

Forensic essentials in aquatic insects ecology



Osnovi forenzike u ekologiji akvatičnih insekata

Vladimir Žikić

Niš, 2021

Sadržaj

1. Uvod u forenzičku biologiju	1
1.1 Znaci smrti	
1.1.1 Nesigurni znaci smrti	
1.1.2 Verovatni znaci smrti	
1.1.3 Sigurni znaci smrti	
1.2 Istorijat forenzičke entomologije	
2. Discipline forenzičke entomologije	
2.1 Osnovne forenzičke discipline	
2.2 Forenzička entomologija	
2.2.1 Urbana entomologija	
2.2.2 Entomologija uskladištenih proizvoda	
2.2.3 Medicinsko-pravna entomologija	
3. Dekompozicija u slatkovodnim ekosistemima	
3.1 Dekompozicija leševa insektima	
3.2 Faze raspadanja leševa usled aktivnosti insekata	
3.2.1 Faza svežeg tela	
3.2.2 Faza naduvenosti	
3.2.3 Faza raspada	
3.2.4 Faza post-raspada	
3.2.5 Faza skeletonizacije	
4. Morfologija insekata od značaja za forenziku	
4.1 Opšta morfologija Diptera	
4.1.1 Morfologija adulta Diptera	
4.1.2 Morfologija larvi Diptera	
4.2 Opšta morfologija Coleoptera	
4.2.1 Morfologija adulta Coleoptera	
4.2.2 Morfologija larvi Coleoptera	
5. Diptera značajni za forenziku vodenih ekosistema	
5.1 Razmnožavanje Diptera	
5.2 Podred Nematocera	
5.2.1 Familija Chironomidae	
5.2.2 Familija Culicidae	
5.2.3 Familija Simuliidae	
5.3 Podred (Brachycera) Orthorrhapha	
5.4 Podred (Brachycera) Cyclorrhapha	
5.4.1 Familija Muscidae	
5.4.2 Familija Sarcophagidae	
5.4.3 Familija Calliphoridae	
5.4.4 Familija Fannidae	
5.4.5 Familija Scatophagidae	

6. Coleoptera značajni za forenziku vodenih ekosistema	
6.1 Familija Staphylinidae	
6.2 Familija Silphidae	
6.3 Familija Dermestidae	
6.5 Familija Geotrupidae	
6.6 Familija Cleridae	
6.7 Familija Trogidae	
6.8 Familija Dytiscidae	
7. Biologija i ekologija vodenih insekata	
8. Akvatični insekti značajni za forenziku	
8.1 Red Ephemeroptera	
8.2 Red Plecoptera	
8.3 Red Trichoptera	
9. Drugi zglavkari važni za forenziku vodenih ekosistema	
9.1 Grinje	
9.2 Rakovi	
10. Sakupljanje insekata na lešu	
10.1 Metode sakupljanja insekata	
10.1.1 Direktno sakupljanje uzoraka	
10.2 Metode sakupljanja akvatičnih insekata	
10.2.1 Mreže za sakupljanje insekata sa dna reka i jezera	
10.2.2 Bageri za sakupljanje insekata sa dna reka i jezera	
10.3 Rastvori za čuvanje uzoraka	
10.3.1 Rastvori za čuvanje terestričnih uzoraka	
10.3.2 Rastvori za čuvanje akvatičnih uzoraka	
10.4 Prikupljanje meteoroloških podataka	
11. Entomotoksikologija	
12. Molekularne metode u forenzičkoj entomologiji	
12.1 Prikupljanje i konzerviranje materijala	
12.2 Ekstrahovanje DNK iz uzoraka	
12.3 PCR i DNK amplifikacija	
12.4 Identifikacija insekata bazirana na COI sekvenci	
12.4.1 Provera amplifikacije DNK	
12.4.2 Metabarkodiranje	
12.4.3 Sekvenciranje	
12.4.4 Pirosekvenciranje	
13. Slučajevi	
13.1 Slučaj „crvena čarapa“	
13.2 Mumija deteta i grinje	
13.3 Termiti na nefosilizovanim ljudskim kostima	
13.4 Triazolam i smrt 22-godišnje žene	
13.5 Samoubistvo vešanjem	

Literatura



1. Uvod u forenzičku biologiju

Forenzika je nauka koja se bavi prikupljanjem dokaza koji se mogu iskoristiti u rešavanju različitih problema, pre svega u kriminalistici. Ona se bavi utvrđivanjem identiteta osobe koja je pronađena mrtva, utvrđivanjem vremena smrti, mesta smrti, a u poslednje vreme, obuhvata i domen kompjuterskih prevara. Forenzika se primenjuje i u mnogim biološkim istraživanjima, kao što su: praćenje migracija određenih vrsta organizama ili populacija, otkriti poreklo jedinki u populaciji (filogeografija) i drugo.

Značaj vodenih insekata u smislu forenzičke istrage može biti od velike koristi u slučajevima utapanja ili ubistva. Vodeni insekti su veoma korisni u istrazi smrti. Istraživanje uzroka utapanja kroz analizu faune vodenih insekata obično zahteva koordinisane napore i stručnost više timova, posebno onih koji se bave prirodnim vodnim sistemima.

1.1 Definicija smrti

Smrt je, po opštoj definiciji, ireverzibilni gubitak svojstava žive materije, tj. prekid bioloških funkcija koje definišu živi organizam. Nauka koja se bavi istraživanjem smrti se naziva tanatologija. Međutim, pod ovim terminom podrazumevaju se i mnogi simbolički elementi i procesi doživljavanja umiranja, kao i brojni rituali i verovanja koji prate smrt i sahranu. U bliskom vazu sa smrću povezuju se i groblja.

Zavisno od nivoa na kojem posmatramo smrt ona može biti telesna (somatska) i ćelijska. Somatska smrt se definiše kao prestanak cirkulacije i respiracije usled čega dolazi do gubitka koordinirajuće funkcije organizma, nakon čega dolazi do pojave ranih, a potom i kasnih znakova smrti. Dakle, predstavlja ireverzibilni (nepovratni) prestanak rada i funkcionisanja vitalnih sistema i organa ljudskog organizma u koje spadaju: centralni nervni sistem, respiratorni sistem i kardiovaskularni sistem. Ćelijska smrt (molekularna, biološka smrt) je prestanak metabolizma u tkivima i ćelijama usled čega počinje autoliza, a zatim dolazi do razvoja promena posle smrti – postmortalne promene.

Treba napomenuti da postoji veliki nesklad između broja objavljenih forenzičkih studija koje se bave kopnenim insektima i onih koje se bave vodenim insektima. Do ove nejednakosti došlo je iz nekoliko razloga. Prvo, vodeni insekti, za razliku od svojih kopnenih srodnika, nisu razvili obavezne sarkofagne navike da bi se hranili strvinom u svom okruženju. Rakovi, koji se nalaze na istim staništima gde i vodeni insekti, verovatno su najbliži ovom funkcionalnom načinu hranjenja.

1.2 Znaci smrti

Stručni termin za znake smrti je *signa mortis*. To su telesne promene na osnovu kojih se utvrđuje stanje „umrlosti“. Obuhvata primarne radnje koje imaju za zadatak da procene da li je osoba zaista mrtva.

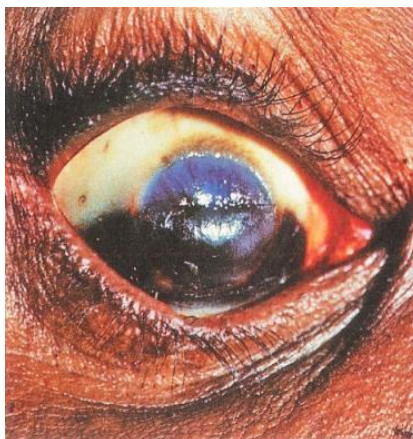
Znaci smrti mogu se podeliti u tri grupe:

- Nesigurni znaci smrti
- Verovatni znaci smrti
- Sigurni znaci smrti

1.2.1 Nesigurni znaci smrti

To su znaci somatske smrti tj. promene koje nastaju u trenutku umiranja ili u narednih nekoliko minuta.

- Besvesno stanje – usled kortikalne ishemije dolazi do prekida funkcija mozga nekoliko sekundi posle prestanka cirkulacije i respiracije.
- Prestanak disanja – za vreme agonije disanje je nepravilno, sa periodima apneje, koji u agoniji (skup svih pojava koje prethode smrti) retko traju duže od 30 sekundi.
- Prestanak srčanog rada i cirkulacije – otkucaji srca mogu trajati još nekoliko minuta nakon prestanka respiracije.
- Gubitak motiliteta (pokretljivost), senzibiliteta (osećajnost) i refleksne aktivnosti – nema reakcije na bolne nadražaje, gube se refleks zenice na svetlost i kornealni refleks (zatvaranje očnih kapaka pri dodiru rožnjače).
- Primarna mrtvačka mlitavost – dolazi do mlitavosti mišića zbog gubitka normalnog tonusa. Kako se primarna mrtvačka mlitavost manifestuje na svim mišićima dolazi i do relaksacije sfinktera.
- Promene na očima
 - 1) kao posledica neutralnog položaja relaksiranih mišića dužice, zenice zauzimaju središnju poziciju;
 - 2) dolazi do pada pritiska u očnoj jabučici (već posle nekoliko minuta može se uočiti početno razmekšanje očne jabučice);
 - 3) pri otvorenim očnim kopcima usled isparavanja tečnosti dolazi do замуćenja rožnjače, a ova promena se može javiti nakon samo 10 minuta od trenutka smrti;
 - 4) замуćenje rožnjače praćeno je daljim promenama, delovi beonjače brzo isparavaju i sasušuju se usled čega dolazi do stvaranje crnih mrlja (*tache noir*) kada se providi pigment mrežnjače (slika 1).



Slika 1. Crna mrlja na oku (*tache noir*).

1.2.2 Verovatni znaci smrti

Verovatni znaci smrti nastaju u prvih nekoliko časova nakon smrti. Nazivaju se verovatni jer se neki od njih mogu javiti još za života osobe ukoliko umire u agoniji koja dugo traje. Ovi znaci se s velikim pouzdanjem mogu koristiti za određivanje vremena smrti.

- a) Mrtvačko bledilo (*pallor mortis*) se javlja kod prirodno bleđih ljudi izuzetno brzo posle smrti. Pojavljuje se već posle 15-20 min od smrti (slika 2).



Slika 2. Mrtvačko bledilo (*pallor mortis*).

- b) Mrtvačke mrlje (*livores mortis*) nastaju usled prestanka cirkulacije krvi kroz telo, pri čemu pod dejstvom sile zemljine teže dolazi do sleganja krvi u krvne sudove najnižih delova tela (slika 3).
- Pojava sivoljubičastih ili ljubičastocrvenih koloracija kože
 - Mrlje se ne javljaju na delovima tela koji su u kontaktu sa podlogom
 - Jasno izražene nakon 60 minuta
 - Maksimalno su izražene 6-24 časa nakon smrti



Slika 3. Mrtvačka mrlja (*livor mortis*).

c) Mrtvačka ukočenost (*rigor mortis*) je u osnovi hemijska promena koja rezultuje ukočenošću telesnih mišića usled promena u miofibrilima mišićnog tkiva (slika 4). To je svakako, jedan od najprepoznatljivijih znakova smrti.

- Dolazi do defosforilacije ATP u ADP kao i do stvaranja mlečne kiseline koja snižava ćeliski pH. Usled manjka ATP-a u ćelijama i niskog pH dolazi do „zaključavanja“ mostova između aktina i miozina u miofibrilima i do grčenja mišića.
- Pojavljuje se 2 do 3 časa nakon smrti.
- Nakon 6 do 12 časova zahvata sve mišiće a iščezava posle 36-84 časa.



Slika 4. Mrtvačka ukočenost (*rigor mortis*).

d) Mrtvačka hladnoća (*algor mortis*) (slika 5) je direktna posledica drugog principa termodinamike.

Drugi princip termodinamike određuje smer toplotnih procesa: toplota nikada ne prelazi spontano sa tela koje ima nižu temperaturu na telo koje ima višu temperaturu. U suštini, to je proces pretvaranja toplote u rad, a to znači hlađenje tela koje odaje toplotu. Drugi princip termodinamike primenjen ovde znači da:

- se telo hladi do dostizanja spoljašnje temperature;

- sam proces hlađenja obično traje 18-20 časova, ali može bitno varirati u zavisnosti od spoljašnje temperature.



Slika 5. Mrtvačka hladnoća (*algor mortis*).

1.2.3 Sigurni znaci smrti

Sigurni znaci smrti obuhvataju sledeći niz promena:

- a) Truljenje (*putrefactio*) je postmortalna promena koja dovodi do autolize tkiva (slika 6).

Autoliza nastaje kao posledica promena u pH vrednosti tkiva pri čemu ona prelaze iz alkalne, preko neutralne u kiselu pH vrednost, rastvarajući tkivo. Prvi znak truljenja je pojava prljavo zelenkaste prebojenosti kože koja se naziva pseudomelanoza (javlja se prvo na truhu). Ovo je rezultat hemijske reakcije gvožđa iz hemoglobina i sumpora iz vodonik-sulfida pri čemu nastaje gvožđe(II) sulfid poznato i kao *fero sulfid* (FeS) koje je zelene boje. Prisustvo ovog jedinjenja u telu dovodi do otvaranja rana, kosa lako opada.



Slika 6. Truljenje (*putrefactio*).

- b) Raspadanje (*decomposio*) se nastavlja na proces truljenja i zapaža se 4-6 meseci nakon smrti.

U ovom procesu, dolazi do pucanja telesne šupljine i izlaska gasova i tečnosti iz nje. Moguće je uočiti kosti. Brzina raspadanja i truljenja zavisi od većeg broja faktora spoljašnje sredine (temperatura, vlažnost...), kao i od unutrašnjih faktora (uzrok smrti, životno doba, telesni sklop i drugo).

- c) Mumifikacija je kasna promena koja se javlja kod leševa koji su izloženi strujanju suvog vazduha koji dovodi do isušivanja tela (slika 7).



Slika 7. Mumificirano telo.

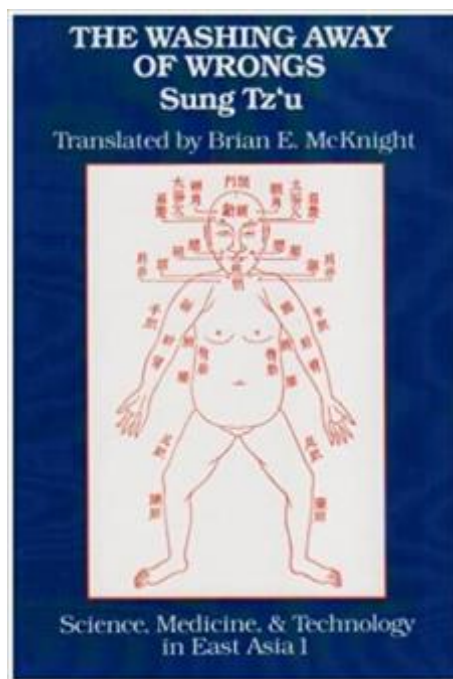
Ovom promenom može biti zahvaćeno celo telo ili neki delovi; u zavisnosti od uslova spoljašnje sredine razvija se za nekoliko nedelja ili nekoliko meseci. Tokom procesa mumifikacije, telo postaje progresivno dehidrirano tako da je proces truljenja zaustavljen. Uobičajeno se javlja pri strujanju toplog suvog vazduha. Proces mumifikacije se može desiti u prostoriji, npr. sobi ukoliko su u dužem vremenskom periodu otvoreni naspramni prozori.

- d) Saponifikacija je hidroliza masti na soli masnih kiselina (sapune) i glicerol u baznoj sredini. Kao postmortalna promena javlja se kod leševa koji se nalaze u vlažnoj sredini ili kod tela koja se nalaze u samoj vodi gde je nivo kiseonika nizak. Takođe, javlja se i tamo gde kiseonika uopšte nema.
- e) Maceracija (gnjiljenje) je kasna lešna promena na telima koja se nalaze potopljena u tečnosti (najčešće vodi) i odnosi se na izrazite promene u izgledu leša.

Nakon nekoliko sati koža postaje izbeljena i nabubrela, naborana na vrhovima prstiju šaka i stopala. Nakon dve nedelje počinje odvajanje epidermisa od dermisa; epidermis se svlači kao rukavica. Takva pojava se naziva „mrtvačka rukavica“.

1.3 Istorijat forenzičke entomologije

Prvi pisani trag o upotrebi insekata u rešavanju krivičnih dela potiče iz Kine iz 13. veka. Sung Tz'u (Sung Cu) – pravnik i kriminalistički istražitelj je napisao knjigu „Ispravljene nepravde“ ili „Prikupljeni slučajevi ispravljenih nepravdi“ na engleskom – *Washing Away of Wrongs* (slika 8).



Slika 8. Sung Tz'u; Nalovnica knjige „Washing Away of Wrongs“.

Ova knjiga je predstavljala priručnik za druge kriminalističke istražitelje tog vremena. Pored detaljnih opisa kako sistematski pregledati ljudsko telo u slučaju sumnjive smrti i kako razlikovati zadavljenja i utopljenja, pisac navodi i prvi slučaj ubistva koje je rasvetlio upotrebom entomologije. U ovoj knjizi Sung Cu opisuje nekoliko slučajeva u kojima je vodio beleške o tome kako je osoba umrla i razradio verovatne uzroke. Sung Cu detaljno objašnjava kako pregledati leš pre i posle sahrane. Takođe, objašnjava postupak kako da se utvrdi verovatni uzrok smrti. Glavna svrha ovog priručnika bila je da se koristi kao vodič forenzičkim istražiteljima kako bi mogli efikasno da procene mesto zločina. Njegov nivo zapažanja detalja u objašnjavanju onoga što je zapažao u svim njegovim slučajevima postavljala je osnove za savremene forenzičke entomologe. Ovo delo predstavlja prvi evidentirani izveštaj u istoriji da je neko koristio forenzičku entomologiju u svrhu suđenja i kasnijeg osuđivanja okrivljenog. U priručniku je opisan i ubrzan razvoj larvi muva na leševima tokom toplog dela sezone kao i mogućnost njihove upotrebe u prepoznavanju rana nastalih nakon smrti. Kako je Kina bila zatvorena država, ostatak sveta je ostao uskraćen za ovo saznanje (kao i za mnoga druga).

Opis istrage izgledao je ovako: u jednom kineskom selu pronađeno je mrtvo telo muškarca koji je ubijen srpom. Upotreba srpa, oruđa koje su seljaci koristili za sečenje pirinča u vreme berbe, nagoveštava da je ubistvo počinio radnik u selu. Lokalni sudija započeo je istragu; naredio da svi seljani donesu svoje srpove na seoski trg. Kada su se seljaci okupili, sudija je naredio da svi osumnjičeni stave svoje srpove na zemlju ispred sebe i da se zatim povuku nekoliko metara unazad. Nakon nekog vremena muve su počele da se sakupljaju samo na jednom sečivu srpa privučene ostacima krvi i tkiva. Naravno, ovi tragovi su za ljudsko oko bili nevidljivi, ali čulni

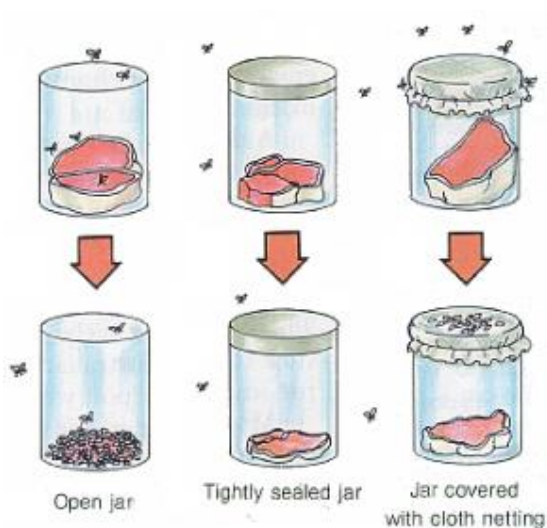
aparatus muva, koji je nekoliko hiljada puta osetljiviji od ljudskog, doveo ih je na pravo mesto. Suočen sa dokazima istrage ubica je priznao krivično delo nakon čega je osuđen.

Razvoj forenzičke entomologije kao nauke bio je moguć tek nakon što je Frančesko Redi (Francesco Redi) 1668. godine opovrgao teoriju spontanog stvaranja žive materije iz nežive, odnosno da se crvi pojavljuju spontano iz mesa (slika 9). Upravo je Redi dokazao vezu između muva i crva. Zapisao je: „Sva živa bića potiču od živih bića“ i „Spontana generacija ne postoji“.



Slika 9. Frančesko Redi (1626-1697).

On je uporedio dve tegle sa mesom. Prva je bila izložena insektima, a druga prekrivena gazom. U onu nepokrivenu, muve su položile jaja iz kojih su se brzo izlegli crvi. Na mesu prekrivenom gazom nisu se pojavili crvi, ali je Redi primetio da su jaja položena i to na spoljašnju površinu gaze (slika 10).



Slika 10. Redijev eksperiment sa muvama.

Upotreba forenzičke entomologije u Evropi i Americi je zabeležena tek sredinom 19. veka. Temelje forenzičke entomologije u Evropi postavio je Marcel Bergeret (1814–1893), poznat i

kao Bergeret d'Arbois (Beržere d'Arboa). Radio je kao patolog na slučaju smrti bebe pronađene prilikom renoviranja jedne kuće u okolini Pariza. Doktor Bergeret d'Arbois izvršio je obdukciju tela bebe skrivene unutar cigle pariskog kamina. Naime, jedan bračni par kupio je kuću u okolini Pariza i počeo sa njenim renoviranjem. U toku radova, oni su otkrili mumificirane ostatke deteta iza kamina (slika 11).



Slika 11. Ekshumirana beba iza kamina.

Sumnja je odmah pala na njih i vlasnici kuće su uhapšeni zbog ubistva. Međutim, doktor d'Arboa je primetio adulte i druge stadijume nekrofagnih insekata prisutnih na telu deteta i zabeležio vreme potrebno za njihovo kompletno razviće. Utvrđivanje PMI i vreme useljavanja novih vlasnika (koji su u kući živeli kraće od dve godine) se nije slagalo. Ispitivanjem insekatske faune pronađene na mumificiranom telu, dr d'Arboa je zaključio da je beba mrtva već oko dve godine. To je usmerilo policijsku istragu na prethodne stanare koji su kasnije uhapšeni i osuđeni za zločin.

Prvu sistematsku studiju iz forenzičke entomologije izveo je nemački lekar Hermann Reinhard (1816-1892). On je 1882. godine objavio je delo pod imenom „Prilozi fauni grobova“ (Beiträge zur Gräberfauna) u kojoj daje podatke o nekoliko vrsta insekata koje je povezao sa leševima. On je pravio kolekciju svih insekata koje je pronašao na i pored leševa. Njegova kolekcija insekata se još uvek čuva u Prirodnjačkom muzeju u Drezdenu. Dr Rajnhard je radeći kao lekar na masovnim ekshumacijama sakupio veliki broj muva iz familije Phoridae (slika 12), kao i veliki broj tvrdokrilaca i dokazao da se razvoj velikog broja insekata može dovesti u vezu sa mrtvim telima. Njegov rad je dugo godina korišćen kao osnova drugim entomološkim istraživanjima.



Slika 12. Muva iz familije Phoridae (levo); larve forida na lešu (desno).

Smatra se da je začetnik savremene forenzičke entomologije francuski vojni veterinar Jean Pierre Mégnin (1828-1905). Opisao je 8 faza raspadanja ljudskog tela sa sukcesijom insekata koji kolonizuju telo nakon smrti. Objavio je dve knjige, prekretnice za forenzičku entomologiju: „Fauna grobova“ iz 1887. godine (*La Faune des Tombeaux*) i „Fauna leševa“ iz 1894. godine (*La Faune des Cadavres*). Ove studije su poslužile kao podsticaj daljim istraživanjima u smeru forenzičke entomologije, pre svega u Kanadi i Americi.

Krajem XIX i početkom XX veka nemački lekari Klingelhöffer i Maschka kao i lekar sudske medicine Stefan von Horoszkiewicz iz Krakova pokazali su da mravi, bubašvabe i slatkovodni beskičmenjaci mogu naneti postmortem povrede koje liče na tragove zlostavljanja. Od 1990-tih, forenzička entomologija se uči i praktikuje u mnogim zemljama na svim kontinentima, a međunarodne prakse za studente se redovno održavaju od 2002. godine.

2. Discipline forenzičke entomologije

2.1 Osnovne forenzičke discipline

Forenzika se sve više razvija i postaje jedna multidisciplinarna nauka koja spaja mnoge klasične i moderne grane. Nemoguće je pobrojati sve čime se forenzika danas bavi ili gde se može primeniti, ali svakako su prepoznatljive:

- Forenzička antropologija – odnosi se pre svega na upotrebu kostiju
- Forenzička odontologija – upotreba morfologije zuba
- Forenzička botanika – analiza polena u svrhu određivanja vremena i mesta smrti; deo palinologije
- Forenzička entomologija – insekti, svi njihovi stadijumi
- Forenzička ornitologija – analiza pera, makroskopski i mikroskopski
- Forenzička patologija – autopsije
- Forenzička toksikologija – hemijski, farmakološki testovi
- Kompjuterska forenzika – otkrivanje IP adresa, prepravljane slike i fotomontaže u Photoshop-u

2.2 Forenzička entomologija

Forenzička entomologija je grana primenjene entomologije sa multidisciplinarnim pristupom upotrebe insekata i drugih terestričnih i akvatičnih zglavkara kao što su pauzi, stonoge, grinje, rakovi ali i ostalih grupa koje pripadaju makrozoobentosu u rešavanju raznovrsnih problema, pre svega u kriminalističkom istraživanju, odnosno utvrđivanju mesta i vremena smrti. Kao što je prethodno rečeno, forenzička entomologija se može koristiti i u nekriminalističkim istraživanjima, kao što su migracija, praćenje trofičkih lanaca obeležavanjem prvog člana trofičkog lana nekim radioaktivnim markerom, utvrđivanju štetočina, prisustva droge, otrova u telu i dr. Zbog toga je vrlo važno je poznavati biologiju, ekologiju i distribuciju svake vrste za uspešno davanje ekspertize.

Insekti se u forenzičkim istragama najčešće koriste za utvrđivanje minimalnog PMI i u tu svrhu se mogu koristiti dva tipa informacija:

- biologija razvića, odnosno, trajanje preadultnih stadijuma (larva, lutka) insekata pronađenih na lešu
- sastav faune insekata na lešu

Pošto insekti nastanjuju skoro sve oblasti gde ljudi žive, mnogi od njih su usko povezani sa ljudima i ljudskim delatnostima. Kao rezultat toga, insekti često postaju neprocenjivi dokaz počinjenog zločina, pružajući važne informacije za forenzičku istragu.

Forenzička entomologija je podeljena na specijalizovane discipline koje su opšteprihvataene:

- urbana entomologija
- entomologija uskladištenih proizvoda
- medicinsko-pravna entomologija

2.2.1 Urbana entomologija

Urbana entomologija se bavi insektima i drugim zglavkarima koji „štetno“ deluju na veštačke tvorevine u čovekovoju životnoj sredini. To su objekti kao što su zgrade, kuće i slični objekti u kojima ljudi borave i smatraju ih svojim domom. Najznačajnija grupa insekata za urbanu entomologiju su termiti (Isoptera) koji u nekim slučajevima mogu dovesti do potpunog uništenja objekata (slika 13). Problem sa termitima je naročito rasprostranjen u tropima, na Severnoameričkom kontinentu, delom Australiji. U Evropi, ozbiljnije probleme prave u Španiji i Francuskoju.



Slika 13. Masivno gnezdo termita u zidu montažne kuće.

U ovu granu forenzičke entomologije su svrstane i muve (koje potiču sa farmi) koje svakako nisu smeštene u urbanoj sredini, pa je ovaj termin (urbana) neadekvatan, ali je ušao u opštu upotrebu.

Ujedi zglavkara, poput krevetne stenice, *Cimex lectularius* (Hemiptera, Cimicidae) su takođe, predmet proučavanja urbane entomologije (slika 14). Krevetne stenice se nalaze u celom svetu u skoro svakom području koje su naselili ljudi. U prošlosti su posebno bile problem siromašnih i javljale su se u masovnim skloništim. Međutim, u modernom vremenu, turistička područja su posebno pogođena. Prisustvo stenica u velikim gradovima, Njujork, Pariz i drugi predstavlja veliki problem u hotelijerstvu u slučaju prenamnožavanja u krevetima i sobama, koji mogu dovesti do sudskih sporova. Pošto ne postoje obavezni zahtevi za izveštavanje, tačni podaci o pojavljivanju stenica nisu poznati, a zbog stigmatizacije osobe mnoge infekcije jednostavno nisu prijavljene.



Slika 14. Krevetne stenice u prenamnoženju.

Još jedna značajna grupa za urbanu entomologiju su sinantropne vrste bubašvaba (Blattodea). Najezde ovih insekata i štete koje prčinjavaju mogu biti uzrok sudskih sporova gde je onda neophodno veštačenje stručnjaka iz oblasti forenzičke entomologije. U Evropi su sinantropne vrste *Blatta orientalis*, *Blatella germanica* (slika 15) i *Periplaneta americana* (Mediteran). Kada su u pitanju bubašvabe, kao i vatreni mravi (Južna Amerika) ukoliko se hrane lešom, mogu na telu proizvesti artefakte po izgledu slične hemijskim ožiljcima, ogrebotinama, kontuzijama. Ovakvi tragovi nastaju specifičnim oštećenjima tkiva i mogu zavarati neistrenirano oko.



Slika 15. Bubarusa (*Blattella germanica*) na drvenim gredama.

2.2.2 Entomologija uskladištenih proizvoda

Entomologija uskladištenih proizvoda izučava insekte koji se hrane, nastanjuju i „zagađuju“ različite vrste prehrambenih proizvoda u skladištima i kao takvi mogu biti povod za inspeksijske posete ali i uzrok sudskih sporova. Najčešće se radi o različitim vrstama moljaca, larvi brašnjara i drugih tvrdokrilaca (slika 16), ali i mnogim grinjama (slika 17). Osnovni zadatak entomologija uskladištenih proizvoda je utvrđivanje mesta i vremena infestacije proizvoda od strane insekata.



Slika 16. *Sitophilus* sp. (levo); *Plodia interpunctella* (desno).

Skladišne grinje (slika xx) prodiru u ljudsko okruženje iz tla, preko gnezda ptica i glodara i tako postaju neželjeni stanovnici u kućama. Oni zaraze uskladištenu hranu za ljude ili životinje, uključujući biljni materijal kao što su žito, sušeno voće, sirevi, sušena riba, šećer itd.



Slika 17. Grinje u brašnu (levo); grinje u hrani za pse (desno).

2.2.3 Medicinsko-pravna entomologija

Medicinsko-pravna entomologija je zasnovana na procesu kruženja materije u prirodi, tj. na biogeohemijskim ciklusima, jer prirodni ekološki ciklusi razlaganja biljnog i životinjskog materijala veoma često uključuju i insekte. Ova grana forenzičke entomologije za predmet svojih istraživanja ima insekte koji se hrane mrtvim životinjama (među kojima su i ljudi) ili se razvijaju na njima. Na osnovu utvrđenih činjenica (mesto, vremenski uslovi, godišnje doba, razvojni stadijum i drugo) moguće je odrediti vreme, često i mesto smrti čoveka ili životinje. Validna analiza za presudu u sudskim procesima: ubistva, samoubistva, silovanja, fizičko zlostavljanje, krijumčarenje, trgovina ljudima i drugo. U istragama ubistava istražuju se jaja, larve i lutke insekata i na osnovu uzrasta insekta i fizičkih parametara sredine određuju vreme i mesto smrti. Redosled pojavljivanja insekatskih vrsta je takođe od velike koristi za istragu. Na sudu je medicinsko-kriminalna forenzička entomologija definisana kao primena proučavanja insekata i drugih zglavkara na nasilna krivična dela kao što su ubistvo, samoubistvo, silovanje, kao i fizičko zlostavljanje. Njena uloga je u rasvetljavanju krivičnih dela kao što su:

- Ubistva s predumišljajem upotrebom insekata ili drugih zglavkara (pauci, škorpije ali i insekata kao što su ose, pčele ili stršljenovi). U tom slučaju, osim identifikacije vrsta, dodatno se radi i toksikološki test.
- Slučajevi iznenadne smrti, npr. usled anafilaktičkog šoka nakon ujeda insekta (kod ljudi koji su alergični na otrove insekata).
- Slučajevi nekih saobraćajnih nezgoda koje su se desile bez očiglednog razloga. Na primer, udes usled izbezumljenih pokušaja da se izbegne osa unutar automobila.

U najvećem broju slučajeva u svrhu procene vremena proteklog od smrti do pronalaska tela izračunava se postmortem interval (PMI). Nešto ređe, koristi se za procenu mesta izvršenja krivičnog dela. Postmortem interval izveden je iz vremenskog rasporeda zajednice zglavkara opisanih u kontrolisanim studijama, eksperimentima. Schoenly et al. (1996) predstavljaju metod organizovanja podataka iz forenzičkih studija sukcesije koji omogućava da se PMI izvede iz poređenja grupe taksona prikupljenih na lešu u vreme njegovog pronalaska (fauna leša), sa skupom taksona koji se sistematski prikupljaju i uvode u kontrolisane studije tokom vremenskog sleda razgradnje (kontrolna fauna). Podaci se organizuju u matricu pojavljivanja (osnovni podaci), koja opisuje prisustvo ili odsustvo nekog taksona u određenoj tački unutar

vremenske linije. Kada se leš otkrije, uzimanje uzoraka u trenutku otkrića predstavlja skup beskičmenjaka koji bi odgovarao idealnom skupu poznatom iz osnovnih podataka iz kojih se može utvrditi PMI.

Glavne metode koje se koriste za analizu insekata na lešu:

- Sukcesijski talasi insekata
- Razvojni stadijum i starost insekatskog stadijuma

Metoda 1 se koristi u slučaju kada je osoba mrtva od nekoliko nedelja do godinu dana ili ponekad i više. Neke vrste insekata su privučene u najranijim fazama razlaganja (muve), dok drugi (tvrdokrilci) dolaze mnogo kasnije na scenu. Pošto insekti (različite vrste) uglavnom naseljavaju leš u predvidljivim "talasima", forenzički entomolozi mogu da koriste prisustvo tačno određene vrste insekata za preciznu procenu vremena smrti.

Metoda 2 može dati datum smrti tačan na dan ili manje, ili niz dana koristeći starost i razvojnu fazu insekata (larve, predlutke, lutke). Kako se tkiva leša raspadaju, ostaci prolaze kroz brze fizičke, biološke i hemijske promene, a različite faze razgradnje su atraktivne za različite vrste insekata. Određene vrste insekata, poput muva zunzara (Calliphoridae) često su prvi svedoci zločina.

3. Dekompozicija u slatkovodnim ekosistemima

3.1 Dekompozicija leševa insektima

Kao što je rečeno, među glavnim zadacima kojima se bavi forenzička entomologija je analiza insekata na ili unutar leša kako bi se utvrdilo koliko je vremena prošlo od smrti osobe do njenog pronalaska, odnosno postmortem intervala (PMI). Za razliku od primene forenzičkih istraga u terestričnim ekosistemima, vrlo je malo primera čak i testova dekompozicije leša u slatkovodnim ekosistemima. Vrlo često, kada telo ispliva na površinu vode, ili se nasuče na obalu, fauna insekata je slična kao i kod situacija kada se istražuje telo koje je pronađeno na kopnu. Zato će u narednom tekstu, paralelno biti praćena situacija dekompozicije leša na kopnu i opisane razlike, kada je telo pronađeno u vodi.

Kako bi se dobila tačna procena, pored pažljivo prikupljenih uzoraka insekata, entomolog koristi informacije kao što su:

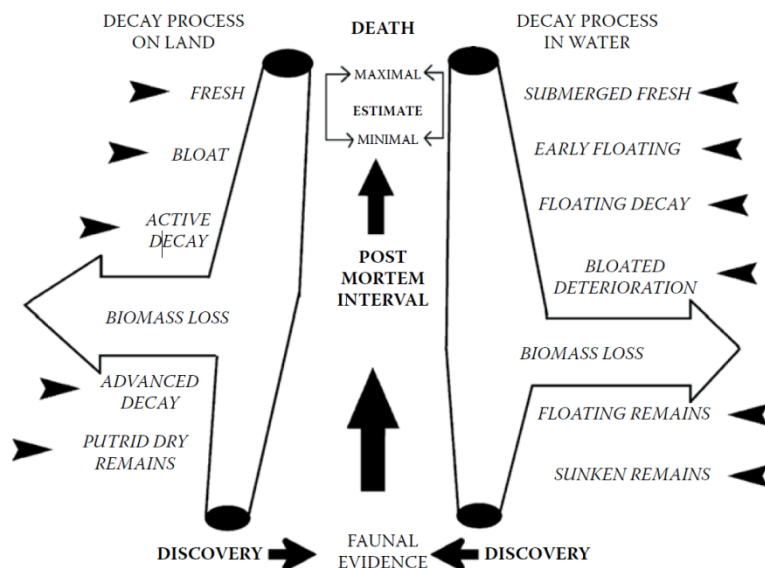
- životna sredina na mestu zločina
- uzrok smrti
- prosečna temperatura

Svako stanište se karakteriše faunom insekata (lokalna fauna insekata). Insekti u svom životnom ciklusu mogu na različite načine interagovati sa telom u raspadanju. Priroda ovih odnosa varira od taksona do taksona i značaj tih pojedinih odnosa može biti veoma različit za forenzičku istragu. Takođe, i značaj jednog tipa odnosa istih taksona može varirati zavisno od okolnosti.

3.2 Faze raspadanja leševa usled aktivnosti insekata

Proces raspadanja leševa je kontinuiran, pa su faze raspadanja prouzrokovane insektima slabo razgraničene. Opšteprihvaćena je podela na pet faza, mada ima primera gde se navodi šest faza i to u slučaju dekompozicije u vodi (slika 18). Neophodnost podele proces raspadanja leševa usled aktivnosti insekata u faze je pre svega, zbog olakšavanja komunikacije osoba koje se bave ovom problematikom. Tradicionalno prihvaćene i definisane faze raspada tela na kopnu su:

- Faza svežeg tela
- Faza naduvenosti
- Faza raspada
- Faza post raspada
- Faza skeletonizacije



Slika 18. Komparacija faza raspadanja tela na kopnu i u vodi.

Razgradnja tela potopljenog u vodenoj sredini događa se brzinom otprilike upola manjom od razgradnje na vazduhu, prvenstveno zbog nižih temperatura i inhibicije aktivnosti kopnenih insekata. Na osnovu studija na kojima su korišćene uronjene svinje (*Sus scrofa*) od juna do novembra, Payne & King (1972) su revidirali faze dekompozicije kako bi se prilagodili leševima pronađenim u vodenim staništima.

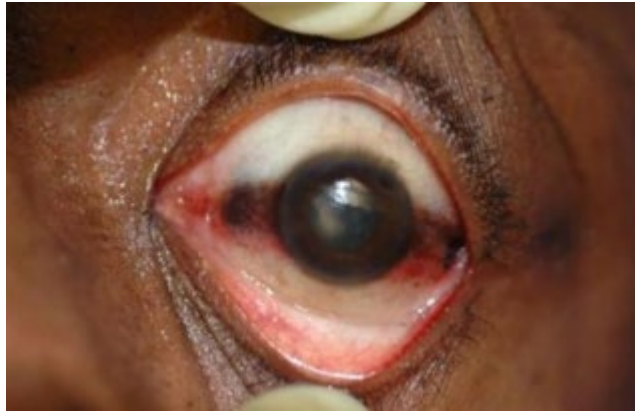
Faze raspada potopljenog tela:

- faza sveže potopljenog tela
- faza rano-plutajućeg tela
- faza raspada plutajućeg tela
- napredno raspadanje
- faza plutajućih ostataka
- faza potonuća tela

Kao i kod većine drugih studija o leševima u vodenim i poluvodenim sredinama, one se prvenstveno karakterišu ili definišu prisustvom ili odsustvom kopnenih insekata, često bez ikakvog pomena o kolonizaciji tela vodenim insekatima.

3.2.1 Faza svežeg tela

Na kopnu, faza svežeg tela započinje trenutkom smrti i traje do pojave prvih vidljivih znakova naduvenosti. Telo u ovoj fazi uglavnom može biti bez ikakvih fizičkih promena. Takođe, mogu se zapaziti i neke od ranih postmortalnih promena kao što su: crne mrlje (*tache noir*) na očima, mrtvačke mrlje (slika 19), pseudomelanoza i slično.



Slika 19. Crna mrlja (*tache noir*).

Prvi insekti koji kolonizuju leš su po pravilu muve iz familija Calliphoridae i Sarcophagidae (Diptera). One dolaze već u roku od 10 min nakon smrti privučene mirisima koji dolaze sa tela leša. Kolonizacija započinje preko prirodnih otvora tela kao što su nos, usta, uši, oči, anus i genitalni otvori ili eventualnih rana na telu, ukoliko se radi o ubistvu ili samoubistvu. Kao ulazno mesto u telo, muve ipak najčešće koriste prirodne otvore na glavi, jer su anus i genitalni otvori obično nedostupni zbog garderobe. Utvrđeno je da su rane nastale pre smrti privlačnije od rana nastalih nakon smrti.

Nezavisno od otvora, ženke muva ulaze veoma duboko unutar tela gde polažu jaja ili već oformljene larve (ovoviviparija) što zavisi i od vrste muve i od spoljašnjih faktora. Larve po izleganju iz jaja odmah počinju da se hrane tkivima u unutrašnjosti tela. Zbog toga, inicijalna aktivnost larvi često može proći potpuno nezapaženo, jer spolja gledano, često ne postoje nikakvi pokazatelji da su muve već kolonizovale telo. U Evropi najčešće muve koje su predmet forenzičkih istraživanja su vrste: *Calliphora vicina*, *C. vomitoria*, *Lucilia sericata* i *L. caesar* (slika 20).



Slika 20. *Calliphora vomitoria* (levo); *Lucilia sericata* (desno).

Kada govorimo o vodenoj sredini, ova, prva faza označavala bi fazu sveže potopljenog tela. U ovom priručniku, sve faze raspadanja u vodi biće prokomentarisane kroz eksperiment. Vreme u sezoni kada se započinje eksperiment igra važnu ulogu u određivanju trajanja svake faze razgradnje. Životinje se postavljaju u kaveze (slika 21). Jedna životinja nije vezana za dno, što joj omogućava da se u fazi naduvenosti podigne sa dna, dok je druga vezana za dno kaveza.



Slika 21. Postavljanje eksperimenta sa svinjama u specijalno konstruisanim kavezima.

Životinje se potapaju u do 2 metra duboku vodu (slika 22). Telo životinje izgleda sveže i posle nekoliko sati; nema spoljnih znakova raspadanja. Nakon više sati telo je još uvek potonulo. Ova faza raspada se završava onog trenutka kada telo ispliva na površinu.



Slika 22. Potopljeno telo svinje u kavezu.

U zavisnosti od geografskog položaja staništa tekuće ili stajaće vode, mikrostaništa unutar ovog vodnog tela i doba godine, trup svinje možda neće početi da se nadima i podiže na površinu vode tokom 2 do 13 dana u proleće, u zavisnosti od geografske širine.

Vodeni insekti koji se pojavljuju u prvoj fazi raspada tela su npr. Heptageniidae (Ephemeroptera), Hidropsichidae (Trichoptera) i Chironomidae (Diptera). One počinju da kolonizuju leš u svim slatkovodnim sistemima; tekućim i stajaćim vodama. Odrasli hidrofилni insekti strvinari kao na primer, vrste iz roda *Sphaeridium* (Coleoptera: Hydrophilidae) dolaze na

potopljena tela svinja u stajaćim vodama. Ovi insekt se obično zavlače ispod tela životinje (Chin et al, 2011).

3.2.2 Faza naduvenosti

Tokom ove faze započinje proces truljenja. Truljenje se javlja kao proizvod metaboličke aktivnosti truležnih bakterija. Dolazi do stvaranja gasova, što se prvenstveno manifestuje naduvenošću abdomena. Prvi znaci naduvenosti abdomena se uzimaju kao početak ove faze. Kako se truljenje nastavlja, tako celo telo postaje naduveno, poput balona (slika 23).



Slika 23. Faza naduvenosti – telo kita.

Udruženom aktivnošću truležnih mikroorganizama i larvi muva dolazi do značajnog podizanja temperature leša (i do 50° C), čime on postaje stanište koje je potpuno nezavisno od mesta na kome se nalazi. U ovoj fazi leš postaje veoma privlačan adultima muva iz familije Calliphoridae, kada dolazi do sekundarne kolonizacije leša. Mirisi postaju sve intenzivniji. Muve ubrzano polažu jaja. Sa sobom, na svojim telima, muve donose i čitav spektar drugih organizama, pre svega bakterija, ali i grinja. Grinje ustvari koriste muve kao svoje vektore, tako da one nisu paraziti. Spolja na lešu, u velikim populacijama uočavaju se larve muva, naročito oko mesta primarne kolonizacije (prirodni otvori tela ili rane). Međutim, njihov broj je znatno veći u unutrašnjosti leša. Jaja i larve muva u ovako velikom broju mogu privući neke vrste predatorskih kratkokrilaca (Coleoptera: Staphylinidae) (slika 24).



Slika 24. Staphylinidae na lešu.

Osim promena u fauni samog leša dolazi i do promene u fauni okoline leša. Usled velikog pritiska gasova dolazi do curenja telesnih tečnosti kroz prirodne otvore (slika 25). Kako su te tečnosti bazne reakcije dolazi i do alkalizacije zemljišta ispod leša i prirodna fauna napušta područje ispod i u neposrednoj okolini leša. Ovu faunu zamenjuju insekti koji su u bližoj vezi sa telom u raspadanju.



Slika 25. Izlazak telesnih tečnosti iz leša i alkalizacija tla.

Adekvatno promenama na lešu u kopnenoj sredini, ova faza bi odgovarala fazi rano-plutajućeg tela. Sa povećanjem gasova u abdomenu pod uticajem anaerobnog disanja bakterija, trup svinje koja je u eksperimentu isplivava na površinu, odnosno penje svinju u gornji deo kaveza. Trupovi mnogih udavljenjih životinja (svinja, pacov, ribe ili ljudi) isplivavaju iznad vodene površine privlačeći kopnene vrste nekrofagnih insekata, npr. zonzare (*Calliphoridae*), muve mesare (*Sarcophagidae*) ili kućne muve (*Muscidae*), na isti način, kao što se to događa na kopnu. Ove muve polažu jaja ili larve na izložene delove trupa. Bube strvinari (*Silphidae*) i kratkokrilci (*Staphylinidae*) dolaze da bi se hranili i larvama muva i/ili mesom životinje koja pluta.

Vodeni beskičmenjaci prisutni na telu mahom zbog algi: tulari iz familije *Hydropsihiidae*, hironomidne mušice, vodeni izopodni rakovi i majski cvetovi iz familije *Heptageniidae*. Oseća se miris raspadanja, tkiva su iz ružičastih nijansi prešla u nijanse plavo-zelene. Žućkasta tečnost i gasovi se pojavljuju iz telesnih otvora, nokti počinju da se uklanjaju sa svinjskih papaka. Strana tela okrenuta ka dnu je obrasla algama i perifitonom kojim se hrane larve nekih vodenih insekata.

3.2.3 Faza raspada

Započinje pucanjem kože što omogućava izlazak gasova što dalje dovodi do „ispumpavanja“ tela. Početni deo ove faze se karakteriše izuzetno jakim mirisima. Glavna odlika ove faze je izuzetno veliki broj larvi dvokrilaca. Osim truljenja, u ovoj fazi dolazi i do fermentacije čiji su produkti privlačni nekim drugim grupama kao što su tvrdokrilci familija *Histeridae* (*Saprinus*

Dekompozicija u slatkovodnim ekosistemima

semistriatus, *S. planiusculus*, *S. rotundatus*), Silphidae (*Nicrophorus humator*), adulti familije Dermestidae, kao i muve familije Muscidae (*Hydrotaea capensis*, *H. meteorica*) (slika 26).



Slika 26. *Saprinus semistriatus* (gore levo); *Nicrophorus humator* (gore desno); *Hydrotaea capensis* (dole levo); *H. meteorica* na lešu humator (dole desno).

U fazi raspada se povećava i broj vrsta iz familije Staphylinidae. Do kraja ove faze larve dvokrilaca pojedu skoro svo meso sa leša Calliphoridae i Sarcophagidae završavaju larveni stadijum i ulutkavaju se u okolnom zemljištu (slika 27).



Slika 27. Ulutkavanje muva.

Na trupovima koji plutaju na površini vode primećuju se tragovi hranjenja crva, pre svega, to su muve iz familije Calliphoridae. Vide se mnogobrojni otvori na koži. Adulti i larve silfida, stafilinida i histerida u eksperimentu sa prasetom, primećeni su u velikom broju. Dolazi do

kopulacije insekata na plutajućem telu. Na potopljenoj strani plutajućeg tela primećuju se larve kamenjarki (Plecoptera) iz familije Perlodidae (slika 28).



Slika 28. Perlodidae: *Isoperla similis*.

Larve Perlodidae su predatori i hrane se larvama Chironomidae i Simuliidae (Diptera) koje su prethodno kolonizovale leš da bi se hranile tkivom u raspadu. Simuliide se javljaju u velikom broju (slika 29).



Slika 29. Larve simulida na lešu.

Pored insekata, primećena je i pojačana aktivnost rakova koji se inače hrane lešinama ispadaju u takozvane „čistače“ (slika 30). Faza raspada plutajućeg tela može trajati od 25 do čak 330 dana u zavisnosti od geografske širine na kojoj se radi eksperiment ili je pronađeno telo. Kraj ove faze je pucanje tela usled nagomilavanja plinova unutar telesne duplje potopljenog tela. Trbuh je splasnut, međutim, telo još neko vreme pluta.



Slika 30. Dekapodni rakovi na lešu praseta.

3.2.4 Faza post-raspada

Odlike tela u fazi post raspada su: leš se sastoji se samo od kostiju, kože i hrskavice, druga tkiva su najčešće potpuno sasušena. Familije muva koje su bile dominantna karakteristika svih prethodnih faza (Calliphoridae i Sarcophagidae) se više ne mogu pronaći na lešu. Dolazi do smene različitih grupa insekata. Tako u suvim i srednje vlažnim staništima dominantna karakteristika ove faze postaju tvrdokrilci iz familije Dermestidae (slika 31).



Slika 31. Larva i adult dermestida.

Na lešu se sreću i adulti i larve raznih vrsta. Dermestidae se hrane hrskavicom i sasušanim tkivom na kostima. Posle njihove posete lešu, ostaju samo potpuno očišćene kosti. Zbog ove njihove osobine koriste se prilikom preparacije skeleta raznih životinja (slika 32).



Slika 32. Larve dermestida čiste lobanju srndaća.

Sa druge strane, vlažna staništa, kao što su močvare, tropske kišne šume i slična okruženja ne odgovaraju razvoju većine vrsta iz familije Dermestidae i njih zamenjuju različite familije muva zavisno od staništa. Vrlo često, pojavljuju se gljive. Od muva koje dolaze da kolonizuju ostatke leša, najčešće su to vrste iz familije Psychodidae, poznate kao papatasi (slika 33). Nezavisno od tipa staništa jedna od glavnih karakteristika ove faze raspadanja tela je povećanje diverziteta i brojnosti parazitoida i predatora kao i zemljišnih insekata.



Slika 33. Psychodidae; larva, lutka i imago.

Odgovarajuća faza raspadanja u vodi bila bi faza plutajućih ostataka. Tokom ove faze, istureni delovi već podmaklo raspadnutog tela koji plutaju na površini vode tonu usled kontinuirane aktivnosti larvi muva koje se hrane retkim ostacima tkiva. Prateći postavljeni eksperiment u kavezu sa svinjom, primećujemo da kako crvi sazrevaju i dolaze do trenutka ulutkavanja, oni migriraju dalje od trupa uzpuzavajući se uz delove kaveza koji su van vode ili, u prirodi kada je leš nasukan uz obalu, koriste grane ili samo kopno.

Dalji proces raspadanja dovodi do odvajanja kože i mesa od kostiju, kao i dezartikulacije falangijalnih kostiju i kostiju udova. U ovoj fazi, prisustvo dvokrilaca hironomida i simulida je dominantno, uz prisustvo nekih vrsta riba koje dolaze da se njima hrane. PMI potpaljenih leševa u forenzičkim istragama može se proceniti na osnovu pupa nekih vodenih insekata koji kolonizuju leš i tu se razvijaju, npr. larve Trichoptera koje se su se prilepile za telo koje truli ili

uplele u kosu i odeću leša. Prisustvo Tichoptera podrazumeva da je leš sve vreme bio u vodi i ovu činjenicu svakako treba imati na umu kada se procenjuje PMI. Takođe, zna se da se larve trihoptera ulutkavaju tek sredinom leta, te je vrlo bitno zabeležiti stadijum insekta na mestu nalaska tela.

3.2.5 Faza skeletonizacije

Faza skeletonizacije počinje kada ostanu samo kosti i kosa. Ne postoje specijalizovane grupe insekata koje su vezane za ovu fazu raspadanja tela. U nekim slučajevima je moguće prisustvo tvrdokrilaca iz familije Nitidulidae (slika 34). U ranijim fazama skeletonizacije prisutne su neke vrste zemljišne faune koje se mogu iskoristiti za procenu postmortem intervala. Takve su neke vrste grinja i Collembola. Ne postoji trenutak kada se može reći da je faza skeletonizacije završena, jer se neke promene u zemljišnoj fauni mogu detektovati i nekoliko meseci, pa i godina, nakon što je telo potpuno razloženo.

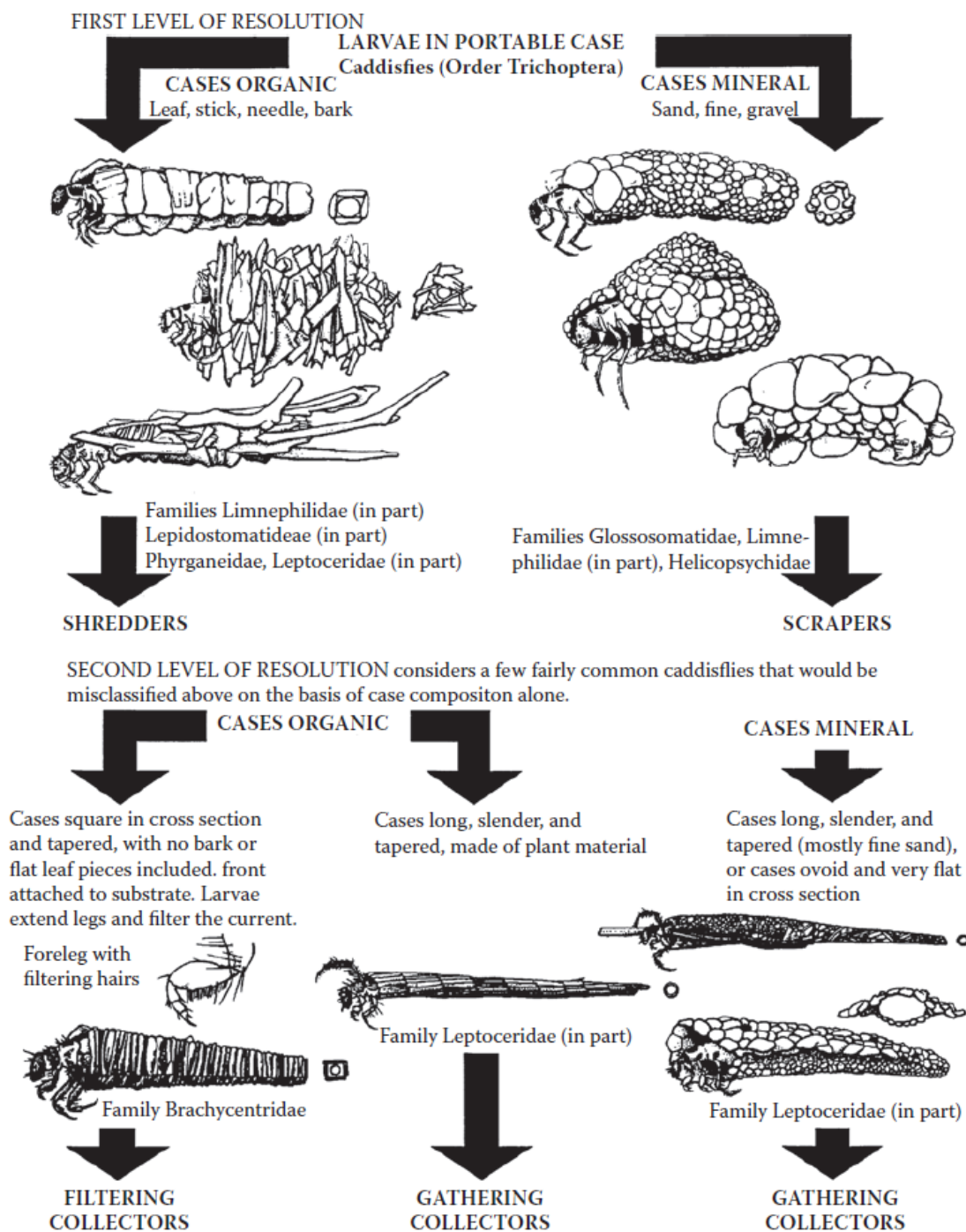


Slika 34. Nitidulidae (levo); Collembola (desno).

S obzirom na to da kosti zbog svoje specifične težine i građe ne mogu da plutaju, u vodenoj sredini, faza skeletonizacije povlači za sobom i potonuće tela. Bakterije i gljive su na kraju razložile i poslednje ostatke tkiva prethodno obrađenih od serije insekata i drugih zglavkara. U mnogim slučajevima kosti koje budu dezartikulisane. Telo može da potone i sa delom nepojedenih ostataka, tada se na eventualnim delovima mekih tkiva mogu se zateći dekapodni rakovi i larve efemera i hironomida. Usled taloženja čestica na dno slatkovodnog ekosistema, kosti bivaju prekrivene sedimentom i time postaju nedostupne za forenzička istraživanja.

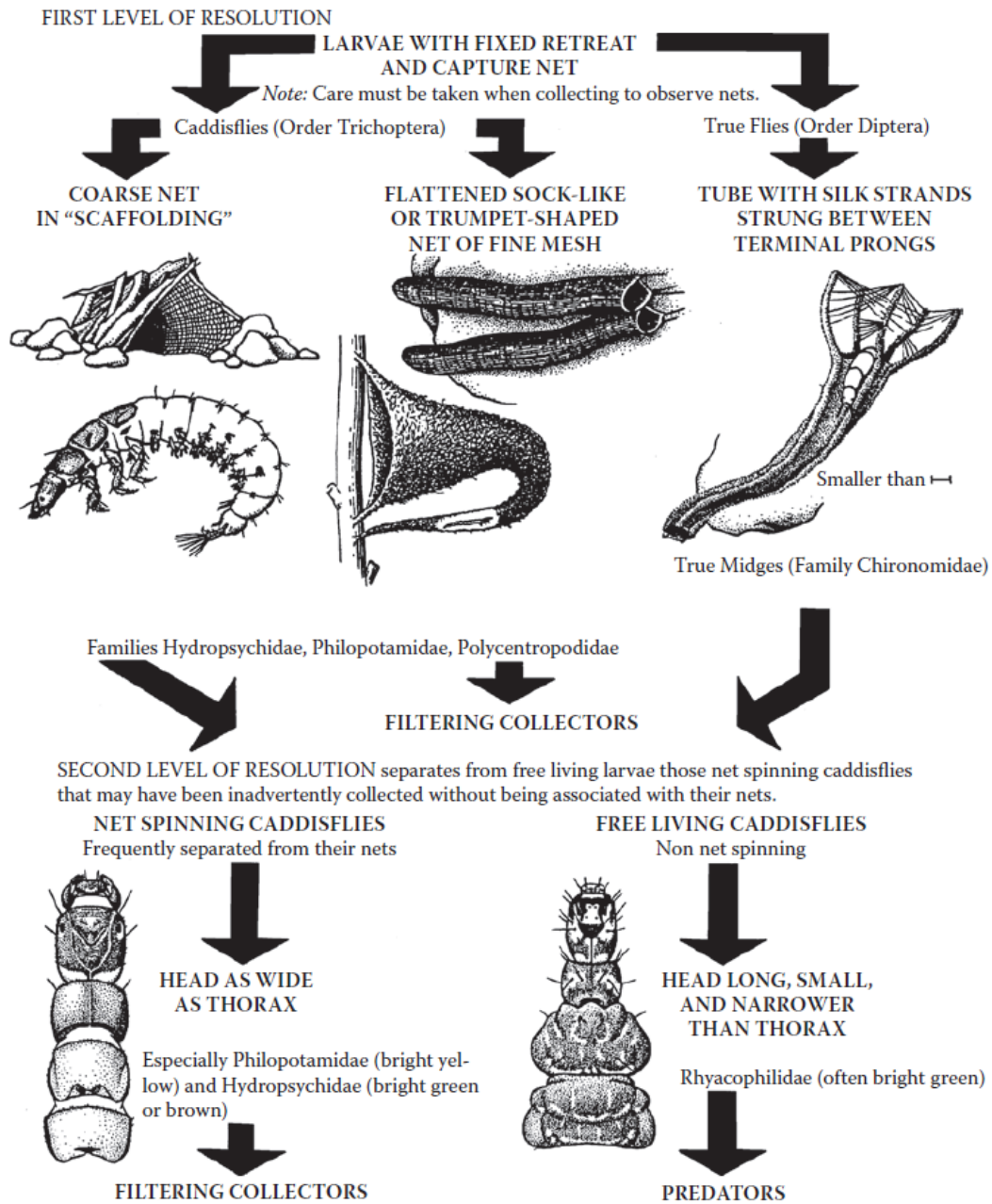
4. Morfologija insekata od značaja za forenziku

Za preciznu morfološku identifikaciju identifikaciju, neophodno je posedovati validne ključeve (obično dihotome) za svaku istraživanu grupu. Najbolje je angažovati specijalistu, po mogućstvu iz regiona u kojem se vodi istraga. Ovde će biti predstavljene najbitnije grupe, adulti i njihove larve. Za vodene larve i nimfe dati su osnovni ključevi za identifikaciju (slike 35-38).

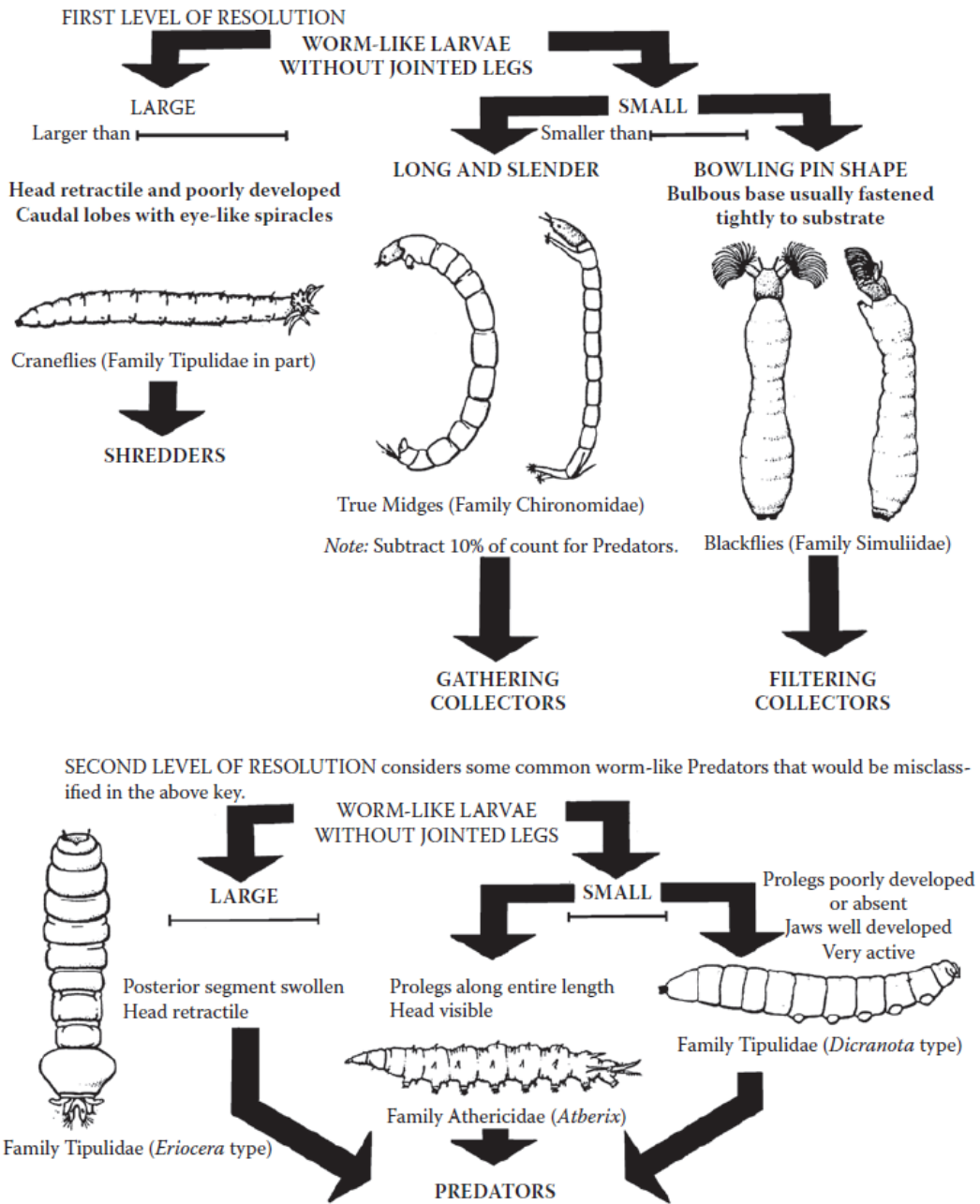


Slika 35. Larve sa prenosivim kućicama.

Morfologija insekata od značaja za forenziku

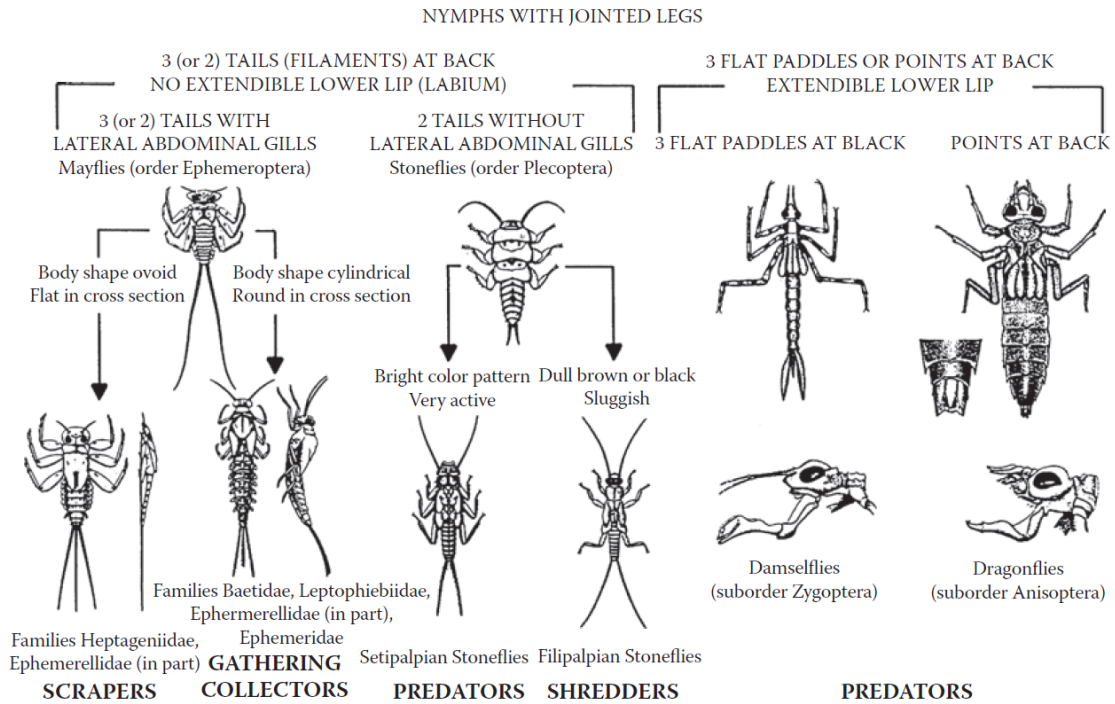


Slika 36. Larve sa fiksiranim mrežama za lov.



Slika 37. Crvolike larve bez člankovitih nogu.

FIRST LEVEL OF RESOLUTION

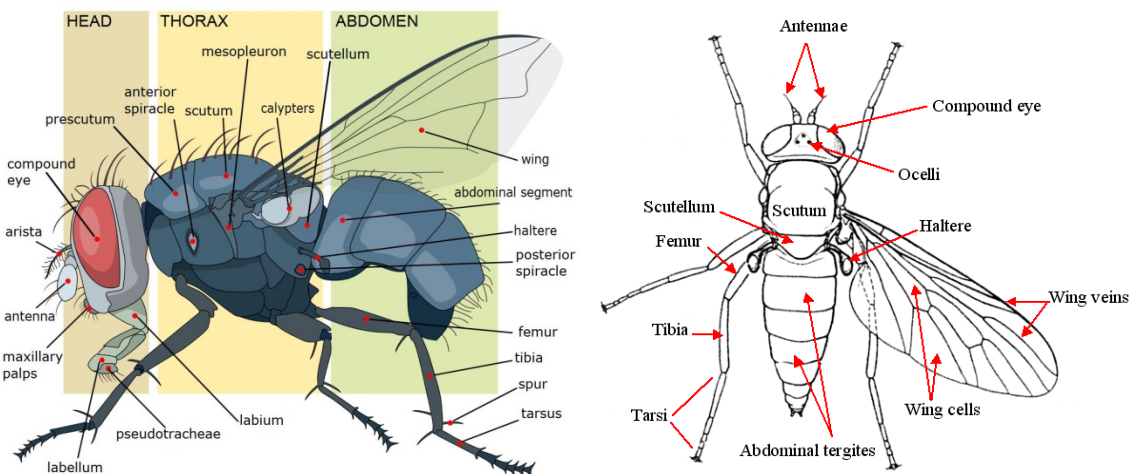


Slika 38. Nimfe sa člankovitim nogama.

4.1 Opšta morfologija Diptera

4.1.1 Morfologija adulta Diptera

Dvokrilci imaju razvijena samo prednja krila (ukoliko su krilate forme), dok su zadnja krila redukovana i transformisana u njihalice – haltere (slika 39).

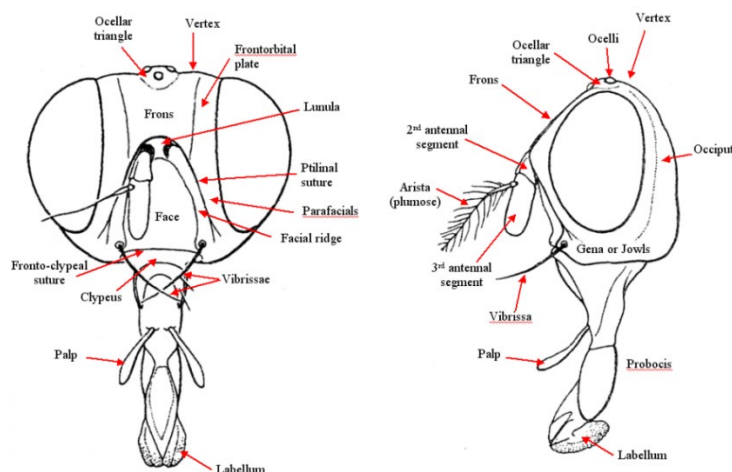


Slika 39. Opšti plan građe dvokrilca; laterlano (levo), dorzalno (desno).

U osnovi haltera se nalazi hordotonalni organi za percepciju zvučnih signala. Još jedna uloga haltera je u stabilizaciji leta. Ovo nekim muvama pomaže da lete neverovatnom brzinom od

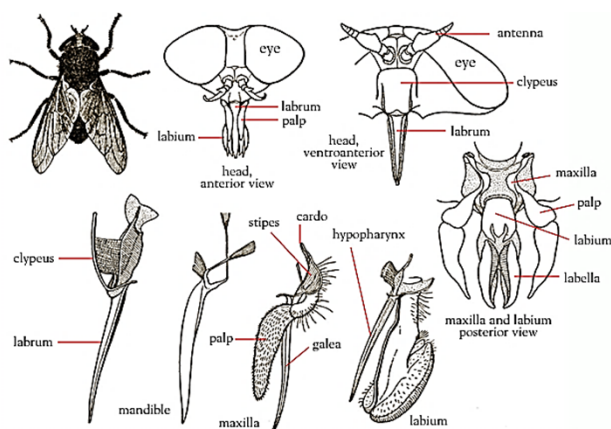
čak 60 km/h, a osolikim muvama (Syrphidae) lebdenje u mestu. Međutim, neke parazitske vrste uopšte nemaju razvijena krila, kao naprimer, rodovi *Melophagus* ili *Braula*. Dvokrilci imaju snažno razvijenu krilnu muskulaturu i jedni su od najbržih letača među insektima. Imaju i veliki broj vazdušnih kesica u grudima, što im i omogućava izuzetne letačke sposobnosti.

Glava dvokrilaca je vrlo pokretna sa krupnim očima i 2-3 ocele, posebno kod naprednijih grupa. Antene primitivnih grupa su višečlane i končaste, dok su kod progresivnijih (kod većine) tročlane sa čulnom čekinjom – aristom (slika 40).



Slika 40. Morfologija glave dvokrilca.

Usni aparat je kod većine grupa za lizanje, odnosno izbacivanje enzima na supstrat i usisavanje rastvorene hrane. Ovo je izraženo kod pravih muva, osolikh muva ili vinskih mušica (*Drosophilidae*). Neke imaju usni aparat specijalizovan za bodenje i sisanje, kao na primer, komarci ili slične modifikacije modifikacije. Tipovi usnih aparata kod dvokrilaca prikazani su na slici 41.



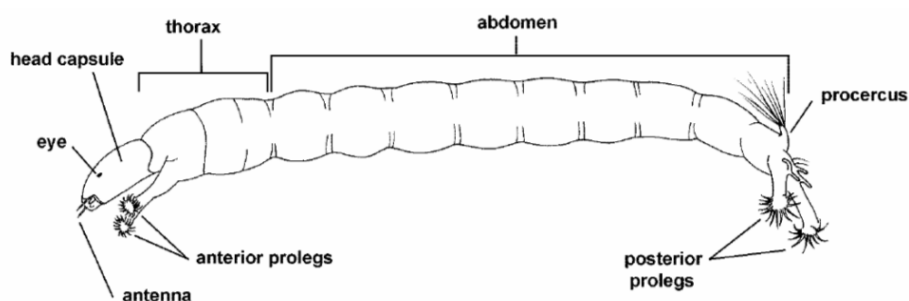
Slika 41. Modifikacije usnog aparata kod Diptera.

Kod roda *Stomoxys* (*Muscidae*), usni aparat je prilagođen za lizanje i usisavanje ali i za bodenje jer se hrane krvlju. Ima i onih čiji se adulti ne hrane, pa je usni aparat nerazvijen (*Chironomidae*). Toraks je kompaktan, mezotoraks je najjače razvijen deo grudi sa snažnom

muskulaturom. Noge su kod nekih duge, a kod ostalih kraće, sa kandžicama, pulvilima ili empodijumima. Abdomen je građen od 5-9 vidljivih segmenata.

4.1.2 Morfologija larvi Diptera

Veliki broj vrsta Diptera se razmnožava polno, samo neke vrste su partenogenetske. Neke su ovoviviparne. Većina larvi Diptera je crvolika (slika 42). Neke imaju razvijene glavene kapsule, kao što je to većina akvatičnih vrsta, dok mnoge imaju redukovanu glavu ili je uopšte nemaju (acefalne larve), npr. predstavnici podredova Orthorrhapha i Cyclorrhapha. Ono što je zajedničko za sve larve dvokrilaca je da na trbušnim segmentima noge nikada nisu razvijene (slika 37). Iako je identifikacija larvi veoma teška, najčešći karakteri od kojih se polazi, posebno za akvatične larve, je broj lažnih nogu, veličina procerkusa i razvijenost glave. Detaljni ključ za akvatične larve dali su Irwin et al. (2003).

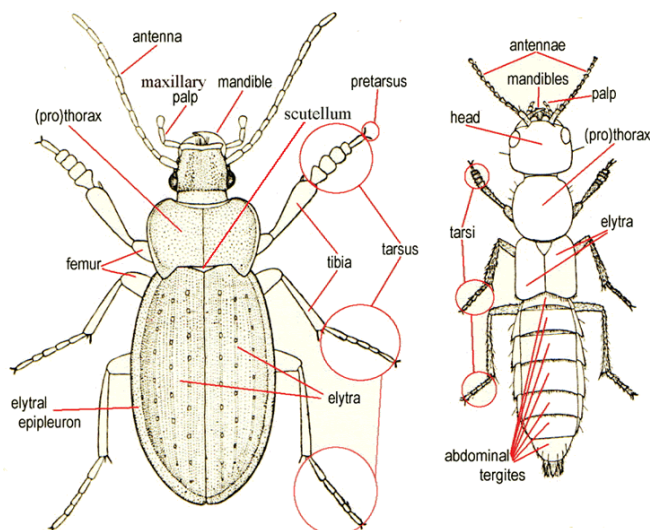


Slika 42. Lateralni prikaz larve Chironomidae.

4.2 Opšta morfologija Coleoptera

4.2.1 Morfologija adulta Coleoptera

Coleoptera se kolokvijalno nazivaju bube, su najveći red potklase Insecta. Zvanično je opisano 350.000 vrsta. Imaju veliki ekonomski značaj, pre svega, jer je ogroman broj vrsta štetočina; hrane se drvetom, lišćem, semenima, kožom i dr. Ima i predatora, kao i polinatora. Prednja krila su vrlo hitinizirana. To su elitre (lat. *elytra*) i prekrivaju membranozna zadnja krila koja najveći broj vrsta koristi za let, mada ima i neletača, Meloideae, neke Carabidae. Opšti plan građe tela tvrdokrilaca dat je na slici 43. Veličina tela je vrlo varijabilna unutar ovog reda; najkrupniji tvrdokrilci su veličine oko 15 cm, kao što je na primer, *Dynastes hercules* (Scarabaeidae), dok su najsitniji oko 0,14 mm, *Scydosella musawasensis* (Ptiliidae).



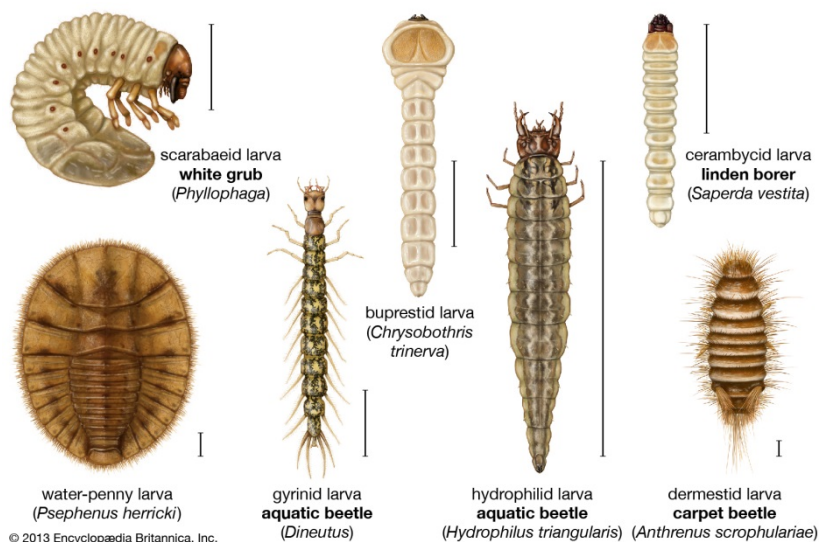
Slika 43. Opšti plan građe tela tvrdokrilaca.

Glava je prognatna, usni aparat je za grickanje, kod Curculionidae i za bušenje biljnog tkiva. Oči su dobro razvijene kod većine vrsta, redukovane kod mnogih pećinskih i vrsta koje žive u stelji. Antene su sa po 11 segmenata, može biti varijabilan. Krila mogu biti redukovana u potpunosti ili nerazvijeni samo drugi para krila. Noge su prilagođene za hodanje i trčanje. Prednje noge mnogih zemljišnih vrsta adaptirane su za kopanje; vodeni tvrdokrilci imaju najčešće zadnji par nogu proširen i prilagođen za plivanje; vrste iz podfamilije Halticinae (Chrysomelidae) imaju proširene zadnje femure koji su adaptirani za skakanje. Protoraks je po pravilu širok i veoma pokretan. Broj vidljivih trbušnih segmenata varira od 8-10.

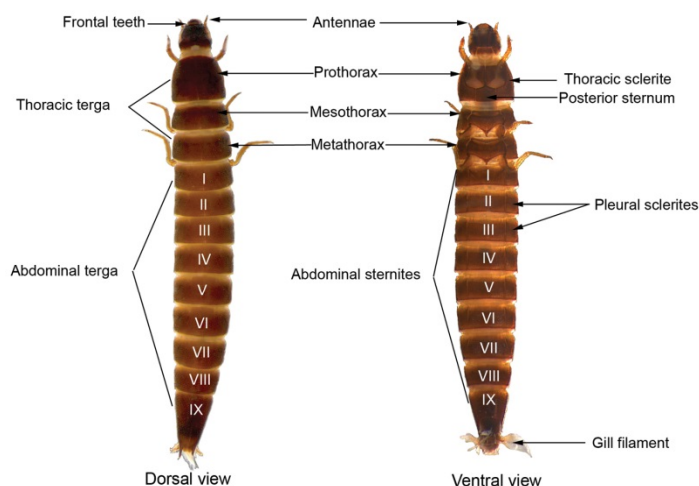
4.2.2 Morfologija larvi Coleoptera

Razviće Coleoptera je holometabolno. Larva tvrdokrilaca se može razvijati i nekoliko godina i presvući više desetina puta, kao što je to kod jelenaka (Lucanidae). Larve su morfološki veoma različite među grupama (slika 44). Međutim, zajedničko za sve je da su oligopodne. Kod mnogih surlaša (Curculionidae), strižibuba (Cerambycidae) ili krasaca (Buprestidae), larve su apodne, tzv. grčice su poznate kod raznih vrsta gundelja (Melolonthidae), balegara (Scarabaeidae) i jelenaka (Lucanidae), ali i drugih grupa. Kod vodenih tvrdokrilaca, na primjer kod gnjuraca (Dytiscidae), larve su izdužene i sa snažnim mandibulama jer su predatori. Opšti plan građe larvi tvrdokrilaca dat je na slici 45. Većina tvrdokrilaca ima slobodne lutke, a manji broj vrsta pokrivene (*pupa obtecta*).

Morfologija insekata od značaja za forenziku



Slika 44. Varijabilnost larvi tvrdokrilaca.



Slika 45. Opšti plan građe larve tvrdokrilaca.

5. Diptera značajni za forenziku vodenih ekosistema

Dvokrilci su zbog svoje brojnosti i širokog spektra načina ishrane predstavljaju vrlo važnu grupu insekata za čoveka, naročito štetočine biljaka i paraziti čoveka i životinja. Makroklasifikacija reda Diptera je neusklađena. U većini entomoloških knjiga se dele na dva podreda:

- Subordo Nematocera (dugoantenaši)
- Subordo Brachycera (kratkoantenaši), obuhvata Orthorrhapha i Cyclorrhapha

Međutim, uzimajući u obzir karakteristike građe larvi i lutaka, mnogi entomolozi klasifikuju dvokrilce na tri podreda:

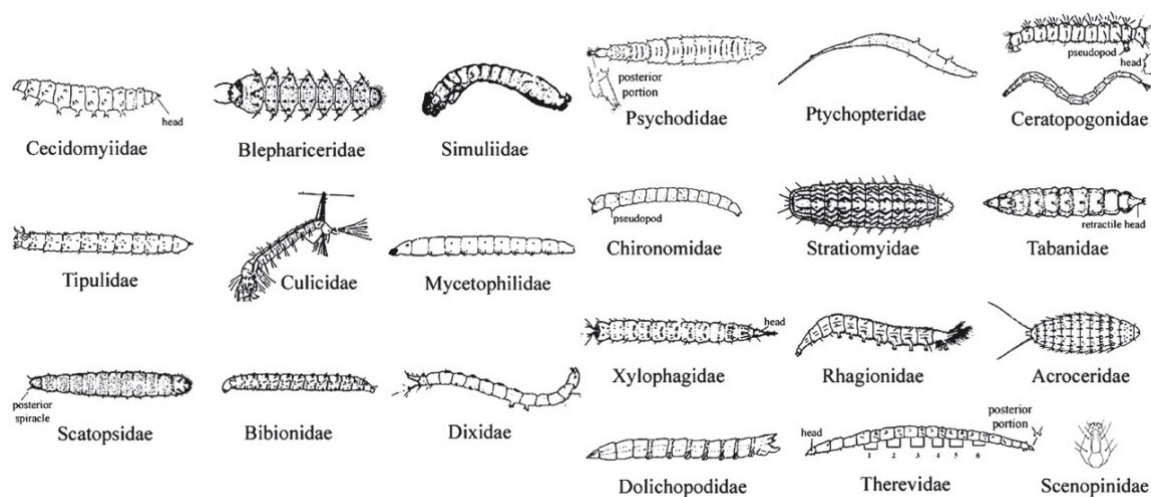
- Subordo Nematocera
- Subordo Brachycera
- Subordo Cyclorrhapha

5.1 Razmnožavanje Diptera

Velika većina Diptera se razmnožavaju polno, samo neke vrste su partenogenetske. Neke su ovoviviparne. Larve muva su uglavnom crvolike (slika 46). Kod primitivnih grupa larve imaju glavu sa kratkim antenama, prostim očima i snažnim mandibulama. Kod većine, larve su sa neizraženom glavom – acefalne (*acephala*) i sa jakim mandibulama. Ove larve se razvijaju na leševima, a mnoge su paraziti gljiva, biljaka i životinja. Larve komaraca, simulida ili hironomida se razvijaju u vodi, vlažnom zemljištu, organskom otpadu. Lutke su kod primitivnih su slobodne (*pupa libera*), a kod većine zatvorene (*pupa coarctata*), u strukturi poznatoj kao burence (*puparium*).

5.2 Podred Nematocera

Nematocera su primitivna grupa Diptera. Imaga imaju šestočlane končaste antene koje su duže od glave. Larve su sa dobro diferenciranom glavom i sa horizontalno pokretnim mandibulama. Lutke su slobodne, bez puparijuma. U okviru podreda se izdvaja mnogo familija od kojih su naznačajni predstavnici iz: baštenski komarci (Tipulidae), pravi komarci (Culicidae), krvavi crvi (Chironomidae), crne ili golubačke mušice (Simuliidae), papatači (Psychodidae), muve galice (Cecidomyiidae) i druge. Od posebnog značaja za forenziku su Chironomidae i Simuliidae, svakako i Culicidae.



Slika 46. Larve različitih familija iz reda Diptera.

5.2.1 Familija Chironomidae

Diptera značajni za forenziku vodenih ekosistema

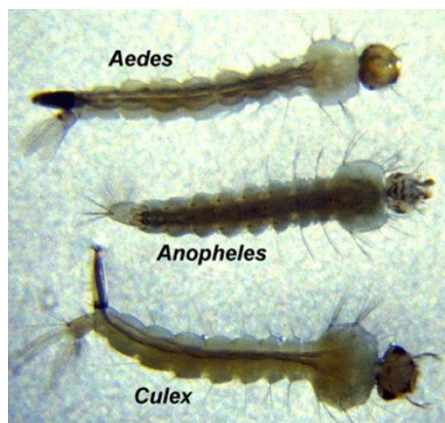
Poznato je oko 3000 vrsta hironomida. Žive pored vode u kojoj se razvijaju njihove larve koje su često crvene boje zbog pigmenta hemoglobina i nazivaju se krvavi crvi. Imaga su slična komarcima, ali su bez ljuspica na telu i krilima. Često se masovno javljaju uveče kada lete u rojevima. Mužjaci imaju izuzetno peraste antene. Larve se hrane organskim otpadom, a i same služe kao bitan izvor hrane ribama. Larve su važne u forenzičkim istraživanjima jer kolonizuju potopljeno telo. Najpoznatiji rodovi su *Chironomus*, *Larsia*, *Cricotopus*, *Diamesa* i drugi. Prikaz adulta i larve dat je na slici 47.



Slika 47. Chironomidae; adult (levo), larve (desno).

5.2.2 Familija Culicidae

Do danas je poznato je preko 3200 vrsta komaraca. Rasprostranjeni su u celom svetu. Imaju izduženo telo sa dugim nogama. Krila su pokrivena ljuspicama. Mužjaci imaju peraste antene i hrane se nektarom. Ženke imaju dobro razvijen aparat za bodenje i sisanje kojim sišu krv kičmenjaka. Kod nekih vrsta se i ženke hrane nektarom. Razviće larvi se odvija u vodi.



Slika 48. Larve Culicidae.

Larve imaju veoma krupnu glavu sa dobro razvijenim antenama, očima i usnim aparatom za grickanje. Hrane se mahom biljnim ali i životinjskim materijalom koji je dostupan u vodi. Najpoznatije vrste komaraca pripadaju rodovima *Anopheles*, *Culex* i *Aedes* (slika 48). Komarci su prenosioci mnogobrojnih bolesti koje izazivaju virusi, bakterije, praživotinje i nematode.

5.2.3 Familija Simuliidae

Poznato je više od 2200 vrsta crnih mušica. Imaga imaju zdepasto telo i široka krila. Žive pored čistih i brzih voda u koje polažu jaja. Ženke simulida sišu krv sisara, pa i čoveka. Tipične regije kože koje favorizuju crne mušice uključuju mesta bez dlaka, posebno na trbuhu, nogama i glavi. Na glavi biraju površinu ušne školjke, ali i ušni kanal. Najpoznatija vrsta kod nas je *Simulium columbaczense* – crna (golubačka) mušica (slika 49). Ubod crne mušice izaziva bolnu kožnu traumu, koja može krvariti čak i nakon obroka insekta. Budući da crne muve lete u rojevima, čovek ili životinja može biti žestoko napadnut. One mogu biti vektori mnogih zaraznih bolesti. Najpoznatije je rečno slepilo kod ljudi uzrokovano nematodom iz roda *Onchocerca*, na primer, *O. volvulis*. Kolonizuju potopljeno telo; na osnovu prisustva na lešu može se odrediti PMI.



Slika 49. Simuliidae; adult (levo), larva (u sredini), larve na lešu (desno).

5.3 Podred (Brachycera) Orthorrhapha

Ovaj podred obuhvata predstavnike familija čije vrste imaju kratke tročlane, nepravilne antene. Lutke su u puparijumima koji pri ekloziji imaga pucaju po pravoj liniji (otuda i naziv ovog podreda). Najpoznatije familije su Tabanidae – obadi, Asilidae – grabljive muve, Bombyliidae – muve bumbari, Phoridae – muve giljotine i druge. Za forenzičku entomologiju nije bilo kandidata za analizu iz ovog podreda.

5.4 Podred (Brachycera) Cyclorrhapha

Ovo je najobimnija grupa Diptera, koja broji čak preko 72.000 vrsta. Na osnovu svoje biologije, mnogi entomolozi ih smatraju najprogresivnijim. Kao i predstavnici Orthorrhapha, imaju tročlane antene sa čekinjom (*arista*) koja je na *scapus* postavljena dorzalno. Larve su acefalne. Lutke su u puparijumima (*pupa coarctata*), koji pri izletanju imaga pucaju kružno, po čemu je i ova grupa dobila ime. U ovaj podred su klasifikovane neke od familija od izuzetnog značaja u forenzici: muve zunsare (Calliphoridae), kućne muve (Muscidae), muve mesare (Sarcophagidae) ili Fannidae, ali i osolike muve (Syrphidae), žitne muve (Chloropidae), muve mineri (Agromyzidae), voćne muve (Tephritidae) ili vinske mušice (Drosophilidae).

5.4.1 Familija Muscidae

Muscidae su svakako napoznatija grupa muva, pre svega po vrstama koje prate čoveka. Vrste potfamilije Stomoxyinae imaju razvijen usni aparat za bodenje i sisanje, dok vrste potfamilije

Diptera značajni za forenziku vodenih ekosistema

Muscinae imaju usni aparat samo za lizanje sa krupnom labelom. Najpoznatije vrste potfamilije Stomoxyinae su *Stomoxys calcitrans* koja živi kod nas i siše krv životinja i čoveka, ujed ove muve je prilično bolan (slika 50). Široko su poznate muve ce-ce, *Glossina palpalis* i *G. morsitans* koje prenose tripanozome (slika 50).



Slika 50. *Stomoxys calcitrans* (levo), *Glossina palpalis* (desno).

Iz potfamilije Muscinae, najpoznatija vrsta je *Musca domestica*, sinantropna vrsta sa širokim rasprostranjenjem (slika 51). Larve se razvijaju u organskim materijama (đubrište, leševi), imaga prenose uzročnike mnogih bolesti. Poznata je i vrsta *Muscina stabulans* koja je takođe sinantropna (slika 51).



Slika 51. *Musca domestica* (levo), *M. stabulans* (desno).

5.4.2 Familija Sarcophagidae

Poznato je preko 2000 vrsta. Larve se razvijaju u raznim organskim materijama. Larve nekih vrsta su paraziti sisara i čoveka. Razvijaju se na raznim delovima tela, ispod kože, gde izazivaju mijaze. Najpoznatija vrsta koja izaziva mijaze je *Wohlfahrtia magnifica*, njene larve se razvijaju u očima, ušima, nosnim šupljinama i u koži životinja pa i čoveka (slika 52). Za forenzičku entomologiju značajne su vrste iz roda *Sarcophaga* (slika 53).



Slika 52. *Wohlfahrtia magnifica*; adult (levo), infekcija ušne školjke psa (desno).



Slika 53. *Sarcophaga nodosa*.

5.4.3 Familija Calliphoridae

Poznato je oko 1200 vrsta. Imaga su metalno zelene ili plave boje. Važna karakteristika ove grupe je raspored čekinja koje se koriste za razlikovanje vrsta ove porodice. Larve se razvijaju na organskim materijama (na mesu, leševima, ranama životinja i sl. Larve nekih vrsta iz roda *Lucilia*, *L. sericata*, *L. caesar* i *Calliphora*, *C. vomitoria*, *C. vicina* (slika 54) se razvijaju u ranama životinja, gde se hrane nekroznim tkivom i tako pospešuju zarastanje rana. Ovo je ujedno i najinteresantnija grupa za forenzičku entomologiju, jer ove muve prve stižu na leš i na osnovu njihovog prisustva se vrlo precizno izračunava PMI (slika 55).



Slika 54. *Lucilia caesar* (gore levo), *L. sericata* (gore desno), *Calliphora vomitoria* (dole levo), *C. vicina* (dole desno).

	15.8 °C		20.7 °C		23.3 °C	
	Time to reach stage (hours)		Time to reach stage (hours)		Time to reach stage (hours)	
Stage	Min	Max	Min	Max	Min	Max
1 st instar	40.6	44.4	20.9	23.6	21	22
2 nd instar	94.3	103.3	52.3	52.3	45	45
3 rd instar	135.7	158.7	78.3	95.3	77	77
Prepupal	233.7	246.7	127.9	145.3	145	159.5
Pupal	382.3	392.3	245.7	356.9	264	270
Adult	775	917	486.2	647.8	468.5	624.5

Slika 55. Razviće *Calliphora vicina* u laboratorijskim uslovima.

5.4.4 Familija Fanniidae

Familija Fanniidae je mala grupa muva koja je uglavnom ograničena na holarktiku. Identifikovano je 285 vrsta klasifikovanih u pet rodova. Odrasle jedinke su srednje do male veličine (nekoliko milimetara). Obično su tamno obojene. Mužjaci se okupljaju u karakterističnim rojevima ispod drveća ili ispod lusteru u sobama gde izvode ples udvaranja, dok su ženke slabije aktivne u tom smislu. Larve se odlikuju spljoštenim telima sa upadljivim bočnim ispupčenjima. One su čistači organske materije u raspadu, te se zbog takve biologije koriste u forenzičkim istraživanjima.

Mala kućna muva *Fannia canicularis* (slika 56), je sinantropna vrsta rasprostranjena u celom svetu. Dostiže dužinu od 4 do 6 mm. Oči su sa belim obrubom. Kod mužjaka se oči spajaju na vrhu glave, dok su kod ženki oči razmaknute. Grudi su smeđe-sive, imaju tri crne, uzdužne pruge, izraženije kod mužjaka. Prva dva trbušna segmenta su bledožuta sa tamnosmeđom obojenosti u bazi svakog segmenta. Tamne trapezoidne markacije na ostalim segmentima kod mužjaka teško se razaznaju kod ženki. Haltere su žućkaste.



Slika 56. *Fannia canicularis*.

5.4.5 Familija Scatophagidae

Scatophagidae je familija sa skoro isključivo holarktičkim rasprostranjenjem. Samo 5 od ukupno 500 vrsta je zabeleženo na južnoj Zemljinoj hemisferi. Najčešće vrste ove familije su žuto do crvenkasto obojene, a telo im je gusto prekriveno dlakama. Njihove larve se hrane organskom materijom u raspadanju. Druge vrste su uglavnom tamne kao adulti a njihove larve se hrane kao mineri lišća, mineri stabljika ili semenjem biljaka. Mogu se pronaći na leševima, kada ima ekskremenata (pražnjenje creva nakon relaksacije sfinktera) ili kada sadržaj creva postane lako dostupan. Najznačajnija vrsta je *Scatophaga stercoraria* – žuta muva balegarka (slika 57).



Slika 57. *Scatophaga stercoraria*; adult (levo), larve (desno).

Rasprostranjena širom severne hemisfere. Odrasla jedinka dostiže dužinu od 7 do 10 mm. Samo telo je crno, ali prekriveno gustim slojem žute ili žuto-smeđe dlake, čineći tako čitavog

insekta svetložutim. Iz toraksa viri nekoliko dugih, crnih dlaka, a krila obično drže preko leđa kada miruju. Odrasle jedinke su aktivne od proleća do kasne jeseni. Larve se javljaju u raznim staništima, ali i na leševima i to kada su prisutni izmet ili sadržaj creva koji je izložen.

6. Coleoptera značajni za forenziku vodenih ekosistema

Red Coleoptera su kod nas poznati kao tvrdokrilci i druga su grupa po značaju za forenzičku entomologiju. Neki entomolozi smatraju da su zapostavljena grupa u odnosu na muve, a osnovni razlog je taj što muve brže pronalaze i kolonizuju leš pa omogućavaju i preciznije izračunavanje postmortem intervala (PMI). Međutim, novije studije su pokazale da i neke vrste tvrdokrilaca mogu kolonizovati leš u prva 24 časa, npr. *Thanatophilus micans* (Silphidae) što omogućava veoma precizno utvrđivanje PMI.

Tvrdokrilci su biološki i ekološki najraznovrsnija grupa insekata koji se hrane leševima pa može pružiti najrazličitije dokaze u forenzičkim istragama, što još uvek nije ni približno dovoljno iskorišćeno.

6.1 Familija Staphylinidae

Opisano je oko 63.000 vrsta stafilinida, poznatih kao kratkokrilci. Žive uglavnom ispod kamenja, kore trulog drveća, u stelji i drugim skrovitim mestima. Neke vrste žive u mravinjacima koji im služe kao skrovište ili se hrane njihovim larvama. Vrste rodova *Lomechusa* i *Oxypoda* žive u simbiozi sa mravima i luče sekrete kojima se mravi hrane. Telo im je izduženo i spljošteno sa vrlo kratkim elitrama po kojima su prepoznatljivi (slika 58). Na kraju abdomena imaju dva nastavka. Iako vrlo brojna, generalno su slabo proučena grupa.



Slika 58. Opšti izgled kratkokrilaca.

Istraživanja koja su sprovedena u poslednjih par godina izdvojila su neke vrste kao veoma korisne za utvrđivanje PMI-a na osnovu sastava faune insekata (*Omalium* spp., *Philonthus* sp., i *Creophilus maxillosus*). Na leševima u Evropi sreću se vrste rodova: *Aleochara*, *Atheta*, *Creophilus*, *Gyrophypnus*, *Omalium*, *Tachinus* i dr. (slika 59).



Slika 59. Staphylinidae: *Atheta hygrotopora* (levo), *Omalius rivulare* (u sredini), *Tachinus* sp. (desno)

Larve su kampodeiformne (nazivaju se još i stafiliniformne), što znači da su izdužene i spljoštene (slika 60). U nekim potporodicama (Paederinae, Staphylininae, a u manjoj meri i kod njihovih neposrednih rođaka) glava je relativno jače sklerotizovana i postoji izrazit „vrat“. predlutke potporodice Steninae, ispredaju svilenu čahuru u kojoj se ulutkavaju. Lutke su egzaratne (otkrivene), bele i nesklerotizovane u svim potporodicama, osim kod kratkokrilaca, gde su sakrivene, pigmentisane i sklerotizovane, Generalno, nezreli stadijumi se brzo razvijaju, za nekoliko dana do nekoliko nedelja, a kao odrasli, mogu da žive dugo.



Slika 56. Larve kratkokrilaca.

Neki istraživači doveli su u pitanje tačnost procene PMI na osnovu prisustva stafilinida, jer sukcesija na lešu može biti veoma promenljiva u zavisnosti od geoprostorne lokacije, uslova okoline (tj. temperature i vlažnosti) i vrste dotičnog mrtvog organizma. Tokom toplih letnjih meseci, odrasle jedinke mogu nastaniti leš već dva dana nakon smrti, a vreme inkubacije traje pet dana (Wang et al. 2008). Prisustvo larvi, zajedno sa odsustvom adulata, ukazuje na mnogo kasniji PMI.

6.2 Familija Silphidae

Coleoptera značajni za forenziku vodenih ekosistema

Silphidae su mala grupa tvrdokrilaca, sa oko 200 opisanih vrsta, koje naseljavaju pretežno umereni klimatski pojas. U narodu su poznati kao grobari, strvinari. Najpoznatiji predstavnik je vrsta *Nicrophorus vespillo* – šareni grobar. Imaga ove vrste zakopavaju u zemlju leševe sitnih životinja i na njih polažu jaja iz kojih se legu larve koje se hrane lešom. Poznate su i druge nekrofagne vrste, kao što je *Silpha obscura* (slika 57). Ima i štetočina, na primer, na šećernoj repi; vrste iz roda *Aclypea*.



Slika 57. *Nicrophorus vespillo* (levo), *Silpha obscura* (desno).

Elitre su dobro razvijene, ali su obično kraće od tela tako da je nekoliko (1-5) poslednjih abdominalnih segmenata vidljivo sa dorzalne strane. Antene su sastavljene od 11 članaka, po obliku su glavičaste. Skutelum je dobro razvijen i širok skoro koliko i glava. Tarsusi svih nogu su sastavljeni od pet segmenata. Larve se lako mogu razlikovati od ostalih familija, pre svega po građi usnog aparata: mandibula, maksila i urogomfi (izraštaji na kraju abdomena) dvočlankoviti i pokretno zglobljeni za telo (slika 58).



Slika 58. Larve Silphidae.

Jedino za vrstu *Thanatophilus micans* (Silphinae) postoji statistički model razvića koji se može direktno primeniti za utvrđivanje PMI, u Americi. Ova vrsta se javlja u ranim fazama raspada leša, ali se ipak većina vrsta javlja u kasnijim fazama. Za evropske vrste ovakvi modeli još uvek ne postoje. Poznato je da neke vrste (*Nicrophorus* spp.) mogu usporiti raspad antibakterijskim dejstvom svoje pljuvačke. Predatorske vrste mogu bitno uticati na sastav faune tela u raspadanju. Najčešće vrste koje se mogu pronaći na ljudskim leševima u Evropi su: *Silpha* spp., *Thanatophilus* spp., *Nicrophorus* spp., *Necrodes littoralis*, *Oiceoptoma thoracicum*.

6.3 Familija Dermestidae

Otkriveno je i opisano oko 800 vrsta slaninara. Žive u vrlo različitim staništima, ali se sve hrane ostacima životinja. Mogu se naći u gnezdima ptica, glodara, osa, pčela, na suvim leševima, na suvom mesu i slanini i slično. I larve se hrane isušenom organskom hranom i nanose velike štete na mesu, koži i u zbirka insekata. Iako su štetočine, neke vrste su korisne jer se koriste za prepariranje skeleta (larve pojedu sve sem kosti). Najpoznatije vrste kod nas su: *Dermestes lardarius* – veliki slaninar (slika 59), i u muzejskim zbirka, naročito zbirka insekata je velika štetočina vrsta *Anthrenus museorum* (slike 59, 60).



Slika 59. Dermestidae: *Dermestes lardarius* (levo) *Anthrenus museorum* adult (u sredini) *A. museorum* larva (desno).



Slika 60. Efekti prisustva *A. museorum* u zbirci insekata.

Vrste koje su značajne za forenzičke istrage pre svega, pripadaju rodu *Dermestes*. Dermestidae se uvek pojavljuju na leševima u kasnijim fazama raspada (faze post- raspada i početak skeletonizacije). U eksperimentalnim uslovima, na lešu svinje, prve jedinke se pojavljuju nakon 23-50 dana od početka eksperimenta. Njihova aktivnost je usko povezana sa atmosferskim i klimatskim prilikama, jer ne tolerišu povećanu vlažnost i obično su brojne u letnjem periodu. Zabeleženo je da ukoliko se jedinke *Dermestes* nađu u dovoljno velikom broju, mogu ljudski leš očistiti do skeleta za samo 24 dana.

6.4 Familija Scarabaeidae

Bube skarabeje broje preko 2000 vrsta čije ženke prave loptice od balege koje kotrljaju do svojih jamica i na njih polažu jaja. Na osnovu takvog ponašanja, u narodu su poznati kao balegari, kotrljani. Larve su te koje se hrane balegom. Poznate su vrste iz roda *Scarabaeus*: *S. sacer*, *S. affinis*, *Copris lunaris*, *C. hispanus* (slika 61).



Slika 61. Scarabaeidae: *Scarabaeus sacer* (levo), *Copris lunaris* (desno).

Životne istorije balegara su raznovrsne; adulti se hrane izmetom, leševima, polenom, zelenim delovima biljke, voćem, biljnim materijalom u raspadanju, gljivama. Neke vrste žive u gnezdima mrava, termita, glodara i ptica. Retke vrste su štetočine u poljoprivredi – defolijacija biljaka ili oštećenja na korenu. Neke vrste su veoma korisne kao polinatori. Sporadično se sreću na leševima i ne predstavljaju značajne forenzičke inidkatore pošto njihovo prisustvo na lešu zavisi više od dostupnih ekskremenata nego do faze raspada leša.

6.5 Familija Geotrupidae

Po morfologiji i biologiji su slični predstavnicima familije Scarabaeidae. Ženke većine vrsta kopaju jazbine u koje polažu jaja. Tipično su detritivori, unose u svoja gnezda biljnu hranu, mahom od opalih listova (često plesnivim), ali su povremeno koprofagi, po su ustvari vrlo slični pravim balegarima. Jaja se polažu u ili na masu hrane koju ženke „sahranjuju“, a larve u razvoju se kasnije tom masom hrane. Predstavnici ove familije koji se relativno često sreću na leševima u Evropi, *Anoplotrupes stercorosus*, *Geotrupes spiniger*, *Trypocopris vernalis*, *Onthophagus* sp i druge (slika 62).



Slika 62. *Geotrupes vernalis*.

Dubine tunela i jazbina nekih vrsta mogu prelaziti 2 metra u dubinu zemljišta, tako da je potraga za ovim svedocima prisustva tela na određenom mestu ponekad uzaludna. Inače, na

osnovu prisustva geotrupida, ne može se izračunati PMI, već samo da li se telo može dovesti u vezu sa lokalnom faunom insekata, poput ovih.

6.6 Familija Cleridae

Familija Cleridae obuhvata oko 3500 vrsta, od kojih većina živi u tropima. Upadljivih su boja i obično šarene. Sve vrste su predatori. Najpoznatija vrsta je *Trichodes apiarius* (slika 63). Kao imago, živi na cvetovima gde polaže jaja koja pčele sa polenom nose u košnice, izlegle larve se hrane larvama i lutkama pčela. Vrsta *Thanasimus formicarius* se hrani larvama potkornjaka.



Slika 63. *Trichodes apiarius* (levo), *Necrobia rufipes* (lesno).

Budući da su kleride predatori, pronađeno je da se hrane larvama muva, kao i kožom i kostima lešine (Majka, 2006). Većina klerida nije od velike koristi u forenzici zbog njihovog izbora hrane, ali neke vrste, poput *Necrobia rufipes* (slika 63), mogu biti korisne. Ova kosmopolitska vrsta je priučena lešom u kasnijim fazama razgradnje tela, tako da njihov dolazak na leš može pomoći u proceni PMI. Iako nije najznačajniji insekt na lešini, njegova sposobnost razmnožavanja u strvini koja je izložena životnoj sredini pruža izvesnu forenzičku važnost.

6.7 Familija Trogidae

Vrste ove familije su poslednji insekti koji kolonizuju leš i to u fazi kasnog postraspada. Hrane se sasušanim tkivom (kožom, krznom i perjem), mada je eksperimentalno pokazano da mogu jesti sva životinjska tkiva i tako u potpunosti očistiti leš do kostiju. Znanja o biologiji (pre svega o životnom ciklusu) ovih vrsta skoro da ne postoje, usled čega su od marginalnog značaja u forenzičkim istragama. Evropski rodovi su *Trox* (slika 64) i *Omorgus*.



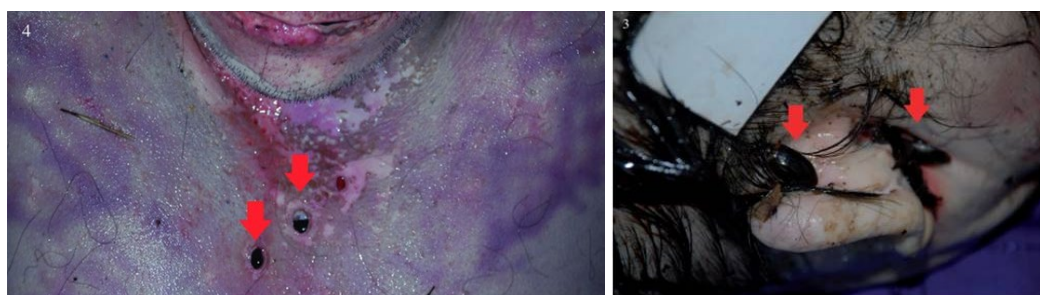
Slika 64. *Trox sabulosus*.

6.8 Familija Dytiscidae

Poznato je oko 2500 vrsta iz familije Dytiscidae. Poznati su pod imenom gnjurci. Žive u vodi, i larve i imago, mada u vreme parenja mnoge vrste izlaze iz vode i lete. Dok su u vodi, povremeno izlaze na površinu radi uzimanja vazduha. Telo im je ovalno i spljošteno. Zadnje noge su transformisane u vesla. Oba pokretna stadijuma, imago i larva, su predatori. Najpoznatije vrste kod nas su: *Dytiscus marginalis* (slika 65) i *Cybister lateralimarginalis*. Pričinjavaju štete u ribnjacima jer se hrane ribljom mlađi. Neke vrste roda *Rhantus* su značajne za forenziku (slike 65, 66).



Slika 65. *Dytiscus marginalis* (levo), *Rhantus validus* (desno).



Slika 66. Prisustvo adultnih jedinki gnjuraca povezanih sa postmortalnim artefaktima (crvene strelice); u gornjem delu grudi (levo) i zadnjem delu glave (desno).

7. Biologija i ekologija vodenih insekata

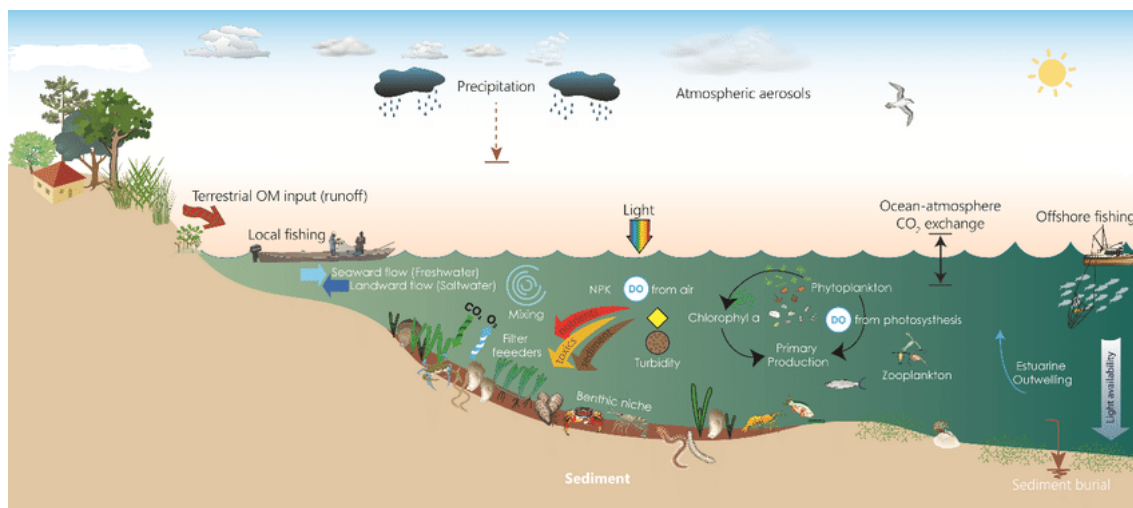
Preko 80% studija o primeni insekata u istragama utvrđivanja mesta smrti odnos se na kopnene organizme. Manje od 20% odnosi se na vodene organizme, oko 88.500 vrsta (Huryn, 2009; Dijkstra et al., 2014). Do danas se većina empirijskih dokaza koji istražuju kolonizaciju insekata u vodenim sistemima koncentrisala na muve zunzare (Calliphoridae) i nekoliko kopnenih insekata koji kolonizuju leš nakon što se, zbog nadimanja, izdigne na površinu vode. Uz nekoliko izuzetaka, evolucijski gledano, ne postoje pravi vodeni „sarkofagni“ insekti koji su funkcionalno evoluirali da bi se hranili samo lešinama, kao što je to slučaj sa pravim muvama. Za forenzička istraživanja se koriste pre svega larve vodenih insekata, ali i lutke i adulti. Larve dvokrilaca su, svakako, glavni fokus forenzičara.

Pored insekata koji su direktno vezani za potopljeno telo, veliki potencijal leži i u analizi drugih makroinvertebrata, kao što su vodeni puževi, ali i alge. Nataloženi sedimenti se takođe mogu naći u potopljenom telu, te se među njima mogu pronaći i ostaci vodenih insekata.

U zavisnosti od karakteristika mesta pronalaženja tela (reka, jezero, dubina, podloga, stepena razgradnje i sastava lokalne faune), ljudski ostaci pronađeni u slatkovodnim ili morskim ekosistemima imaju nekoliko ekoloških funkcija:

- postaju neposredni ili potencijalni izvori hrane za široku lepezu beskičmenjaka i riba strvinara
- obezbeđuju bezbedno mikrostanište za male nestrvinarske vrste
- privlače različite sekundarne predatorske vrste privučene primarnim strvinarima
- obezbeđuju supstrat koji primarni proizvođači, npr. alge i drugi perifiton, mogu kolonizovati i razvijati se
- u podmakloj fazi razgradnje služe kao supstrati za beskičmenjake koji pasu (puževi, hironomide), privučeni prevlakama bakterija ili algi (biofilm) na koži, odeći ili samim kostima kao izvor kalcijuma i drugih minerala

Budući da se leševi često nalaze u vodenom okruženju, važno je da forenzičari i policija koji posećuju mesto zločina imaju više znanja o vodenim organizmima koji mogu potencijalno kolonizovati ljude i druge sisare. Uz to, neophodno je poznavanje i fizičko-hemijskih faktora sredine, ali i osnovne procese kruženja materije (slika 67).



Slika 67. Kruženje materije u vodenim ekosistemima.

Insekti koji nastanjuju leševe, ujedno i ostali zglavkari bivaju uvučeni u kompetitorske odnose zbog ograničenih resursa – mrtvo telo. Svaka vrsta opstaje isključivo zahvaljujući svojoj ekološkoj niši u okviru koje ostvaruje neku prednost u odnosu na sve druge vrste. Zbog toga je pravilna identifikacija vrsta od ključnog značaja za forenzičku entomologiju i rasvetljavanje nekog krivičnog dela. Na primer, znanja o razvojnoj biologiji, ekologiji i geografiji date vrste. Greške u identifikaciji vrsta mogu za sobom povući greške u proceni postmortem intervala što može potpuno poremetiti kriminalističku istragu. Najšire gledano, svaka vrsta insekata može biti od značaja za različite slučajeve u forenzičkoj entomologiji. Sa stanovišta medicinsko-pravne entomologije to su pre svega, Diptera i Coleoptera.

Iako samo 3% svih vrsta insekata ima akvatične ili semiakvatične stadijume, u nekim slatkovodnim biotopima insekti mogu da čine preko 95% svih vrsta makroinvertebrata. Evolucija širokog spektra morfoloških, fizioloških i biheviornalnih adaptacija kod vodenih insekata omogućava im da nastanjuju praktično sve vodene sisteme, jezera, potoke, bare i retko morska staništa. Vodeni insekti mogu nastanjivati i ekstremna vodena staništa, kao što su vreli izvori, različite rupe u prirodi napunjene vodom, bazeni za kupanje i druge posude napunjene vodom i ostavljene neko vreme, hladni planinski potoci i drugo.

Zajednice vodenih insekata mogu se uveliko razlikovati unutar i među staništima. Ove zajednice igraju značajnu ulogu u slatkovodnim ekosistemima u kojima žive, bilo kroz kruženje hranljivih materija ili kroz njihov ukupni doprinos kao sekundarnim proizvođačima hrane. Vodeni insekti doprinose trofičkoj strukturi ekosistema ostvarujući funkcionalne uloge u rasponu od detritivora do predatora, istovremeno postajući izvor hrane mnogim kičmenjacima i beskičmenjacima, kao što su to na primer, majski cvetovi iz reda Ephemeroptera (slika 68).



Slika 68. Rojenje Ephemeroptera.

Mnogi vodeni insekti u svom životnom ciklusu pored vodenih larvi imaju i vodene adulte. Neki imaju vodene larve, a terestrične adulte. Njihov uticaj u ekosistemima nije ograničen samo na vodeno okruženje, već se proteže i na kopno, tj. priobalnu zonu. Osnovni proces koji je insektima predstavljao suštinski problem u evolucijskom uspehu u usvajanju vodenih staništa je disanje. Insekti su ovo pitanje rešili na mnogo različitih načina, od kojih neki disanjem preko kože ili škrgama, čak i ekstrakcijom vazduha iz vodenih biljka (Huryń et al., 2019).

Hidrobiolozi akvatične insekte razmatraju kroz zajednice akvatičnih insekata. Raznolikost i integritet zajednica vodenih insekata važni su zbog uloga funkcionalnih ekosistema koje obavljaju u svim delovima vodenih ekosistema. Tačan sastav zajednice akvatičnih insekata duž npr. potoka ili reke je od esencijalnog značaja zbog translokacije potopljenog tela; pre svega menjanjem vodostaja.

Promene u vodenim ekosistemima, izazvane bilo prirodno ili antropogeno, mogu rezultirati promenama u relativnom udelu određenih grupa vodenih insekata. Vodeni insekti se često koriste kao zamena (indirektno) za procenu kvaliteta vode i uticaja zagađenja u slatkovodnom okruženju. Na primer, indeks bogatstva EPT (Ephemeroptera, Plecoptera, Trichoptera) jedan je primer surogata koji se široko koristi u mnogim hidrobiološkim studijama. Bogatstvo vrsta ova tri insekatska reda koji su netolerantni na zagađenja koristi se u mnogim istraživanjima kao pokazatelj stanja životne sredine, koji se takođe, mogu iskoristiti u forenzičkim istraživanjima.

8. Akvatični insekti značajni za forenziku

8.1 Red Ephemeroptera

Ovi insekti su dobili naziv po tome što imago živi veoma kratko, svega nekoliko dana ili čak sati u zavisnosti od vrste. Trivijalni naziv, vodeni cvetovi, su dobili zato što se za vreme parenja roje iznad vode i nakon toga ugibaju i padaju na površinu vode odavajući utisak da voda cveta. Naseljavaju sve delove sveta, a njihov život vezan je isključivo za slatke vode (sa nekoliko

Akvatični insekti značajni za forenziku

izuzetaka) gde se odvija njihovo embrionalno i postembrionalno razviće. Najpoznatija vrsta je *Ephemera danica* (slika 69).

Veličina tela je najčešće od 10-15 mm. Telo je izduženo, sa jasno izdvojenom glavom, toraksom i vretenastim abdomenom. Glava je sa kratkim čekinjastim antenama (slika 70). Imaju složene oči i tri ocele. Usni aparat je za grickanje (znatno redukovan) ali se imago ne hrani. Crevo je zbog toga ispunjeno vazduhom što olakšava letenje. Protoraks je znatno manji od mezo- i metatoraksa. Krila su membranozna i sa dobro razvijenom nervaturom. Prednji par je znatno veći, a kada miruju drže ih uspravno. Dobri su letači.



Slika 69. *Ephemera danica*; adult (levo), larva (desno).

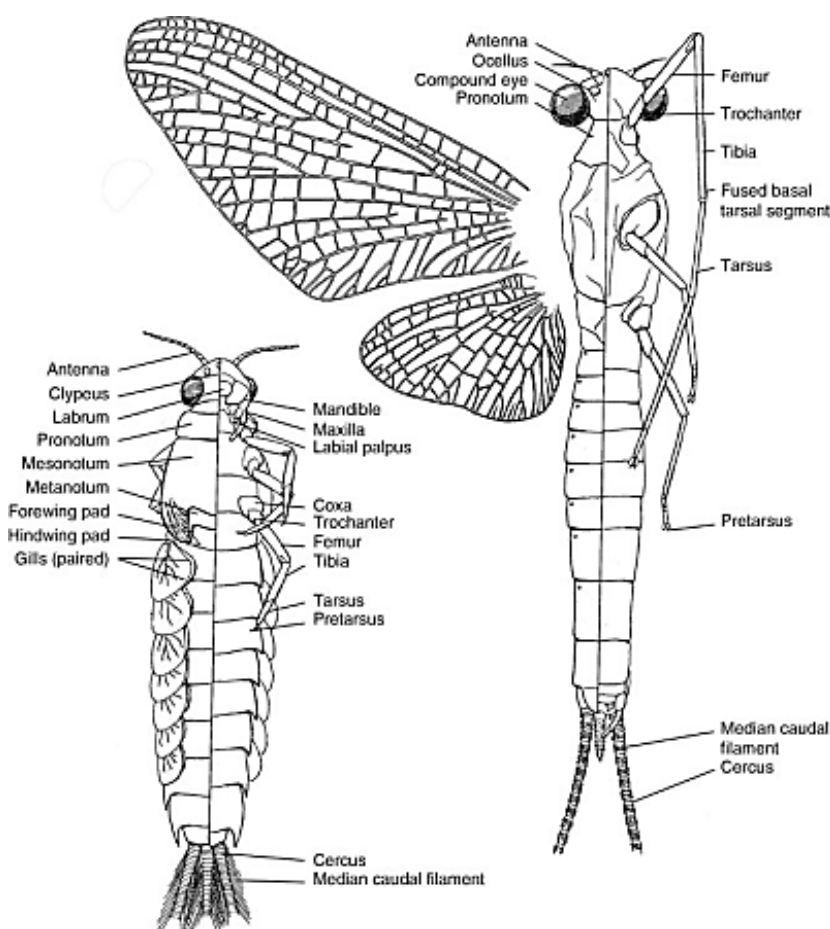
Abdomen je građen od 10 segmenata i završava se dugim čekinjastim cercima. Opšti plan građe imaga i larve Ephemeroptera prikazan je na slici 71.



Slika 70. Glaveni region Ephemeroptera.

U vreme parenja masovno se javljaju iznad vode, gde nakon parenja mužjaci padaju u vodu, a zatim i ženke, gde polažu jaja i nakon toga ugibaju. Površina vode nakon toga izgleda kao da je procvetala, pa odatle i narodni naziv vodeni cvetovi. Iz jaja se razvijaju larve koje se znatno razlikuju od imaga. One se uglavnom hrane algama i biljkama, mada ima i zoofagnih. Imaju dobro razvijen usni aparat za grickanje i krupne oči i ocele. Noge kod larvi su dobro razvijene, a na abdomenu su razvijene škrge, sedma pari, koje su najčešće u obliku listića ili čuperaka. Na kraju abdomena su razvijena dva cerka i jedan neparni izraštaj, kaudalni filament (slika 71). Larve se presvlače više puta (20-30 puta), a razviće traje 1-3 godine.

Razviće je hemimetabolno, tako da se larve Ephemeroptera obeležavaju kao nimfe.



Slika 71. Opšti plan građe Ephemeroptera; larve (levo) i imaga (desno).

Vodeni cvetovi su morfološki i bihevioralno raznoliki, a larve su grupisane u četiri životna oblika prilagođena za:

- plivanje
- puzanje i penjanje
- prijanjanje i probijanje
- skrivanje u rupama

Od značaja za forenziku su plivajuće (Baetidae) i spljoštene prijanjajuće (Heptageniidae) koje se hrane svinjskim trupovima (eksperiment) ili u njihovoj blizini (Haefner 2005; Hobischak 1997; Schultenover i Wallace, neobjavljeni podaci). Larve heptageniida i (npr. Ameletidae) stružu alge i perifiton sa podloga kao što su stene, balvani ili, u nekim slučajevima, leševi. One se ne skrivaju. Larve sakupljača (eng. collectors-gatherers), poput Baetidae ili Ephemerellidae, se hrane uglavnom finim česticama organskog materijala [FČOM] jednostavnim sakupljanjem odakle god je mogu naći, na primer ispod kamenja, u zonama taloženja ili na površini kamenja ili drugih supstanci. FČOM se akumuliraju na mnogim mestima (zona taloženja) u koritu reke, gde im god rečna struja dozvoli da se slegnu iz vodenog stuba.

8.2 Red Plecoptera

U svetu je opisano oko 2000 vrsta, od toga, oko 400 u fauni Evrope. Adulti kamenjarki su terestrične forme i žive blizu vode, a njihove larve prvenstveno u čistim, hladnim, tekućim vodama. Ima i vrsta koje su prilagođene životu u velikim oligotrofnim alpskim jezerima. Postoji i manji broj vrsta u brakičnim vodama. S obzirom da larve žive u čistim tekućim vodama se koriste kao indikatori kvaliteta vode. Opšti izgled adulta i larve kamenjarki prikazan je na slici 72.



Slika 72. Rezultati geometrijske morfometrije dve upoređene grupe.

Glava je prognatna sa usnim aparatom za grickanje. Antene imaga i larve su duge i čekinjaste. Protoraks je krupan, odvojen i pokretan. Krila su dobro razvijena i membranozna. Slabi su letači. Abdomen je građen od 11 segmenata i na kraju nosi duge cerke (nemaju nikada centralni filament). Ženke polažu jaja u vodu, gde se odvija embrionalno i postembrionalno razviće. Hemimetabolni. a larveno razviće traje 1-3 godine.

Larve imaju specifične zahteve kada su parametri: temperatura vode (hladni stenotermi), tip supstrata (obično šoder i kamene gromade) i veličina tekućice (male do srednje veličine) u pitanju. Oni diktiraju njihovu distribuciju, kao i sukcesije duž toka potoka i reka (Stewart i Harper 1996). Uglavnom su karnivori, predatori larvi komaraca, hironomida, vodenih cvetova i drugih beskičmenjaka. S druge strane, larve i imaga Plecoptera su hrana ribama i drugim krupnijim predatorima.

Najpoznatije su vrste kamenjarki dolaze iz familije Perlidae. Širokoprisutan je rod *Isoperla*, ili vrste *Perla marginata*, *Dinocras megacephala*. Većina vrsta se čvrsto drži za podlogu, dobro prijanjajući. Što se tiče ishrane, mogu se podeliti u dve funkcionalne grupe: one koje grickaju (Taeniopterigidae, Nemouridae, Pteronarciidae) i predatore (Perlodidae, Perlidae). Iz svih familija zabeleženi su kolonizatori primećene su kako kolonizuju strvine u tekućicama, a larve Pteronarciidae hrane se mesom lososa u laboratoriji (Schuldt & Hershei 1995).

Na osnovu ograničenih zahteva staništa kamenjarki, ali i predatorske prirode mnogih vrsta, prisustvo larvi na utopljenom telu (slika 73) može ukazivati na to da je ono verovatno nasukano (zaglavljeno) u brzaku potoka ili reke. Boravak tela na takvom mestu neko vreme može omogućiti kolonizaciju drugih insekata, koji bi u to vreme mogli služiti kao plen kamenjakama povezanih sa lešom.

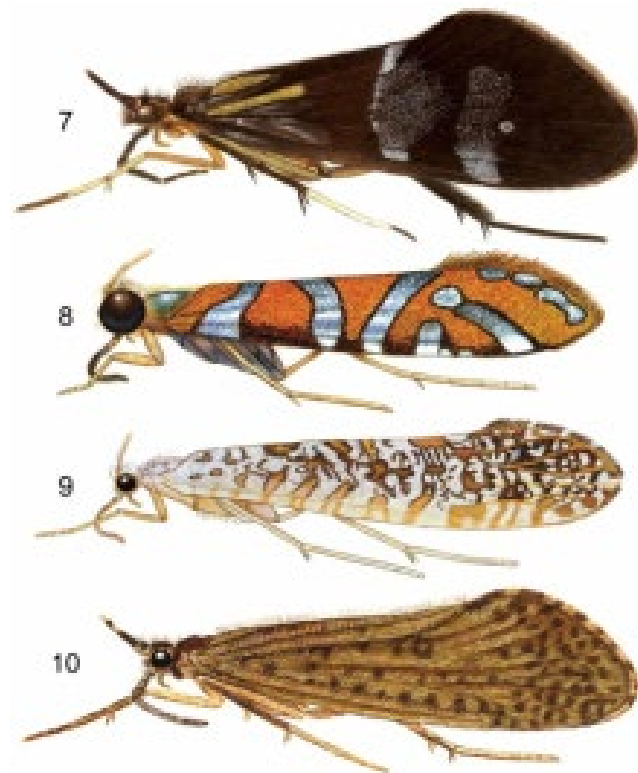


Slika 73. Kolonizovana tela riba velikim brojem larvi Plecoptera.

8.3 Red Trichoptera

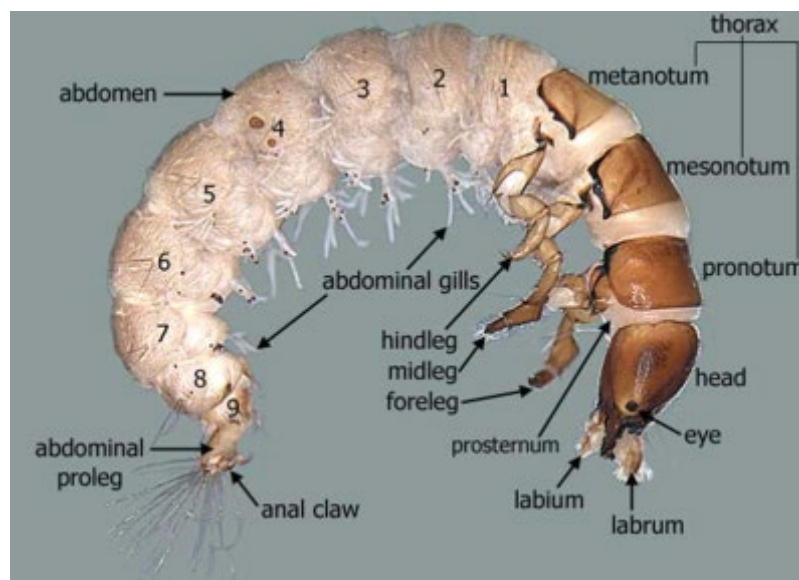
U svetu je poznato je oko 5000 vrsta Trichoptera. Adulti su vezani za vegetaciju u neposrednoj blizini vode, gde se i hrane pretežno tečnom hranom. Uključeni su u lance ishrane mnogih vodenih i suvozemnih životinja, pre svega riba i ptica. Slabi su letači i uglavnom preleću kraća rastojanja, ali su noge dobro razvijene, tako da vrlo brzo trče. Široko rasprostranjeno ime za ovu grupu insekata je tulari.

Njihovo telo je mekano, obojeni su neupadljivim nijansama, najčešće svetlo ili tamno braon, neke vrste su čak i sa upadljivim šarama (slika 74). Mandibule su redukovane i usni aparat je izdužen, prilagođen za sisanje tečne hrane. Imaju krupne oči, a antene čekinjaste. Oba pola su krilata, imaju dva para membranoznih krila pokrivenih gustim dlačicama (po čemu su i dobile ime) koje u mirovanju drže sklopljena iznad tela kao krov. Prednja krila su izdužena, dok su zadnja kraća, odnosno šira od prednjih. Trbuh građen od 10 segmenata.

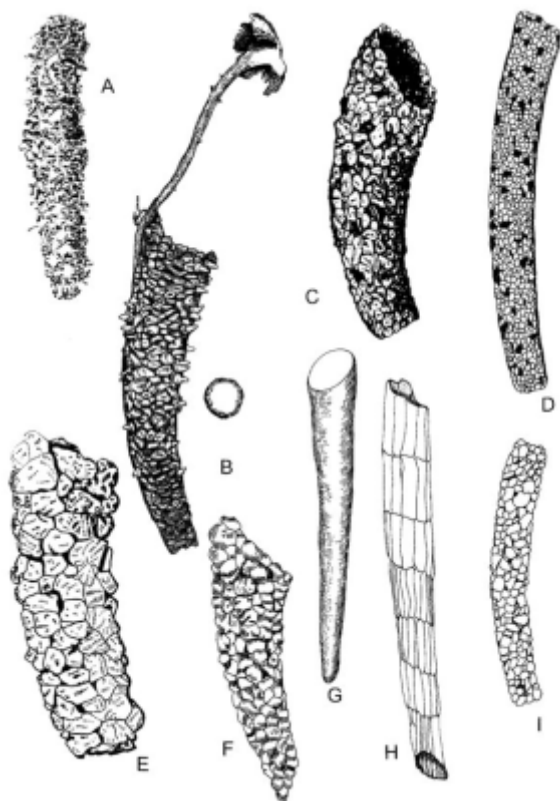


Slika 74. Opšti izgled adultnih jedinki tulara.

Razviće tulara je holometabolno, a filogenetski su povezani sa leptirima. Larve su akvatične, oligopodne (slika 75) i formiraju „kućice“ od svilastog materijala koji impregniraju zrnima peska, delovima biljnog porekla u vodi ili nekog drugog materijala iz okolne sredine (slika 76).



Slika 75. Opšti plan građe larve tulara.



Slika 76. Kućice tulara izgrađene od različitih materijala.

Na primer, neke rane faze larvi kod dve vrste tulara iz porodice Limnephilidae, *Pycnopsyche lepida* i *P. luculenta*, grade kućice sastavljene od pločica maltene hirurški isečenih od lišća koje je u vodu palo sa okolnog drveća, koje je potonulo i nakupilo se u potocima. Kako larve rastu i sazrevaju, a raspoloživi lisni materijal vremenom značajno opada u potocima, *P. lepida* menja tip kućice tako što u izgradnju uključuje više mineralnih naslaga (zrna peska) koja lepi svilom. Takođe, larva prelazi u bržu vodu (Cummins 1964). Suprotno prethodnoj vrsti, *P. luculenta* se prebacuje sa istog tipa kućice (napravljene od lisnih pločica) na pravljenje kućice obložene delovima grančica. Zatim prelazi u sporiju vodu. Stoga, poznavajući ponašanje larve određene vrste i materijal koji ona koristi za izgradnju kućice u određenoj fazi svog razvoja, u svrhu forenzičke istrage moglo bi se odrediti godišnje doba ili čak mesec kada je telo dospelo u vodu. Sve to, naravno, u slučaju da se larve tulara pronađu na ostacima žrtve u toku istrage. Lutke su po tipu *pupa libera* (slobodna lutka).

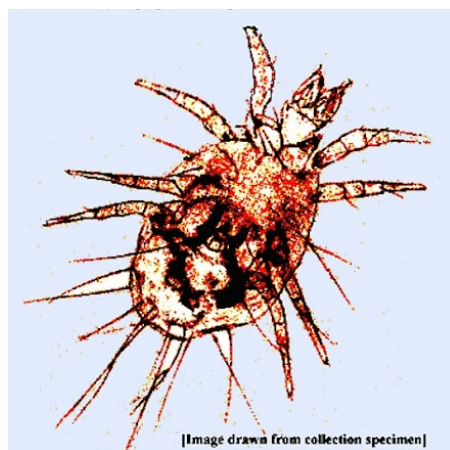
Slučajevi kada su Trichoptera pronađene na lešu takođe mogu ukazivati na to da li je leš premešten iz određenog staništa u lotičkom okruženju (npr. brzaci ili lagune) ili ga je vodena struja prevezla na drugo mesto, u svakom slučaju, nizvodno. Za mnoge vrste tulara je poznat geografska distribucija i fenologija, tj. vreme događaja određenih bioloških faza u njihovom životnom ciklusu. Na osnovu vrsta prikupljenih na lešu, mogao bi se utvrditi i prostorna i vremenska veza (kao što je verovatnoća da se leš premešta na velike daljine ili doba godine kada je leš premešten u određeni deo reke. Forenzički slučaj sa larvom tulara i crvenim čarapama utopljenika opisan je u poglavlju 13, Slučajevi.

9. Drugi zglavkari važni za forenziku vodenih ekosistema

Nema mnogo podataka o drugim zglavkarima koji kolonizuju leš, naročito kada su vodeni ekosistemi u pitanju. Dok su specifični insekti dominantni čistači kopnenih i slatkovodnih sredina, rakovi, ribe, puževi i bodljokošci su dominantni čistači u morskom okruženju (Sorg et al., 1997).

9.1 Grinje

U terestričnim ekosistemima pored insekata, značajne su samo još grinje. One mogu direktno stići na leš ili da koriste druge insekte kao prevozno sredstvo. Te grinje koje su vezane za npr. muve ili neke tvrdokrilce. Vodene grinje su upotrebljene samo jednom u svrhu forenzičke istrage. *Tyroglyphus longior* (slika 77). Jedna od pronađenih grinja na lešu je *Tyroglyphus longior* (slika 78). Ova grinja je često nalažena na sirevima kao i njen srodnik *T. siro*.



Slika 77. *Tyroglyphus longior*.

Grinja *Myianoetus muscarum* se hrani kičmenjacima, uključujući i ljudske ostatke. Iako je strvina vrlo hranljiva, ona je efemerni resurs koji se slučajno pojavljuje u okruženju. Pronaći leš i doći na hranjenje nije lako kada organizam ne leti, kao na primer, puzajuće grinje dužine manje od jednog milimetra. Tu na scenu dolazi muva *Synthesiomyia nudiseta*, koja je ustvari vektor distribucije grinje. Ova vrsta muve se inače koristi za izračunavanje PMI.



Slika 78. Grinja *Myianoetus muscarum* na telu muve *Synthesiomyia nudiseta* (levo); uvećano (desno).

Muve su izuzetno pokretne i izvrsne su u pronalaženju mrtvih organizama. U jednoj fazi svog životnog ciklusa, grinja (II stupanj nimfe) *M. muscarum* koristi letačke osobine muve. Male grinje uspužu uz noge muve i čvrsto se drže za njeno telo do sletanja na novi leš. Ovaj odnos između grinje i muve naziva se „forezija“. Kao tip komensalizma, definicija forezije je vezivanje jedne vrste za drugu isključivo u svrhu transporta. Forezija može biti fakultativna, obligatna ali i pseudoobligatna (lažna). Na primer, pas koji nosi krpelja vrste *Ixodes ricinus* na svom telu nije prava forezija, jer se krpelj hrani krvlju psa sve vreme prevoženja na drugo mesto. Međutim, grinja *M. muscarum* se ne hrani muvom *S. nudiseta*, već je isključivo koristi u svrhu dolaska do sledećeg leša. Forezija je uobičajena strategija za male beskičmenjake koji se hrane raznovrsnim, prolaznim resursima poput strvine, balege ili pečurki. Na primer, neke forezijske grinje koje se hrane fekalijama kičmenjaka, transportuju se na ženkama balegara da bi stigle do sledeće sveže gomile balege.

Francuz Jean Pierre Megnin, jedan od prvih naučnika koji je koristio grinje kao dokaze o insektima kao pomoć u istragama vremena smrti. Između Megninovih slučajeva u Parizu devetnaestog veka i danas, samo nekoliko forenzičkih istraga koristilo je grinje pronađene na telima kao dokaz za procenu vremena smrti. Pimsler et al (2016) veruju da bi bolje razumevanje sukcesije zajednica grinja na leševima moglo da dovede do preciznijih procena postmortem intervala. Pimsler i koautori veruju da bi obraćanje pažnje na grinje moglo poboljšati procene postmortem intervala. Ove procene se oslanjaju na vremenski okvir kada tipične strvinarske vrste obično stižu na leš i koliko vremena im treba da zaokruže životni ciklus. Grinje i njihove razvojne faze dodale bi više vremenskih tačaka ovom vremenskom sledu, omogućavajući preciznije procene.

Grinje takođe mogu uticati na vremenski raspored i prisustvo drugih insekata koji se obično koriste u forenzičkoj entomologiji. One se mogu takmičiti sa insektima za hranu (leš), usporavajući njihov razvoj, ili se u nekim slučajevima mogu hraniti na samim insektima. Prema Pimsleru, neke grinje, paraziti, sisaju hemolimfu larvi drugih insekata.

Na kraju, mi trenutno zaista ne znamo koje sve kućne i druge grinje mogu imati forenzičke istrage.

9.2 Rakovi

Mottonen i Nuutila (1977) izvestili su o slučajevima kada su rakovi uništili sva meka tkiva tela, uključujući i parenhimske organe, i naneli lezije slične kraterima različite veličine. U svakom slučaju, kada je forenzika akvatičnih sistema u fokusu, najčešće se radi o rakovima.



Slika 79. *Procambarus clarkii* – crveni močvarni rak.

U svom radu o crvenom močvarnom raku, *Procambarus clarkii* (Pascali et al., 2020) iznose podatke o njegovoj ulozi „čistača“ u prirodi, a koji je pronađen na ljudskom lešu. *Procambarus clarkii* (slika 79) je poreklom iz slatkih voda severnog Meksika, juga i jugoistoka Sjedinjenih Država, ali takođe introdukovan i druge delove sveta, tako da ga ima na svim kontinentima, gde je često invazivna vrsta (Crandall, 2010).

Jedinke ovog raka pronađene su na preminuloj osobi od 85 godina koja je plutala kanalom za navodnjavanje 18 dana nakon njenog nestanka. Tokom istrage mesta zločina, u blizini tela pronađeni su primerci crvenih močvarnih rakova. Aktivnost hranjenja ovih nedememičnih rakova doprinela je stvaranju specifičnih povreda na telu i stvaranju velikih oštećenja organa unutar leša. Cilj ovog rada bio je da ilustruje aktivnost čišćenja, odnosno hranjenja *P. clarkii* na ljudskom telu, kao i da istakne potencijalne postmortalne artefakte uzrokovane ovom vrstom. Ovo je prvi izveštaj o stvarnom slučaju postmortalnih povreda koje su rakovi vrste *P. clarkii* proizveli na utopljenom ljudskom telu. Do sada se rakovi nisu smatrali korisnim u proceni minimalnog postmortalnog intervala. Međutim, važne modifikacije na leševima koje proizilaze iz aktivnosti ovih životinja treba svakako uzeti u obzir.

Bube mokrice, odnosno rakovi iz reda Isopoda (slika 80) se ponekad mogu naći na strvinama. One su zabeležene na primer, na trupu jelena (slika 81). Izopodni rakovi žive u moru, u slatkoj vodi ili na kopnu. Svi imaju čvrste, segmentisane egzoskeletne dorzalne ploče, dva para antena, sedam pari nogu na grudnom regionu i pet pari dvogranih dodataka na trbuhu koji im služe za disanje. Ženke svoje mladunce nose u vrećici ispod grudi.



Slika 80. Isopoda.

Ovi sitni organizmi predstavljaju jedine poznate kopnene rakove, odnosno, sve faze njihovog života se odvijaju na kopnu. Neki su sposobni da se saviju tako da se sklupčaju u loptu kako bi se zaštitili od neprijatelja. Obično se nalaze u stelji, pod kamenjem ili u vlažnoj zemlji, ali se ponekad javljaju u velikom broju na strvini. Poput ostalih organizama koji čiste zemljište, kao što su stonoge gujini češljevi (klasa Diplopoda), često se nalaze u ispod samih ostataka leša, zoni koja je u kontaktu sa površinom stelje.



Slika 81. Bube mokrice na trupu jelena.

10. Sakupljanje insekata na lešu

Metode sakupljanja insekata i drugih zglavkara su brojne, a nove tehnike se još uvek razvijaju. Iako su opšte metode za sakupljanje insekata entomolozima već poznate, za prikupljanje specifičnog taksona u određene svrhe može zahtevati poseban protokol koji treba slediti.

10.1 Metode sakupljanja insekata

Skupljanje insekata i zglavkara može biti generalno ili ciljano, povremeno ili formalno, kvalitativno ili kvantitativno. Obično se uzorci prikupljaju radi odgovora na određena pitanja (šta je ovde, da li se broj vrsta X menja u odnosu na broj vrsta Y, koliko vrsta Z ima na 10 biljaka?). Alati i tehnike prikupljanja razlikuju se u zavisnosti od toga u koju kategoriju ili kombinaciju kategorija spada željeno posmatranje. Neke tehnike koje se koriste za prikupljanje uzoraka možda neće biti prikladne za određena pitanja (npr. kvalitativno prikupljanje neće dozvoliti poređenje gustine vrste X između tri polja).

Skupljanje entomoloških uzoraka sa tela može početi tek kada se potpuno obradi okolnina nalaska tela. U skladu sa opštim protokolima obrade mesta smrti, pojedinac koji ima ovlašćenje prvo mora dati dozvolu za prilazak telu na mestu događaja. Često ovu dozvolu daje lekar ili mrtvozornik. Postoji i drugo mišljenje, da se prikupljanje uzoraka sprovede pre uklanjanja tela sa lica mesta. Kada se to uradi, izuzetno je važno da se ništa ne pomera ili uzima sa leša osim insekata i drugih zglavkara koji su jasno vidljivi na površini tela. Svakako, trebalo bi da postoje ograničenja oko skidanja odeće sa tela i neposrednog područja oko tela.

10.1.1 Direktno sakupljanje uzoraka

Sakupljanje direktno sa ostataka obično se odnosi na sakupljanje jaja i mešanog uzorka larvi; odnosi se na različite stupnjeve, odnosno veličine. Prosečna veličina uzorka je 50 do 100 jedinki. Treba ih sačuvati u nekom od konzervansa, najbolje u KAA, mada je i 96% alkohol upotrebljiv (videti poglavlje 10.1.2). Uzorak jaja muva može biti i nekoliko stotina. Budući da se larve takođe često nalaze u izobilju, nije teško prikupiti nekoliko stotina. Iako je pedeset preporučena minimalna veličina uzorka, zbirke od nekoliko stotina larvi je još bolje. Kada ih ima u velikom broju, larve se mogu sakupiti lopaticom (slika 82). Uzorci se zatvaraju u plastičnu vrećicu sa patentnim zatvaračem i tako sa mesta smrti transportuju u forenzičku laboratoriju, posebno ako su ostaci u stanju uznapredovale razgradnje. Ako se tokom obdukcije pronađe određena faza života insekta, istražitelj bi trebalo da se vrati na mesto događaja u nastojanju da se otkrije i potvrdi prisustvo faze života nestalih insekata.



Slika 82. Sakupljanje larvi sa leša.

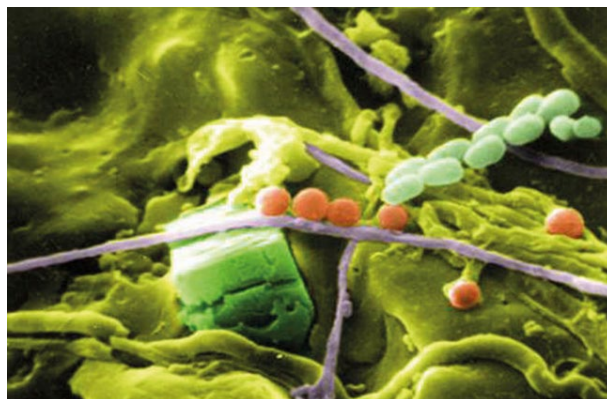
Nakon što su posmrtni ostaci uzeti sa tela izvlače se iz vrećice i stavljaju na obdukcijski sto; vrši se njihovo posmatranje i identifikacija. Ako je telo bilo odeveno, neophodan je potpun i detaljan pregled odeće koji može otkriti i druge faze razvića iste vrste zglavkara. Nabore u odeći u kojima se mogu nalaziti jaja, larve, lutke ili odrasle jedinke treba pažljivo otvoriti i pregledati. Odeća koja je vlažna ili kontaminirana izmetom su mesta sa velikom verovatnoćom

nalaza entomoloških dokaza. Ako se radi o ubistvu, samoubistvu ili sumnjivoj smrti, stavljanje ruku pokojnika u papirne kese zalepljene na zglobove često je standardna praksa. Ovo se radi kako bi se očuvali eventualni strani tragovi, poput fragmenata kože ili kose koji su zalepljeni za ruke. Pregled ovih papirnih kesa za ruke nakon njihovog uklanjanja na obdukciji je neophodan, jer zglavkari koji inficiraju rane na rukama mogu otpuzati s ostataka tokom tranzita. Odrasli leteći organizmi, pre svega muve, mogu se prikupljati entomološkom mrežom.

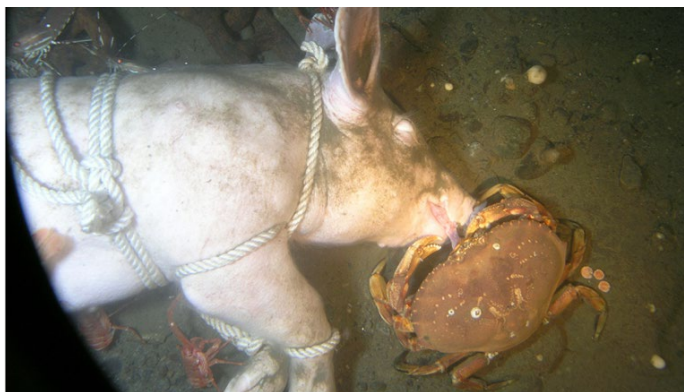
Prikupljanje uzoraka iz zatvorenih objekata predstavlja nekoliko problema za forenzičkog istražitelja u pre svega, u proceni kolonizacije tela. Prvo, ako je zatvorena konstrukcija dobro zatvorena (npr. noviji automobili sa zatvorenim prozorima i vratima; dobro zatvorene prostorije; i novije, dobro izolovane kuće), hemikalije koje emituju razgrađena tkiva koje privlače insekte ne šire se tako brzo kao u situaciji kada su tela bila izložena, tj. na otvorenom. U ovim istraživanjima postavlja se pitanje koliko je vremena prošlo pre nego što su mirisi konačno probili restriktivne granice zatvorene strukture?

10.2 Metode sakupljanja akvatičnih insekata

Pored vodenih ekosistema, mesta sakupljanja insekata mogu uključivati obale, reke, bare, jarke za navodnjavanje ili drenažne sisteme, ribnjake, kanalizacione sisteme, otvorene bunare ili kišne bačve. U svakom od ovih staništa određene vrste zglavkara mogu imati specijalne adaptacije za preživljavanje jedinstvene za ovo okruženje. Većina vodenih vrsta prikupljenih iz ostataka ne hrani se direktno tkivima u raspadu. Međutim, neki vodeni člankonošci će koristiti potopljena ili plutajuća tela kao sklonište ili kao čvrstu površinu za vezivanje kako bi olakšali hranjenje. Vodeni zglavkari najčešće koriste telo kao objekat za hranjenje algama koje će tu rasti (slika 83), ili se filtraciono hraniti, ili kao sklonište za skrivanje od predatora.



Slika 83. Sastruganje algi sa leša.



Slika 84. Kraba iz roda *Cancer* na lešu praseta.

Istraživanje mrtvih pacova smeštenih u vodeno okruženje nagovestilo je da će određene vrste dvokrilaca (Chironomidae) kolonizovati telo kako odmiče vreme (Keiper et al. 1997). Ove vodene larve mogu imati odgovor na određivanje dužine vremena potapanja u određenim delovima neke države. Treba pomenuti i vodene rakove koji će se obilno hraniti ljudskim tkivom (Smith 1986) ili potopljenim telo praseta iz eksperimenta (slika 84) proizvodeći postmortalne tragove.

10.2.1 Mreže za sakupljanje insekata sa dna reka i jezera

Za sakupljanje vodenih insekata koriste se različiti tipovi mreža, bagera i klopki, tako da metode mogu biti aktivne i pasivne. Na slici 85 prikazana je standardna mreža za prikupljanje bentosnih organizama.



Slika 85. Standardna bentosna mreža.

Surberova mreža (slika 86) se koristi za uzimanje kvantitativnih uzoraka organizama koji žive u sedimentu ili šljunku korita tekućica gde je protok vode manji od 10 cm/s. Česte su mreže sa velikim aluminijumskim okvirima sa površinom uzorkovanja od 0,1 m². Naravno, postoje i sa manjim okvirima, prilagođenjima kao što su ručke, bočne stranice od PVC-a za proširenje obima, kao i produživače koje se sastoji od niza mrežastih dodataka zatvorenih ili otvorenih

Sakupljanje insekata na lešu

krajeva sa filterima. Filteri se stavljaju da u kontejner sa sakupljanje upada materijal po principu selekcije, tj. po veličini organizma koji se prikuplja.



Slika 86. Surberova mreža; model (levo), primena (desno).

Hess-ov uzorkivač se koristi u sličnim okolnostima kao Surberova mreža, ali je još tačniji. Osnova Hess-ovog uzorkivača se gura u podlogu kako bi se ukopala. Dve jake ručke omogućavaju snažno guranje i rotiranje cilindra u korito potoka. Za upotrebu na tvrdim podlogama, Hess-ov uzorkivač je takođe dostupan, snabdeven zupcima za sečenje podloge.

Strana koja je orijentisana uzvodno je zapušena velikim filterom (željene veličine) kako bi se sprečio ulazak beskičmenjaka van zone uzorkovanja (slika 87). Sa donje strane, orijentisane nizvodno, nalazi se mrežasta vrećica sa zatvorenim filterom na vijke. Slično obliku planktonske mreže, ova vreća će sakupljati sve beskičmenjake unutar područja uzorka. Kasnije se može precizno izračunati broj beskičmenjaka u odnosu na površinu koja je uzorkovana.

Pošto je uređaj glomazan, može se koristiti na mestima plime i oseke, kao i umerenog udara talasa.



Slika 87. Hess-ov uzorkivač; model (levo), primena (desno).

10.3.2 Bageri za sakupljanje insekata sa dna reka i jezera

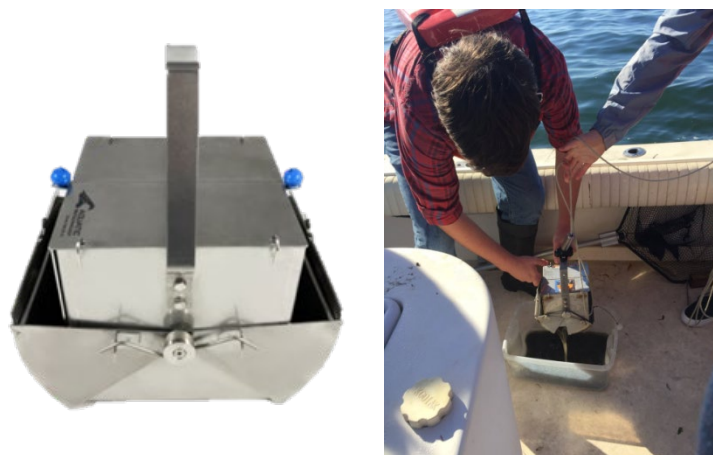
Za potreba monitoringa životne sredine istražuje se i bentos, odnosno, prikupljaju se beskičmenjaci sa dna vodenih basena. Većina vrsta makrozoobentosa je u osnovi sedentarna i njihova prirodna rasprostranjenost obično pokazuje dobre odnose sa njihovim sedimentnim staništem i dubinom.

Petersonov bager je namerno napravljen kao težak uređaj za zarivanje u duboko, često i tvrdo dno (slika 88). Može da primi do 8 uklonjivih tegova. Otvori omogućavaju protok vode dok je zahvat spušten, smanjujući dijagonalno kretanje, takođe i smanjujući čeonu udarni talas. Postoji i reza sa sigurnosnom iglom koja sprečava zatvaranje lopatica kako bi se sprečile povrede. Mehanizam u obliku bajoneta dizajniran je za otpuštanje samo kada su bager za uzorkovanje na dnu i sajla opuštenu. Čeljusti mehanizma se zatvaraju povlačenjem sajle. Za rad su potrebni vitlo i kran zbog radne težine.



Slika 88. Petersonov bager; model (levo), primena (desno).

Ekmanov bager (slika 89) je izbor za meka dna bez vegetacije, ili dna koja su obrasla samo vegetacijom sa kratkim, uspravnim rastom. Može se koristiti i za dna koja se sastoje od mešavine peska, kamenja i drugih krupnih ostataka vegetacije. Ekmanov bager je specijalizovan za uzimanje kvantitativnih i kvalitativnih uzoraka makroskopske faune dna kako bi se utvrdila produktivnost mekog dna, posebno onih sastavljenih od fino usitnjenog blata, potopljenog laporca i sitnog treseta. Pogodan je za preliminarne i preciznije radove.



Slika 89. Ekmanov bager; model (levo), primena (desno).

10.3 Rastvori za čuvanje uzoraka

Postoji mnogo načina kako se prikupljeni uzorci mogu sačuvati. Ukoliko je neophodno da se uzorci kasnije obrađuju hemijskim, molekularnim i sličnim metodama, treba pravilno unapred predvideti način konzerviranja. Slično je i za eventualne kasnije analize vezane sa skening mikroskopiju ili neke fizičke analize.

10.3.1 Rastvori za čuvanje terestričnih uzoraka

- a) Etil alkohol (etanol ili ETOH): Etanol je najpogodniji za entomološke svrhe sa 75–80% i može se koristiti za ubijanje i očuvanje odraslih jedinki i larvi nakon fiksiranja u Kahle-ovom rastvoru ili KAA. Etanol se obično kupuje na veliko u koncentraciji od 95%. Rastvor 80% etanola se može napraviti dodavanjem 15 delova destilovane vode u 80 delova 95% etanola.
- b) KAA (KAAD): Sastoji se od 95% etanola 80-100 ml, glacijalne sirćetne kiseline 20 ml i kerozina 10 ml. Ovaj rastvor treba koristiti samo za usmrćivanje larvi. Uzorci ne smeju ostati u ovom rastvoru duže od 12 sati, jer postaju lomljivi i neprikladni za ispitivanje. Uzorci u ovom rastvoru treba da budu prebačeni u 75-80% rastvor etanola odmah po usmrćivanju.
- c) Kahle-ov rastvor: Sastoji se od 95% etanola 30 ml, formaldehida 12 ml, glacijalne sirćetne kiseline 4 ml i vode 60 ml. Može se koristiti za ubijanje i prezervaciju odraslih insekata, kao i za čuvanje larvi.
- d) XAA: Ovaj rastvor se može koristiti umesto KAA (ili KAAD), ali je retko u upotrebi. Receptura za njegovo pravljenje je: izopropil alkohol 60 ml, ksilen 40 ml i glacijalna sirćetna kiselina 50 ml.

10.3.2 Rastvori za čuvanje akvatičnih uzoraka

a) Karnojev rastvor: Pravi se od hlороforma (30%) 30 ml, etil alkohola (95%) 60 ml i glacijalne sircetne kiseline 10 ml. Pogodan je kao sredstvo za ubijanje i konzerviranje većine vodenih insekata mekog tela. Međutim, uglavnom se ne koristi zbog opasnosti od sastojka hlороforma.

b) Etil alkohol (90–95%): Najpopularniji je rastvor za prezervaciju jaja, larvi i lutki većine vodenih insekata. Adulti vodenih insekata se mogu sačuvati dugo, čak i u 75-80% etanola.

c) Kahle-ov rastvor: Pogledati komentar za Kahle-ov rastvor iznad.

d) Pampelov rastvor: Pravi se od sledećih hemikalija: formalin 10 ml, etil alkohol (95%) 30 ml, glacijalna sircetna kiselina 7 ml i destilovana voda 53 ml.

10.4 Prikupljanje meteoroloških podataka

Pored prikupljanja insekata na mestu pronalaska tela, prikupljanje meteoroloških podataka je neophodno. Pravilna dokumentacija meteoroloških uslova na mestu događaja kritična je za analizu prikupljenih primeraka zglavkara koji su poikilotermni organizmi. Tačne klimatološke informacije su od kritičnog značaja za procenu vremena kolonizacije (*time of colonization* – TOC) ili perioda aktivnosti insekata (PIA) entomološkim sredstvima. TOC ili PIA mogu biti ekvivalentni minimalnoj proceni postmortalnog intervala (PMI). Vreme koje potrebno zglavkarima da završe svoj životni ciklus u velikoj meri je određeno temperaturama i relativnom vlažnošću u određenoj sredini kojoj su izloženi. Drugi klimatološki uslovi (na primer, padavine, puno sunca, snežni pokrivač i magla) takođe mogu uticati na stopu razvoja insekata, ponašanje i navike hranjenja strvina. Zbog toga bi forenzički entomolog trebalo da razvije osnovno znanje o klimatologiji i njenom uticaju na ekologiju strvinara.

Pod uslovom da su na raspolaganju odgovarajući izvori hrane, temperatura je najvažniji faktor koji utiče na rast i razvoj insekata. S obzirom da su zglavkari hladnokrvni, temperatura upravlja brzinom enzimskog delovanja na rast insekata. Uopšteno govoreći, insekti se sporije razvijaju i sporije stare kada su temperature niže. Nasuprot tome, oni su u stanju da se brže razvijaju, pod uticajem viših temperatura.

Larve muva imaju sposobnost da regulišu temperature okoline formiranjem agregacija. Kao i kod svakog drugog organizma, postoje gornji i donji temperaturni pragovi. Kada su ove granice premašene, efekti mogu biti smrtonosni za organizam u razvoju. Biološka adaptacija mase drva pomaže u osiguravanju da ovi pragovi ne budu premašeni, i omogućava larvama unutar mase da se razvijaju na optimalnijoj temperaturi, „po želji insekata“.

Da bi procenio starost pronađenih insekata i naknadna određivanja TOC ili PIA, forenzičar treba da zabeleži nekoliko očitavanja temperature na mestu pronalaska tela. Predložena minimalna merenja temperature su:

- Temperatura spoljnog vazduha zabeležena očitavanjem na visinama 0,3 i 1,3 m u neposrednoj blizini tela.

Sakupljanje insekata na lešu

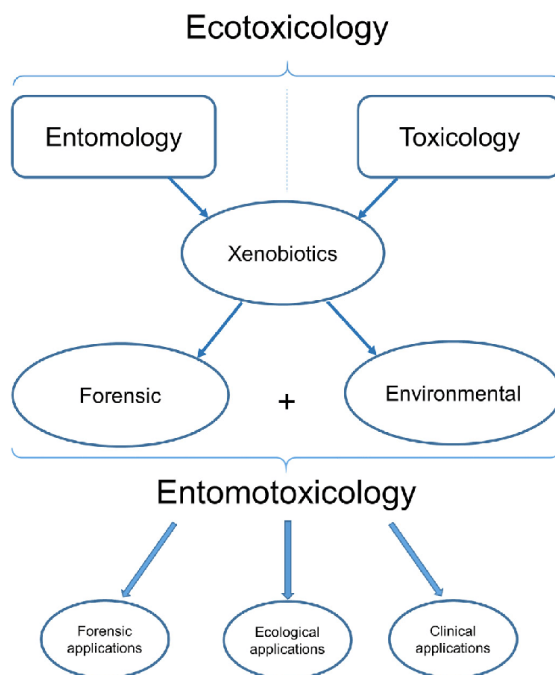
- Temperatura površine zemlje koje se dobijaju postavljanjem termometra na površinu tla.
- Temperatura površine tela postavljanjem termometra na gornju površinu tela.
- Temperatura ispod površine tela postavljanjem termometra između tela i površine tla.
- Temperatura same mase larvi umetanjem termometra u središte mase (slika 90). Treba voditi računa da se ostaci leša ne oštete.
- Temperatura tla izmerena neposredno nakon uklanjanja tela na zemljištu koje se nalazilo ispod ostataka pre njihovog uklanjanja.



Slika 90. Merenje temperature u agregaciji larvi muva.

11. Entomotoksikologija

U forenzičkoj entomologiji, termin entomotoksikologija označava analizu toksina nagomilanih u telu zglavkara (uglavnom dvokrilcima i tvrdokrilcima) koji se hrane strvinom. Entomotoksikologija je potpolje ekotoksikologije i može se podeliti na forenzičku i ekološku entomotoksikologiju na osnovu rezultata (slika 91).



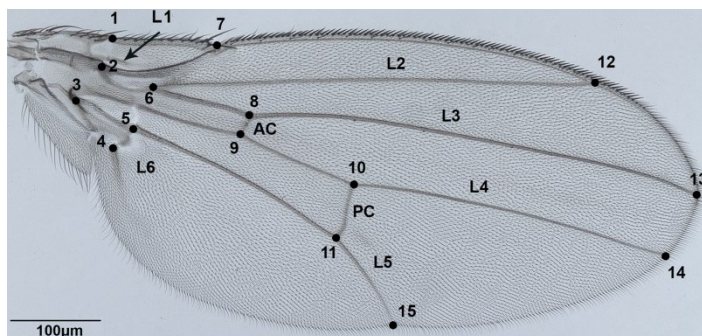
Slika 91. Reorganizacija koncepta entomotoksikologije.

Koristeći zglavkare pronađene na i u lešu, takođe i na mestu zločina, istražitelji mogu utvrditi da li su toksini bili prisutni u telu u trenutku smrti. Ova tehnika je veliki napredak u forenzici; ranije slična istraživanja nisu bila moguća u slučaju teško razgrađenih tela. Trenutna istraživanja uticaja toksina na razvoj zglavkara, takođe, omogućila su bolje procene postmortem intervala.

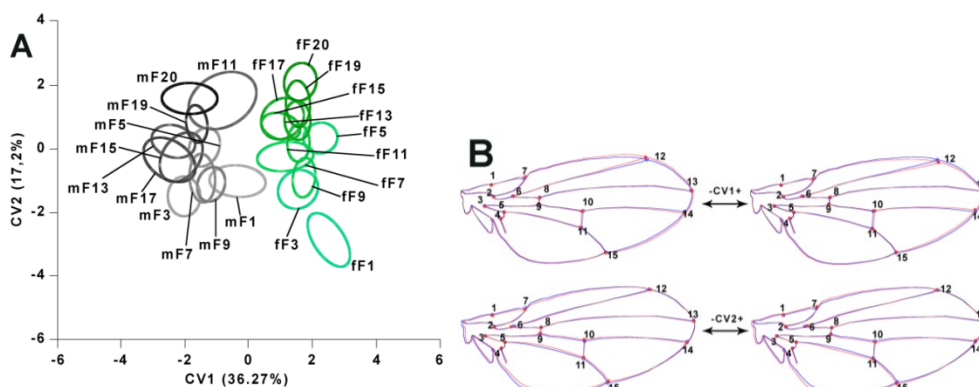
Šta je potrebno uraditi? Detektovati toksine u pronađenim insektima i utvrditi sve efekte toksina na razvoj insekata. Lekovi mogu imati različite efekte na stope razvoja zglavkara. Morfin, heroin, kokain i metamfetamin su često umešani u slučajeve kada se koristi forenzička entomologija za razrešavanje nekog slučaja iz domena kriminalistike.

Faze rasta insekata pružaju osnovu za utvrđivanje uzroka u izmenjenim ciklusima kod određene vrste. Promena načina ili trajanja određene faze razvoja insekta često može ukazivati na prisustvo toksina u strvini kojom se insekti hrane. Tvrdokrilci i njihov izmet često se koriste u entomotoksikologiji, ali prisustvo toksina je često i rezultat hranjenja tih tvrdokrilaca larvama muva koje su se prethodno hranile strvinom koja sadrži otrovne materije.

Ipak, u forenzici se načešće analiziraju dvokrilci, larve, ali i odrasli (Gagliano-Candela & Aventaggiato (2001). Efekte toksina je moguće analizirati i primenom metode geometrijske morfometrije na oblik i veličinu krila kod mnogih vrsta. Kada se uporede rezultati sa kontrolnom grupom, mogu se detektovati mnoge aberacije 92 i 93). Na ovu temu, već se objavljuju naučni članci (Cvetković et al., 2020).



Slika 92. Krljo *Drosophila melanogaster* (Drosophilidae) sa postavljenim referentnim tačkama koje će se upoređivati primenom geometrijske geometrije.



Slika 93. Rezultati geometrijske morfometrije dve upoređene grupe.

Studijom larvi vrste *Sarcophaga tibialis* (Diptera: Sarcophagidae) utvrđeno je da na primer, barbiturati povećavaju dužinu larvalnog stadijuma kod muva, što će na kraju prouzrokovati povećanje vremena potrebnog za dostizanje stadijuma lutke (Musvasva et al., 2001).

Smatralo se da morfijum i heroin usporavaju brzinu razvoja muva (Carvalho et al., 2001; Introna et al., 2001). Međutim, pažljivije ispitivanje efekata heroina na razvoj muva pokazalo je da on zapravo ubrzava rast larvi, a zatim smanjuje stopu razvoja stadijuma lutki. Heroin zapravo povećava ukupni vremenski razvoj od jajeta do odrasle jedinice. Istraživanjem vrste *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae), uzgajane na različitim koncentracijama morfijuma ubrizganim u meso, pronađene su veće koncentracije morfijuma u egzuvijama lutke nego kod odraslih Bourel et al., (2001). Kokain i metamfetamin takođe ubrzavaju brzinu razvoja muve (Introna et al., 2001).

12. Molekularne metode u forenzičkoj entomologiji

Molekularna analiza je još jedna od metoda koja se može iskoristiti u forenzičkim istraživanjima. Alati za molekularnu biologiju povećali su sposobnost forenzičara da okarakterišu biološke dokaze do tačke u kojoj je moguće analizirati male uzorke i postići visok nivo individualizacije. Na osnovu rezultata, osim što se može utvrditi identitet mrtve osobe, kao i eventualne ubice, moguće je otkriti i identitet artropodne faune pronađene na istraživanom mestu. Znanje o markerima koji se mogu upotrebiti raste i sve ih je više. Ovo

uključuje: obradu uzoraka sa povećanjem broja analiziranih uzoraka odjednom, kao i prikaz rezultata sa poboljšanjem kvaliteta. Takođe, uključuje korišćenje genetskih informacija i novih markera za pružanje istražnih zaključaka, kao i poboljšanje automatizacije pomoću robotike, različitih hemikalija i boljih softverskih alata. Zatim, korišćenje alternativnih platformi za detektovanje DNK u uzorcima; razvoj integrisanih mikrofluidnih/mikroproduktivnih uređaja za obradu DNK uzoraka sa većom propusnošću, bržim vremenom obrtanja, manjim rizikom od kontaminacije, smanjenom radnom snagom i manjom potrošnjom materijala (dokaznih uzoraka). Na kraju, poboljšano očitavanje DNK sekvence. Svakako, uočeni su nedostaci u znanju, ali su iz dosadašnjih analiza primećeni i novi pravci u kojima će molekularna biologija verovatno voditi polje forenzike (Budowle & van Daal, 2009).

12.1 Prikupljanje i konzerviranje materijala

Za prikupljanje materijala za molekularnu analizu, vrlo je bitno stići na vreme na lice mesta i pravilno sakupiti uzorke. Možda najvažniji korak za istražitelja smrti je da što pre ubije i sačuva reprezentativni uzorak insekata povezanih s lešom.

Postoji određena fleksibilnost u pogledu metoda konzerviranja, ali DNK koja će biti od koristi se obično može izvući iz insekata koji su konzervirani pomoću 95% etanola, ili zamrzavanjem, ili oboje. Konzervans koji sadrži formaldehid (formalin) ne treba koristiti, tako da na eventualne prikupljene uzorke čuvane u ovom konzervansu ignorisati. Ako etanol ili zamrzivač nisu odmah dostupni, uzorci se mogu ohladiti, na primer, ledom iz najbliže prodavnice hrane ili limenkama bezalkoholnih pića iz automata i održati hladnim za transport do laboratorije. Plastična kutija 10x10 mesta, takozvani krioboks (eng. cryobox) je idealan za skladištenje uzoraka u zamrzivaču (Slika XX). Niska temperatura, npr -20°C obezbeđuje duži vek uzoraka koji se mogu iskoristiti za kasniju izolaciju DNK. Insekti se u ovom slučaju moraju staviti u specijalne plastične mikrotubice od 2 ml koje staju u krioboks (slika 94). One imaju navoje sa gumenim prstenom u poklopcu radi osiguranog zaptivanja. Neki forenzički entomolozi preporučuju ubijanje crva blanširanjem u vrućoj vodi. Ova tehnika ne bi trebalo da ometa DNK analizu.



Slika 94. a) krioboks za 100 uzoraka, b) plastična mikrotubica.

Crvi pronađeni u odsustvu leša mogu još uvek imati tkivo žrtve u svojim crevima. Takvi primerci moraju se odmah ubiti i sačuvati (ili staviti na led da bi se snizio metabolizam). U suprotnom, dokazi će se svariti i izgubiti.

12.2 Ekstrahovanje DNK iz uzoraka

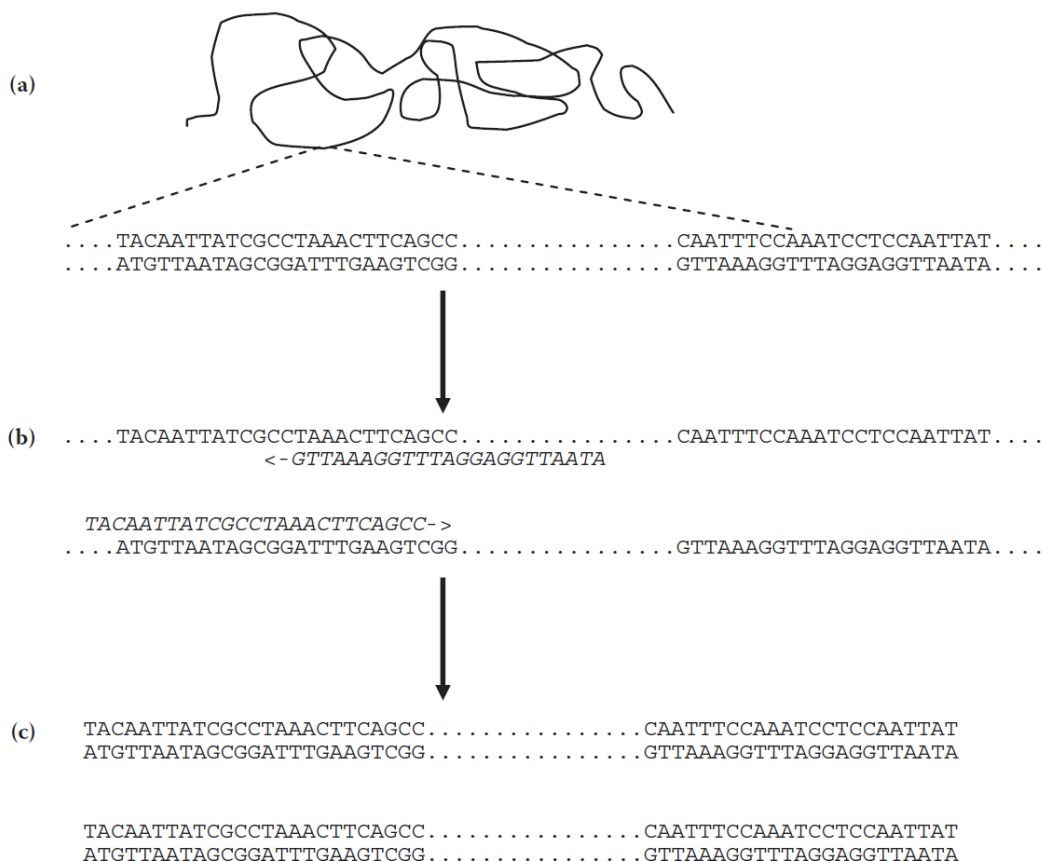
Pre ekstrakcije DNK iz insekta, u zavisnosti od same veličine i stadijuma jedinke, one se moraju disekovati. U najvećem broju slučajeva, dovoljno je iskoristiti nogu insekta, ali kod manjih jedinki može se koristiti i cela. U tom slučaju se punktiraju grudi, ređe glava, Trebalo bi izbegavati disekciju abdomena, zbog kontaminiranja sadržajem iz creva. Inače, forenzički uzorci mogu sadržati i „zagađujuće“ čestice iz okoline koji inhibiraju amplifikaciju ciljane DNK sekvence PCR metodom. Čak i kada postoji dovoljno željenih DNK molekula za konvencionalnu analizu, može doći do grešaka zbog prisustva inhibitora PCR; u suštini, efikasan broj DNK molekula za PCR je smanjen.

Za ekstrakciju DNK se najčešće koristi komplet, odnosno kit za izolaciju DNK. U opticaju je npr. KAPA kit za izolaciju DNK. To termostabilni sistem proteaze i pufera koji omogućava ekstrakciju DNK za samo 15 minuta, nakon čega se odmah može početi sa PCR procesom. Ekstrakcija DNK se izvodi u samo jednoj epruveti čime se značajno smanjuje rizik od gubitka uzorka i kontaminacije.

Ako se u uzorku testira više uzoraka, ili više vrsta, pomešana DNK razdvaja se pomoću prajmera specifičnog za vrstu.

12.3 PCR i DNK amplifikacija

Kada se ekstrahuje i izoluje, uzorak DNK prolazi kroz PCR protokol, gde dolazi do uvećanja mase ciljanog segmenta DNK (slika 95).



Slika 95. Šematski dijagram procesa lančane reakcije polimeraze.

Tehnologija genotipizacije lančane reakcije pre-polimeraze, poznata kao PCR, generisala je podatke o sekvenci mitohondrijalne DNK (mtDNK) za mnoge muve. Pojava PCR tehnologije (Sakai et al., 1988), direktnog sekvenciranja PCR proizvoda (Hillis et al., 1996) i univerzalnih PCR prajmera, onih koji deluju na veliki broj taksona (npr. Kocher et al., 1989), učinilo je relativno lakim stvaranje molekularno-genetičkih podataka za mnoge vrste koje nikada ranije nisu bile ispitivane.

a) Dugački molekuli DNK, ekstrahovani iz eksperimentalnog uzorka, pomešani su u rastvoru sa hemijskim sastojcima za replikaciju DNK. Tipična meta je mali deo DNK, označen isprekidanim linijama.

b) Dvolančana DNK uzorka je toplotom podeljena na pojedinačne lance, omogućavajući kratkim lancima DNK (prajmeri), da se kreću do dužih lanaca. Jedina prikazana DNK sekvenca su prajmeri i mesta postavljanja prajmera. Obično su dva početna mesta udaljena nekoliko stotina baza. Enzim koji sintetiše DNK, označen strelicom, izgradiće novi molekul DNK iz prajmera, koristeći lanac uzorka kao šablon.

c) Na kraju prethodnog koraka, napravljene su dve kopije DNK regiona definisanog prajmerima. Proces se ponavlja možda dvadeset pet do trideset pet puta, pri čemu se količina ciljane DNK svaki put približno udvostruči.

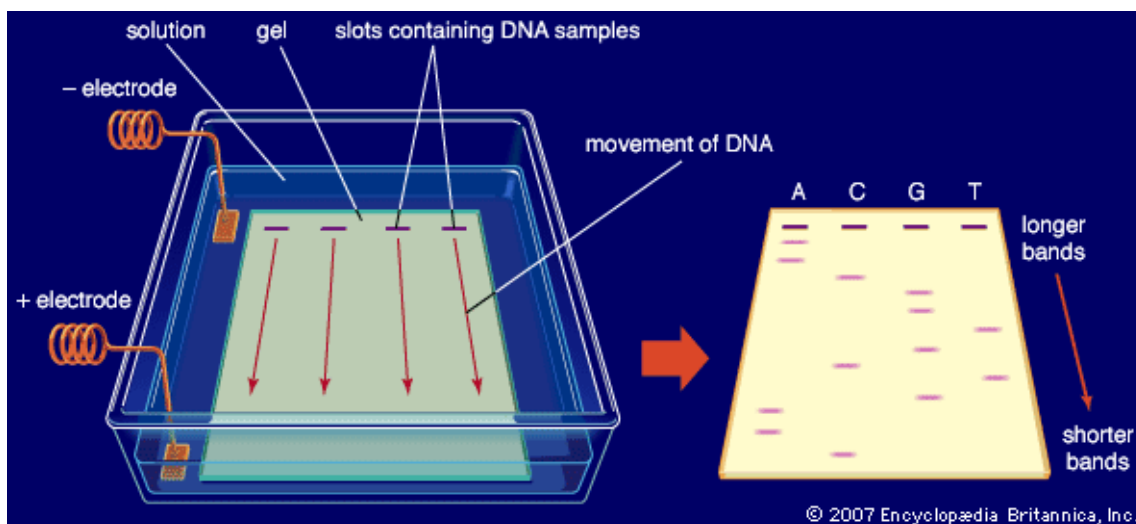
Lančana reakcija polimeraze je u potpunosti iskoristiva za analizu insekata vezanih za leš, jer je najveći broj insekata moguće podvrgnuti metodi. Sperling i sar. (1994) su prvi predložili DNK dijagnostički test za forenzički važne insekte. Oni su direktno sekvencirali mtDNK gene za podjedinice citohrom c oksidaze jedan i dva (COI + II), takozvane barkoding sekvence. Takođe, deponovali su podatke o očitanim sekvencama da bi se razlike među vrstama insekata mogle komparirati. Ipak, okarakterisali su samo tri vrste muva: *Protophormia terraenovae*, *Lucilia (Phaenicia) sericata* i *L. illustris*. MtDNK je haploidna, javlja se u mnogo većem broju kopija po ćeliji u poređenju sa nuklearnom DNK (nuDNK), i životinjska mitohondrijalna DNK ima relativno stabilan raspored polimorfnih gena koji kodiraju proteine visoko konzerviranih RNK gena.

12.4 Identifikacija insekata bazirana na COI sekvenci

Barkodiranje DNK je metoda identifikacije vrsta pomoću kratkog segmenta DNK određenog gena. Pretpostavka DNK kodiranja je da se pojedinačna sekvenca može koristiti za identifikaciju organizma na nivou vrste. Ova metoda se može uporediti sa barkodovima odštampanim na proizvodima u prodavnicama koje očitava skener. Ovi barkodovi se često koriste u taksonomiji. Na osnovu baze sekvenci koja se svakodnevno dopunjuje novim sekvencama pravi se svojevrsan katalog koji služi pronalaženju identične sekvence. Takođe, mogu se uporediti prethodni statusi taksona koji su idnetifikovani tradicionalnom taksonomijom u nastojanju da se odrede granice vrsta. Treba naglasiti da je 5' kraj COI je predloženi univerzalni DNK bar-kod za životinje (Herbert et al., 2003; Rubinoff et al., 2006).

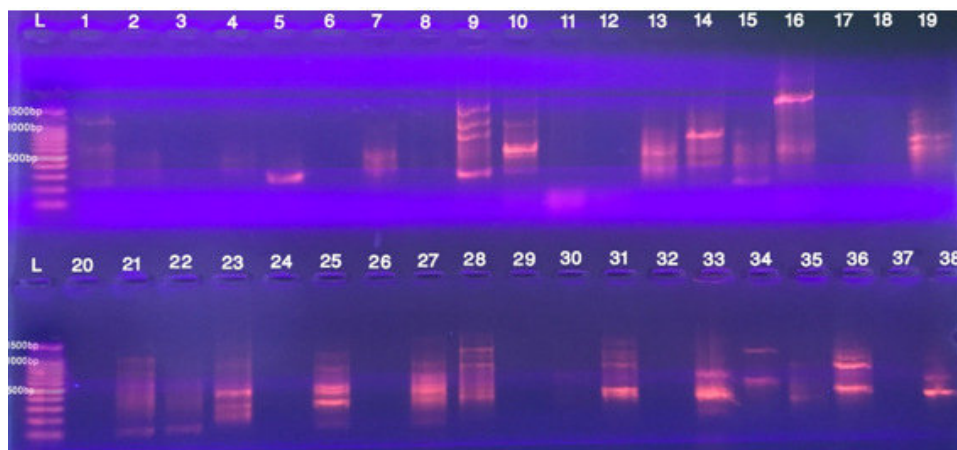
12.4.1 Provera amplifikacije DNK

Za proveru veličine kopiranih fragmenata DNK koristi se metoda elektroforeze. Testira se da li ima dovoljno upotrebljive DNK za kasniju analizu, tj. sekvenciranje DNK. Elektroforeza na gelu od agaroze je najefikasniji način razdvajanja fragmenata DNK različitih veličina u rasponu od 100 bp do 25 kb. Agarozna je izolovana iz morskih algi *Gelidium* i *Gracilaria* i sastoji se od ponovljenih podjedinica agarobioze (L- i D-galaktoza). Za razdvajanje DNK pomoću elektroforeze u agaroznom gelu, DNK se ubacuje u prethodno izlivenne jamice (bunari) u gelu i ceo sistem se priključuje na struju (slika 96).



Slika 96. Kadica za elektroforezu.

Fosfatna okosnica molekula DNK (i RNK) je negativno naelektrisana, pa će, kada se stave u električno polje, fragmenti DNK migrirati na pozitivno naelektrisanu anodu. Pošto DNK ima ujednačen odnos masa/naelektrisanje, molekuli DNK se kreću i razdvajaju po veličini unutar agaroznog gela. Nakon razdvajanja, molekuli DNK se mogu vizualizovati pod UV svetlom nakon bojenja odgovarajućom bojom (slika 97).

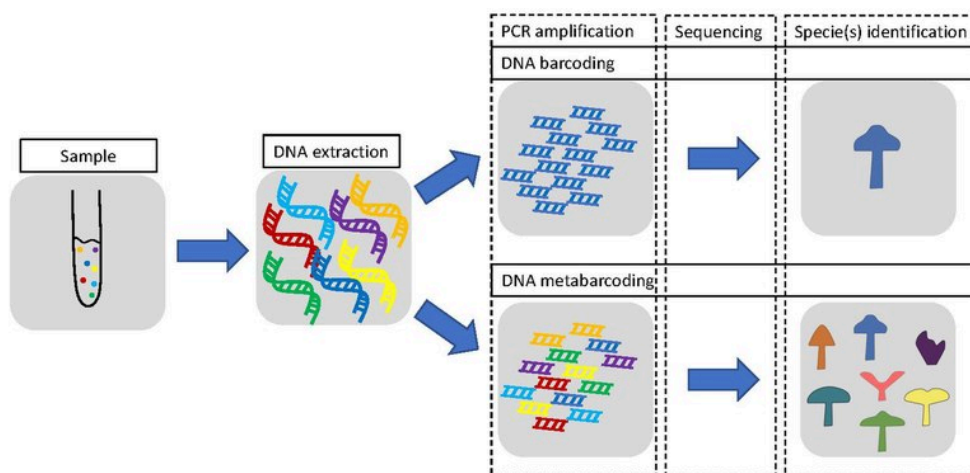


Slika 97. Rezultati elektroforeze na gelu slikani pod UV zracima.

Brzina migracije molekula DNK kroz gel određena je mnogim faktorima: veličinom molekula DNK, koncentracijom i tipom agaroze, prisustvom etidijum bromida, naponom struje i drugo.

12.4.2 Metabarkodiranje

Metabarkodiranje je barkodiranje DNK ili RNK na način koji omogućava istovremenu identifikaciju mnogih taksona unutar istog uzorka. Glavna razlika između barkodiranja i metabarkodiranja je u tome što se metabarkodiranje ne fokusira na jedan određeni organizam, već ima za cilj utvrđivanje sastava vrsta unutar uzorka (slika 98). Zbog toga je ovo idealna metoda kada su hidrobiološka ispitivanja zajednica makrozoobentosa u pitanju. Samim tim, metoda je visoko iskoristiva i za utvrđivanje identiteta vodenih organizama vezanih za potopljena tela koja forenzičari istražuju.

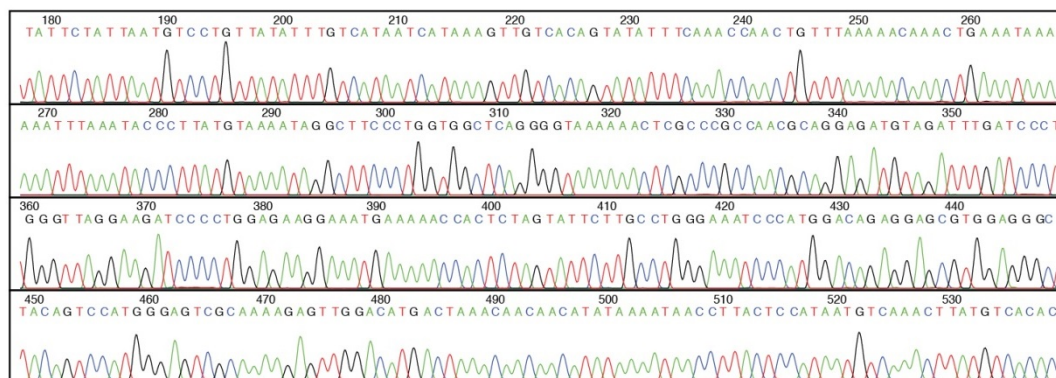


Slika 98. Barkodiranje i metabarkodiranje.

Postupak samog metabarkodiranja sa zasniva na uobičajenom barkodiranju. Dakle, prolazi kroz faze ekstrakcije DNK, PCR amplifikacije, sekvenciranja i analize podataka. Barkod se sastoji od kratkog promenljivog genskog regiona koji je koristan za taksonomsku identifikaciju. U zavisnosti od toga da li je cilj barkodiranje jedne vrste ili metabarkodiranje više vrsta, koriste se različiti geni. U ovom drugom slučaju koristi se univerzalniji gen koji poseduju mnogi organizmi. Metabarkodiranje ne koristi DNK/RNK jedne vrste kao polaznu tačku, već DNK/RNK iz više različitih organizama iz jednog mešovitog uzorka.

12.4.3 Sekvenciranje

Sekvenciranje DNK je proces čitanja sekvence nukleinske kiseline, tj. redosleda nukleotida u DNK lancu. Uključuje bilo koju metodu ili tehnologiju koja se koristi za očitavanje redosleda nukleotida, odnosno redosleda četiri baze: adenina, guanina, citozina i timina (ukoliko se radi o DNK). Poznavanje DNK sekvenci postalo je neophodno za osnovna biološka istraživanja i u brojnim primenjenim oblastima kao što su medicinska dijagnoza, biotehnologija, biološka sistematika, virusologija kao i forezička biologija. DNK sekvenciranje može se koristiti zajedno sa metodama DNK profilisanja za forezičku identifikaciju i testiranje očinstva. Uzorci DNK sačuvani su u otiscima prstiju, pljuvački, folikulima kose itd. Prikaz rezultata sekvenciranja prikazan je na slici 99.



Slika 99. DNK sekvenca dobijena iz automatske mašine za sekvenciranje.

Nakon dobijanja DNK sekvence pristupa se njenom upoređivanju sa istom sekvencom u banci gena, ukoliko je neko već ranije deponovao. U bioinformatičari, BLAST (basic local alignment search tool), prevedeno: osnovni alat za pretraživanje lokalnog poravnanja) (Casey, 2005) je algoritam i program za poređenje informacija o primarnim biološkim sekvencama, kao što su aminokiselinske sekvence proteina ili nukleotidi sekvenci DNK i/ili RNK. BLAST pretraživanje omogućava istraživaču da uporedi predmetnu sekvencu proteina ili nukleotidne sekvence (koja se naziva upit) sa bibliotekom ili bazom podataka o sekvencama. Ulazna sekvenca mora biti obrađena i prevedena u FASTA ili Genbank format.

Na ovaj način, vrlo je moguće proveriti prethodnu identifikaciju insekata koja je urađena na osnovu njihove morfologije.

12.4.4 Pirosekvenciranje

Tehnološki napredak u molekularnoj biologiji je izuzetno brz i teško je predvideti metode koje će biti uobičajena praksa samo za nekoliko godina. Međutim, dve nove tehnike genotipizacije, koje se već rutinski koriste u drugim oblastima, poput medicinske genetike, izgledaju posebno pogodne za forenzičku identifikaciju insekata. Jedna od njih je prosekvenciranje.

To je metoda sekvenciranja DNK koja se temelji na principu „sekvenciranja sintezom“, u kojoj se sekvenciranje vrši otkrivanjem nukleotida ugrađenih DNK polimerazom. Oslanja se na detekciju nukleotida pomoću svetlosti, baziranoj na principu lančane reakcije u kojoj se oslobađa pirofosfat. Ovom metodom se određuju sekvence kratkih segmenata DNK (<100 baza). DNK uzoraka se kopira, a identitet svakog nukleotida (tj. sekvence) ugrađenog u sintetizovani lanac beleži se u realnom vremenu, nije potreban PCR ili elektroforeza, a nakon što se ekstrahuje uzorak DNK, može se izvršiti veliki broj analiza pirosekvenciranja u roku od nekoliko minuta po relativno niskim troškovima.

13. Slučajevi

U poslednjem poglavlju ove knjige biće predstavljeno nekoliko slučajeva razrešenja vremena, načina ili mesta smrti određene osobe, koristeći sva prethodno stečena znanja iz različitih sfera forenzičke nauke.

13.1 Slučaj „crvena čarapa“

Benecke (2004) je izvestio o ubistvu iz pedesetih godina prošlog veka koje je uključivalo slučaj larvi tulara (najverovatnije vrste *Limnophilus flavicornis*) koje se odnosilo na vlakna crvenih čarapa koje je nosila preminula osoba. Međutim, vlakna su pronađena samo na samom vrhu i na dnu kućice, što ukazuje na to da je larva tulara većim delom već imala napravljenu kućicu, a zatim je dovršavala na lešu. Na to ukazuju vlakna upletena na vrhu kućice, a nakon tog uplitanja, kućicu je pričvrstila za samu crvenu čarapu na šta ukazuju vlakna na dnu kućice. S

obzirom da postupak vezivanja traje nekoliko dana, procenjeno je da je telo bilo u vodi najmanje nedelju dana.

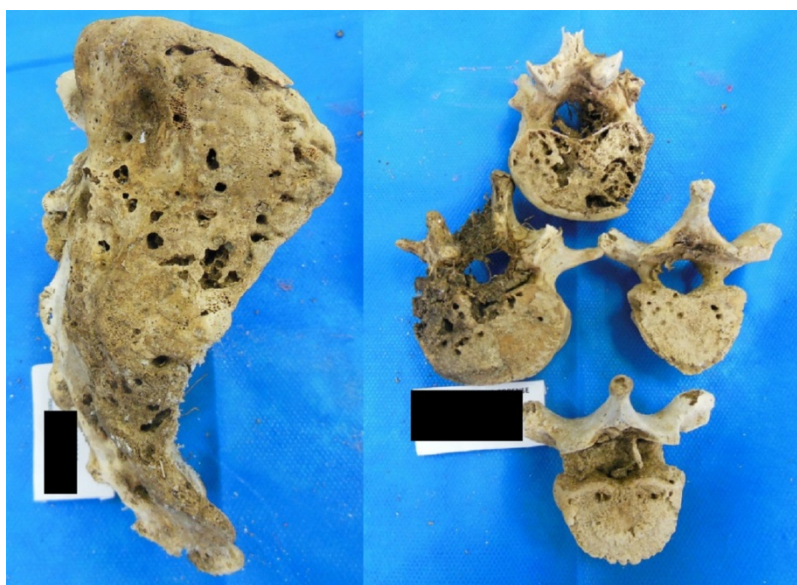
13.2 Mumija deteta i grinje

Godine 1879, mnogo pre nego što su TV emisije poput CSI i Bones stvorile generaciju forenzičkih entomologa iz fotelje, Jean Pierre Megnin, jedan od prvih naučnika koji je koristio dokaze o insektima kao pomoć u istragama smrti, ispitivao je isušeno telo ženskog deteta pronađenog na praznom mestu u Parizu.

„Mumija deteta o kome je reč prekrivena je slojem finog smeđeg praha koji se sastojao isključivo od egzuvija grinja, kao i njihovih fekalija. Na površini tela nije bilo nijedne žive grinje, ali unutar lobanje je još uvek je bila velika, aktivna kolonija. Sve ove grinje pripadaju jednoj vrsti *Tyroglyphus longior*. Kolonije grinja i crvi pronađeni na lešu dokazuju da je vreme smrti mumije približno između šest i osam meseci.

13.3 Termiti na nefosilizovanim ljudskim kostima

Cilj ove studije bio je da opiše prve zapise aktivnosti termita na nefosilizovanim ljudskim kostima pronađeni u Brazilu. Slučajevi zabeleženi u ovoj studiji proizašli su iz forenzičke analize šest ljudskih skeleta pronađenih na severoistoku Brazila između 2012. i 2014. Tragovi tunela i gnezda koja su često proizvodili termiti pronađeni su na nekoliko površina ljudskih kostiju, kao i primerci i karakteristični znaci osteofagne aktivnosti. U četiri slučaja identifikovane su vrste: *Amitermes amifer*, *Nasutitermes corniger* (na dva kostura) i *Microcerotermes indistinctus*. U druga dva slučaja aktivnost termita na površini kostiju dokazivali su ostaci gnezda i tuneli koje su ovi insekti proizveli na kostima (slika 100). U uzorcima ljudskih ostataka dostupnih za ovaj izveštaj, broj sakupljenih termita bio je veći na kostima pronađenim tokom jeseni, kišne sezone na severoistoku Brazila.



Slika 100. Tragovi delovanja termita na kostima.

Ispitane ljudske kosti u ovom slučaju pokazale su da su termiti insekti sa velikom značajem pri degradaciji kostiju, sposobnim da nastave proces razgradnje ljudskih ostataka čak i u potpuno skeletizovanim telima.

13.4 Triazolam i smrt 22-godišnje žene

Ovo je slučaj upotrebe ekotoksikologije u rezešavanju PMI i uzroka smrti. Otkako su J. C. Beier i njegovi partneri 1980. godine prvi put pokazali mogućnost da se toksini mogu ekstrahovati iz crva koji se hrane ljudskim ostacima, upotreba entomotoksikologije u istraživanjima pojavila se na polju forenzičke entomologije (Pounder, 1991). Primer jednog takvog slučaja bio je otkriće 22-godišnje žene sa istorijom pokušaja samoubistva 14 dana nakon njene smrti. Zbog uznapredovale faze razgradnje tela, ni iz jednog uzoraka tkiva ili organa nije se moglo utvrditi prisustvo toksina. Preko analize gasne hromatografije (GC) i tankoslojne hromatografije (TLC) larvi *Cochliomyia macellaria* (Diptera: Calliphoridae) pronađenih kako se hrane telom žene, otkriven je fenobarbital za koji se smatra da je bio uzrok smrti i da je prošao kroz njen probavni sistem (Introna et al., 2001).

U Francuskoj su Pascal Kintz i njegove kolege uspeli da pokažu upotrebu entomotoksikologije za otkrivanje toksina koji nisu otkriveni tokom analize telesnih tkiva i tečnosti u telu pronađenim otprilike dva meseca nakon smrti. Analiza tečne hromatografije na tkivu organa i ličinkama Calliphoridae pronađenim na mestu događaja otkrila je postojanje pet lekova legalno izdatih na recept. Triazolam je, međutim, otkriven samo u analizi crva, ali ne i u uzorcima tkiva prikupljenih iz organa. Uporedna istraživanja su pokazala povećanu osetljivost toksikološke analize uzoraka muva nego uzoraka tkiva leša. Sličan slučaj podrazumevao je otkrivanje ostataka 29-godišnjaka za kojeg se zna da je koristio drogu; poslednji put je viđen živ pet meseci ranije. Korišćenjem toksikoloških testova (GC i GC-MS), otkriveno je prisustvo kokaina u razloženom mišićnom tkivu i u crvima pronađenim na telu. Međutim, zbog prilične razgradnje mišićnog tkiva, mnogo validniji uzorci pokupljeni su iz crva kod kojih nije bilo nusproizvoda usled raspadanja tkiva.

13.5 Samoubistvo vešanjem

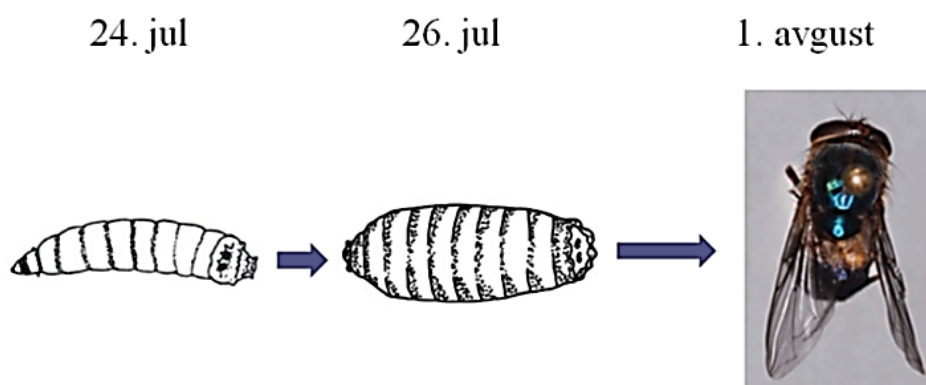
Telo 38-godišnjeg muškarca pronađeno je 23. jula 2012. u nepotpuno raspadnutom stanju. Nestanak je prijavljen 15. Jula iste godine. Forenzičkim uviđajem je utvrđeno da nema znakova borbe ili povreda na telu. Pristupilo se utvrđivanju post mortem intervala korišćenjem entomoloških podataka.

Dana 24. jula ekipa forenzičara izvršila je uviđaj mesta na kome je telo pronađeno. Uzorkovano je zemljište na kome se telo raspadalo kao i zemljište iz bliže okoline. Laboratorijski je analizirano 300 larvi Diptera u trećem stupnju (L3) larvalnog razvoja, od kojih je 287 pripadalo familiji Calliphoridae, dok je 13 jedinki pripadalo familiji Sarcophagidae. Ukupno 179 jedinki kaliforida je ubijeno u vreloj vodi i fiksirano u 80% etanolu, a ostale jedinice su sačuvane žive i odgajene do adulta. Od 13 jedinki sarkofagida, 9 ubijeno, 4 ostavljeno za odgajanje. Larve su

Slučajevi

hranjene trulom govedinom, čuvane na temperaturi od 27.5°C ($\pm 1^\circ\text{C}$) i 75% relativne vlažnosti vazduha, što je prema Nacionalnom meteorološkom institutu (IMMET) odgovaralo lokalnoj klimi. Takođe, pronađeno je 7 odraslih jedinki i 10 larvi (L1-L3) vrste *Oxelytrum cayennense* (Silphidae).

Larve kaliforida su identifikovane kao *Hemilucilia segmentaria*, koja je već opisana kao vrlo pouzdana u razrešavanju forenzičkih slučajeva. 20 adulata ove muve smatrani su najstarijim uzorcima te vrste pronađenim na lešu. Prema de Souza et al. (2012) vreme razvoja adulta iz jajeta traje 10-11 dana na temperaturi $28.03 \pm 1.60^\circ\text{C}$ (slika 101). Prema tome, period aktivnosti ove vrste (PIA) počinje 21. jula.



Slika 101. Vreme razvoja *Hemilucilia segmentaria* od L3 do adulta.

Međutim, postoji mogućnost i da *H. segmentaria* ne predstavlja najstarijeg insekta koji se našao u uzorku, pre svega, jer lutke nisu bile prisutne na mestu uzorkovanja. Odsustvo lutki povezano je sa nepotpuno raspadnutim telom, nedostatkom resursa zbog kompeticije sa *O. cayennense*. Pronađeno je da su larve muve bile napadnute od adultnih jedinke silfida (posmatrano je ponašanje insekata u ovom slučaju)

Zaključak:

- Prisustvo L2 i L3 larvi *O. cayennense* ukazuje da je do kolonizacije ove vrste silfida došlo pre 18.-19. jula minimum (slika 102).
- Postoji mogućnost da je do samoubistva došlo na dan prijave nestanka žrtve (maksimum PMI)
- Uzrok razlike max i min može biti zbog vremena koje je prošlo od momenta kada su muve sletele na telo i položile jaja na leš do razvića u stupanj L3.

Osnovi forenzike u ekologiji akvatičnih insekata

Date	<i>Hemilucilia segmentaria</i>	PIA	<i>Oxelytrum cayennense</i>	PIA
15/07/2012				
16/07/2012				
17/07/2012				
18/07/2012*				6*
19/07/2012*				5*
20/07/2012				4
21/07/2012*		11*		3
22/07/2012		10		2
23/07/2012		9		1
24/07/2012#	L3#	8	L1-L3#	
25/07/2012		7		
26/07/2012	Pupae	6		
27/07/2012		5		
28/07/2012		4		
29/07/2012		3		
30/07/2012		2		
31/07/2012		1		
01/08/2012	Adult			
02/08/2012				

Slika 101. Usporedni pregled razvića *H. segmentaria* i *O. cayennense*.

Literatura

- Borror, D. J., & White, R. E. (1970). *A field guide to insects: America north of Mexico* (Vol. 19). Houghton Mifflin Harcourt.
- Bourel, B., Tournel, G., Hedouin, V., Deveaux, M., Goff, M. L., & Gosset, D. (2001). Morphine extraction in necrophagous insects remains for determining ante-mortem opiate intoxication. *Forensic Science International*, 120(1-2), 127-131.
- Budowle, B., & Van Daal, A. (2009). Extracting evidence from forensic DNA analyses: future molecular biology directions. *Biotechniques*, 46(5), 339-350.
- Carvalho, L. M., Linhares, A. X., & Trigo, J. R. (2001). Determination of drug levels and the effect of diazepam on the growth of necrophagous flies of forensic importance in southeastern Brazil. *Forensic Science International*, 120(1-2), 140-144.
- Casey, R. M. (2005). BLAST sequences aid in genomics and proteomics. *Business Intelligence Network*.
- Chin, H. C., Kurahashi, H., Marwi, M. A., Jeffery, J., & Omar, B. (2011). Opportunistic insects associated with pig carrions in Malaysia. *Sains Malaysiana*, 40(6), 601-604.
- Crandall, K. A. (2010). *Procambarus clarkii*. *The IUCN Red List of Threatened Species*. IUCN, 2010-3.
- de Souza, E. R., Rafael, J. A., Xavier Filho, F. F., Da-Silva-Freitas, J. O., Oliveira-Costa, J., & Ururahy-Rodrigues, A. (2014). First medicolegal forensic entomology case of central Amazon: a suicide by hanging with incomplete suspension. *EntomoBrasilis*, 7(1), 12-15.
- Cummins, K. W. (1964). Factors limiting the microdistribution of larvae of the caddisflies *Pycnopsyche lepida* (Hagen) and *Pycnopsyche guttifer* (Walker) in a Michigan stream (Trichoptera: Limnephilidae). *Ecological Monographs*, 34(3), 271-295.
- Dijkstra, K. D. B., Monaghan, M. T., & Pauls, S. U. (2014). Freshwater biodiversity and aquatic insect diversification. *Annual review of entomology*, 59, 143-163.
- Gagliano-Candela, R., & Aventaggiato, L. (2001). The detection of toxic substances in entomological specimens. *International Journal of Legal Medicine*, 114(4), 197-203.
- Hury, A. D. (2009). *Aquatic Insects—Ecology, Feeding, and Life History*.
- Introna, F., Campobasso, C. P., & Goff, M. L. (2001). Entomotoxicology. *Forensic science international*, 120(1-2), 42-47.
- Irwin, M. E., Schlinger, E. I., & Thompson, F. C. (2003). Diptera, true flies. *The Natural History of Madagascar/Goodman, SM and Benstead, JP*.
- Majka, C. G. *A guide to the Cleridae of Atlantic Canada*. 2006.

- Martin, J. E. (1977). *Collecting, preparing, and preserving insects, mites, and spiders*. Part 1. The insects and arachnids of Canada. Canadian Department of Agriculture publication 1643. 182 pp.
- Musvasva, E., Williams, K. A., Muller, W. J., & Villet, M. H. (2001). Preliminary observations on the effects of hydrocortisone and sodium methohexital on development of *Sarcophaga (Curranella) tibialis* Macquart (Diptera: Sarcophagidae), and implications for estimating post mortem interval. *Forensic science international*, 120(1-2), 37-41.
- Pascali, J. P., Viel, G., Cecchetto, G., Pigaiani, N., Vanin, S., Montisci, M., & Fais, P. (2020). The Red Swamp Crayfish *Procambarus Clarkii* (the Louisiana Crayfish) as a Particular Scavenger on a Human Corpse. *Journal of forensic sciences*, 65(1), 323-326.
- Payne, J. A., & King, E. W. (1972). Insect succession and decomposition of pig carcasses in water. *Journal of the Georgia Entomological Society*, 7(3), 153-162.
- Pererson, A. (1953). A Manual of entomological Techniques. *A Manual of entomological Techniques.*, (7th edn).
- Pimsler, M. L., Owings, C. G., Sanford, M. R., OConnor, B. M., Teel, P. D., Mohr, R. M., & Tomberlin, J. K. (2016). Association of *Myiobia muscarum* (Acari: Histioglyphidae) with *Synthesiomyia nudiseta* (Wulp)(Diptera: Muscidae) on human remains. *Journal of medical entomology*, 53(2), 290-295.
- Pounder, D. J. (1991). Forensic entomo-toxicology. *Journal of the Forensic Science Society*, 31(4), 469-472.
- Schauff, M. E. (Ed.). (2001). *Collecting and preserving insects and mites: techniques and tools*. Systematic Entomology Laboratory, USDA.
- Schuldt, J. A., & Hershey, A. E. (1995). Effect of salmon carcass decomposition on Lake Superior tributary streams. *Journal of the North American Benthological Society*, 14(2), 259-268.
- Schoenly, K., M. L. Goff, J. D. Wells, and W. D. Lord. 1996. Quantifying statistical uncertainty in succession-based entomological estimates of the postmortem interval in death scene investigations: A simulation study. *American Entomologist* 42(2):106-12.
- Sorg, M. H., Dearborn, J. H., Monahan, E. I., Ryan, H. F., Sweeney, K. G., & David, E. (1997). Forensic taphonomy in marine contexts. In *Forensic taphonomy: The postmortem fate of human remains* (pp. 567-604). CRC press.
- Stewart, K. W., and P. P. Harper. 1996. Plecoptera. In *An introduction to the aquatic insects of North America*, ed. R. W. Merritt and K. W. Cummins. 3rd ed. Dubuque, IA: Kendall/Hunt Publishing Co., 217-66.
- Wang J, Li Z, Chen Y, Chen Q, Yin X. 2008. The succession and development of insects on pig carcasses and their significances in estimating PMI in south China. *Forensic Science International*, 179: 11-18.

