora vicina*, *Fannia canicularis* a *Muscina stabulans*.

3.8 Dvoukřídlí čeledi Calliphoridae

3.8.1 Taxonomické zařazení

Čeď Calliphoridae (bzučivkovití) patří do řádu dvoukřídlí dle uvedeného taxonomického zařazení níže. Na území Evropy je v současné době známo 115 druhů čeledi Calliphoridae (Pape et al. 2015). V České republice bylo ještě v roce 2009 Kubíkem a Országhem (2009) uváděno 58 druhů (47 v Čechách, 57 na Moravě), ale podle nových odchytů Šuláková et al. (2014a) v roce 2014 již uvádějí 61 známých druhů, z toho 51 v Čechách a 57 na Moravě.

Taxonomické zařazení čeledi Calliphoridae:

Říše: Animalia (živočichové)

Podříše: Eumetazoa (praví mnohobuněční živočichové)

Kmen: Arthropoda (členovci)

Podkmen: Hexapoda (šestinozí)

Třída: Insecta (hmyz)

Řád: Diptera (dvoukřídlí)

Podřád: Brachycera (krátkorozí)

Čeleď: Calliphoridae (bzučivkovití)

3.8.2 Morfologie a vývoj

Čeleď Calliphoridae jsou v dospělosti středně velké, zavalité mouchy s délkou těla od 4 do 16 mm a různou variací barvy. Nejčastěji se můžeme setkat s metalicky zeleným nebo modrým zbarvením těla (Buchar & Čepická 1995; Šuláková et al. 2014a). Dospělci jsou silně přitahováni vlhkem a můžeme je nalézt na slunných místech, kde jako potravu přijímají nektar z květů, šťávy z hniječného nebo přezrálého ovoce, medovici apod. (Rivers & Dahlem 2014; Šuláková 2014; Šuláková et al. 2014a). Příležitostně samice vyhledávají jako potravu výkaly a mršiny, kde si konzumací krve a jiných tělních tekutin zajišťují přísun proteinů, které hrají významnou roli pro dozrávání vajíček v těle (Šuláková 2014). Larvy much čeledi Calliphoridae jsou nekrofágní a samice proto pro naklazení vajíček vyhledávají čerstvé kadávery nebo výkaly, které zajišťují potravu pro vyvíjející se larvy (Buchar & Čepická 1995). Laupy (1994) uvádí schopnost jednoho gramu larev rozložit mezi 3,2 g až 3,5 g masa v rámci jejich individuálního vývoje.

Calliphoridae jsou významnými urychlovači rozkladu mrtvého těla, a protože se nevyhýbají ani čerstvému masu, mléčným výrobkům a výkalům, nesou s sebou i hygienická rizika. Z tohoto důvodu mnoho druhů představuje potencionální vektory bakteriálních a virových onemocnění a mohou fakultativně vyvolávat myiáze u lidí i hospodářských zvířat. (Šuláková et al. 2014a). Dle F. Zumpta (1965) je myiáza „*nákaza živého člověka nebo obratlovce larvami dvoukřídých, které se alespoň po určité období živí odumřelými anebo živými tkáněmi hostitele, jeho tělními tekutinami anebo tráveninou*“. Výskyt onemocnění myiáz v praxi poukazuje na možné zanedbání péče, týrání nebo nedostatečné hygienické návyky. V prostředí České republiky se problematika myiáz týká převážně druhů *Lucilia sericata*, *Calliphora vicina* a *Phormia regina* (Šuláková 2014).

Povolný (2001) uvádí využívání larev druhu *Lucilia sericata* k čištění zejména špatně hojících se ran již v období starověku. Ke stejnému způsobu hojení ran přistoupili zdravotníci za americko-mexické války v 19. století. Zejména s nástupem antibiotik byla tato metoda zatlačena do pozadí, avšak růst rezistence patogenní mikroflory vůči antibiotikům tuto metodu opět „objevuje“ nejen v oblasti zdravotnictví, ale i veterinářství (Povolný 2001). Robinson

(2005) zmiňuje efektivní využití sterilních larev při léčbě chronických či akutních infikovaných ran, včetně infekcí v kostech, při abscesech a hnisavém onemocnění kůže (Robinson 2005).

Aktivita bzučivek je závislá na světle, vlhkosti a v neposlední řadě teplotě. Převážná část druhů bzučivkovitých je oviparní (vejcorodých), existují však i druhy larviparní (živorodé) (Daněk 1990; Šuláková et al. 2014a). Dospělci jsou nejaktivnější kolem poledne, nicméně vajíčka kladou po celou dobu trvání denního světla. Jsou schopni klást i v noci, za předpokladu umělého osvětlení. Larvální vývoj je velmi závislý na teplotě, vyšší teploty vývoj urychlují. Optimální teplota pro vývoj bzučivek se pohybuje v rozmezí 12 až 30 °C. Při okolní teplotě pod řádově 5 °C nastává zpravidla diapauza. U některých larev byla zpozorována aktivita i při nízkých teplotách. Campobasso, et.al. (2001) zmiňují druh *Calliphora vicina*, který byl schopen dokončit svůj kompletní vývoj již při teplotě 4 °C. Teplota 39 °C a výše znamená pro většinu druhů smrt (Campobasso et al. 2001; Amendt et al. 2008; Mohr & Tomberlin 2014). Podle Amendt et al. (2011) i mezi blízkce příbuznými druhy může docházet k rozdílu ve vývinu v závislosti na teplotě.

Vajíčka jsou kladena ve shlucích v počtu 450–1200 kusů na vlhká místa, jako jsou například otevřené rány, sliznice, urogenitální trakt a případně i oděv nasáklý tělními tekutinami. Jsou bílá, protáhlá oválná o délce přibližně 1,5 mm (Daněk 1990; Šuláková 2014).

Apodně-acefalní larvy se líhnou z vajíček v závislosti na teplotě po 6 až 40 hodinách od naklazení (Campobasso et al. 2001). Larvy jsou bílé až krémové barvy s ústními háčky (Obenberger 1964). Vývin larev trvá přibližně 3 až 10 dní, poté dochází k zakuklení (Campobasso et al. 2001). Při vývinu larev rozlišujeme tři instary. V I. instaru, nejkratším obdobím je larva nejčilejší, ve II. instaru, nejdelším obdobím tzv. „vyživovacím“ nabírá na velikosti a k poslednímu III. instaru dochází při přechodu ke kuklení (Obenberger 1964). Larvy III. instaru migrují od zdroje potravy (kadáveru) a kuklí se v jeho bezprostřední blízkosti (Bassanezi et al. 1997; Balme et al. 2012). Podle Aubernona et al. (2018) jsou larvy čeledi Calliphoridae schopny migrovat v této fázi (tzv. post-feeding stage) i více než 20 metrů od kadáveru. Arnott a Turner (2008) uvádějí ve své práci souhrn od několika autorů, kde se vzdálenost migrace pohybuje v rozmezí od několika centimetrů až do 30 metrů.

Puparium je tvořeno pokožkou larvy III. instaru. Má soudečkovitý tvar s 12 zoubky umístěnými vzadu (Obenberger 1964). Barva puparia se mění dle jeho stáří. Čerstvá puparia jsou bělavě nažloutlá a postupem času tmavnou do temně hněda až hnědo-černa. Délka trvání stadia puparia odpovídá přibližně polovině času celého vývojového cyklu, tj. od naklazení až po vylíhnutí imaga (Povolný 1979).

Imago se z puparia líhne za 10-12 dní a uzavírá tak přibližně měsíční vývojový cyklus (Daněk 1990; Šuláková et al. 2014a).

3.8.3 Významní zástupci čeledi Calliphoridae ve forenzní praxi

Fauna čeledi Calliphoridae je na lidských mrtvolách obvykle bohatá. Na jednom těle nalézáme nejméně dva až tři druhy, ale velmi často čtyři až pět druhů této čeledi (Šuláková & Barták 2013).

Společně s čeledí Muscidae patří Calliphoridae mezi kolonizátory v první sukcesní vlně (Campobasso et al. 2001). Podle Byrda a Tomberlina (2019) jako jedni z prvních mrtvolu objevují a kolonizují, což dokládají i experimenty, kdy byly mouchy čeledi Calliphoridae zpozorovány u kadáveru během několika minut od jeho expozice.

Současné jsou druhy čeledi Calliphoridae nejvýznamnějšími dekompozitory organického materiálu (Campobasso et al. 2001) a řadí se mezi nejdůležitější druhy, které pomáhají v odhadu post mortem intervalu (Byrd & Tomberlin 2019).

Z čeledi Calliphoridae jsou na území České republiky nejčastěji zastoupeny rody *Lucilia*, *Calliphora* společně s druhy *Protophormia terraenovae* a *Phormia regina* (Šuláková 2014). Mezi kriminalisticky významné patří 13 druhů (Šuláková & Barták 2013).

Mezi forezně významné zástupce čeledi Calliphoridae řadí autoři Daněk (1990) a Smith (1986) druhy: *Lucilia caesar* (Linnaeus, 1758), *Lucilia serricata* (Meigen, 1826), *Lucilia illustris* (Meigen, 1826), *Lucilia ampullacea* (Villeneuve, 1922), *Lucilia silvarum* (Meigen, 1826), *Calliphora vicina*, *Calliphora vomitoria*, *Calliphora loewi* (Enderlein, 1903), *Calliphora subalpina* (Ringdahl, 1931), *Phormia regina*, *Protophormia terraenovae*, *Cynomya mortuorum* (Linnaeus, 1761) a *Chrysomya albiceps*.

Terénní pokusy Šulákové a Bartáka (2013) mimo jiné ukázaly, že zastoupení druhů je závislé na lokalitě, ve které se hmyz vyskytuje. Při experimentu v rozmezí července 2011 až října 2012, v Hrdlořezech, dominoval druh *Lucilia caesar*. Další forezně významné druhy, seřazené dle početnosti, byly *Calliphora vicina*, *Phormia regina*, *Protophormia terraenovae*, *Lucilia illustris*, *Lucilia ampullacea*, *Calliphora vomitoria*, *Lucilia serricata* a *Cynomya mortuorum* (Šuláková & Barták 2013).

Oproti tomu v dalším pokusu, který byl proveden v rozmezí března 2012 až června 2013 v Praze Troji, z forezně významných druhů dominoval druh *Phormia regina*. Za ním v početnosti následovaly druhy *Protophormia terraenovae*, *Lucilia caesar*, *Lucilia serricata*, *Calliphora vomitoria*, *Lucilia illustris*, *Calliphora vicina*, *Lucilia silvarum*. Druhy *Cynomya mortuorum* a *Lucilia ampullacea* byly zachyceny pouze jednou, bez evidence jejich kolonizace kadáveru (Šuláková & Barták 2013).

4 Metodika

Součástí bakalářské práce je realizace terénního pokusu s cílem zjistit, zda jsou druhy čeledi Calliphoridae schopné dokončit svůj vývojový cyklus po dodatečném zakopání kadáveru.

Terénní pokus byl proveden během měsíců června až října roku 2020. V první variantě byly kadávery před zakopáním vloženy do samostatných kartonových krabic imitujících rakev (pro vytvoření vzduchové kapsy) a ve druhé variantě byly volně pohřbeny v zemi (bez přístupu vzduchu, v přímém kontaktu se zeminou).

4.1 Popis lokality

Pro realizaci experimentu byla využita zahrada rodinného domu v Městské části Praha – Šeberov (katastrální území Šeberov). Zeměpisné souřadnice místa pohřbení kadáverů jsou 50.0162N, 14.5105E a nachází se v nadmořské výšce 294 m n. m. (Příloha č. 1). V této lokalitě byly kadávery volně exponovány a následně pohřbeny.

4.1.1 Charakteristika pozemku

Lokalita, která byla pro experiment využita, je z převážné části zatravněná, využívána jak k pěstování zemědělských plodin, tak pro okrasné účely. V nejbližším okolí se nacházejí ovocné stromy, byliny a zastřešený oplocený prostor rozměru 20 m² sloužící k chovu slepic.

4.1.2 Půda

Kadávery byly zakopány na pozemku s půdní klasifikací kambizem (Příloha č. 2). Bonitním rozdělením zemědělské půdy v ČR bylo Ministerstvem zemědělství České republiky na pozemku vymezeno BPEJ 2.26.04 (Příloha č. 3). Tento kód bonitovaných půdně-ekologických jednotek řadí lokalitu a půdu do druhého, teplého, mírně suchého klimatického regionu s hlavní půdní jednotkou kambizem.

4.1.3 Meteorologická data

Průměrné denní teploty, srážky a vlhkost vzduchu v období experimentu byly získány z pravidelného měření Českého hydrometeorologického ústavu, stanice Praha – Libuš, zeměpisné souřadnice 50.0077N, 14.4467E, nadmořská výška 302 m n. m. (Přílohy č. 4 a 5).

4.2 Popis experimentu

Celkem bylo pro experiment použito šest kadáverů kura domácího (*Gallus gallus* f. *domesticus* Linnaeus, 1758) tělesnou hmotností v rozmezí od 1,4 kg do 1,6 kg a stářím 24 měsíců. Pokusná zvířata byla pro minimalizaci rozdílů a nepřesností v interpretaci výsledků usmrcena stejným způsobem (podříznutím hrdla) a v rámci krátkého časového odstupu v řádu několika minut.

Dne 14. 6. 2020 bylo vykopáno šest samostatných hrobových míst o rozměrech 40x25 cm tak, aby byla po zakopání zajištěna ve všech hrobových místech shodná výška zeminy cca 25 cm nad kadáverem. Okraje hrobových míst byly od sebe vzájemně vzdáleny 50 cm (Příloha č. 6).

K usmrcení došlo 15. 6. 2020 ve 22.00 hod. a kadávery byly poté ponechány ve volné expozici tak, aby byl umožněn přístup hmyzu (Příloha č. 7). Během volné expozice byly kadávery vizuálně pozorovány pro zjištění míry kolonizace mouchami zejména z čeledi Calliphoridae.

První nálety much byly zaznamenány 16. 6. 2020 v 9.00 hod. a zaklazení všech kadáverů vajíčky bylo zaznamenáno 17. 6. 2020 v 9.00 hod., tj. 24 hodin od prvních náletů (Příloha č. 8 až 10). Dne 17. 6. 2020 po potvrzení zaklazení kadáverů (Přílohy č. 11 až 13) byly z každého kadáveru odebrány vzorky vajíček do jednotlivých zkumavek tak, aby mohlo dojít k determinaci a určení zástupců.

Po zaklazení a odebrání vzorků byly kadávery 17. 6. 2020 v 10.00 hod. samostatně zakopány do mělkých hrobů. V první variantě pokusu byly tři kadávery před zakopáním samostatně umístěny do kartonové krabice imitující rakev (dále jako „varianta 1“). Kartonové krabice byly všechny shodného materiálu o rozměru 29x18x10 cm (Příloha č. 14). Ve druhé variantě byly tři kadávery pohřbené volně v zemi (dále jako „varianta 2“). Hroby u varianty 1, resp. kadávery, nesly číselné označení 1 až 3 a u varianty 2 číselné označení 4 až 6. Kadávery byly zasypány zeminou a ponechány pohřbené do 23. 10. 2020. (Přílohy č. 15 až 17). V průběhu tohoto období byly hroby průběžně sledovány, avšak byly ponechány v původním stavu. Slehlá zemina v důsledku klimatických podmínek a sukcese kadáverů nebyla dodatečně doplňována.

4.3 Odběr a hodnocení vzorků

4.3.1 Entomologické vzorky

Před zakopáním byly z každého kadáveru (náhodných míst) odebrány vzorky vajíček. Ke sběru materiálu byla použita pinzeta a předem připravené zkumavky naplněné 70% ethanolem, které nesly označení s číslem kadáverů, resp. hrobů (Příloha č. 18).

Vykopání kadáverů a odběr entomologických vzorků byl proveden dne 23. 10. 2010. Z důvodu časové náročnosti, byl začátek činnosti stanoven na 6.30 hod. Odběr vzorků a pořizování fotografické evidence bylo ukončeno ve 23.00 hod.

Samotný sběr entomologického materiálu z každého hrobu probíhal ve dvou fázích. V první fázi byl prováděn odběr vzorků opatrným, postupným odkrýváním půdního profilu až ke kadáveru. Během odhrabávání zeminy byly vzorky odebírány pinzetou do předem připravených a vyčištěných skleněných nádob (Příloha č. 19). Po vyjmutí kadáveru z hrobu, byla prozkoumána půda i pod kadáverem a jeho přilehlém okolí. Vzorky byly opět odebrány pinzetou a uloženy do skleněné nádoby v rámci první fáze. Ve druhé fázi se jednalo o vzorky nalezené přímo na kadáveru. Kadáver byl z hrobu vyjmut, důkladně prozkoumán a veškeré vzorky byly opět odebrány pinzetou do skleněné nádoby. V této fázi byly zaznamenány i tafonomické změny na kadáveru a byla pořízena fotografická dokumentace (Přílohy č. 20 až 22).

Skleněné nádoby (celkem 12) byly označeny číslem hrobu (1 až 6) a fází odběru. Fáze odběru „P“ pro vzorky odebrané z půdního profilu a „K“ pro vzorky nalezené na kadáveru. Celkem tedy 6 nádob se vzorky odebrané z půdy nad a v okolí kadáveru a 6 nádob se vzorky z kadáveru. Veškeré nádoby s entomologickým materiálem byly prodyšně uzavřeny (Příloha č. 23).

Vzorky s entomologickým materiálem byly předány do laboratoře Kriministického ústavu Policie České republiky v Praze. Morfologickou determinaci provedla plk. Ing. Hana Šuláková, Ph.D. a genetickou identifikaci vajíček provedla kpt. Ing. Vanda Klimešová.

4.3.2 Tafonomické změny

Kadávery byly v zemi uloženy po dobu delší než 4 měsíce. Při sběru entomologického materiálu byl kadáver vyjmut ze země a tafonomické změny byly zaznamenány a fotograficky zdokumentovány. Mezi hlavní posuzované změny patřily: celkový vzhled kadáveru, stav opeření a měkkých tkání.

5 Výsledky

5.1 Entomologické vzorky

5.1.1 Kadávery ve volné expozici

Vzorky vajíček odebraných z volně exponovaných kadáverů patřili do čeledi Calliphoridae, jmenovitě *Lucilia caesar* a *Lucilia sericata*.

5.1.2 Kadávery pohřbené v krabici

Vzorky odebrané z půdy v okolí pohřbeného kadáveru – fáze odběru „P“

Hrob 1P	2 ks	Diplopoda (mnohonožky)
	1 ks	Chilopoda (stonožky)
	5 ks	imag <i>Philonthus</i> sp. (Coleoptera, Staphylinidae)
	17 ks	prázdných puparií <i>Lucilia caesar</i> (Diptera, Calliphoridae)
	24 ks	prázdných puparií <i>Hydrotaea</i> sp. (Diptera, Muscidae)
	45 ks	prázdných puparií <i>Muscina</i> sp. (Diptera, Muscidae)
Hrob 2P	1 ks	imaga <i>Philonthus</i> sp. (Coleoptera, Staphylinidae)
	3 ks	imag <i>Margarinotus ventralis</i> (Coleoptera, Histeridae)
	7 ks	prázdných puparií <i>Lucilia caesar</i> (Diptera, Calliphoridae)
	19 ks	prázdných puparií <i>Hydrotaea</i> sp. (Diptera, Muscidae)
	38 ks	prázdných puparií <i>Muscina</i> sp. (Diptera, Muscidae)
Hrob 3P	5 ks	imag <i>Margarinotus ventralis</i> (Coleoptera, Histeridae)
	3 ks	larev III. instaru <i>Lucilia sericata</i> (Diptera, Calliphoridae)
	6 ks	prázdných puparií <i>Lucilia caesar</i> (Diptera, Calliphoridae)
	8 ks	prázdných puparií <i>Hydrotaea</i> sp. (Diptera, Muscidae)
	16 ks	prázdných puparií <i>Muscina</i> sp. (Diptera, Muscidae)

Vzorky odebrané z kadáveru – fáze odběru „K“

Na všech kadáverech bylo zpozorováno velké množství zástupců řádu Acari a na kadáveru 2K byl navíc spatřen zástupce *Eisenia* spp Michaelsen, 1900 z čeledi Lumbricidae (žížalovití).

Hrob 1K bez dalšího entomologického nálezu

Hrob 2K bez dalšího entomologického nálezu

Hrob 3K bez dalšího entomologického nálezu

5.1.3 Volně pohřbené kadávery

Vzorky odebrané z půdy v okolí pohřbeného kadáveru – fáze odběru „P“

Hrob 4P	15 ks	prázdných puparií <i>Muscina</i> sp. (Diptera, Muscidae)
Hrob 5P	3 ks	Diplopoda (mnohonožky)
	2 ks	larev III. instaru <i>Lucilia caesar</i> (Diptera, Calliphoridae)
	1 ks	prázdné puparium <i>Lucilia caesar</i> (Diptera, Calliphoridae)
	7 ks	prázdných puparií <i>Muscina</i> sp. (Diptera, Muscidae)
Hrob 6P	1 ks	larva III. instaru <i>Lucilia caesar</i> (Diptera, Calliphoridae)
	11 ks	prázdných puparií <i>Muscina</i> sp. (Diptera, Muscidae)

Vzorky odebrané z kadáveru – fáze odběru „K“

Na všech kadáverech bylo zpozorováno velké množství Acari současně s dalšími zástupci hmyzu.

Hrob 4K	2 ks	Diplopoda (mnohonožky)
Hrob 5K	1 ks	Chilopoda (stonožky)
Hrob 6K	1 ks	prázdné puparium <i>Hydrotaea</i> sp. (Diptera, Muscidae)
	5 ks	zástupců čeledi Formicidae

5.2 Tafonomické změny na kadáverech

5.2.1 Kadávery pohřbené v krabici

Všechny tři vykopané kadávery z první varianty experimentu byly ve shodném stavu, krabice byly kompletně rozloženy:

Celkový vzhled kadáverů – kadáver se snadno rozpadá, z převážné části je obalen hlínou, hlína v okolí vlhká, přítomnost bílé a žluté plísně, hojný počet zástupců Acari;

Tkáně – rozloženy, bezprostřední okolí kašovité konzistence;

Opeření – zřetelně identifikovatelný brk a osten s částečně zachovaným praporem a částečně i větvemi.

5.2.2 Volně pohřbené kadávery

Všechny tři vykopané kadávery z druhé varianty experimentu byly ve shodném stavu:

Celkový vzhled kadáverů – kostra rozpadlá a kosti volně ložené v hlíně, přítomnost plísně, hojný počet zástupců Acari;

Tkáně – kompletně rozloženy;

Opeření – identifikovatelný brk a osten.

5.3 Zhodnocení výsledků

Z každého volně exponovaného kadáveru byly odebrány vzorky nakladených vajíček, to jest 6 zkumavek se vzorky.

Z hrobů a jejich bezprostředního okolí bylo v rámci celého experimentu odebráno 249 kusů hmyzu, nebo jejich pozůstatků. V půdě se nacházelo 240 ks a pouze 9 ks bylo odebráno přímo z kadáverů. Na kadáverech bylo současně pozorováno velké množství zástupců Acari a jeden zástupce rodu *Eisenia*, kteří nebyli předmětem experimentu.

6 Diskuze

Cílem bakalářské práce bylo vypracovat literární rešerši a v následném experimentu potvrdit, nebo vyvrátit hypotézu, že nižší vývojová stadia nekrofágních druhů čeledi Calliphoridae jsou schopna po dodatečném zakopání kadáveru dokončit svůj vývojový cyklus. Byly provedeny dvě varianty pokusu. V prvním případě byly kadávery po zaklazení mouchami nejprve uloženy do kartonové krabice (pro vytvoření vzduchové kapsy, resp. imitace rakve, příp. podobného obalu) a poté zakopány. V druhém případě byly zaklazené kadávery uloženy volně v přímém kontaktu s půdou a zahrabány.

Samotný vývoj larev na zakopaných kadáverech může být částečně ovlivněn vlastnostmi půdy. Kadávery byly umístěny ve stejném období na shodném pozemku s půdním typem kambizem. Lze tedy předpokládat, že podmínky pro vývoj larev byly z tohoto pohledu v obou variantách experimentu velmi podobné, ne-li shodné.

V Příloze č. 24 je uvedeno detailní rozložení zástupců dle místa sběru. V první variantě experimentu bylo kromě dalších zástupců nalezeno několik prázdných puparií z čeledi Calliphoridae, konkrétně *Lucilia caesar* a larvy III. instaru *Lucilia sericata*. Ve druhé variantě se vyskytovalo puparium *Lucilia caesar* a larvy III. instaru stejného rodu. Graficky znázorněné počty druhů dle hrobu a dle varianty experimentu viz Příloha č. 25 a 26. V obou variantách pokusu byla nalezena prázdná puparia čeledi Calliphoridae poukazující na možnost dokončit vývin. Hypotéza byla tedy výsledky experimentu potvrzena, protože ani vrstva zeminy 25 cm vysoká na dodatečně pohřbených kadáverech neznamenalala přerušení vývojových cyklů much z čeledi Calliphoridae.

V obou variantách pokusu patřila mezi nepočetnější zástupce čeledi Muscidae, konkrétně rod *Muscina*, následován rodem *Hydrotaea* (Příloha č. 27). Procentuální rozložení druhů v závislosti na variantě experimentu je znázorněno v Příloze č. 28 a 29. Experimentem tedy nebyla potvrzena teze Daňka (1990), který uvádí druh *Hydrotaea ignava* nejpočetnějším druhem na mrtvolách dosahující poměru až 70 % ze všech zástupců. S tvrzením Daňka (1990) se shoduje výsledek z pražského experimentu Klimešové et al. (2016), kteří uvádějí jako nejpočetnější nekrofágní zástupce v České republice druh *Hydrotaea ignava* z čeledi Muscidae. Tyto výsledky však byly uváděny pro kadávery při volné expozici.

Larvy čeledi Calliphoridae mohly být zredukovány činností larev dalších druhů hmyzu nalezených na kadáverech, např. zástupci čeledi Muscidae, kteří byli nalezeni v hojném počtu. Mouchy čeledi Muscidae, konkrétně rodu *Muscina* mohli kolonizovat kadáver naklazením vajíček na povrch půdy, kdy se larvy po vylíhnutí prohrabávají k mrtvole (Povolný 1978; Eliášová & Šuláková 2012).

Při pohledu na výsledek pokusu s ohledem na varianty se ukázal zásadní vliv vzduchové kapsy okolo kadáveru. A to nejen v počtu zástupců a zastoupených druhů, ale i ve stupni rozkladu, kde byl mezi variantami experimentu viditelný rozdíl. Kadávery pohřbené v kartonové krabici vykazovaly menší míru rozkladu než kadávery zakopané volně. V první

variantě experimentu byly nalezeny zbytky opeření (brk, osten a částečně prapor) a kostra nebyla zcela rozpadlá (Příloha č. 30 a 31). Kostra, resp. její bezprostřední okolí bylo kašovitě konzistence a vazivové tkáně byly z převážné části rozloženy. U druhé varianty byly z opeření identifikovatelné pouze brko a osten. Vazivové tkáně byly kompletně rozloženy a převážně se jednalo pouze o kosterní nálezy s kostmi volně loženými v hrobě (Příloha č. 32 a 33). Výsledky experimentu v první a druhé variantě jsou v souladu s Buekenhout et al. (2018), kteří zmiňují pomalejší rozklad kadáverů pohřbených v rakvích než těch pohřbených v mělčích hrobech přímo v půdě.

V současnosti není prezentováno mnoho výzkumů o schopnosti čeledi Calliphoridae dokončit svůj vývojový cyklus na dodatečně pohřbených kadáverech. Většina autorů, zabývajících se touto problematikou uvádí, že mouchy čeledi Calliphoridae se na rozkladu kadáveru standardně nepodílí (Smith 1986; Daněk 1990; Gunn 2006) a i několik centimetrů zeminy pro ně tvoří nepřekonatelnou bariéru, s čímž se ztotožňuje většina autorů. V případě nálezu čeledi Calliphoridae je více než jisté, že mrtvola byla určitou dobu před zakopáním volně exponována (Daněk 1990; Gunn 2006; Byrd & Tomberlin 2019). Naproti tomu Gunn a Bird (2011) uvádí, že mouchy čeledi Calliphoridae jsou schopni pohřbenou mrtvolu kolonizovat, pokud je zakryta tenkou vrstvou kypré půdy. Mohou k tomu využít prasklin v půdě nad kadáverem, které vznikají například postupným nadýmáním těla či sesedáním půdy a při dostatečném množství potravy jsou schopni vývinu (Gunn & Bird, 2011). Tato tvrzení nelze z pohledu experimentu této bakalářské práce vyvrátit.

Je možné konstatovat, že výsledek pokusu je v souladu s prací Balme et al. (2012), kteří svým experimentem s larvami II. a III. instaru potvrdili schopnost čeledi Calliphoridae dokončit svůj vývojový cyklus po zakopání, kdy k vylíhnutí imago došlo ve všech variantách jejich pokusu. Balme et al. (2012) navíc uvádějí, že jedinci zakopáni v pozdějších stadiích vývinu (larvy II. a III. instaru), mají vyšší pravděpodobnost dokončení vývojového cyklu než při zakopání ve stadiu vajíček či larev I. instaru. Výše zmínění autoři své pokusy prováděli v simulovaném, laboratorním prostředí. V obou variantách experimentu v této práci byly pokusné kadávery zakopány bezprostředně po zaklazení a vývoj jedinců tedy probíhal převážně pod zemí.

Výsledky této práce poukazují na možnost zástupců čeledi Calliphoridae dokončit svůj vývin i po dodatečném zakopání kadáveru.

Odborná literatura nepředkládá dostatečné množství informací a experimentů zabývajících se touto problematikou. Z tohoto důvodu by bylo prospěšné portfolio výzkumů rozšířit. Přínosné by mohlo být doplnění experimentu například o využití všech vývojových stupňů čeledi Calliphoridae za stejných podmínek dodatečného pohřbení nebo naopak využití zástupců shodného stáří s rozdílnými podmínkami prostředí experimentu. Tyto výsledky by mohly přinést více informací nejen o schopnosti samotného vývinu zástupců čeledi Calliphoridae pod zemí, ale i o různých podmínkách, za kterých jsou toho schopni.

7 Závěr

- Čeleď Calliphoridae se řadí mezi nejvýznamnější dekompozitory organického materiálu a nejdůležitější druhy využívané ve forenzní entomologii.
- V České republice patří celkem 13 druhů z čeledi Calliphoridae mezi kriminalisticky významné.
- Problematikou schopnosti vývinu čeledi Calliphoridae na dodatečně zakopaném kadáveru se odborná literatura věnuje jen málo.
- Autoři věnující se tomuto tématu svými experimenty potvrzují, že nižší vývojová stadia čeledi Calliphoridae jsou v laboratorním prostředí schopna svůj vývoj po dodatečném pohřbení dokončit.
- Poznatky o účasti čeledi Calliphoridae na rozkladu zakopaných těl jsou uváděny různými autory odlišně. Někteří poukazují na jejich neschopnost překonat bariéru v podobě půdního profilu nad mrtvolou, a to i v případě, pokud se jedná o několik centimetrů zeminy. Další uvádějí schopnost čeledi kolonizovat zakopaný kadáver v hloubce 5 až 10 cm.
- Uložení kadáveru do krabice imitující rakev (varianta 1) pozitivně ovlivnilo vývin larev z čeledi Calliphoridae.
- Rozklad kadáverů probíhal ve variantě kadáveru uloženém v pevném obalu pomaleji než u kadáveru volně loženého do hrobového místa.
- Dominantní zastoupení u obou variant experimentu měla čeleď Muscidae, konkrétně rod *Muscina*.
- Rod *Hydrotaea* z čeledi Muscidae se u kadáverů volně uložených v hrobovém místě neobjevil, i když patřil mezi druhý nejhojněji zastoupený rod ve variantě s kadáverem v pevném obalu.
- Z čeledi Calliphoridae dominoval druh *Lucilia caesar*.
- Výsledky z experimentální části práce potvrdily základní hypotézu. V obou variantách experimentu byla nalezena prázdná puparia a lze tedy konstatovat, že nižší vývojová stadia nekrofágních druhů čeledi Calliphoridae jsou schopna po dodatečném zakopání kadáveru dokončit svůj vývojový cyklus.

8 Literatura

- Amendt J, Krettek R, Zehner R. 2004. Forensic Entomology. *Naturwissenschaften* **91**:51–65.
- Amendt J, Zehner R, Reckel F. 2008. The nocturnal oviposition behaviour of blowflies (Diptera: Calliphoridae) in Central Europe and its forensic implications. *Forensic Science International* **175** (1):61-64.
- Amendt J, Campobasso CP, Goff ML, Grassberger M. 2010. *Current Concepts of Forensic Entomology*. Springer, Netherlands.
- Amendt J, Richard CS, Campobasso CP, Zehner R, Hall MJR. 2011. Forensic entomology: applications and limitations. *Forensic science, medicine and pathology* **7** (4):379-392.
- Anderson GS. 2005. Effects of arson on forensic entomology evidence. *Canadian Society of Forensic Science Journal* **38** (2):49–67.
- Arnott S, Turner B. 2008. Post-feeding larval behaviour in the blowfly, *Calliphora vicina*: effects on post-mortem interval estimates. *Forensic science international* **177** (2-3):162-167.
- Aubernon C, Hedouin V, Charabidze D. 2018. Postfeeding necrophagous larvae pupation strategies: A link with molting hormones titer?. Conference: *Hormones and Behaviors in Arthropods 2018*. Tours, France.
- Balme GR, Denning SS, Cammack JA, Watson DW. 2012. Blow flies: (Diptera:Calliphoridae) survive burial: Evidence of ascending vertical dispersal. *Forensic Science International* **216** (1-3):1-4.
- Bassanezi RC, Leite MBF, Godoy WAC, Von Zuben CJ, Von Zuben FJ, Reis SF. 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.
- Bourel B, Tournel G, Hédouin V, Gosset D. 2004. Entomofauna of buried bodies in northern France. *International Journal of Legal Medicine* **118**:215-220.
- Buekenhout I, Cravo L, Vieira DN, Cunha E, Ferreira MT. 2018. Applying standardized decomposition stages when estimating the PMI of buried remains: reality or fiction?. *Australian Journal of Forensic Sciences* **50** (1):68-81.
- Buchar J, Čepická A. 1995. *Klíč k určování bezobratlých*. Scientia, Praha.

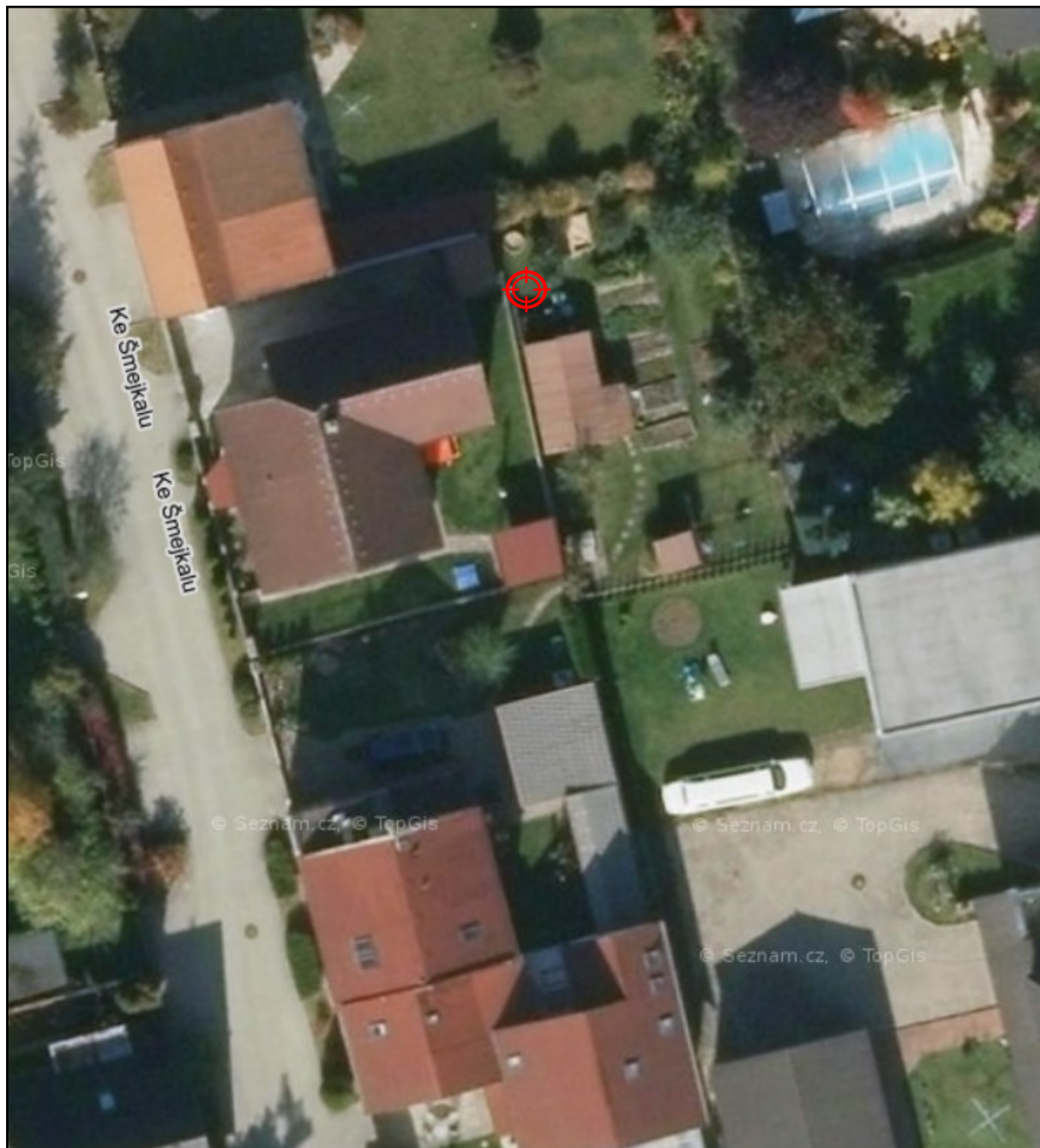
- Byrd JH, Castner JL (Eds.). 2009. Forensic entomology: the utility of arthropods in legal investigations (2nd ed.). CRC Press, Boca Raton.
- Byrd JH, Tomberlin JK (Eds.). 2019. Forensic Entomology: The Utility of Arthropods in Legal Investigations (3rd ed.). CRC Press, Boca Raton.
- Campobasso CP, Di Vella G Intronà F, Jr. 2001. Factors affecting decomposition and Diptera colonization. *Forensic Science International* **120**:18-27.
- Daněk L. 1990. Možnosti využití entomologie v kriminalistice. Kriminalistický ústav VB, Praha.
- Dvořák M. 2000. Exhumace z aspektu soudního lékaře. *Kriminalistika* **33** (3):243-244.
- Elišová H, Šuláková H. 2012. Forenzní biologie. In: Štefan J, Hladík J. a kol. Soudní lékařství a jeho moderní trendy. Grada Publishing, Praha.
- Fiedler S, Graw M. 2003. Decomposition of buried corpses, with special reference to the formation of adipocere. *Naturwissenschaften* **90**:291–300.
- Fremdt H, Amend, 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.
- Gennard DE. 2007. Forensic entomology: An Introduction. Wiley & Sons Publications, England.
- 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. 2006. Essential forensic biology. John Wiley & Sons Ltd., Chichester.
- Gunn A, Bird J. 2011. The ability of blowflies *Calliphora vomitoria* (Linnaeus), *Calliphora vicina* (Rob-Desvoidy) and *Lucilia sericata* (Meigen) (Diptera: Calliphoridae) and muscid flies *Muscina stabulans* (Fallén) and *Muscina prolapsa* (Harris) (Diptera: Muscidae) to colonise buried remains. *Forensic Science International* **207**:198-204.
- Joseph I, Mathew DG, Sathyan P, Vargheese G. 2011. The use of insects in forensic investigations: An overview on the scope of forensic entomology. *Journal of Forensic Dental Sciences* **3** (2):89-91.
- Kashyap VK, Pillay VV. 1989. Efficacy of entomological method in estimation of postmortem interval: A comparative analysis. *Forensic Science International* **40** (3):245-250.

- Klimešová V, Olekšáková T, Barták M, Šuláková H. 2016. Forensically important Muscidae (Diptera) associated with decomposition of carcasses and corpses in the Czech republic. Pages 784-789 in Polák O, Cerkal R, Březinová Belcredi N, Horký P, Vacek P, editors. MendelNet 2016 – Proceedings of International PhD Students Conference. Mendel University in Brno, Czech republic, Brno.
- Kubík Š, Országh I. 2009. Calliphoridae Brauer and Bergenstamm, 1880. In: Jedlička L, Kúdela M. and Stloukalová V. (eds): Checklist of Diptera of the Czech Republic and Slovakia.
- Laupy M. 1994. Post mortem interval a nekrofilní mouchy. *Kriminalistika* **27** (2):121-135.
- Lundt H. 1964. In: Smith KGV. 1986. A Manual of Forensic Entomology. The Trustees of British Museum (Natural History), London.
- Matuszewski S, Konwerski S, Frątczak K et al. 2014. Effect of body mass and clothing on decomposition of pig carcasses. *Int J Legal Med* **128**:1039–1048.
- Mégnin JP. 1894. La faune de cadavres. Application de l'entomologie a la médecine légale. Encyclopedie scientifique des Aides-Mémoire. Masson. Paris Gauthier-Villars, Paris.
- Mohr RM, Tomberlin J K. 2014. Environmental Factors Affecting Early Carcass Attendance by Four Species of Blow Flies (Diptera: Calliphoridae) in Texas. *Journal of Medical Entomology* **51** (3):702-708.
- Obenberger J. 1964. Entomologie. V, Systematická část 4. Nakladatelství Československé akademie věd, Praha.
- Povolný D. 1978. Hmyz v kriminologii. *Vesmír* **57** (1):205-208.
- Povolný D. 1979. Někteřá hlediska praktického využití hmyzu v kriminalistice. *Kriminalistický sborník* **10**:620-632.
- Povolný D. 2001. Léčba mušičími larvami. Jak systém „tiché pošty“ deformuje smysl. *Vesmír* **80**:190–191.
- Prokeš L. 2007. Posmrtné změny a jejich význam při interpretaci pohřebního ritu: (ke vztahu mezi archeologií a forenzními vědami). ÚAM FF MU, Brno.
- Rivers DB, Dahlem GA. 2014. The science of forensic entomology. John Wiley & Sons.
- Robinson WH. 2005. Urban Insect and Arachnids: A Hand Book of Urban Entomology. Cambridge University Press, Cambridge.
- Pape T, et al. 2015. Fauna Europaea: Diptera–Brachycera. *Biodiversity Data Journal* (e4187) DOI: 10.3897/BDJ.3.e4187.

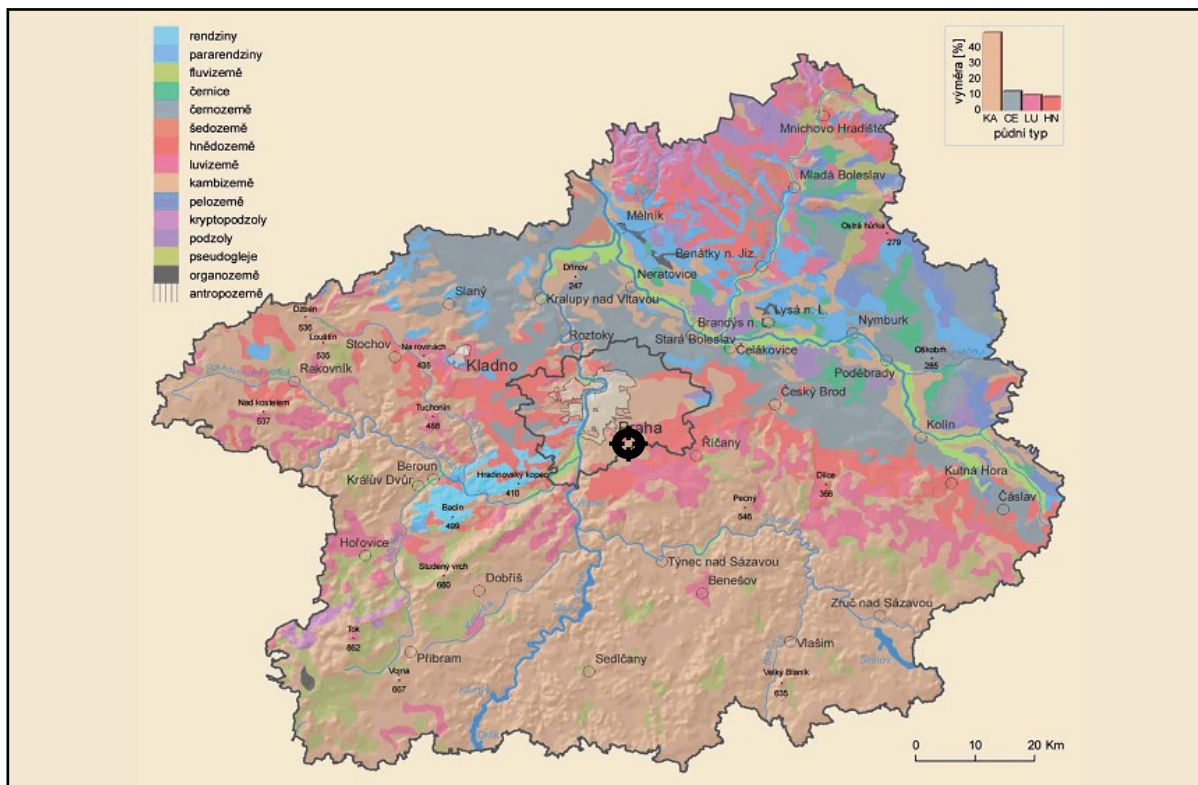
- Schotsmans EM, Márquez-Gran N, Forbes S. 2017. Taphonomy of human remains : forensic analysis of the dead and the depositional environment. Wiley, Chichester, West Sussex.
- Singh D, Bala Dr, Kumar M, Badhawan B. 2009. Forensic Entomology: An exhaustive review. *Annals of Entomology* **27**:1-44.
- Smit KGV. 1986. A Manual of Forensic Entomology. The Trustees of British Museum (Natural History), London.
- Straus J, Porada V. a kol. 2017. Teorie, metody a metodologie kriminalistiky. Vydavatelství a nakladatelství Aleš Čeněk, s.r.o., Plzeň.
- Šuláková H. 2006. Speciální biologie: využití hmyzu při stanovení post mortem intervalu. *Kriminalistický sborník* **3**:36–37.
- Šuláková H, Barták M. 2013. Forensically important Calliphoridae (Diptera) associated with animal and human decomposition in the Czech Republic: preliminary results. *Čas. Slezské Muzeum Opava* **62**:255-266.
- Šuláková H. 2014. Forezní entomologie–když smrt je začátek. *Živa* **5**:250–256.
- Šuláková H, Barták M, Vaněk J. 2014a. Bzučivkovití (Diptera, Calliphoridae) české části Krkonoš. *Opera Corcontica* **51**:145-15.
- Šuláková H, Gregor F, Ježek J, Tkoč M. 2014b. Nová invaze do našich obcí a měst: koutule *Clogmia albipunctata* a problematika myiáz. *Živa* **1**:29-32.
- 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** (2):113-122.
- Vanin S, Bonizzoli M, Migliaccio M L, Buoninsegni L T, Bugelli V, Pinchi V, Focardi M. 2017. A Case of Insect Colonization Before the Death. *Journal of Forensic Science* **62**:1665-1667.
- Zumpt F. 1965. Myiasis in Man and Animals in the Old World. A Textbook for Physicians, Veterinarians and Zoologist. Butterworths, London.

9 Samostatné přílohy

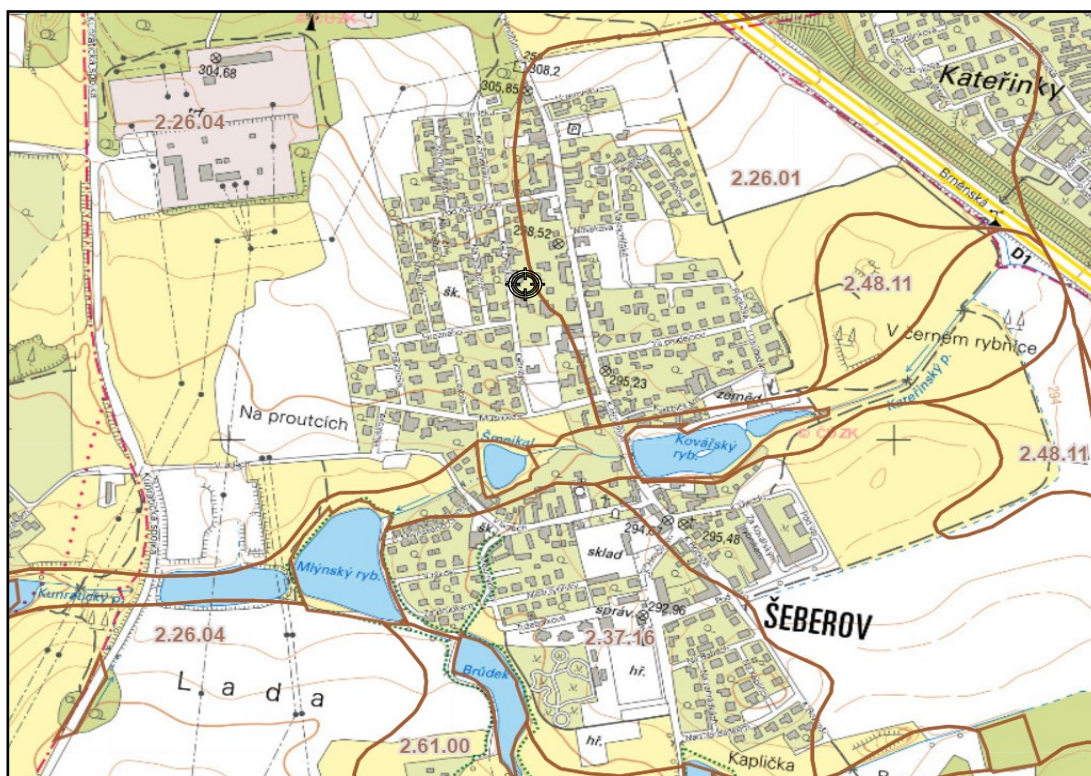
Příloha č. 1: Mapa lokality – umístění hrobů
(Zdroj: www.mapy.cz)



Příloha č. 2: Mapa půdních typů (Středočeský kraj a Praha) – vyznačení oblasti experimentu
 (Zdroj: www.mzp.cz/cz/pudni_mapy)



Příloha č. 3: Mapa BPEJ – vyznačení lokality
 (Zdroj: www.vumop.cz)



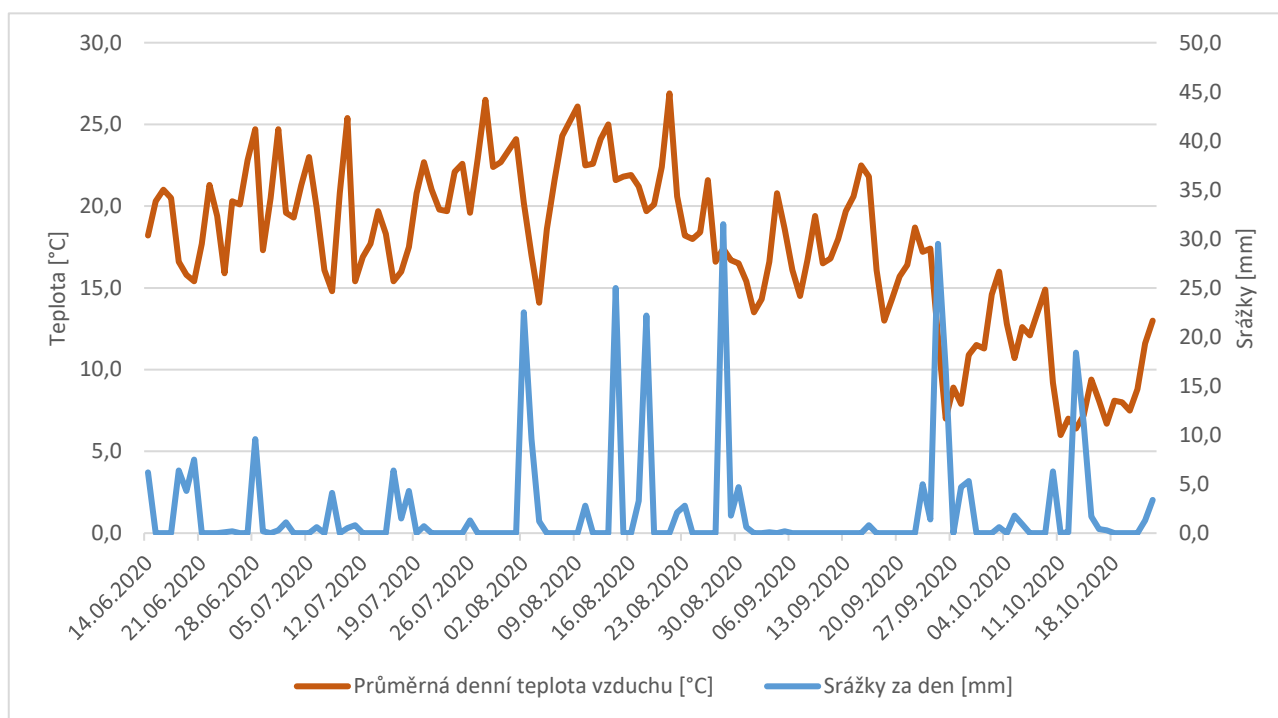
Příloha č. 4: Klimatické podmínky
(Zdroj: www.chmi.cz)

Rok	Měsíc	Den	Průměrná denní teplota vzduchu [°C]	Srážky za den [mm]	Vlhkost vzduchu [%]
2020	červen	14.	18,2	6,2	91
2020	červen	15.	20,3	0,0	59
2020	červen	16.	21,0	0,0	58
2020	červen	17.	20,5	0,0	67
2020	červen	18.	16,6	6,4	85
2020	červen	19.	15,8	4,3	83
2020	červen	20.	15,4	7,5	90
2020	červen	21.	17,7	0,0	71
2020	červen	22.	21,3	0,0	55
2020	červen	23.	19,4	0,0	51
2020	červen	24.	15,9	0,1	73
2020	červen	25.	20,3	0,2	61
2020	červen	26.	20,1	0,0	70
2020	červen	27.	22,8	0,0	62
2020	červen	28.	24,7	9,6	57
2020	červen	29.	17,3	0,2	79
2020	červen	30.	20,5	0,0	51
2020	červenec	1.	24,7	0,3	52
2020	červenec	2.	19,6	1,1	81
2020	červenec	3.	19,3	0,0	60
2020	červenec	4.	21,3	0,0	51
2020	červenec	5.	23,0	0,0	57
2020	červenec	6.	19,9	0,6	55
2020	červenec	7.	16,1	0,0	54
2020	červenec	8.	14,8	4,1	80
2020	červenec	9.	20,8	0,0	71
2020	červenec	10.	25,4	0,5	45
2020	červenec	11.	15,4	0,8	71
2020	červenec	12.	16,9	0,0	53
2020	červenec	13.	17,7	0,0	53
2020	červenec	14.	19,7	0,0	49
2020	červenec	15.	18,3	0,0	63
2020	červenec	16.	15,4	6,4	80
2020	červenec	17.	16,0	1,5	71
2020	červenec	18.	17,5	4,3	81
2020	červenec	19.	20,8	0,0	73
2020	červenec	20.	22,7	0,7	56
2020	červenec	21.	21,0	0,0	59
2020	červenec	22.	19,8	0,0	44
2020	červenec	23.	19,7	0,0	51

2020	červenec	24.	22,1	0,0	52
2020	červenec	25.	22,6	0,0	50
2020	červenec	26.	19,6	1,3	73
2020	červenec	27.	22,9	0,0	52
2020	červenec	28.	26,5	0,0	40
2020	červenec	29.	22,4	0,0	41
2020	červenec	30.	22,7	0,0	42
2020	červenec	31.	23,4	0,0	42
2020	srpen	1.	24,1	0,0	42
2020	srpen	2.	20,2	22,5	69
2020	srpen	3.	17,0	9,6	87
2020	srpen	4.	14,1	1,2	83
2020	srpen	5.	18,6	0,0	63
2020	srpen	6.	21,6	0,0	63
2020	srpen	7.	24,3	0,0	60
2020	srpen	8.	25,2	0,0	51
2020	srpen	9.	26,1	0,0	52
2020	srpen	10.	22,5	2,8	69
2020	srpen	11.	22,6	0,0	70
2020	srpen	12.	24,1	0,0	63
2020	srpen	13.	25,0	0,0	53
2020	srpen	14.	21,6	25,0	73
2020	srpen	15.	21,8	0,0	76
2020	srpen	16.	21,9	0,0	62
2020	srpen	17.	21,2	3,3	65
2020	srpen	18.	19,7	22,2	75
2020	srpen	19.	20,1	0,0	65
2020	srpen	20.	22,4	0,0	58
2020	srpen	21.	26,9	0,0	50
2020	srpen	22.	20,6	2,1	75
2020	srpen	23.	18,2	2,8	76
2020	srpen	24.	18,0	0,0	62
2020	srpen	25.	18,4	0,0	55
2020	srpen	26.	21,6	0,0	42
2020	srpen	27.	16,6	0,0	55
2020	srpen	28.	17,4	31,5	71
2020	srpen	29.	16,7	1,8	88
2020	srpen	30.	16,5	4,7	91
2020	srpen	31.	15,4	0,6	80
2020	září	1.	13,5	0,0	75
2020	září	2.	14,3	0,0	62
2020	září	3.	16,6	0,1	54
2020	září	4.	20,8	0,0	57
2020	září	5.	18,6	0,2	73
2020	září	6.	16,1	0,0	60
2020	září	7.	14,5	0,0	60

2020	září	8.	16,7	0,0	58
2020	září	9.	19,4	0,0	53
2020	září	10.	16,5	0,0	62
2020	září	11.	16,8	0,0	68
2020	září	12.	18,0	0,0	67
2020	září	13.	19,7	0,0	61
2020	září	14.	20,6	0,0	59
2020	září	15.	22,5	0,0	57
2020	září	16.	21,8	0,8	61
2020	září	17.	16,1	0,0	55
2020	září	18.	13,0	0,0	55
2020	září	19.	14,3	0,0	59
2020	září	20.	15,7	0,0	54
2020	září	21.	16,4	0,0	64
2020	září	22.	18,7	0,0	64
2020	září	23.	17,2	5,0	74
2020	září	24.	17,4	1,4	69
2020	září	25.	12,0	29,5	89
2020	září	26.	7,0	16,7	89
2020	září	27.	8,9	0,0	75
2020	září	28.	7,9	4,7	94
2020	září	29.	10,9	5,3	90
2020	září	30.	11,5	0,0	78
2020	říjen	1.	11,3	0,0	78
2020	říjen	2.	14,6	0,0	76
2020	říjen	3.	16,0	0,6	71
2020	říjen	4.	12,8	0,0	70
2020	říjen	5.	10,7	1,8	83
2020	říjen	6.	12,6	0,9	67
2020	říjen	7.	12,1	0,0	74
2020	říjen	8.	13,5	0,0	66
2020	říjen	9.	14,9	0,0	72
2020	říjen	10.	9,2	6,3	88
2020	říjen	11.	6,0	0,0	86
2020	říjen	12.	7,0	0,1	78
2020	říjen	13.	6,4	18,4	84
2020	říjen	14.	7,2	11,2	89
2020	říjen	15.	9,4	1,7	86
2020	říjen	16.	8,1	0,4	83
2020	říjen	17.	6,7	0,3	84
2020	říjen	18.	8,1	0,0	73
2020	říjen	19.	8,0	0,0	68
2020	říjen	20.	7,5	0,0	77
2020	říjen	21.	8,8	0,0	81
2020	říjen	22.	11,6	1,3	82
2020	říjen	23.	13,0	3,4	87

Příloha č. 5: Grafické znázornění průměrné teploty vzduchu a denních srážek



Příloha č. 6: Vykopaná hrobová místa



Příloha č. 7: Volná expozice kadáverů pod přístřeškem



Příloha č. 8: Nálety much na kadáverech ve volné expozici



Příloha č. 9: Nálety much na kadáverech ve volné expozici



Příloha č. 10: Nálety much na kadáverech ve volné expozici



Příloha č. 11: Detail vajíček much nakladených na kadáverech při volné expozici



Příloha č. 12: Detail vajíček much nakladených na kadáverech při volné expozici



Příloha č. 13: Detail vajíček much nakladených na kadáverech při volné expozici



Příloha č. 14: Kartonové krabice imitující rakev



Příloha č. 15: Uložení kadáveru v hrobě – varianta 1



Příloha č. 16: Uložení kadáverů v hrobech



Příloha č. 17: Pohled na zasypané hroby



Příloha č. 18: Pomůcky pro odběr materiálu z volně exponovaného kadáveru



Příloha č. 19: Pomůcky pro odběr materiálu z hrobů



Příloha č. 20: Detail vykopaného kadáveru - hlava



Příloha č. 21: Detail vykopaného kadáveru - hrud'



Příloha č. 22: Vykopáný kadáver se zástupcem z rodu *Eisenia*



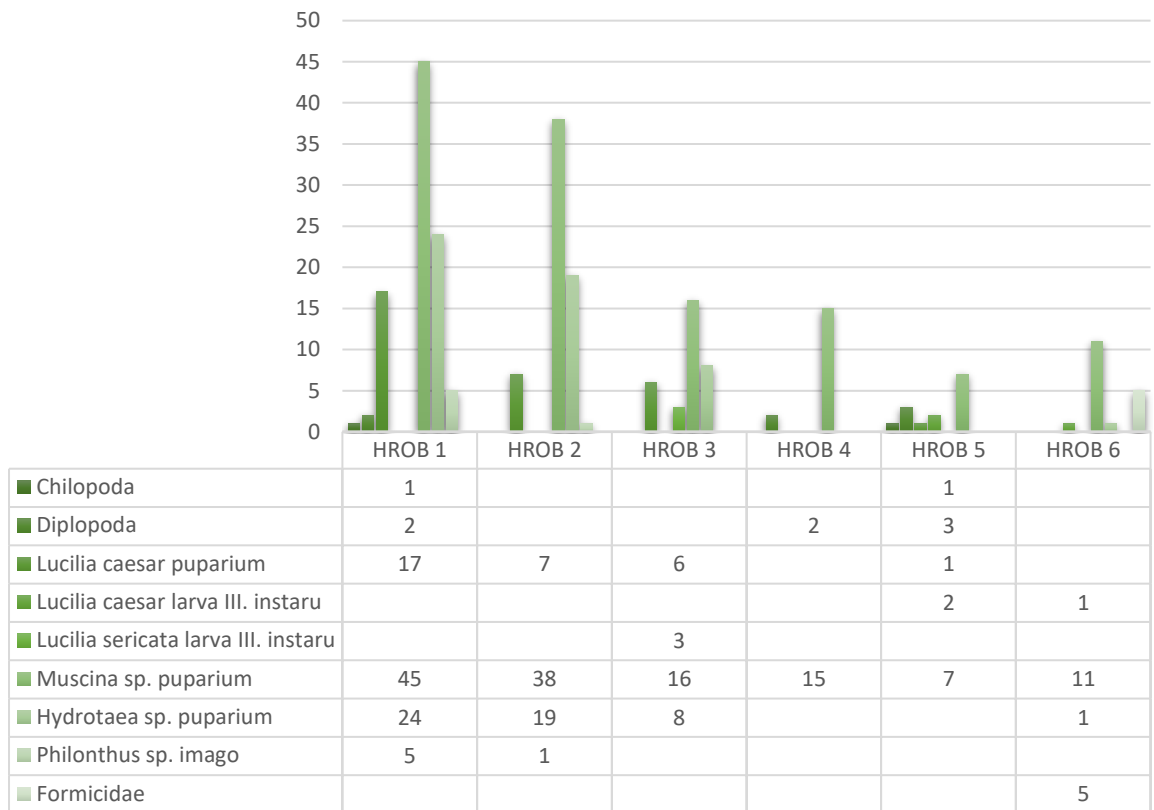
Příloha č. 23: Skleničky s entomologickým materiálem



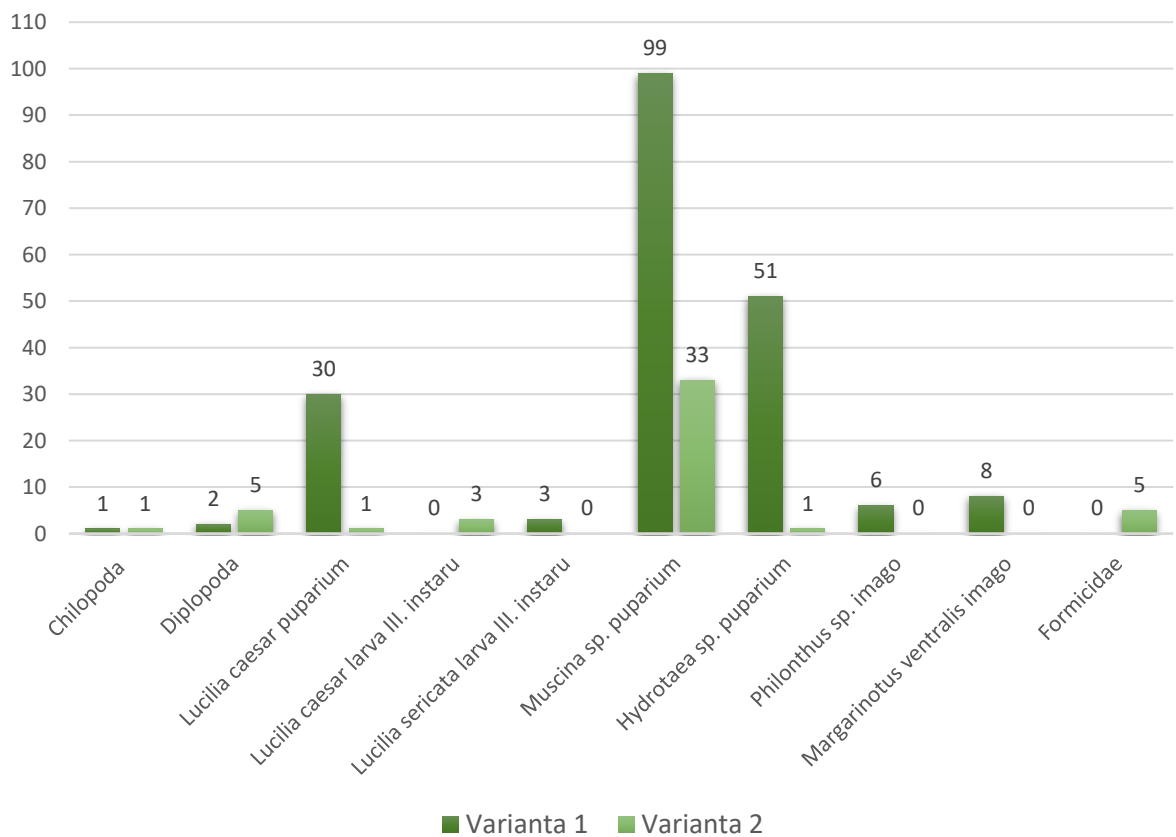
Příloha č. 24: Počty odebraných zástupců z jednotlivých hrobů – z kadáveru (K) a okolí (P)

Lokalita a fáze odběru	1P	2P	3P	1K	2K	3K	4P	5P	6P	4K	5K	6K
Chilopoda	1										1	
Diplopoda	2							3		2		
<i>Lucilia caesar</i> puparium	17	7	6					1				
<i>Lucilia caesar</i> larva III. instaru								2	1			
<i>Lucilia sericata</i> larva III. instaru			3									
<i>Muscina</i> sp. puparium	45	38	16				15	7	11			
<i>Hydrotaea</i> sp. puparium	24	19	8									1
<i>Philonthus</i> sp. imago	5	1										
<i>Margarinotus ventralis</i> imago		3	5									
Formicidae												5
SOUČET	94	68	38	0	0	0	15	13	12	2	1	6

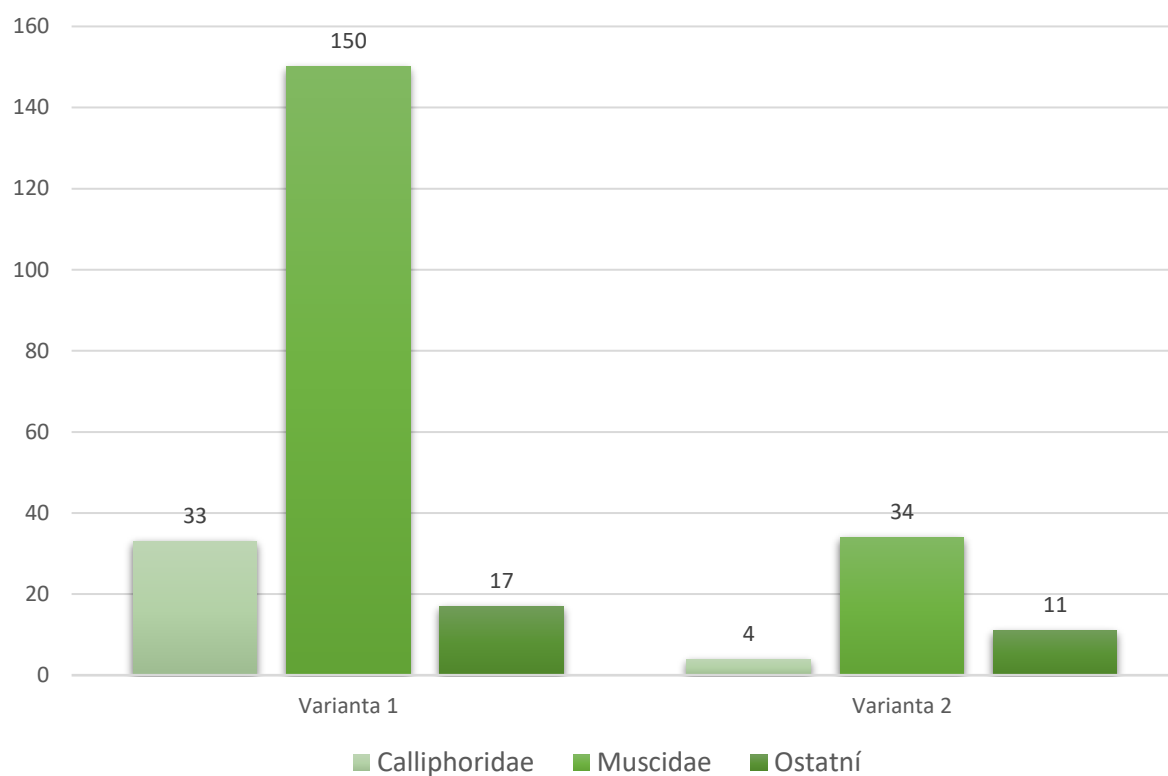
Příloha č. 25: Grafické znázornění počtů jedinců dle hrobu



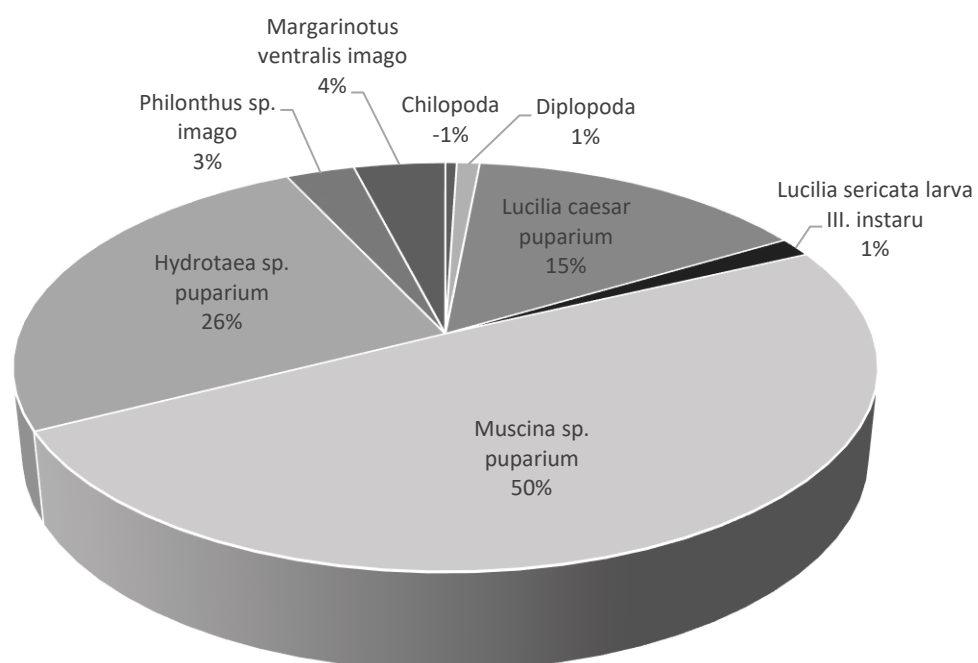
Příloha č. 26: Druhové rozložení dle varianty experimentu



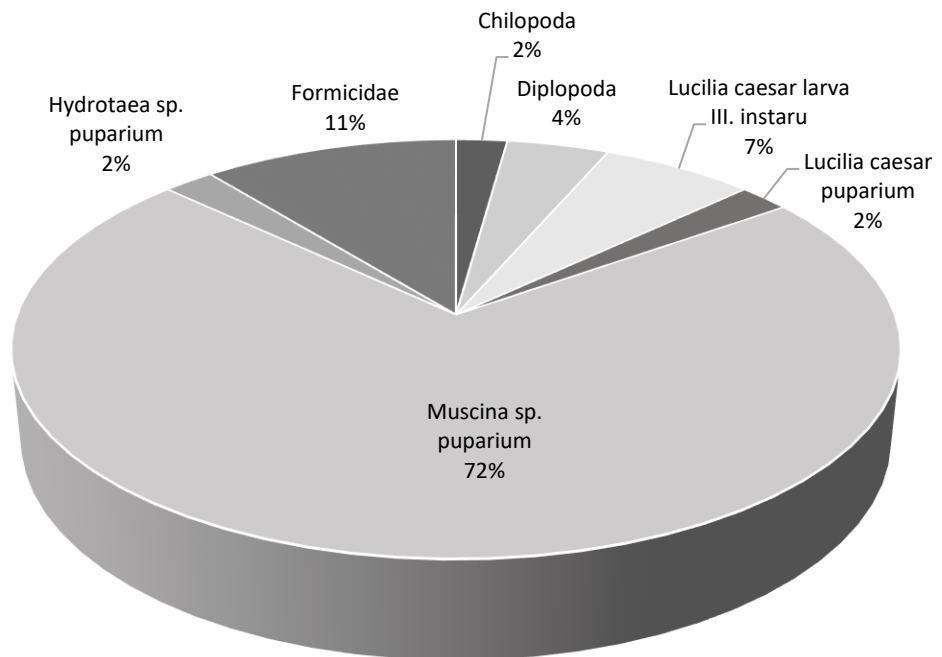
Příloha č. 27: Poměr čeledí dle varianty experimentu



Příloha č. 28: Poměr druhového rozložení - 1. varianta experimentu



Příloha č. 29: Poměr druhového rozložení - 2. varianta experimentu



Příloha č. 30: Tafonomické změny na kadáveru – varianta 1



Příloha č. 31: Detail tafonomických změn na kadáveru – varianta 1



Příloha č. 32: Tafonomické změny na kadáveru – varianta 2



Příloha č. 33: Detail tafonomických změn na kadáveru – varianta 2

