

---

# BACHELORARBEIT

---

Frau

**Michelle Göppinger**

**Die Ovarienentwicklung der  
forensisch relevanten  
Schmeißfliegenart *Calliphora  
vicina* bei differierender  
Proteinverfügbarkeit**

Mittweida, 2023



Fakultät Angewandte Computer- und  
Biowissenschaften

---

## **BACHELORARBEIT**

---

# **Die Ovarienentwicklung der forensisch relevanten Schmeißfliegenart *Calliphora vicina* bei differierender Proteinverfügbarkeit**

Autor:

**Frau**

**Michelle Göppinger**

Studiengang:

**Allgemeine und Digitale Forensik**

Seminargruppe:

**Fo19w1-B**

Erstprüfer:

**Herr Prof. rer. nat. Dirk Labudde.**

Zweitprüfer:

**Herr apl. Prof. Dr. phil. nat. Jens Amendt**

Einreichung:

**Mannheim, 09.04.2023**

Verteidigung/Bewertung:

**Mittweida, 2023**

## **BACHELORTHESIS**

---

# **The ovarian development of the forensically relevant blowfly *Calliphora vicina* at differing protein availability**

author:

**Ms**

**Michelle Göppinger**

course of studies:

**General and Digital Forensic Science**

seminar group:

**Fo19w1-B**

first examiner:

**Mr Prof. rer. nat. Dirk Labudde**

second examiner:

**Mr. apl. Prof. Dr. phil. nat. Jens Amendt**

submission:

**Mannheim, 09.04.2023**

defence/ evaluation:

**Mittweida, 2023**

## **Bibliografische Beschreibung:**

Göppinger, Michelle:

Die Ovarienentwicklung der forensisch relevanten Schmeißfliegenart *Calliphora vicina* bei differierender Proteinverfügbarkeit.- 2023.- 71S.

Mittweida, Hochschule Mittweida - University of Applied Sciences, Fakultät Angewandte Computer- und Biowissenschaften, Bachelorarbeit, 2023

## **Referat:**

Diese Arbeit untersucht die Ovarienentwicklung der forensisch relevanten Schmeißfliegenart *Calliphora vicina* bei differierender Proteinverfügbarkeit. Ein besonderes Augenmerk wird dabei auf das Vorhandensein von frühentwickelten Eiern gelegt, da diese bei der Bestimmung des postmortalen Intervalls zu Verschiebungen führen können. Obwohl dieses Phänomen bereits 1986 das erste Mal beschrieben wurde, gibt es bisher nur wenig Forschung dazu. Daher wird in dieser Arbeit untersucht, ab welcher Proteinverfügbarkeit es zu frühreifen Eiern kommt. Hierfür wurden die Entwicklung der Ovarien von frischgeschlüpfter *Calliphora vicina* über einen Zeitraum von 16 Tagen bei verschiedenen Verfügbarkeiten der Proteinquellen Rinderleber und Milchpulver beobachtet. Es konnte festgestellt werden, dass bei einer längeren Verfügbarkeit von Protein die Ovarien schneller das letzte Stadium der Entwicklung erreichten und folglich eher frühreife Eier entstanden.



# Inhalt

## Inhalt I

<b>Abbildungsverzeichnis .....</b>	<b>III</b>
<b>Tabellenverzeichnis.....</b>	<b>VI</b>
<b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>VII</b>
<b>1 Einleitung .....</b>	<b>1</b>
1.1 Zielsetzung .....	1
1.2 Kapitelübersicht .....	2
<b>2 Grundlagen .....</b>	<b>3</b>
2.1 Rechtsmedizin und rechtsmedizinische Methoden .....	3
2.2 Forensische Entomologie .....	3
2.2.1 Insektensukzession .....	4
2.2.2 Postmortales Intervall .....	6
2.2.2.1 PMI <sub>min</sub> -Bestimmung .....	6
2.3 Forensisch relevante Calliphoridae (Diptera) .....	8
2.3.1 Entwicklungszyklus (Diptera).....	9
2.3.2 Morphologie des weiblichen Reproduktionsorgans (Diptera: Calliphoridae) ...	10
2.3.3 Ovarienentwicklung .....	12
2.3.4 Oogenese .....	14
2.3.5 Ei Morphologie.....	17
2.3.6 Frühzeitig entwickelte Eier.....	18
<b>3 Materialien und Methode .....</b>	<b>20</b>
3.1 Materialien .....	20
3.1.1 Verbrauchsmaterialien.....	20
3.1.2 Lösungen und organische Materialien.....	21
3.1.3 Organismen .....	21
3.1.4 Geräte.....	22
3.1.5 Software .....	22
3.2 Methode.....	22
3.2.1 Eiablage und Aufzucht.....	22
3.2.2 Versuchsdurchführung .....	24
3.2.3 Probenentnahme und Präparation .....	25

---

<b>4</b>	<b>Ergebnis .....</b>	<b>27</b>
4.1	<i>Proteinquelle Rinderleber .....</i>	27
4.2	<i>Milchpulver .....</i>	35
4.3	<i>Vergleich der Proteinquellen .....</i>	38
<b>5</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>40</b>
5.1	<i>Proteinquelle Rinderleber .....</i>	40
5.2	<i>Proteinquelle Milchpulver .....</i>	41
5.3	<i>Implikation für die forensische Entomologie .....</i>	42
5.4	<i>Methode .....</i>	43
5.5	<i>Ausblick .....</i>	44
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>46</b>
	<b>Literatur .....</b>	<b>48</b>
	<b>Danksagung .....</b>	<b>56</b>
	<b>Selbstständigkeitserklärung .....</b>	<b>57</b>



# Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Typisches Gelege in den natürlichen Körperöffnungen einer Leiche (Amendt, Klotzbach, et al., 2004) .....	4
Abbildung 2: Sukzession adulter Anthropoden an einem menschlichen Kadaver in Tennessee. (Amendt, Krettek, et al., 2004) .....	5
Abbildung 3: Isomorphen-Diagramm einer hypothetischen Entwicklung vom Schlupf der Made bis zum Schlupf der Fliege bei 10-35°C. x-Achse: Zeit, die seit dem Schlupf der Made vergangen ist (in Stunden); y-Achse: Temperatur (in °C) (Amendt et al., 2011). .....	7
Abbildung 4: Isomegalen-Diagramm einer hypothetischen Entwicklung. X-Achse: Zeit seit der Eiablage (in Stunden); y-Achse: Temperatur (in °C). Jede Linie steht für eine Larvenlänge (in mm) (Amendt et al., 2011). .....	8
Abbildung 5: Entwicklungszyklus einer Schmeißfliege. Im Uhrzeigersinn dargestellt sind die einzelnen Stadien (Ei, ersten bis drittes Larvenstadium, Puparium, adulte Fliege) (Amendt et al., 2005) .....	10
Abbildung 6: Schematische Darstellung des inneren Reproduktionssystem (Diptera: Calliphoridae) (Avancini & do Prado, 1986).....	11
Abbildung 7: Die drei verschiedenen Klassen von Ovariolen. a = panoistisch; b = telotroph-meroistisch; c = polytroph-meroistisch(Eggert et al., 2010).....	12
Abbildung 8: Die fünf Stadien der Ovarienentwicklung (Harlow, 1956) .....	13
Abbildung 9: Ersten drei Stadien der Oogenese. Links = Stadium I; Mitte = Stadium II; Rechts = Stadium III; G = Germarium; F = Follikel (Avancini & do Prado, 1986).....	15
Abbildung 10: Viertes und fünftes Stadium der Oogenese. Links = Stadium IV; Rechts = Stadium V; Oc = Oozyte; Nu = Nährzelle (Avancini & do Prado, 1986) .....	15
Abbildung 11: Sechstes und siebtes Stadium der Oogenese. Links = Stadium VI; Rechts = Stadium VII; F2 = zweite Follikel; Fe = Follikelepithel(Avancini & do Prado, 1986) .....	16

---

Abbildung 12: Achtes und neuntes Stadium der Oogenese. Links = Stadium VIII; Rechts = Stadium IX; V = Dottermembran(Avancini & do Prado, 1986).....	17
Abbildung 13: Elektronenmikroskopische Aufnahme von einem Ei einer Calliphoridae(Thyssen, 2010).....	18
Abbildung 14: Reproduktionssystem mit einem frühreifen Ei im Gentialtrakt. Pfeil deutet auf das frühreife Ei (eigene Aufnahme) .....	19
Abbildung 15: Habitus <i>Calliphora vicina</i> (Lutz et al., 2018) .....	21
Abbildung 16: Eiablage der Laborpopulation <i>Calliphora vicina</i> in der Rechtsmedizin Frankfurt am Main. Links: Plastikbecher mit Rinderleber vor der Eiablage; Rechts: Plastikbecher mit Rinderleber nach erfolgter Eiablage (eigene Aufnahme) .....	23
Abbildung 17: Plastikeimer nach der Larvenübertragung in die Hackfleisch enthaltenden Plastikbecher. Der Boden des Eimers ist mit Kleintierstreu und Papiertücher befüllt (eigene Aufnahme). .....	24
Abbildung 18: Augenabstand zueinander als Unterscheidungsmerkmal zwischen den Geschlechtern bei der Schmeißfliegenart <i>Calliphora vicina</i> . Links = weibliche Fliege; rechts = männliche Fliege(Sivell, 2021).....	25
Abbildung 19: Präpariertes Reproduktionssystem (eigene Aufnahme).....	26
Abbildung 20: Ovarienentwicklung über einen Zeitraum von 16 Tagen bei einer Proteinverfügbarkeit von 10 Tagen in Form von Rinderleber (eigene Aufnahme) .....	28
Abbildung 21: Nahaufnahme der Ovariolen an Tag 11 bei einer Proteinverfügbarkeit von 10 Tagen in Form von Rinderleber (eigene Aufnahme) .....	29
Abbildung 22: Ovarienentwicklung über einen Zeitraum von 16 Tagen bei einer Proteinverfügbarkeit von 15 Tagen in Form von Rinderleber (eigene Aufnahme) .....	30
Abbildung 23: Nahaufnahme der Ovariolen an Tag 7 bei einer Proteinverfügbarkeit von 15 Tagen in Form von Rinderleber. (eigene Aufnahme) .....	30
Abbildung 24: Nahaufnahme eines frühreifen Eies mit gespaltener Schlupflinie (eigene Aufnahme) .....	31

---

Abbildung 25: Ovarienentwicklung über einen Zeitraum von 16 Tagen bei einer Proteinverfügbarkeit von 5 Tagen in Form von Leber (eigene Aufnahme).....	32
Abbildung 26: Ovarienentwicklung an Tag 10 bei differierenden Proteinverfügbarkeiten in Form von Rinderleber. Links = 5 Tage Proteinverfügbarkeit; Mitte = 10 Tage Proteinverfügbarkeit; Rechts = 15 Tage Proteinverfügbarkeit (eigene Aufnahme) .....	32
Abbildung 27: Ovarienentwicklung über einen Zeitraum von 16 Tagen ohne Proteinzufuhr (eigene Aufnahme) .....	34
Abbildung 28: Ovarienentwicklung über einen Zeitraum von 16 Tagen bei einer Proteinverfügbarkeit von 1 Tag in Form von Rinderleber (eigene Aufnahme) .....	35
Abbildung 29: Ovarienentwicklung über einen Zeitraum von 16 Tagen bei einer Proteinverfügbarkeit von 10 Tagen in Form von Milchpulver (eigene Aufnahme).....	36
Abbildung 30: Ovarienentwicklung über einen Zeitraum von 16 Tagen bei einer Proteinverfügbarkeit von 5 Tagen in Form von Milchpulver (eigene Aufnahme).....	37
Abbildung 31: Ovarienentwicklung über einen Zeitraum von 16 Tagen bei einer Proteinverfügbarkeit von 15 Tagen in Form von Milchpulver (eigene Aufnahme).....	38
Abbildung 32: Drei verschieden Stadien der Ovarienentwicklung an Tag 16 bei einer 15-tägigen Proteinverfügbarkeit in Form von Milchpulver (eigene Aufnahme) .....	42

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Auflistung der verwendeten Verbrauchsmaterialien und die dazugehörigen Hersteller .....	20
Tabelle 2: Auflistung der verwendeten Lösungen und organischen Materialien sowie die dazugehörigen Hersteller.....	21
Tabelle 3: Systematik der Fliegenart <i>Calliphora vicina</i> .....	21
Tabelle 4: Auflistung der verwendeten Geräte sowie die dazugehörigen Hersteller .....	22
Tabelle 5: Auflistung der verwendeten Softwares sowie der dazugehörige Hersteller.....	22
Tabelle 6: Übersicht der aufgefundenen frühreifen Eier bei einer Proteinverfügbarkeit von 10 Tagen in der Form von Rinderleber.....	29
Tabelle 7: Übersicht der aufgefundenen frühreifen Eier bei einer Proteinverfügbarkeit von 5 Tagen in der Form von Rinderleber .....	33

## Abkürzungsverzeichnis

ADD.....	Accumulated Degree Days / akkumulierte Tagesgrade
ADH.....	Accumulated Degree Hours / akkumulierte Stundengrade
F .....	Follikel
F2.....	zweite Follikel
Fe.....	Follikelepithel
G .....	Germarium
L1- L3.....	Larvenstadium 1 bis 3
Nu.....	Nährzelle
Oc.....	Oozyte
PF.....	post-feeding
PMI.....	postmortales Intervall
PMI <sub>min</sub> .....	minimales postmortales Intervall
t .....	Zeit
T <sub>u</sub> .....	Umgebungstemperatur
T <sub>us</sub> .....	Temperatur des artenspezifischen unteren Schwellenwertes
V .....	Dottermembran



# 1 Einleitung

In der forensischen Entomologie ist die Altersschätzung des ältesten juvenilen Stadiums (Ei, Larve oder Puppe), das an einem menschlichen Kadaver gefunden wird, eine der wichtigsten Methoden zur Bestimmung der minimalen Leichenliegezeit. Es kann davon ausgegangen werden, dass dieses Tier als erstes von einer weiblichen Fliege abgelegt wurde und daher am nächsten am Todeszeitpunkt des Leichnams liegt.

Diese Methode kann jedoch zu einer Überschätzung der minimalen Leichenliegezeit führen, da bei einigen Fliegenarten das Phänomen der früh entwickelten Eier auftreten kann, wie z. B. bei der forensisch relevanten Schmeißfliegenart *Calliphora vicina* Robineau-Desvoidy, 1830. Hat ein Weibchen ausreichend Zeit, eine Proteinaufnahme in reife Eier umzuwandeln, findet aber über einen längeren Zeitraum keinen geeigneten Ort für die Eiablage, kann dies zur Folge haben, dass ein bereits befruchtetes Ei in den Genitaltrakt der Fliege geschoben wird und sich dort ggf. bis zum ersten Larvenstadium entwickelt (Villet et al., 2009). Dies führt dazu, dass ein solches Ei deutlich älter ist als die übrigen Eier im Gelege. Dies kann z. B. bei 22 °C eine Abweichung von ca. 24 Stunden bedeuten (K. Davies & Harvey, 2012).

## 1.1 Zielsetzung

Ziel der Arbeit ist es, einen Überblick zu geben, inwieweit sich eine unterschiedliche Verfügbarkeit von Proteinquellen auf die Ovarienentwicklung der forensisch relevanten Schmeißfliegenart *Calliphora vicina* auswirkt. Besonderes Augenmerk sollte dabei auf die Bildung früh entwickelter Eier gelegt werden.

Zu diesem Zweck wurden die Ovarien einer Laborpopulation von *Calliphora vicina* am Institut für Rechtsmedizin in Frankfurt am Main über einen Zeitraum von 16 Tagen auf ihre Entwicklung hin untersucht und das mögliche Vorkommen frühzeitig entwickelter Eier notiert. Insgesamt wurden drei Versuchsreihen durchgeführt.

In der ersten und dritten Versuchsreihe wurden vier Gruppen sowie eine Kontrollgruppe von frisch geschlüpften *Calliphora vicina* mit unterschiedlicher Verfügbarkeit der Proteinquelle Rinderleber (ein, drei, fünf, zehn und 15 Tage) etabliert. Über einen Zeitraum von 16 Tagen wurden jeweils drei Fliegen gesammelt und eingefroren. Anschließend erfolgte die Entnahme des Fortpflanzungssystems unter dem Binokular und die fotografische Dokumentation.

Die zweite Versuchsreihe wurde mit Magermilchpulver als Proteinquelle und Verfügbarkeiten von fünf, zehn und 15 Tagen durchgeführt.

## 1.2 Kapitelübersicht

Die folgenden sechs Kapitel gliedern die Arbeit:

In der vorangestellten Einleitung wird ein grober Überblick über das Thema gegeben und die spezifische Forschungsfrage der vorliegenden Arbeit erläutert.

Im zweiten Kapitel folgen die Grundlagen, die für das Verständnis der Arbeit notwendig sind. Hier werden das Arbeitsgebiet der forensischen Entomologie und die Morphologie des weiblichen Reproduktionsorgans der Calliphoridae beleuchtet. Das Kapitel wird mit einem Überblick über den aktuellen Stand der Forschung zum Phänomen der früh entwickelten Eier abgeschlossen.

Das folgende Kapitel befasst sich mit den verwendeten Materialien und Methoden. Es wird auf die unter anderem allgemeine Vorgehensweise bei der Zucht eingegangen.

Die Auswertung der untersuchten Ovarien ist Gegenstand des vierten Kapitels. Es werden die Ergebnisse innerhalb der Versuchsreihen miteinander verglichen und die Ergebnisse der Proteinquellen Rinderleber versus Milchpulver gegenübergestellt.

Im Anschluss daran werden die Ergebnisse in der Diskussion interpretiert, es wird auf mögliche Fehlerquellen der Methodik eingegangen und ein Ausblick gegeben.

Eine Zusammenfassung schließt die Arbeit ab.



## 2 Grundlagen

Das folgende Kapitel erläutert die Grundlagen der forensischen Entomologie und der postmortalen Intervallbestimmung. Anschließend wird ein Überblick über die Familie der Calliphoridae gegeben. Dabei wird insbesondere auf den weiblichen Genitalapparat sowie der Ovarienentwicklung und das Phänomen der früh entwickelten Eier eingegangen.

### 2.1 Rechtsmedizin und rechtsmedizinische Methoden

Rechtsmedizin definiert sich heute als wissenschaftliche Erforschung medizinisch-naturwissenschaftlicher Sachverhalte und Zusammenhänge sowie deren Darstellung und Interpretation im weitesten Sinne der Rechtspflege. Weit davon entfernt, sich auf Leichen zu beschränken, befasst sich dieses Arbeitsfeld auch mit der Untersuchung von Gewalt gegen lebende Opfer, wie zum Beispiel bei Kindesmisshandlungen oder Sexualverbrechen. Es handelt sich um eine typische Querschnittsdisziplin. Sie reicht von der Durchführung von Obduktionen und der Untersuchung von Leichenfundorten über die Toxikologie bis hin zur forensischen Entomologie. (Dettmeyer et al., 2019; Madea, Wiegand, et al., 2015).

Das zentrale Arbeitsgebiet der Rechtsmedizin lässt sich unter dem Begriff „Thanatologie“ zusammenfassen. Diese wird definiert als die Wissenschaft, die sich mit den Ursachen und Umständen des Todes befasst. Darunter kann die Beantwortung aller Fragen verstanden werden, die sich im Zusammenhang mit dem Eintritt des Todes ergeben, wie Vorgeschichte, Identität, Todeseintritt, Todesursache, Leichenschau und Obduktion und Umstände des Todeseintritts (Dettmeyer et al., 2019; Madea, Jachau, et al., 2015).

Für die sichere Feststellung des Todeszeitpunkts werden die Leichenerscheinungen untersucht. Sie ermöglichen nicht nur eine sichere Todesfeststellung, sondern helfen auch dabei, die seit dem Todeseintritt verstrichene Zeit zu bestimmen. Dabei wird unterschieden zwischen frühen Leichenerscheinungen wie Totenflecken, Totenstarre und Auskühlung des Körpers und späten Leichenerscheinungen wie Autolyse, Fäulnis, Verwesung oder konservierende Prozesse. (Madea, Jachau, et al., 2015)

### 2.2 Forensische Entomologie

Wenn rechtsmedizinische und andere kriminaltechnische Methoden bei der Bestimmung der Liegezeit von Leichen an ihre Grenzen stoßen, kommen in der Regel Methoden der forensischen Entomologie zum Einsatz. Dies ist die Auswertung von Spuren insektenspe-

zifischer Art zur Klärung von rechtlichen oder kriminalistischen Sachverhalten. (Amendt, Krettek, et al., 2004; Hall et al., 2012; Magni et al., 2013).

Bereits wenige Minuten nach Eintritt des Todes können erste nekrophage Insekten in natürlichen Körperöffnungen (Abbildung 1) und eventuell offenen Wunden am Kadaver gefunden werden (Greenberg, 1991; Payne, 1965; Sharanowski et al., 2008). Der Leichnam ist eine geeignete Nahrungsquelle und Lebensraum für viele Insekten und andere Arthropoden, sodass bereits kurze Zeit später die ersten Eier gelegt werden können (Amendt et al., 2013). Schmeißfliegen (Calliphoridae) sind eine der ersten und daher forensisch besonders relevanten Besiedler von Kadavern (Greenberg & Kunich, 2002; Martín-Vega & Hall, 2016; Reibe & Madea, 2010). Die hohe Anzahl an Larven der ersten Besiedlungswelle bietet dann für räuberische Käfer und Parasiten ausreichend Nahrung und Substrat für eigene Eiablagen. Mit fortschreitender Verwesung sind auch andere Fliegenfamilien, bspw. Käsefliegen (Piophilidae) aufzufinden (Amendt et al., 2005; Greenberg & Kunich, 2002)



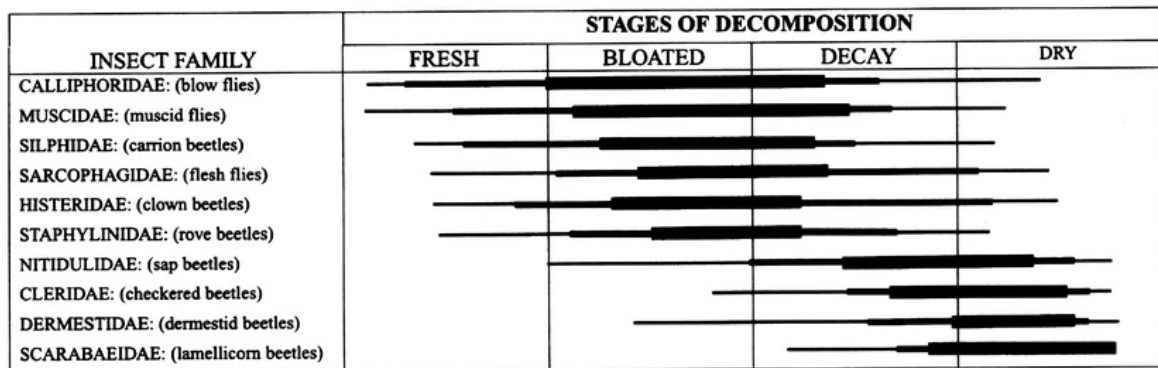
**Abbildung 1: Typisches Gelege in den natürlichen Körperöffnungen einer Leiche** (Amendt, Klotzbach, et al., 2004)

Bis zu 400 verschiedene Spezies können auf einem einzigen Kadaver gefunden werden (Amendt, Krettek, et al., 2004; Pais & Archer, 2018; Payne, 196. Die am Leichnam vorgefundene Artenzusammensetzung und die Kenntnisse über die artspezifischen und temperaturabhängigen Wachstumsraten der Insekten und die Dauer ihrer Entwicklungsstadien ermöglichen es der forensischen Entomologie, das Alter eines Insektes möglichst zuverlässig einzuschätzen. Das Alter korreliert mit der Leichenliegezeit (Amendt et al., 2013).

### 2.2.1 Insektensukzession

Bei der Verwesung, die in der Literatur in vier Stufen „frisch“, „gebläht“, „verwest“ und „vertrocknet“ beschrieben wird, laufen in einer Leiche verschiedene physikalische und

chemische Prozesse ab. Hierbei ist zu bedenken, dass die Zersetzung ein kontinuierlicher Prozess ist, der einzelne Stufen durchläuft. (Goff, 2010; Pérez et al., 2005; Rodriguez III, 1982). Je nach Verwesungszustand entsteht eine entsprechend typische Leichenfauna, wodurch eine chronologische Abfolge von Arten entsteht (Sukzession) (Abbildung 2) (Anderson, 2010; Leblanc & Logan, 2010). Die mit menschlichem Kadaver assoziierten Insekten lassen sich in vier ökologische Gruppen einteilen: Nekrophage, Räuber und Parasiten der Nekrophagen, Omnivoren und Besucher (Hall et al., 2012; Smith, 1986). Während zu Beginn der Besiedlung hauptsächlich Vertreter von Calliphoridae, der Echten Fliegen (Muscidae) und Sarcophagidae auf Leichen nachgewiesen wurden, sind mit fortschreitender Verwesung hauptsächlich verschiedene Coleoptera-Arten auf den Kadavern zu verzeichnen. Dieses Sukzessionsverhalten lässt sich durch die unterschiedlichen ökologischen und biologischen Vorlieben der einzelnen Arten erklären. Nachkommen von Calliphoridae, Muscidae und Sarcophagidae ernähren sich bevorzugt von weichem Gewebe, während Coleoptera-Arten hauptsächlich mit langlebigem Gewebe assoziiert werden (Madra et al., 2015; Pérez et al., 2005; Smith, 1986).



\*Each stage of decomposition is given the same amount of space in this table.

- Indicates a small number of individuals present.
- ▬ Indicates a moderate number of individuals present.
- ▬▬▬ Indicates a large number of individuals present.

**Abbildung 2: Sukzession adulter Anthropoden an einem menschlichen Kadaver in Tennessee.** (Amendt, Krettek, et al., 2004)

Jede Art schafft entweder durch ihr Vorhandensein oder die Verwertung des Kadavers eine Voraussetzung für die potenzielle Nutzung der nächsten Besiedlungswelle (Goff, 2010). Darüber hinaus ist das Sukzessionsverhalten der Insekten stark vom geografischen Gebiet (Anderson, 2010; Galloway et al., 1989) der Jahreszeit (Shi et al., 2009; Voss et al., 2009), die Klimabedingungen (Archer, 2004; Shean et al., 1993) und dem Standort des gefundenen Kadavers (Campobasso et al., 2001; Centeno et al., 2002; Voss et al., 2008) abhängig.

Den bedeutsamsten Wert an Informationen liefert die Gruppe der Nekrophagen durch ihre direkte Assoziation mit dem Leichnam. Innerhalb dieser Gruppe sind die Schmeißfliegen von größter forensischer Relevanz, da diese sowohl die ersten Besiedler des Kadavers

sind sowie in hoher Anzahl aufgefunden werden, sie liefern die akkuratesten Informationen zur Bestimmung der minimalen Leichenliegezeit (Greenberg, 1991; Hall et al., 2012).

## 2.2.2 Postmortales Intervall

Die Familie der Schmeißfliegen sind beim Zersetzungsprozess sowohl die ersten als auch die dominantesten Insekten, weshalb ihr Vorkommen und die Kenntnisse über die Arten häufig Anwendung bei der Einschätzung der Leichenliegezeit findet. Das Zeitintervall zwischen dem Eintreten des Todes und Auffinden der Leiche wird als postmortales Intervall bezeichnet (Catts & Goff, 1992; Villet & Amendt, 2011). Wichtig ist zu beachten, dass die Insektenaktivität von Umwelteinflüssen wie Wetterbedingungen und Tageszeit abhängig sind und dass der Zugang zu einem toten Körper insbesondere in Innenräumen möglicherweise erschwert wird, daher können sie nicht immer unmittelbar nach Todeseintritt den menschlichen Kadaver besiedeln. Aus diesem Grund handelt es sich bei der entomologischen Leichenliegezeitbestimmung stets um die Zeitspanne, die mindestens nach Eintreten des Todes bis zum Auffinden der Leiche vergangen ist. Aus diesem Grund wird in der forensischen Entomologie häufig der Begriff des minimalen postmortalen Intervalls ( $PMI_{min}$ ) verwendet. Dieser gibt einen Zeitraum an, der in der Regel nicht unterschritten wird, jedoch die Möglichkeit offenhält, dass der Todeseintritt früher erfolgte als durch den Zeitpunkt der Eiablage anzunehmen (Amendt et al., 2013).

### 2.2.2.1 $PMI_{min}$ -Bestimmung

Für die Eingrenzung des  $PMI_{min}$  bietet die forensische Entomologie mehrere Möglichkeiten (Amendt et al., 2007). Hauptsächlich erfolgt diese mithilfe einer Altersbestimmung der am menschlichen Kadaver befindlichen nekrophagen Insekten. Das Alter des Tieres wird in der Regel mit zwei verschiedenen Methoden bestimmt, unter Berücksichtigung der Tatsache, dass die Temperatur den wichtigsten Einfluss auf die Wachstumsrate des Insekts hat (Faucherre et al., 1999; Greenberg & Kunich, 2002; Janisch, 1932).

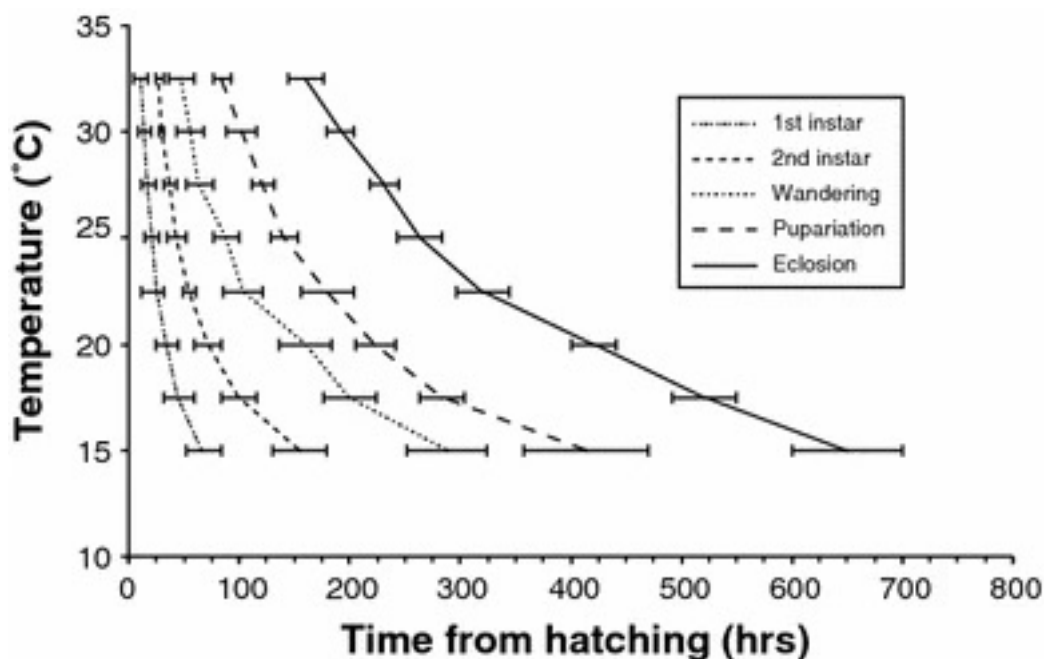
Die erste Methode basiert auf den einzelnen, leicht unterscheidbaren Entwicklungsstadien, die die unreife Schmeißfliege durchläuft, Referenzdaten für die Zeit, die für jedes dieser Stadien bei verschiedenen Temperaturen benötigt wird, wurden von verschiedenen Autoren für diverse Schmeißfliegenarten erhoben und veröffentlicht (Anderson, 2000; Davidson, 1944; Donovan et al., 2006; Grassberger & Reiter, 2001).

Eine zweite Methode zur Altersbestimmung ist die Messung der Larvenlänge. Nach dem Schlüpfen aus dem Ei nimmt die Größe einer Larve stetig zu, bis sie mit Beginn der Verpuppung wieder etwas abnimmt. Diese Längenangaben können ebenfalls mit Referenzdaten verschiedener Temperaturen abgeglichen werden (Byrd & Butler, 1997; Grassberger et al., 2003; Núñez-Vázquez et al., 2013). Von besonderem Interesse ist dabei die Längenmessung der ältesten Larve (Amendt, Krettek, et al., 2004; L. Davies & Ratcliffe, 1994; Reiter, 1984)

Bei beiden Methoden wird das Alter einer Schmeißfliegenlarve durch Vergleich mit veröffentlichten Referenzdaten bei der entsprechenden Temperatur für die jeweilige Art abgeleitet. Eine Rückrechnung der Temperaturen am Fundort des Kadavers ist bei dieser Methode unerlässlich. Zu diesem Zweck wird am Fundort ein Datenlogger ausgelegt. Die Daten des Datenloggers werden mit den Temperaturen der nächstgelegenen Wetterstation verglichen. Um die Temperaturen am Fundort zu rekonstruieren, wird die Differenz zwischen Wetterstation und Datenlogger zu den Daten der Wetterstation addiert (Amendt et al., 2013; Campobasso et al., 2001; Hofer et al., 2017).

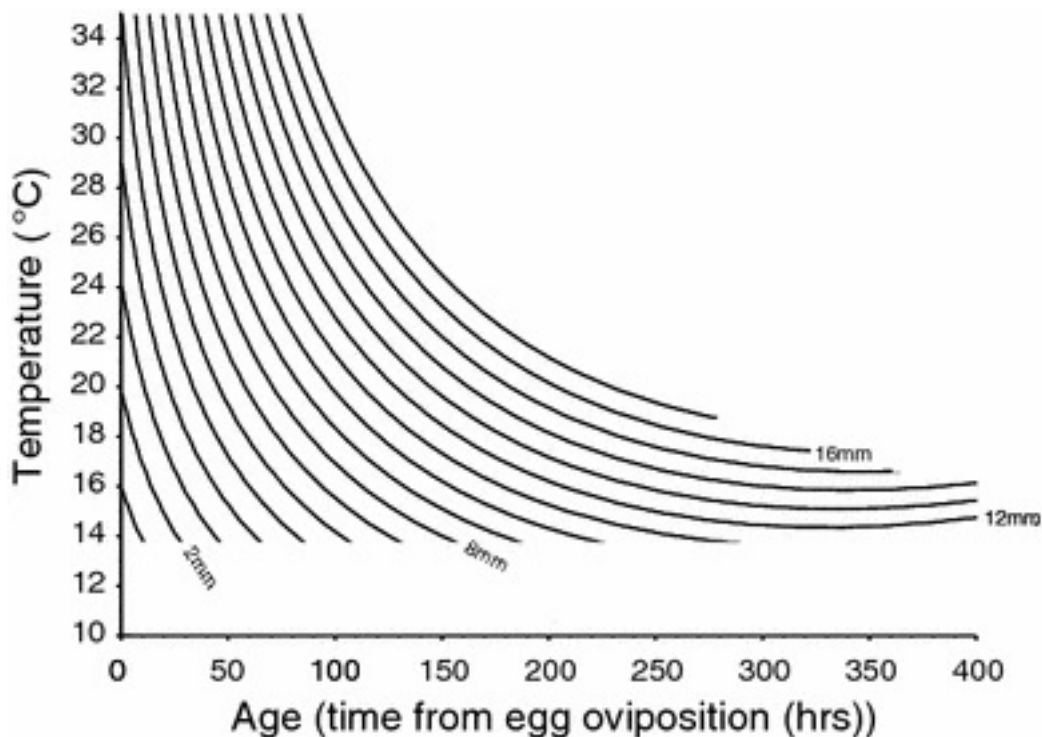
Im Laufe der Zeit wurden drei Modelle zur Bestimmung des minimalen PMI entwickelt, die jedoch alle auf der Tatsache der Abhängigkeit der Entwicklungsgeschwindigkeit von der Umgebungstemperatur beruhen (Grassberger & Reiter, 2001). Eine visuelle Darstellung in Form von Wachstumskurven der Insektenentwicklung bieten das Isomorphen-Diagramm und das Isomegale-Diagramm (Grassberger & Reiter, 2001)

Das Isomorphen-Diagramm (Abbildung 3) ist ein Streudiagramm, auf dessen Achsen die Zeit bis zum Erreichen bzw. Abschließen eines Entwicklungsstadiums gegen die Temperatur aufgetragen ist. Jede Linie stellt den Übergang in das nächste Entwicklungsstadium dar. Abstufungen innerhalb eines Entwicklungsstadiums werden nicht dargestellt (Grassberger & Reiter, 2001)



**Abbildung 3: Isomorphen-Diagramm einer hypothetischen Entwicklung vom Schlupf der Made bis zum Schlupf der Fliege bei 10-35°C. x-Achse: Zeit, die seit dem Schlupf der Made vergangen ist (in Stunden); y-Achse: Temperatur (in °C) (Amendt et al., 2011).**

Das Isomegale-Diagramm (Abbildung 4) schließt dagegen von der Larvenlänge auf die Entwicklungszeit. Mit jeder Linie wird eine bestimmte Larvenlänge bei bestimmten Temperaturen angegeben (Grassberger & Reiter, 2001)



**Abbildung 4:** Isomegalen-Diagramm einer hypothetischen Entwicklung. X-Achse: Zeit seit der Eiablage (in Stunden); y-Achse: Temperatur (in °C). Jede Linie steht für eine Larvenlänge (in mm) (Amendt et al., 2011).

Das Temperaturakkumulationsmodell eignet sich dagegen besonders für fluktuierende Temperaturen. Hierbei wird zunächst von der Umgebungstemperatur der artenspezifische Schwellenwert subtrahiert, die sich daraus ergebene Differenz wird mit der Zeit multipliziert (Formel 1). Je nach Wahl der Zeiteinheit (Stunde/Tag) erhält man schließlich die akkumulierten Gradstunden (ADH) oder die akkumulierten Gradtage (ADD) (Allen, 1976; Amendt et al., 2013; Baskerville & Emin, 1969; Wigglesworth, 1972).

**Formel 1: Berechnung der akkumulierten Stundengrade (ADH) bzw. Tagesgraden (ADD).**  $T_U$  = Umgebungstemperatur;  $T_{us}$  = Temperatur des artspezifischen unteren Schwellenwertes;  $t$  = Zeit (in Stunden oder Tagen)

$$(T_U - T_{us}) * t = ADH \text{ bzw. } ADD$$

Eine weitere Variante ist die Weiterzucht, bei der am Kadaver gefundene Larven im Labor weiter gezüchtet werden. Ausgehend vom Schlupfzeitpunkt der adulten Fliege können dann Rückschlüsse auf den Zeitpunkt der Eiablage und damit auf die  $PMI_{min}$  gezogen werden (Amendt et al., 2007).

## 2.3 Forensisch relevante Calliphoridae (Diptera)

Aufgrund der Tatsache, dass Insekten der Familie Calliphoridae bereits kurz nach Eintritt des Todes einen Körper besiedeln und diesen vor allem in den ersten Wochen dominie-

ren, gelten sie als eine der wichtigsten Vertreter für die Bestimmung des PMI<sub>min</sub> (Byrd & Castner, 2009; Greenberg & Kunich, 2002)

Calliphoridae sind eine weitverbreitete Familie, welche weltweit 1100 Arten umfasst. In Deutschland kommen 62 Arten vor (Amendt et al., 2013; Nuorteva, 1963a; Rognes, 1990). Forensisch relevant sind vor allem *Lucilia sericata*, *Calliphora vicina* und *Lucilia ampullacea*. Dies ergab eine aktuelle Studie des Instituts für Rechtsmedizin, in der 949 insektenassoziierte Fälle aus den Jahren 2001 bis 2019 untersucht wurden (Lutz et al., 2021). In der Literatur wird darüber hinaus *Calliphora vomitoria* als eine der am häufigsten an Leichen in Deutschland gefundenen Arten genannt (Gennard, 2012; Schroeder et al., 2003)

Charakteristisch ist vor allem die auffällige, meist metallische Färbung, die von grün über blau bis hin zu schwarz schimmernd reicht. Je nach Art und Nahrungsangebot erreichen die Larven eine Größe von 8 bis 23 mm, die ausgewachsenen Fliegen dagegen 6 bis 14 mm. Sie ernähren sich vorwiegend von tierischen und menschlichen Kadavern, Exkrementen und verrottendem Pflanzenmaterial, das sie auch zur Eiablage nutzen (Rognes, 1990; Sivell, 2021).

Die für diese Arbeit relevante Schmeißfliegenart *Calliphora vicina* kann eine Körpergröße von 5 bis 12 mm erreichen. Der Körper dieses Tieres ist metallisch mattblau gefärbt. Die geografische Verbreitung dieser Fliegenart im europäisch-afrikanischen Raum reicht im Norden bis nach Mittelfinnland und im Süden bis in die Mittelmeerregionen Nordafrikas (Nuorteva, 1963b; Reiter, 1984; Sivell, 2021).

### 2.3.1 Entwicklungszyklus (Diptera)

Der Entwicklungszyklus (Abbildung 5) erfolgt nach einem einheitlichen Schema, das die Schmeißfliegen durchlaufen. Dieser lässt sich in vier Entwicklungsstadien: Ei, Larve, Puppe und Adulte einteilen. Die Dauer eines solchen Zyklus ist abhängig von zwei Parametern, zum einen von der Umgebungstemperatur und zum anderen der Artzugehörigkeit der Fliege.



**Abbildung 5: Entwicklungszyklus einer Schmeißfliege. Im Uhrzeigersinn dargestellt sind die einzelnen Stadien (Ei, ersten bis drittes Larvenstadium, Puparium, adulte Fliege) (Amendt et al., 2005)**

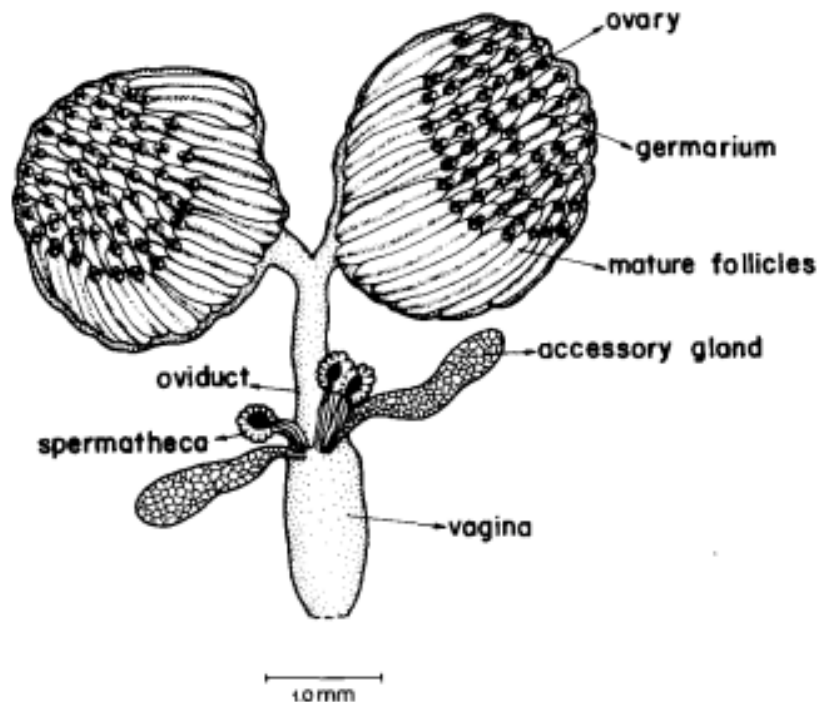
Nach der Eiablage schlüpfen in der Regel 24 Stunden später aus den Eiern ein bis zwei Millimeter große Fliegenmaden. Die Dauer kann je nach Art und Umgebungstemperatur variieren. Die Larve durchläuft während der Fütterungsphase verschiedene Phasen, welche anhand des Häutens sich in drei Larvenstadien (L1, L2, L3) weiter untergliedern lassen. Mit Abschluss der Nahrungsaufnahme befinden sich die Larven im post-feeding (PF). Sie verlassen die Nahrungsquelle, entleeren den Darm und suchen eine passende Umgebung, um sich anschließend zu verpuppen. Nach der Ruhephase schlüpft aus dem tönnchenförmigen Puparium eine adulte Fliege. (Amendt et al., 2005)

Bereits kurz nach dem Schlupf sind männliche Fliegen fortpflanzungsfähig, bei den Weibchen dauert dies ein paar Tage bis zu Wochen abhängig von dem Vorhandensein ausreichender Nahrung. Anschließend beginnt der Zyklus von vorne (Amendt, Krettek, et al., 2004).

### **2.3.2 Morphologie des weiblichen Reproduktionsorgans (Diptera: Caliphoridae)**

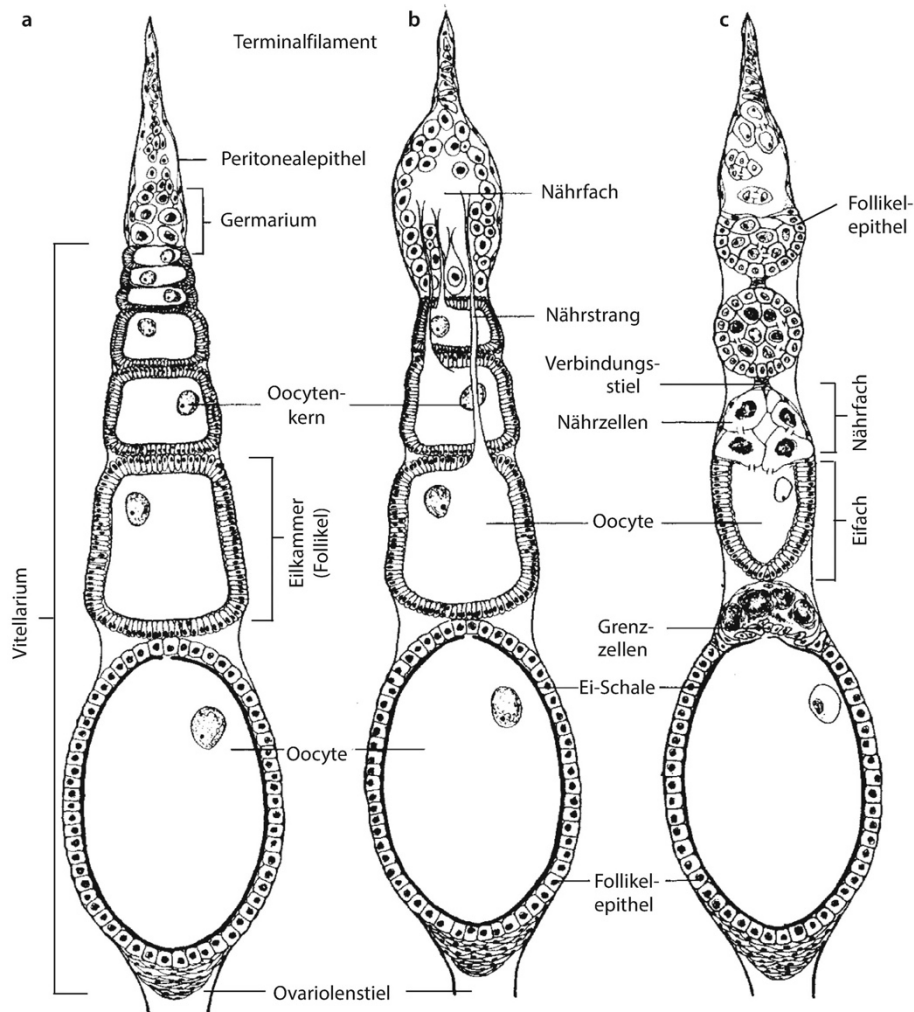
Wie bei den meisten Insekten sind auch bei den Dipteren die Ovarien paarig angelegt (Abbildung 6). Jedes Ovarium besteht aus einer artspezifisch konstanten Anzahl von ca. 80 länglichen Eiröhrchen (Ovariolen). Die Ovariolen beginnen meist mit einem dünnen Faden (Terminalfilum), der sie an der Körperwand verankert. Das Terminalfilament wird von einem einkammerigen Keimlager (Germarium) gefolgt, an das sich der mehrkammerige Dottersack (Vitellarium) anschließt. Die Ovarien enden in einem schlanken, aber elastischen Ovarienstiel. Durch diesen Stiel werden die Eier in den Eileiter (Ovidukt) entlassen, das seinerseits eine Verbindung zur Vagina des Insekts (Eggert et al., 2010; Erzincioğlu, 1990; Hayes & Wall, 1999).





**Abbildung 6: Schematische Darstellung des inneren Reproduktionssystems (Diptera: Caliphoridae) (Avancini & do Prado, 1986)**

Die Ovarien lassen sich nach ihrem Aufbau in verschiedene Klassen einteilen (Abbildung 7). Es gibt die panoistischen Ovariolen, die nur aus Oozyten und dem folliculären Epithel bestehen. Im Gegensatz dazu sind die merositischen Ovariolen mit einer Nährzelle ausgestattet, die für die Ernährung der Eizellen sorgt. Sie befindet sich in Oozyten Nähe innerhalb des Follikelepithels und bildet mit dem Ei einen Ei-Nährzellenverband. Abhängig von der Lage der Nährzelle werden zwei verschiedene Arten unterschieden. Bei den telotroph-meroistischen Ovariolen verbleiben die Nährzellen im Germarium, dass dadurch gleichzeitig zum gemeinschaftlichen endständigen Nährfach wird. Im Gegensatz dazu bildet bei den polytroph-meroistischen Ovariolen, die bei höheren Insekten wie den Dipteren vorkommen, jede Eizelle mit ihren Nährzellverbänden eine Eikammer, die aus einem Eifach und einem Nährfach besteht. Zwischen den Eikammern bilden die Follikelzellen kleine basale Verbindungsstiele. Diese werden zusammen mit den Eikammern als Follikel bezeichnet. (Eggert et al., 2010; Schmitt, 2022).

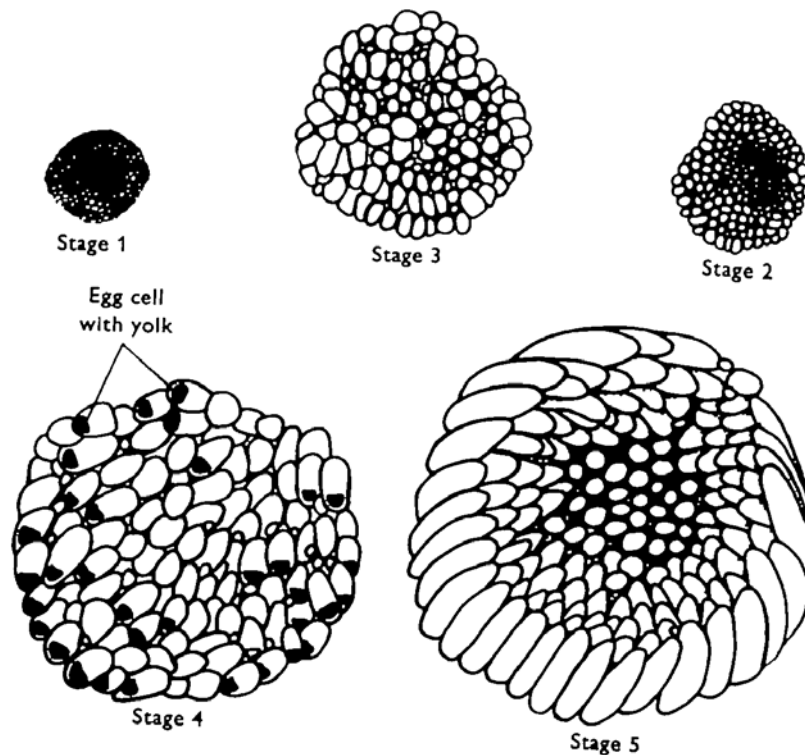


**Abbildung 7: Die drei verschiedenen Klassen von Ovariolen. a = panoistich; b = telotroph-meroistich; c = polytroph-meroistich**(Eggert et al., 2010)

Zur Aufnahme und Speicherung der Spermien während der Paarung und zur Befruchtung der Eizellen münden drei kugelige, sklerotische Samenbänke (Spermatheken) in die Vagina. Zwei dieser Bänke sind miteinander verbunden, wohingegen die dritte getrennt ist. Zusätzlich gibt es akzessorische Drüsen, die in der Nähe der Spermatheken in die Vagina münden. Sie dienen dazu, Kittsubstanzen für das Anhaften der abgelegten Eier zu produzieren. Zusätzlich werden Schmiermittel produziert, die das Gleiten der Eier im Legeapparat (Ovipositor) erleichtern. (Avancini & do Prado, 1986; Spradbery & Sands, 1976).

### 2.3.3 Ovarienentwicklung

Harlow (1956) konnte in seinen Experimenten an der Schmeißfliege *Protophormia terranovae* fünf verschiedene Stadien der Entwicklung der Ovariolen unterscheiden.



**Abbildung 8: Die fünf Stadien der Ovarienentwicklung** (Harlow, 1956)

Im ersten Stadium, unmittelbar nach dem Schlupf der Schmeißfliege, sind die Ovarien sehr klein, weiß und undurchsichtig. Die Ovariolen kleben zusammen und die ersten Eikammern (Follikel) sind ununterscheidbar (Harlow, 1956).

Ab dem zweiten Stadium ist das Ovarium transparenter und die erste Eikammer ist deutlich vom Germarium zu unterscheiden. Darüber hinaus sind bei hoher Vergrößerung auch die Nährzellen zu erkennen (Harlow, 1956).

Im dritten Stadium sind die ersten Eikammern vergrößert, kugelförmig und weniger stark miteinander verklebt, was dazu führt, dass die Ovarien optisch die Form einer Blase haben (Harlow, 1956).

Ab dem vierten Stadium nehmen die ersten Eikammern eine elliptische Form an. Dies ist auf das Wachstum der Nährzelle und der Eizelle zurückzuführen. Die Oozyte enthält nun einen Dotter, ist oft halbmondförmig und größer als die Nährzelle. (Harlow, 1956).

Im fünften und letzten Stadium ist das ausgereifte Ovar riesig. Die Nährzelle ist verschwunden und das lange, gebogene, zylindrische Ei ist vollständig mit Dotter gefüllt, der die ersten Eikammern ausfüllt. Der Eidotter ist entweder undurchsichtig oder weniger dicht und teilweise durchscheinend (Harlow, 1956).

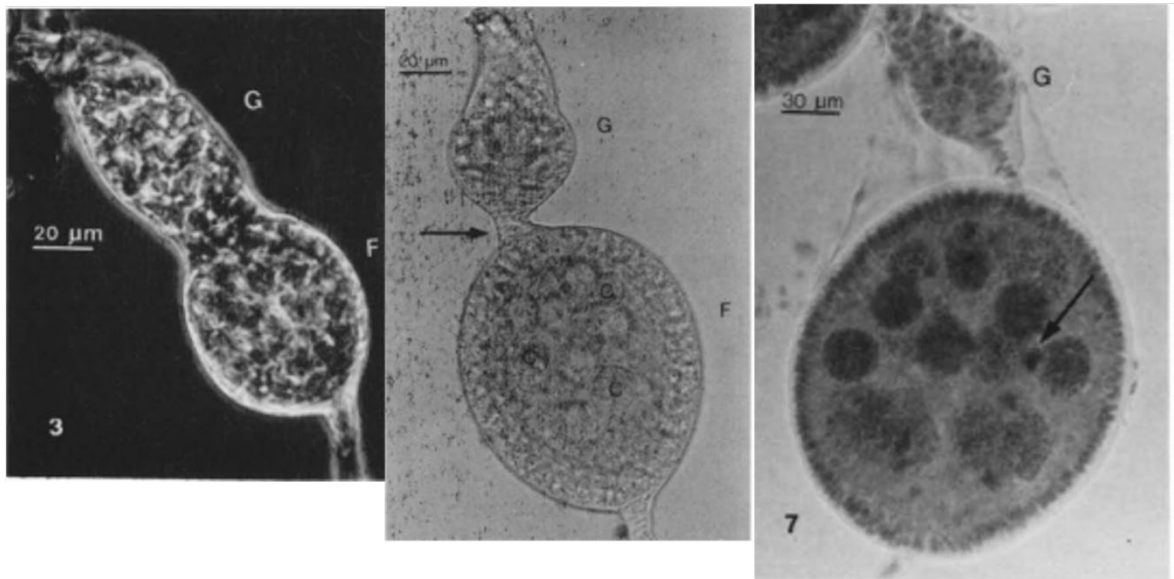
### 2.3.4 Oogenese

Die Entwicklung der Follikel innerhalb eines Ovars verläuft synchron und kontinuierlich. Dies ist auf die gleichzeitige Eiablage zurückzuführen. Diese Entwicklung ist durch eine Abfolge spezifischer zytologischer Ereignisse gekennzeichnet. Anhand der jeweils vorherrschenden zytologischen Ereignisse ist eine klare Einteilung in verschiedene Stadien möglich (Avancini & do Prado, 1986; Hayes & Wall, 1999; Wells & King, 2001). Der erste Zyklus der Oogenese kann nach Avancini und do Prado in die folgenden 10 Stadien unterteilt werden:

Das erste Stadium ist unmittelbar nach dem Schlupf der adulten weiblichen Fliege zu beobachten und zeichnet sich insbesondere durch das Vorhandensein des Germarium aus (Abbildung 9). Jede Ovariole ist an ihrer Spitze mit einem birnenförmigen Germarium ausgestattet. In diesem befinden sich Stammzellen (Oogonien) und somatische Zellen (präfollikuläre Zellen). Eines der Oogonien teilt sich in einen Zellkern (Zytoblast) und ein weiteres Oogonium, das den Teilungsprozess fortsetzt. Der Zytoblast durchläuft 4 mitotische Teilungen. Die 16 Tochterzellen bilden eine kugelförmige Zyste in der Basalregion des Germarium, die von einer Schicht Follikelzellen umgeben ist. Die Zyste verlässt das Germarium und wird zur ersten Eikammer, sobald sie vollständig von Follikelzellen umhüllt ist (Avancini & do Prado, 1986; Spradbery & Sands, 1976).

Im zweiten Stadium ist der Follikel durch einen interfollikulären Stiel vollständig abgetrennt und fast kugelförmig (Abbildung 9). Die 16 Zytoblasten differenzieren sich zu 15 Nährzellen und einer Oozyte, alle von ähnlicher Größe und Form. Die Eizelle ist in der Basalregion des Follikels lokalisiert. Während sich die Follikelzellen in der Mitose befinden, hat das den Follikel umgebende Epithel eine kubische Form. Innerhalb der Nährzellen kommt es zu morphologischen Veränderungen des Chromatins im Kern (Nukleus) (Avancini & do Prado, 1986).

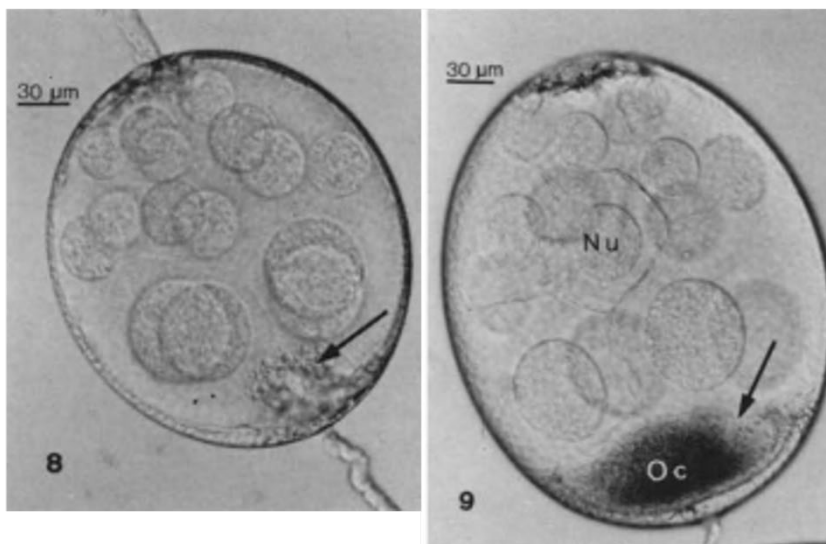
Der Follikel nimmt im dritten Stadium deutlich an Größe zu (Abbildung 9), was eine noch stärkere Verteilung der 15 Kerne in den Nährzellen zur Folge hat. Zu diesem Zeitpunkt nehmen die Nährzellen den größten Teil des Follikels ein, da der Kern der Oozyte kleiner ist als der der Nährzellen. Die sukzessive Endomitose, die bereits im zweiten Stadium begonnen hat, setzt sich in diesem und den folgenden Stadien fort. Das Chromatin ist in den verschiedenen Nährzellen unterschiedlich ausgebildet, einige sind kompakter als andere. Am Ende des Stadiums sind alle Nuklei der Nährzellen kompakt, aber sie behalten eine unterschiedliche Größe. Die follikulären Zellen verlieren ihre würfelförmige Form und werden zu flachen Zellen (Avancini & do Prado, 1986).



**Abbildung 9: Ersten drei Stadien der Oogenese. Links = Stadium I; Mitte = Stadium II; Rechts = Stadium III; G = Germarium; F = Follikel (Avancini & do Prado, 1986)**

Im vierten Stadium vergrößert sich der Follikel weiter und nimmt eine leicht elliptische Form an (Abbildung 10). Um den Kern der Oozyte werden Eidotter Granulate sichtbar. Das Epithel gleicht dem des dritten Stadiums. Während im Germarium die Bildung eines zweiten Follikels beginnt. (Avancini & do Prado, 1986)

Die Ablagerung des Dotters in der Oozyte setzt sich im fünften Stadium fort. Zudem nimmt der Follikel weiter an Größe zu und wird zunehmend elliptisch (Abbildung 10) (Avancini & do Prado, 1986).

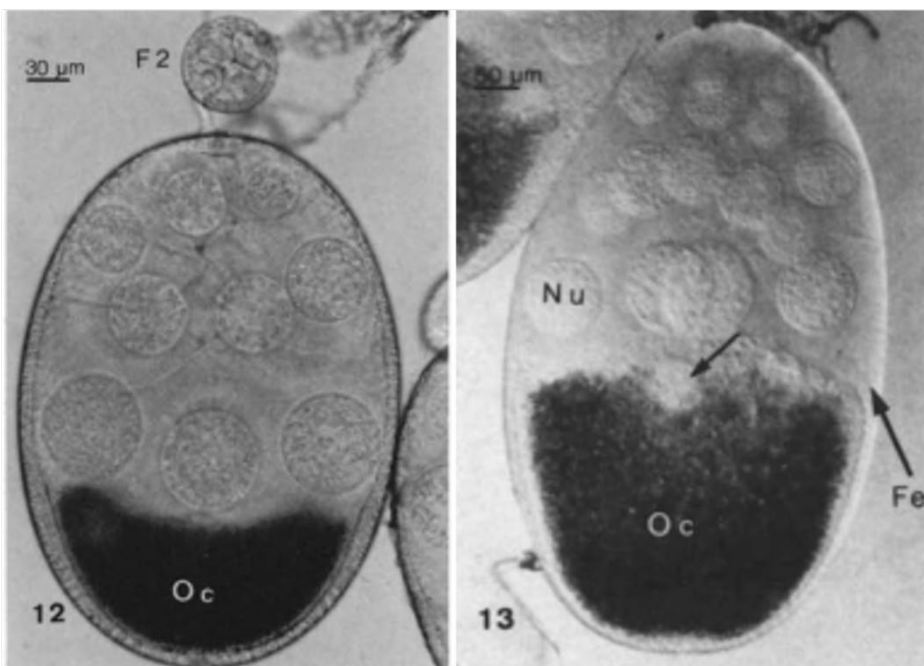


**Abbildung 10: Viertes und fünftes Stadium der Oogenese. Links = Stadium IV; Rechts = Stadium V; Oc = Oozyte; Nu = Nährzelle (Avancini & do Prado, 1986)**

Ab dem sechsten Stadium ist etwa ein Drittel der Gesamtlänge des Follikels vom Dotter eingenommen (Abbildung 11). Darüber hinaus haben die Follikelzellen die Mitose been-

det. Nur in der Form und Dichte der Follikelzellen treten noch weitere Veränderungen auf. Das Epithel, das die Eizelle umgibt, wird säulenartig (Avancini & do Prado, 1986).

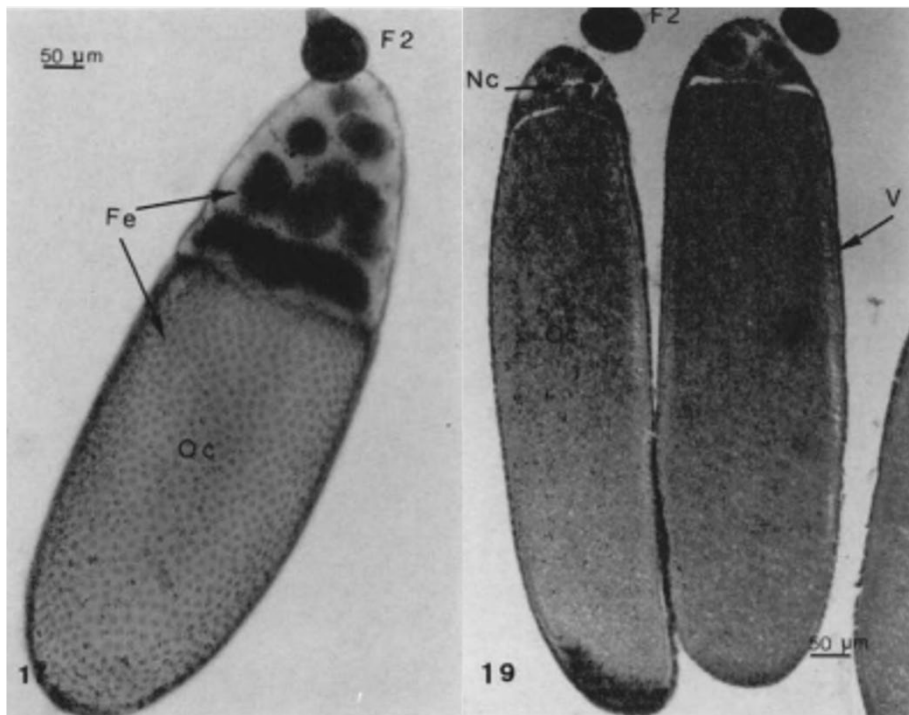
Im siebten Stadium nimmt der Follikel erheblich an Länge zu, die Breite bleibt jedoch unverändert. Zu diesem Zeitpunkt macht die Oozyte 50 % der Länge des Follikels aus (Abbildung 11). Während die Dichte der Follikelzellen in der Umgebung der Nährzelle abnimmt, nimmt die Dichte in der Umgebung der Eizelle zu. Die wenigen verbleibenden Follikelzellen um die Nährzellen werden schuppenförmig, während die um die Eizelle säulenförmig werden. Gleichzeitig wandern etwa acht Randzellen von den Follikelzellen zur Grenze zwischen Nährzelle und Eizelle und positionieren sich nahe am Eizellkern (Avancini & do Prado, 1986).



**Abbildung 11: Sechstes und siebtes Stadium der Oogenese. Links = Stadium VI; Rechts = Stadium VII; F2 = zweite Follikel; Fe = Follikelepithel (Avancini & do Prado, 1986)**

Charakteristisch für das Stadium 8 ist die Fortsetzung der Zunahme der Länge des Follikels jedoch mit einer Abnahme der Breite. Zwei Drittel der Gesamtlänge werden nun von der Eizelle eingenommen (Abbildung 12). Während die Randzellen ihre endgültige Position erreicht haben, beginnen die schuppenförmigen Follikelzellen mit der Wanderung in Richtung des Zentrums des Follikels zur Bildung einer Barriere zwischen der Nährzelle und der Eizelle. Zur gleichen Zeit beginnen die Follikelzellen, die die Eizelle umgeben, mit der Absonderung der Dotterhaut (Dottermembran). (Avancini & do Prado, 1986)

Die Breite des Follikels verringert sich im neunten Stadium weiter. Die degenerierende Nährzelle nimmt nur noch einen kleinen Bereich im vorderen Teil des Follikels ein (Abbildung 12), behält aber ihre schuppenartige Form bei und sondert das Chorion ab (Avancini & do Prado, 1986).



**Abbildung 12: Achtes und neuntes Stadium der Oogenese. Links = Stadium VIII; Rechts = Stadium IX; V = Dottermembran(Avancini & do Prado, 1986)**

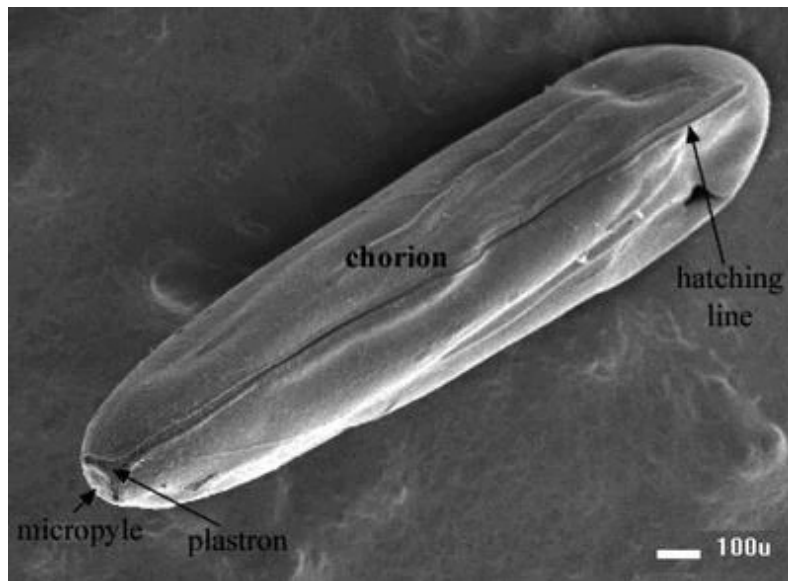
Im zehnten und letzten Stadium erreicht die Oozyte ihre volle Größe und nimmt den gesamten Follikel ein. Gleichzeitig lösen sich die Nährzellen auf (Avancini & do Prado, 1986).

Sobald sich der erste Follikel das 4. Stadium erreicht hat, beginnt der nächste Follikel den Zyklus. Wenn der erste Zyklus das achte Stadium erreicht, befindet sich der zweite Zyklus im dritten Stadium und wird bis zur Eiablage des ersten Zyklus in diesem verweilen (Avancini & do Prado, 1986).

Die komplette Entwicklung zum reifen Ei dauert bei einer Temperatur von 24 °C 152 Stunden, also 6 bis 7 Tage (T. S. Adams & Reinecke, 1979).

### 2.3.5 Ei Morphologie

Das Ei ist das erste Entwicklungsstadium, in dem vor dem Schlupf der Larve eine Reihe von Veränderungen stattfinden. Ein typisches Ei zeichnet sich durch die folgenden Merkmale aus (Abbildung 13). Die äußere Hülle des Eies wird durch das Chorion gebildet. Die Zellmembran, das Plastron, befindet sich sowohl innerhalb als auch neben dem Chorion und umgibt das Zytoplasma. Am vorderen Ende des Eies befindet sich eine Pore, die Mikropyle. Durch sie können die Spermien eindringen. Das Ei ist mit einem Längsstreifen versehen, der sich spalten kann. Es handelt sich um eine Schlupflinie, die es der Larve ermöglicht, aus dem Ei zu schlüpfen.(Thyssen, 2010)



**Abbildung 13: Elektronenmikroskopische Aufnahme von einem Ei einer Calliphoridae**(Thyssen, 2010)

### 2.3.6 Frühzeitig entwickelte Eier

Früh entwickelte Eier sind befruchtete Eier, die die embryonale Entwicklung im Ovidukt eines schwangeren Weibchens vor der Eiablage durchlaufen haben. Dieses Phänomen wurde zum ersten Mal im Jahr 1986 von Smith in „A manual of forensic entomology“ beschrieben (Smith, 1986). Wenn ein Weibchen genügend Zeit hat, eine Proteinaufnahme in reife Eier umzuwandeln, aber über längere Zeit keinen geeigneten Eiablageplatz findet, kann ein bereits befruchtetes Ei in den Genitaltrakt der Fliege geschoben werden und sich dort bis zum ersten Larvenstadium entwickeln (Abbildung 14). Die Folge dieses Phänomens ist, dass ein solches Ei deutlich älter ist als die übrigen Eier des Geleges(K. Davies & Harvey, 2012; Sivell, 2021; Villet et al., 2009; Wells & King, 2001).





**Abbildung 14: Reproduktionssystem mit einem frühreifen Ei im Gentialtrakt. Pfeil deutet auf das frühreife Ei (eigene Aufnahme)**

Früh entwickelte Eier sind besonders häufig bei der Familie der Sarcophagen zu finden. Aber auch bei *Aldrichina grahami*, *Calliphora terraenovae* Macquart oder *Calliphora vicina* wurden derartige Vorkommnisse berichtet (Villet et al., 2009).

In einer Studie von Lutz und Amendt aus dem Jahr 2021 wurde über einen Zeitraum von 152 Tagen eine wilde Population der *Calliphora vicina* auf das Vorkommen von frühzeitig entwickelten Eiern in Bezug auf Jahreszeiten untersucht. Von den insgesamt 5.216 gesammelten Weibchen waren 44 % schwanger und von diesen hatten 54 % ein frühzeitig entwickeltes Ei oder eine L1 Larve in den Eileitern. Der Prozentsatz variiert nach Jahreszahl und war mit 64 % im Frühling am höchsten (Lutz & Amendt, 2020).

Da die Berechnung des  $PMI_{min}$  oft auf dem größten bzw. am weitesten entwickelten Individuum basiert, kann es zu einer Überschätzung durch früh entwickelte Eier kommen. Dies kann z. B. bei 22 °C eine Abweichung von ca. 24 Stunden bedeuten. Die Häufigkeit dieses Phänomens in Wild- und Laborkolonien und die Auswirkungen auf Entwicklungsstudien und PMI-Bestimmungen sind noch weitgehend unbekannt (K. Davies & Harvey, 2012; Villet et al., 2009).

## 3 Materialien und Methode

Im folgenden Kapitel werden zunächst die für das Experiment benötigten Materialien aufgelistet und anschließend die Methode beschrieben.

### 3.1 Materialien

Um eine bessere Übersicht über die verwendeten Materialien zu gewährleisten, werden diese in Verbrauchsmaterialien, Lösungen und organische Materialien, Organismen, Geräte und Softwares unterteilt.

#### 3.1.1 Verbrauchsmaterialien

Die im Verlaufe des Versuches verwendeten Verbrauchsmaterialien sind in Tabelle 1 abzulesen.

**Tabelle 1: Auflistung der verwendeten Verbrauchsmaterialien und die dazugehörigen Hersteller.**

Materialien	Hersteller
Kleintierstreu	Vitalkraft
Feinmaschiger Papierkorb, Maße 27x27x35 cm	IKEA
Nylonstrumpfhosen	ja!
Papierhandtücher	Tork
Petrischalen	Sarstedt
Pinzette, gezahnt/spitz	Dumont
Plastikboxen mit gelöchertem Deckel 800 ml 12x12x7,5 cm	Buchsteiner, Freshbox 2281
Plastikeimer 1160 ml mit gelöchertem Deckel	Jokey
Plastikbecher, 200 ml	k. A

Präparierschere	Stainless Germany
Schraubröhrchen	Sarstedt

### 3.1.2 Lösungen und organische Materialien

In Tabelle 2 sind die verwendeten Lösungen und organischen Materialien aufgeführt.

**Tabelle 2: Auflistung der verwendeten Lösungen und organischen Materialien sowie die dazugehörigen Hersteller.**

Lösung und organische Materialien	Hersteller
Dulbecco's Phosphate Buffered Saline (Salzlösung)	Gibco
Hackfleisch (Schwein/Rind)	Chefs Culinar GmbH & Co. KG
Magermilchpulver	Nestlé Gloria Magermilchpulver
Rinderleber	Chefs Culinar GmbH & Co. KG
Wasser	Leitungswasser
Zucker	ja!

### 3.1.3 Organismen



Der Versuch wurden mit einer Laborpopulation der forensisch relevanten Schmeißfliegenart *Calliphora vicina*, Robineau-Desvoidy, 1830 durchgeführt (Abbildung 15). Die Population stamm aus der Zucht des Instituts für Rechtsmedizin in Frankfurt am Main, welche diese über die Jahre durch wöchentliche Ablagen etabliert hat. Die Systematik dieser Fliegenart ist der Tabelle 3 zu entnehmen.

**Abbildung 15: Habitus *Calliphora vicina*** (Lutz et al., 2018)

**Tabelle 3: Systematik der Fliegenart *Calliphora vicina***

Klasse	Ordnung	Familie	Gattung	Art
Insecta	Diptera	Calliphoridae	Calliphora	<i>Calliphora. vicina</i>

### 3.1.4 Geräte

Die in Tabelle 4 aufgelisteten Geräte wurden für die Durchführung des Versuches benötigt.

**Tabelle 4: Auflistung der verwendeten Geräte sowie die dazugehörigen Hersteller.**

Geräte	Hersteller
Binokular, SZ61	Olympus
Binokular-Lichtquelle, KL1500 LCD	Schott
Binokular-Kamera	Axiocam ICc1
Gefrierschrank	Liebherr
Inkubator 25 °C	Flohr Instruments
Waage	Kern&Sohn GmbH

### 3.1.5 Software

In Tabelle 5 sind die zum Festhalten und Auswerten der Ergebnisse verwendeten Softwares aufgelistet, welche während und nach dem Durchführen des Versuches benötigt wurden.

**Tabelle 5: Auflistung der verwendeten Softwares sowie der dazugehörige Hersteller.**

Software	Hersteller
AxioVison Release	Olympus
Microsoft Word	Microsoft Corporation

## 3.2 Methode

Der folgende Teil ist der Methodik gewidmet. Zunächst wird auf die Eiablage und Aufzucht eingegangen, anschließend folgt der Versuchsaufbau sowie die Probennahme und Präparation.

### 3.2.1 Eiablage und Aufzucht

Bei der verwendeten Fliegenart handelt es sich um eine Laborpopulation, die das Institut für Rechtsmedizin in Frankfurt am Main über Jahre hinweg etabliert hat. Die Haltung er-

folgt je nach Fliegenanzahl in feinmaschigen Metallbehältern oder großen Kunststoffboxen, die als Fliegenkäfige dienen. Die Öffnung der Käfige wird mit einer Nylonstrumpfhose, deren Enden abgeschnitten sind, verschlossen, um es zu ermöglichen, mit den Händen in das Innere der Käfige zu greifen, gleichzeitig aber zu verhindern, dass die Fliegen entkommen. In allen Käfigen stehen zugeschnittene Plastikbecher mit Würfelzucker als Futterquelle und ein Becher mit Leitungswasser als Wasserquelle zur Verfügung. Zur Vermeidung des Ertrinkens der Fliegen sind in dem Becher mit Wasser zusätzlich Papiertücher. Die Aufrechterhaltung der Population wird durch die wöchentliche Eiablage gewährleistet. Um diese zu stimulieren, wird den Fliegen eine Proteinquelle, hier aufgetaute Rinderleber in einem Plastikbecher, in die Käfige gestellt (Abbildung 16 links). Das Protein wird von den Fliegen nicht nur für die Entwicklung der Ovarien benötigt, sondern bietet gleichzeitig einen geeigneten Ort für die Oviposition. Nach einigen Stunden wird der Becher mit der Leber aus dem Käfig entnommen (Abbildung 16 rechts), in eine Plastikdose mit luftdurchlässigem Deckel gegeben und bei 25 °C inkubiert.



**Abbildung 16: Eiablage der Laborpopulation *Calliphora vicina* in der Rechtsmedizin Frankfurt am Main. Links: Plastikbecher mit Rinderleber vor der Eiablage; Rechts: Plastikbecher mit Rinderleber nach erfolgter Eiablage (eigene Aufnahme)**

24 Stunden später werden die geschlüpften L1-Maden auf Hackfleisch übertragen. Sie werden in einen Plastikbeimer mit luftdurchlässigem Deckel gegeben, der mit Kleintierstreu gefüllt ist. Das Kleintierstreu soll den Maden eine geeignete Verpuppungsumgebung bieten. Die Inkubation der Maden wird bis zum Schlupf der Larven fortgesetzt und es wird in regelmäßigen Abständen kontrolliert, ob noch eine ausreichende Menge an Hackfleisch vorhanden ist. Sobald die erste adulte Fliege schlüpft, wird die Box in einen Zuchtkäfig überführt, um zu gewährleisten, dass die Population erhalten bleibt.

Um für den eigentlichen Versuch frisch geschlüpfte adulte Fliegen zu erhalten, wurde zum einen der Boden des Plastikbechers mit der Rinderleber mit Papiertüchern ausgelegt, da die Leber während der Inkubation zu viel Flüssigkeit abgab und somit eine große Anzahl von Eiern quasi darin ertrank. Zum anderen wurde zur Vermeidung von Feuchtigkeit in den Eimern ein weiteres Papiertuch in die Einstreu gelegt und regelmäßig gewechselt.

Darüber hinaus wurde bei kälteren Temperaturen eine Art Wärmeflasche in die Zuchtkäfige gelegt, da die Fliegen bei niedrigeren Temperaturen sonst nicht genügend Eier ablegten.

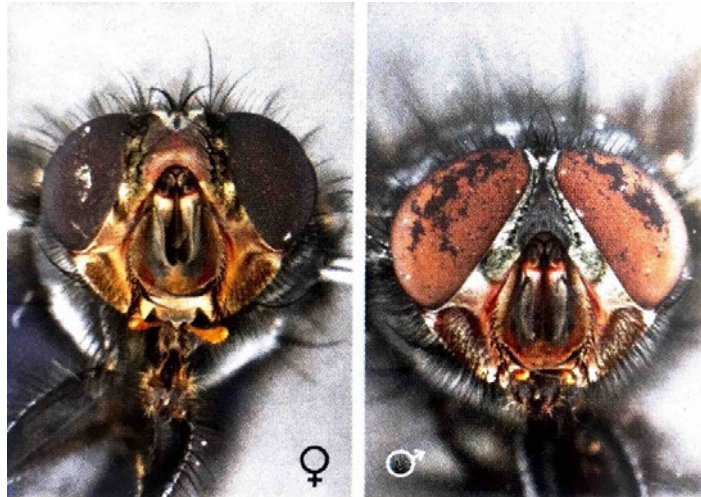


**Abbildung 17: Plastikeimer nach der Larvenübertragung in das Hackfleisch enthaltenden Plastikbecher. Der Boden des Eimers ist mit Kleintierstreu und Papiertücher befüllt (eigene Aufnahme).**

### 3.2.2 Versuchsdurchführung

Möglichst viele adulte Fliegen sollten gleichzeitig schlüpfen, bevor der eigentliche Versuch und die tägliche Probenahme beginnen konnten. Es wurde daher angestrebt, eine Gesamtzahl von ca. 2.400 Larven zu züchten. Die Larven wurden in 12 Eimern gehalten. Damit sollte die Konkurrenz minimiert und das Überleben möglichst vieler Larven gesichert werden. Jeder dieser Eimer hatte einen Plastikbecher mit Hackfleisch als Füllung. In diesen Becher wurden ca. 200 Maden überführt. Ziel war es, am Ende 1200 adulte Fliegen zu erhalten.

Nach dem Schlupf sollten sechs Käfige mit insgesamt 200 adulten Fliegen, je 100 Weibchen und 100 Männchen, etabliert werden. Als Unterscheidungsmerkmal zwischen den Geschlechtern wurde der Abstand zwischen den Augen herangezogen. Wie in zu sehen ist, liegen die Augen der weiblichen Fliegen weit auseinander, während die Augen der männlichen Fliegen eng beieinanderliegen (Sivell, 2021).



**Abbildung 18: Augenabstand zueinander als Unterscheidungsmerkmal zwischen den Geschlechtern bei der Schmeißfliegenart *Calliphora vicina*. Links = weibliche Fliege; rechts = männliche Fliege (Sivell, 2021)**

In jedem Käfig werden eine Wasserquelle und Zuckerwürfel bereitgestellt, damit die Fliegen nach Belieben trinken und fressen können. Im Laufe des Versuchs werden das Futter und das Wasser je nach Bedarf erneuert.

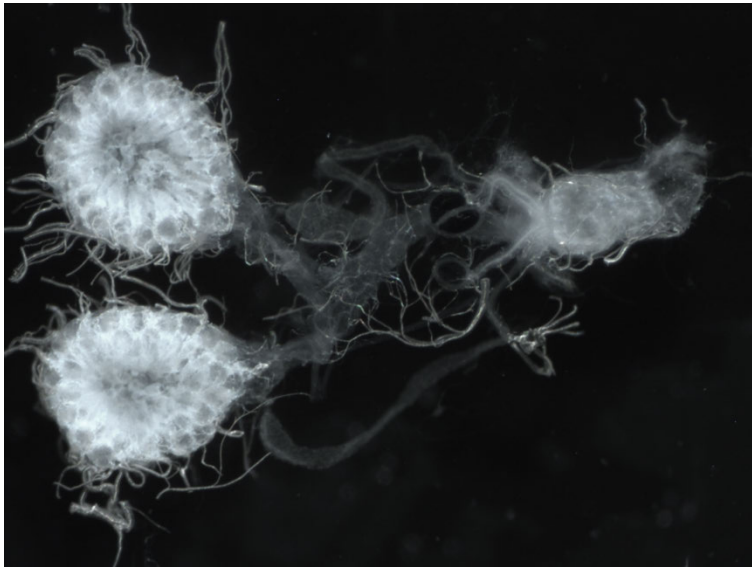
Zusätzlich wird in den Käfigen 1-5 eine Proteinquelle in Form von Leber für zwei Replikate und Milchpulver für ein Replikat bereitgestellt. Diese wird nach dem Schlupf der Fliegen in den Käfig platziert und bis zur Entnahme kontinuierlich im Käfig belassen. Die Proteinquelle wird aus Käfig 1 nach einem Tag, aus Käfig 2 nach drei Tagen, aus Käfig 3 nach fünf Tagen, aus Käfig 4 nach zehn Tagen und aus Käfig 5 nach 15 Tagen entfernt. Um zu verhindern, dass die Leber zu sehr austrocknet oder zu faulen beginnt und um weiterhin genügend Protein zur Verfügung zu haben, wird die Proteinquelle alle 5 Tage gewechselt. Käfig 6 erhielt kein Protein und diente als Kontrollgruppe. Diese Methode lehnt sich an die von Wessels et al. in ihren Versuchen mit der Fleischfliege *Sarcophaga crassipalpis* angewandte Methode an (Wessels et al., 2011).

### 3.2.3 Probenentnahme und Präparation

Während einer Versuchsdauer von 16 Tagen werden aus jedem Käfig täglich fünf weibliche Fliegen entnommen. Die Entnahme erfolgt mittels eines Schraubröhrchens. Dieses wird mit der Käfignummer und dem Datum beschriftet. Nach dem Überführen in die Röhrchen werden die Tiere durch sofortiges Einfrieren bei -20 °C getötet. Auf diese Weise wird der Zustand der Fliege und ihrer Ovarien sichergestellt. Um das zahlenmäßige Verhältnis zwischen männlichen und weiblichen Fliegen beizubehalten, werden auch 5 männliche Fliegen entnommen. Da diese Fliegen für die weiteren Versuche nicht von Bedeutung sind, werden sie in die Freiheit entlassen.



Unter dem Binokular werden die Fliegen zunächst mit Stecknadeln auf einer Petrischale fixiert. Anschließend wird das Abdomen mit Pinzette und Präparierschere geöffnet und das Fortpflanzungssystem herauspräpariert, wobei alle nicht benötigten Organe wie Magen und Darm entfernt werden. Im Ovidukt und im Ovipositor werden die Eier auf das Vorhandensein von frühentwickelten Eiern.



**Abbildung 19: Präpariertes Reproduktionssystem (eigene Aufnahme)**

Zur fotografischen Dokumentation wurden Fotos von den Ovarien gemacht. Dazu wurde auf eine Petrischale ein paar Tropfen einer Salzlösung hinaufgegeben, die Ovarien platziert und die Petrischale auf die schwarze Objektplatte gelegt, mithilfe einer am Binokular angebrachten Kamera wurde dann ein Bild aufgenommen.



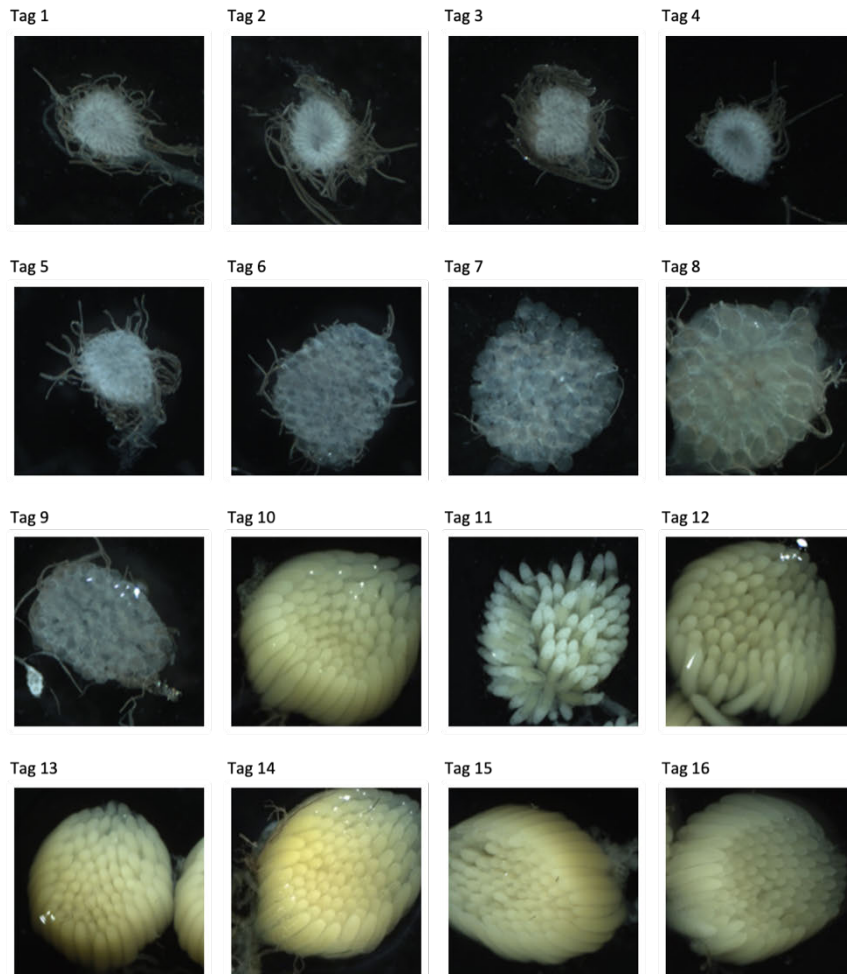
## 4 Ergebnis

Die Ergebnisse des Versuchs sind Gegenstand des folgenden Kapitels. Im Versuchsverlauf musste die Fliegenzahl pro Käfig reduziert werden, da zu wenige Fliegen schlüpften. Aus den geplanten 100 Fliegen pro Geschlecht in jedem Käfig wurden 48, was einer Entnahme von 3 statt 5 Proben pro Tag und Käfig entspricht. Außerdem wurde die Gruppe mit der Proteinverfügbarkeit von 3 Tagen aus allen Versuchsreihen gestrichen, ebenso wie die Gruppe mit der Proteinverfügbarkeit von 1 Tag und die Kontrollgruppe aus der Versuchsreihe mit dem Milchpulver.

### 4.1 Proteinquelle Rinderleber

In der ersten und dritten Versuchsreihe wurde die Ovarienentwicklung von Weibchen der Schmeißfliegenart *Calliphora vicina* über einen Zeitraum von 16 Tagen bei Proteinangebot in Form von Rinderleber von einem, fünf, zehn und 15 Tagen sowie einer nur mit Zucker und Wasser gefütterten Kontrollgruppe untersucht. In der ersten Versuchsreihe musste der Versuch in den Gruppen mit einer 10- und 15-tägigen Verfügbarkeit sowie der Kontrollgruppe aufgrund einer hohen Mortalitätsrate vorzeitig beendet, aus diesem Grund wird sich auf die dritte Versuchsreihe fokussiert.

Repräsentativ werden zunächst die Ergebnisse bei einer Verfügbarkeit von zehn Tagen beschrieben, die gesamte Entwicklung ist in der Abbildung 20 zu sehen. Anschließend wird diese Entwicklung mit den signifikantesten Abweichungen der weiteren Proteinverfügbarkeiten und der Kontrollgruppe verglichen.



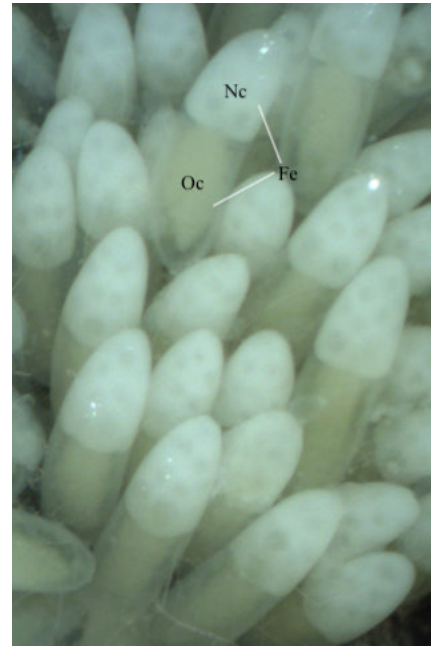
**Abbildung 20: Ovarienentwicklung über einen Zeitraum von 16 Tagen bei einer Proteinverfügbarkeit von 10 Tagen in Form von Rinderleber (eigene Aufnahme)**

Am ersten Tagen sind lediglich sehr kleine, unstrukturierte, weiße, kompakte Bündel zu sehen, die die Ovarien darstellen. Von Tag 2 bis 4 ist eine punktierte Struktur erkennbar. Zu diesem Zeitpunkt sind weder individuelle Follikel noch einzelne Ovariolen zu erkennen, da diese eng aneinanderhaften. Die Ovarien sind von einem Netz dunkler Fäden, den Tracheen, umgeben. Die Form der Ovarien ist weitgehend oval. Die Ovarien befinden sich im ersten Stadium.

Ab dem 5. Tag nehmen die Ovarien eine rundliche Form und werden ab dem 6. Tag zudem transparenter. Sie erhalten ein blasenartiges Aussehen. Innerhalb der Ovarien erscheint die Struktur geordneter. Zudem lassen sich einzelne Ovariolen mit rundlichem Follikel sowie birnenförmigen Germarium. Erkennen. Die Ovarien befinden sich im zweiten Stadium der Entwicklung.

Von Tag 7 bis Tag 9 nehmen die Ovarien zu nehmend an Größe zu. Die Ovariolen erscheinen am siebten Tag kugelig, nehmen allerdings ab dem achten Tag in der Länge zu und erscheinen leicht ellipsenförmig. Zu diesem Zeitpunkt befinden sie sich im dritten Stadium der Entwicklung.

Ab dem 10. Tag ist eine Veränderung der Form der Ovariolen erkennbar. Sie sind nicht mehr rund, sondern länglich, zylindrisch gekrümmt und schmäler. Sie sind nicht mehr durchscheinend, sondern durch die vollständige Ausbildung der Dotter gelblich. Die Ovarien werden riesig und sind im fünften und somit letzten Stadium der Entwicklung. Am 11. Tag jedoch sind die Ovariolen zweifarbig, es lässt sich gut die gelbliche Oozyte von der cremefarbenen Nährzelle zu unterscheiden (Abbildung 21). Ab dem 12. Tag gleichen die Ovarien, die der am Tag 10 präparierten.

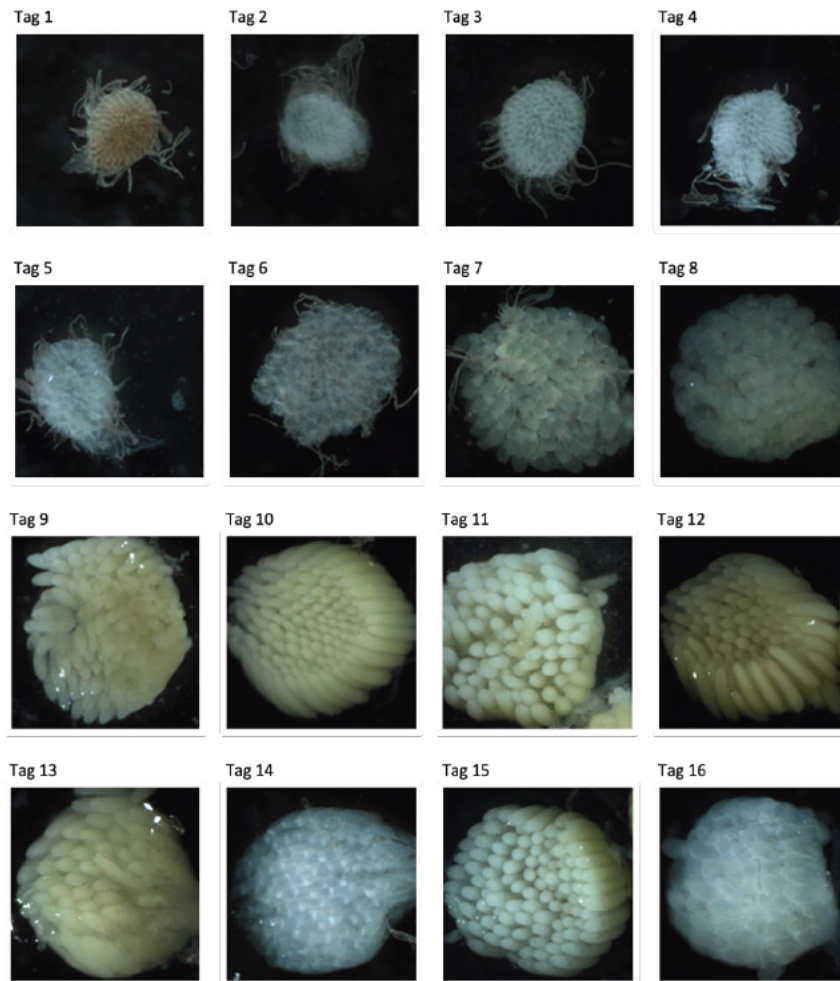


**Abbildung 21: Nahaufnahme der Ovariolen an Tag 11 bei einer Proteinverfügbarkeit von 10 Tagen in Form von Rinderleber (eigene Aufnahme)**

Zwischen dem 12. und 16. Tag wurden insgesamt in 9 von 14 Genitaltrakten der Fliegen frühreife Eier notiert (Tabelle 6). Dabei wurde am 15. Tag in allen drei Proben frühreife Eier aufgefunden. Allerdings konnten am letzten Versuchstag lediglich zwei Fliegen präpariert werden anstelle der von drei, da scheinbar während der Probenentnahme eine weibliche Fliege entkommen sein muss.

**Tabelle 6: Übersicht der aufgefundenen frühreifen Eier bei einer Proteinverfügbarkeit von 10 Tagen in der Form von Rinderleber**

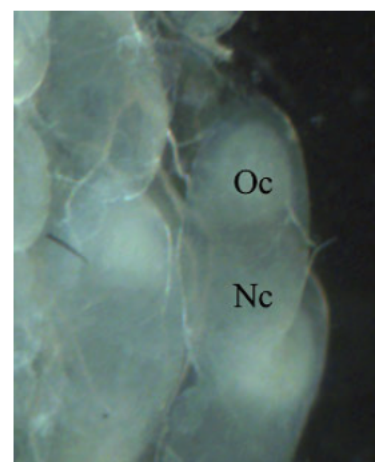
Tag	12	13	14	15	16
Anzahl an frühreifen Eiern	2 von 3	1 von 3	2 von 3	3 von 3	1 von 2



**Abbildung 22: Ovarienentwicklung über einen Zeitraum von 16 Tagen bei einer Proteinverfügbarkeit von 15 Tagen in Form von Rinderleber (eigene Aufnahme)**

Diese Ergebnisse entsprechen im Wesentlichen den Ergebnissen nach 15 Tagen Proteinverfügbarkeit in Form von Leber (Abbildung 22), jedoch erfolgte die Entwicklung zum dritten und fünften Stadium einen Tag früher. Ein deutlicher Unterschied ist am siebten Tag zu erkennen. Hier sind die Ovariolen bereits deutlich elliptisch geformt und im hinteren Bereich ist bereits die Bildung der Oozyte zu erkennen, die zu diesem Zeitpunkt etwa ein Drittel der Ovariolen ausfüllt. Die Ovarien befinden sich im vierten Stadium.

Am neunten Tag füllt die Oozyte zwei Drittel der Ovariolen aus. Diese sind nun sehr lang und zylindrisch gekrümmt. Ab dem 10. Tag sind die Ovariolen vollständig gelb gefärbt, die Oozyte füllt sie nun vollständig aus. Die Ovarien befinden sich



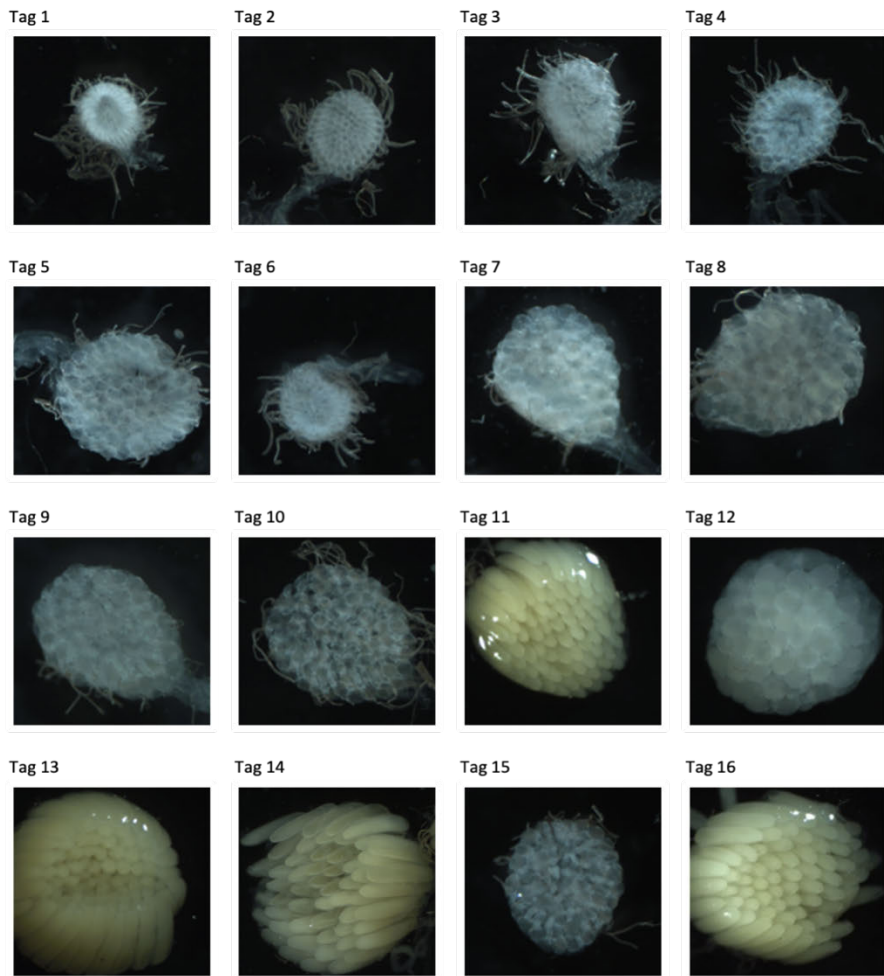
**Abbildung 23: Nahaufnahme der Ovariolen an Tag 7 bei einer Proteinverfügbarkeit von 15 Tagen in Form von Rinderleber. (eigene Aufnahme)**

im fünften Entwicklungsstadium.

Es wurden nur zwei frühreife Eier (Abbildung 24) gefunden, eines am Tag 13 und eines am Tag 15. Am 14. und 16. Tag waren die Ovarien stark vergrößert, hatten aber ein blasenartiges Aussehen. Es ist anzumerken, dass in dieser Gruppe es zu Eiablagen kam.



**Abbildung 24: Nahaufnahme eines frühreifen Eies mit gespaltener Schlupflinie (eigene Aufnahme)**



**Abbildung 25: Ovarienentwicklung über einen Zeitraum von 16 Tagen bei einer Proteinverfügbarkeit von 5 Tagen in Form von Leber (eigene Aufnahme)**

Im Gegensatz dazu erfolgte bei einer Proteinverfügbarkeit von fünf Tagen (Abbildung 25) die Entwicklung sowohl zur Bläschenform, dem dritten Stadium, als auch zur vollständigen Entwicklung, dem fünften Stadium, einen Tag später als bei einer Proteinverfügbarkeit von zehn Tagen (Abbildung 26). Am 12. Tag war allerdings die Ovarien in einer blasenförmigen Form.



**Abbildung 26: Ovarienentwicklung an Tag 10 bei differierenden Proteinverfügbarkeiten in Form von Rinderleber. Links = 5 Tage Proteinverfügbarkeit; Mitte = 10 Tage Proteinverfügbarkeit; Rechts = 15 Tage Proteinverfügbarkeit (eigene Aufnahme)**

Ebenfalls einen Tag später wurde das erste frühreife Ei gefunden. Insgesamt konnten ab dem 13. Tag in 6 von 11 Genitaltrakten frühreife Eier gefunden werden (Tabelle 7). In allen drei Proben wurden am 13. Tag frühreife Eier gefunden. Am 15. Tag wurden keine gefunden, zu diesem Zeitpunkt waren die Ovarien bläschenförmig. Allerdings konnten, wie bei der 10-tägigen Verfügbarkeit am letzten Versuchstag lediglich 2 Fliegen präpariert werden anstelle der von drei, da scheinbar während der Probenentnahme eine weibliche Fliege entkommen sein muss.

**Tabelle 7: Übersicht der aufgefundenen frühreifen Eier bei einer Proteinverfügbarkeit von 5 Tagen in der Form von Rinderleber**

Tag	13	14	15	16
Anzahl an frühreifen Eiern	3 von 3	2 von 3	0 von 3	1 von 2

Weder in der Kontrollgruppe (Abbildung 27) noch in der Gruppe mit eintägiger Proteinversorgung (Abbildung 28) gab es keine Entwicklung der Ovarien über den Zustand der bläsigen Ovarien, dem zweiten Stadium der Ovarienentwicklung, hinaus. Die Ovarien der Kontrollgruppe waren jedoch ab dem 10. Tag wieder oval und kompakt, während die Ovarien der Gruppe mit eintägiger Proteinverfügbarkeit zwischen dem ovalen und dem bläsigen Zustand schwankten.



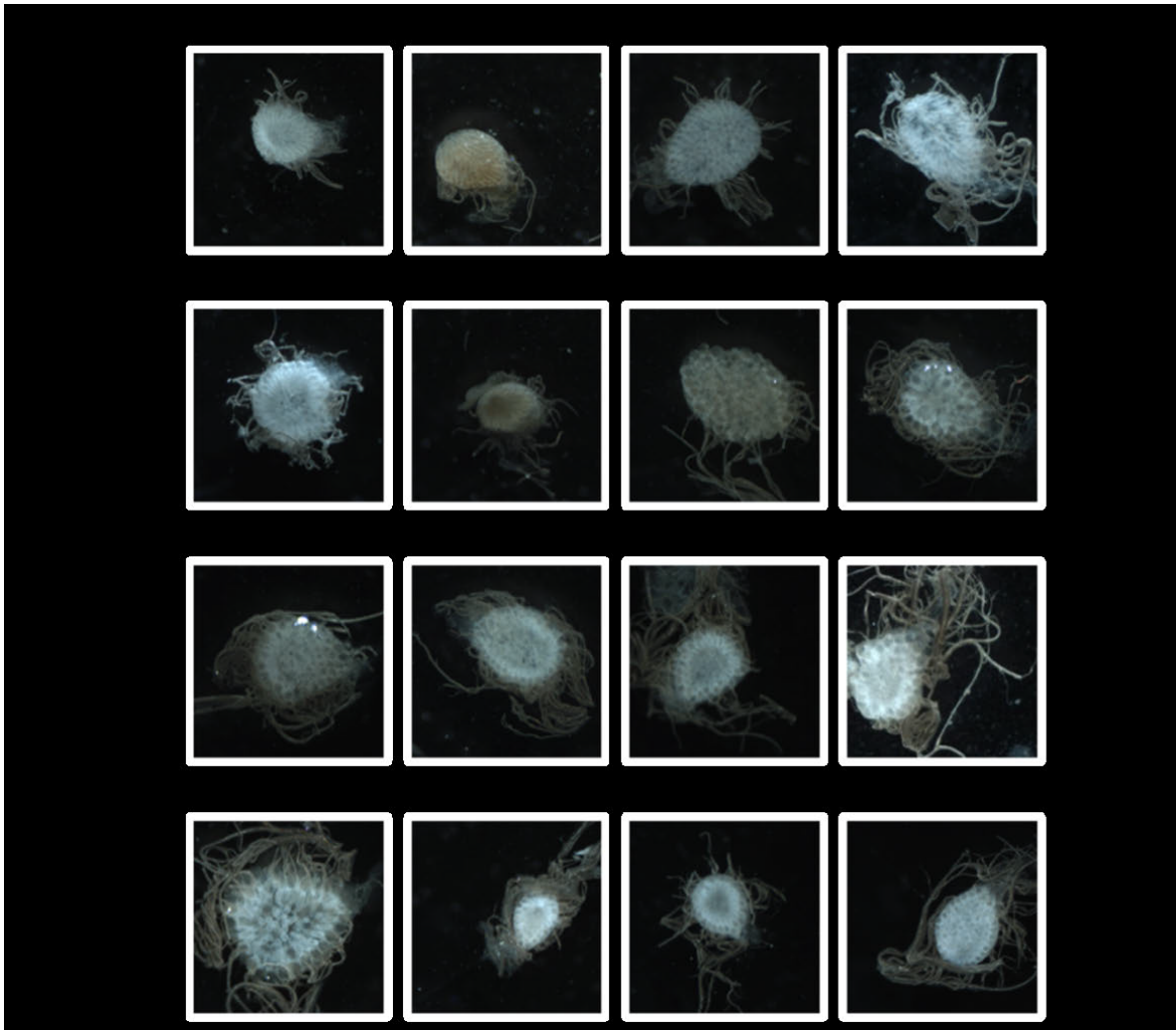
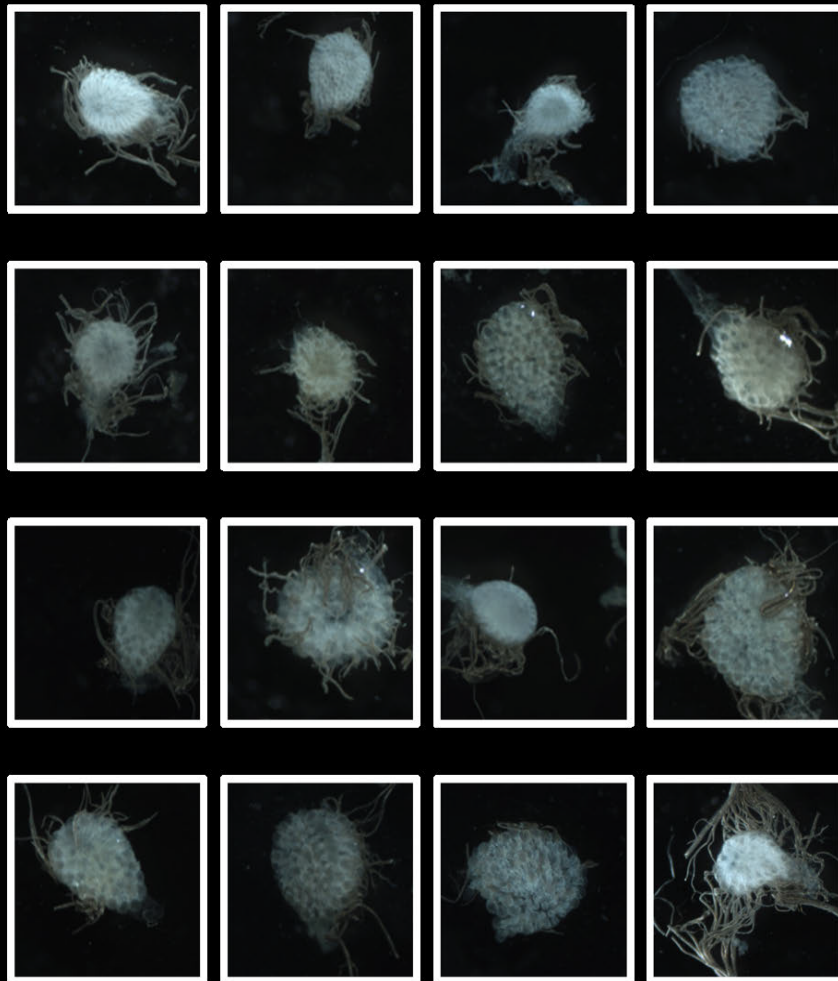


Abbildung 27: Ovarienentwicklung über einen Zeitraum von 16 Tagen ohne Proteinzufuhr (eigene Aufnahme)

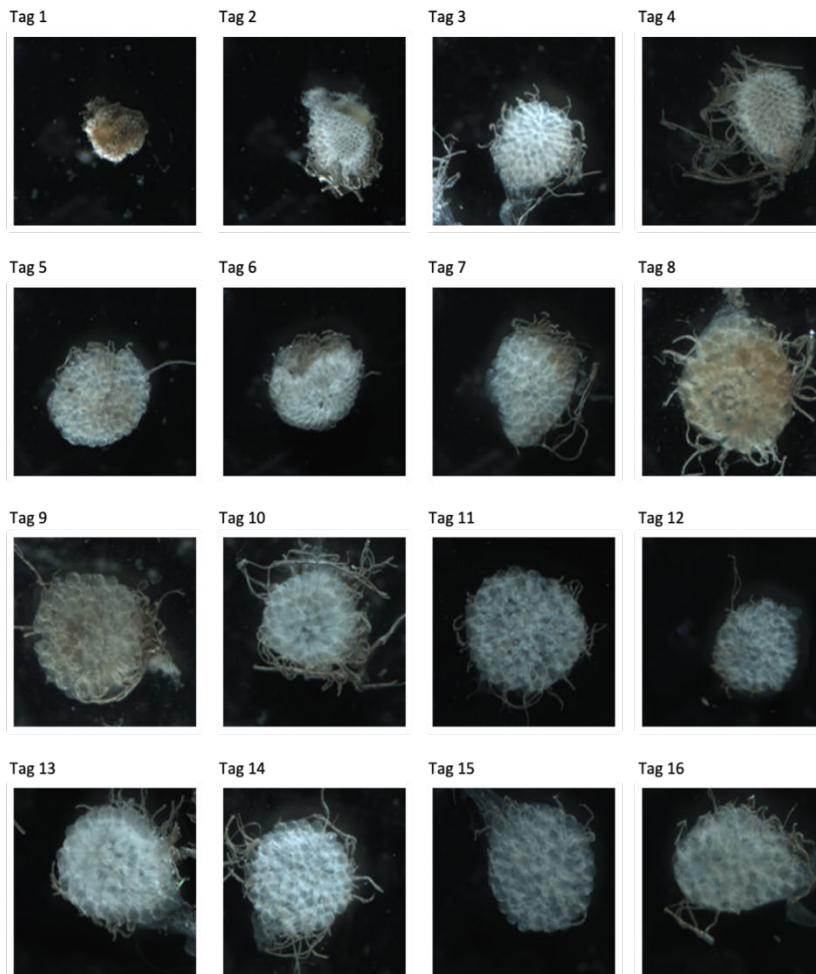




**Abbildung 28: Ovarienentwicklung über einen Zeitraum von 16 Tagen bei einer Proteinverfügbarkeit von 1 Tag in Form von Rinderleber (eigene Aufnahme)**

## 4.2 Milchpulver

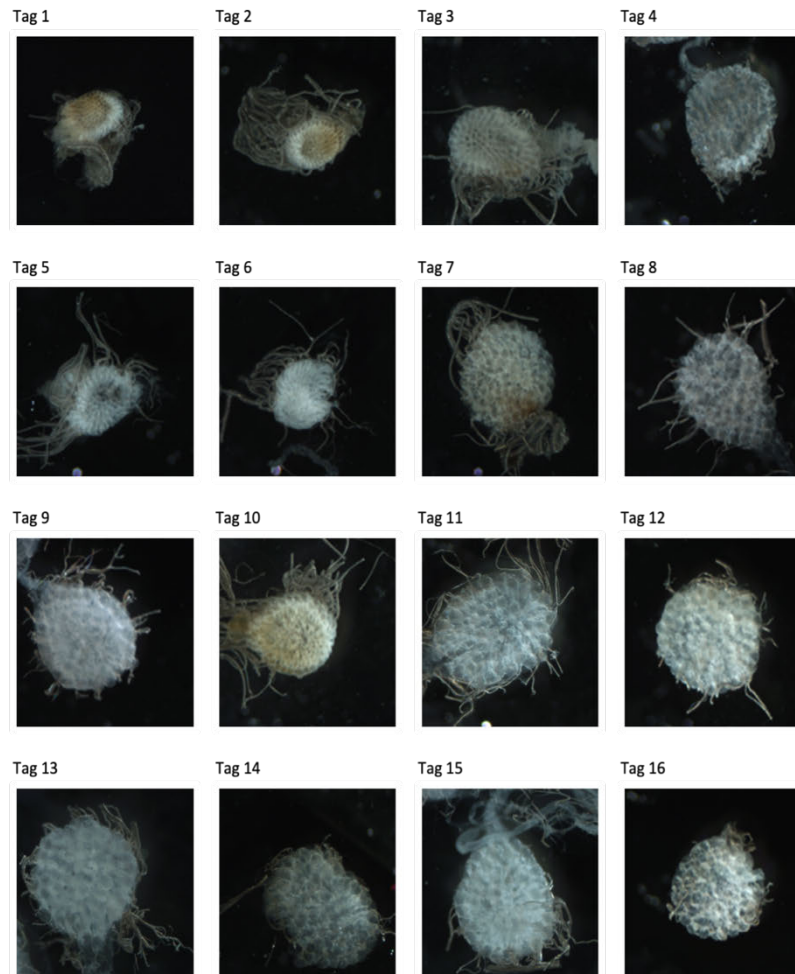
In der zweiten Versuchsreihe wurde die Entwicklung der Ovarien von Weibchen der Schmeißfliegenart *Calliphora vicina* über einen Zeitraum von 16 Tagen untersucht. Die Verfügbarkeit des Proteins in Form von Milchpulver betrug fünf, zehn und 15 Tage. Repräsentativ werden, wie in der vorangegangenen Leberversuchsreihe, zunächst die Ergebnisse bei 10 Tagen Verfügbarkeit beschrieben (Abbildung 29). Im Anschluss daran werden diese Ergebnisse mit den signifikantesten Abweichungen der Proteinverfügbarkeiten von fünf und 15 Tagen verglichen.



**Abbildung 29: Ovarienentwicklung über einen Zeitraum von 16 Tagen bei einer Proteinverfügbarkeit von 10 Tagen in Form von Milchpulver (eigene Aufnahme)**

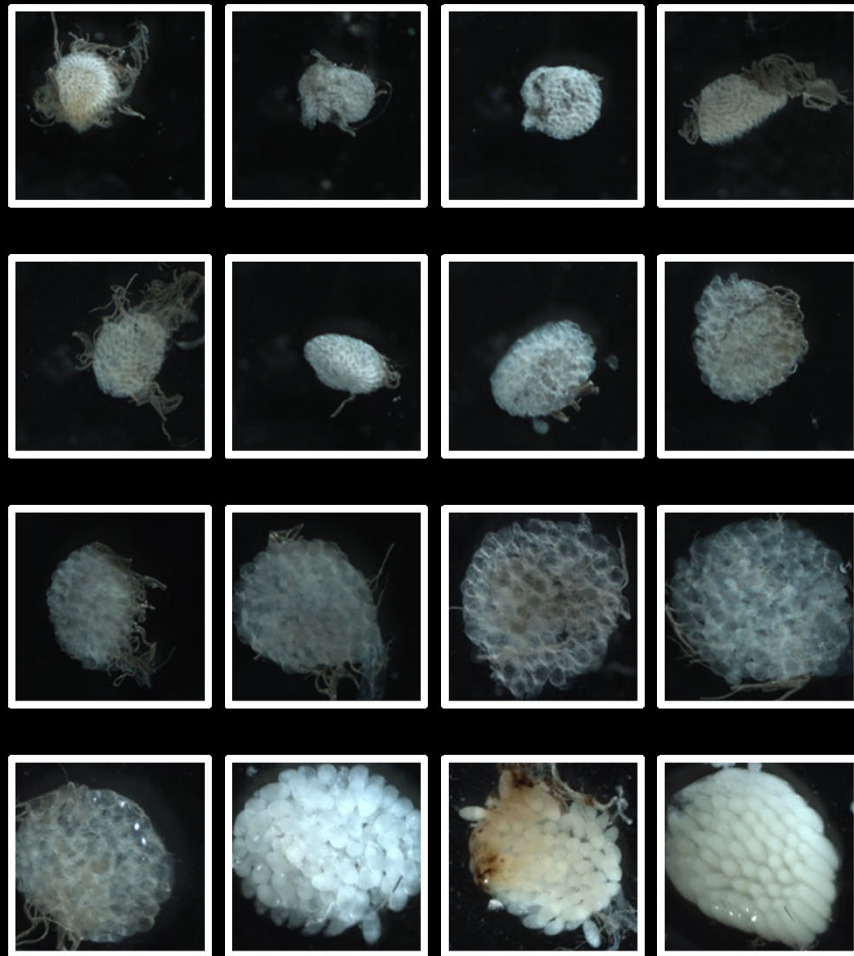
Die Ovarien sind am ersten Tag weiße, kompakte Bündel ohne Struktur. Es sind keine einzelnen Ovariolen zuerkennen. Die Ovarien werden von einem Tracheennetz umgeben. Das erste Entwicklungsstadium der Ovarien ist erreicht. Vom zweiten bis zum vierten Tag weisen die Ovarien eine punktierte Struktur auf, die Entwicklung der Ovarien befindet sich im zweiten Stadium.

Ab dem 5. Tag sind die Ovarien rundlich geformt. Die Ovarien werden immer größer, runder und durchscheinend und erhalten ein blasenartiges Aussehen. Es sind einzelne Ovariolen zu erkennen, zu diesem Zeitpunkt sehen sie sehr kugelförmig aus. Ab dem 8. Tag bleibt die Form und Größe der Ovarien weitgehend unverändert.



**Abbildung 30: Ovarienentwicklung über einen Zeitraum von 16 Tagen bei einer Proteinverfügbarkeit von 5 Tagen in Form von Milchpulver (eigene Aufnahme)**

Diese Ergebnisse stimmen im Wesentlichen mit den Ergebnissen für die Proteinverfügbarkeit von fünf Tagen überein (Abbildung 30). Allerdings findet die Entwicklung der Ovarien zu einem blasenartigen Aussehen zwei Tage später, an Tag 7, statt. Die Entwicklung zur maximalen Größe der Ovarien erfolgt ebenfalls zwei Tage, an Tag 11, später.



**Abbildung 31: Ovarienentwicklung über einen Zeitraum von 16 Tagen bei einer Proteinverfügbarkeit von 15 Tagen in Form von Milchpulver (eigene Aufnahme)**

Bei einer Proteinverfügbarkeit von 15 Tagen (Abbildung 31) war die Entwicklung bis zum 9. Tag deckungsgleich. Danach nahmen die Ovarien weiter an Größe zu. Ab dem 14. Tag wurden die Ovariolen zwar immer länger und ellipsenförmiger, gleichzeitig nahmen sie aber auch in der Breite ab. Zudem trübten sie sich etwas ein. Die Oozyte macht etwas mehr als ein Drittel der Ovariolen aus. Einen Tag später, an Tag 15, nimmt die Oozyte ca. die Hälfte der Ovariolen ein. Am 16. Tag waren die Ovarien sehr groß und die Ovariolen hatten eine völlig gelbe Farbe bekommen. Darüber hinaus waren die Ovariolen länglich und zu einer zylindrischen Form gebogen.

### 4.3 Vergleich der Proteinquellen

Im direkten Vergleich der Proteinquellen lässt sich zusammenfassend feststellen: Bei der Proteinquelle Leber kommt es bei einer Verfügbarkeit von fünf, zehn und 15 Tagen zu einer vollständigen Entwicklung der Ovarien und Ovariolen, während dies bei der Proteinquelle Milchpulver nur bei einer Verfügbarkeit von 15 Tagen der Fall ist. Darüber hinaus

wurde in der Versuchsreihe mit Leber in den Gruppen mit einer Verfügbarkeit von fünf, zehn und 15 Tagen jeweils mindestens zwei frühreife Ei gefunden, dagegen wurden keine bei der Milchpulver Versuchsreihe gefunden.

Bei einem Vergleich der 15-tägigen Proteinverfügbarkeiten fällt auf, dass die Ovarienentwicklung bei der Proteinquelle Rinderleber bereits am 10. Tag abgeschlossen, während dies bei der Proteinquelle Milchpulver erst am 16. Tag der Fall ist.

Die Entwicklung der Ovarien bei einer Proteinverfügbarkeit von fünf und zehn Tagen in Form von Milchpulver ist weitestgehend deckend mit der Entwicklung bei einer Proteinverfügbarkeit von einem Tag in Form von Rinderleber.

## 5 Diskussion

Zur Bestimmung des postmortalen Mindestalters wird in der forensischen Entomologie in der Regel das Alter des größten am Kadaver nachweisbaren immaturren Individuums berechnet. Das Vorhandensein prämaturer Eier kann jedoch eine Verschiebung des  $PMI_{min}$  bewirken. Dieses Phänomen wurde bereits 1986 zum ersten Mal dokumentiert (Smith, 1986). Bis heute wurde jedoch nur wenig darüber geforscht (K. Davies & Harvey, 2012; Lutz & Amendt, 2020; Wells & King, 2001).

Ziel dieser Arbeit war es herauszufinden, inwieweit sich die differierenden Proteinverfügbarkeiten auf die Ovarienentwicklung der forensisch relevanten Schmeißfliegenart *Calliphora vicina* auswirkt. Hierbei wurde besonderes Augenmerk auf das Vorhandensein frühentwickelter Eier gelegt.

Dieses Kapitel befasst sich mit der Auswertung und Diskussion der in Kapitel 4 vorgestellten Ergebnisse, welche zunächst in die verschiedenen Proteinquellen untergliedert wurde. Des Weiteren sollen Implikationen über das Phänomen der frühentwickelten Eier für die forensische Entomologie sowie mögliche Fehlerquellen in der Methode beleuchtet werden. Abschließend soll ein Ausblick auf mögliche Optimierungen der Methode und weiterführende Forschungsfragen gegeben, die sich im Verlauf des Experiments ergeben haben.

### 5.1 Proteinquelle Rinderleber

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass die Dauer der Fütterung der Proteinquelle Rinderleber einen Einfluss auf die Ovarienentwicklung bei Schmeißfliegen haben kann. Je länger eine Fliege kontinuierlich das Protein zur Verfügung hatte, desto eher entwickelten sich die Ovarien und Ovariolen. Eine vollständige Ovarienentwicklung wurde bei einer Fütterungsdauer von zehn und 15 Tagen bereits am 10. Tag beobachtet, während dies bei einer Dauer von fünf Tagen erst am 11. Tag erreicht wurde und gar nicht bei einer Verfügbarkeit von einem Tag. Dies entspricht der bisherigen Literatur (Brewer, 1993; Hammack, 1999; Thomas, 1993; Wall et al., 1991). Die erzielten Ergebnisse deuten darauf hin, dass unter den vorliegenden Laborbedingungen eine vollständige Ovarienentwicklung frühestens zehn Tage nach Schlupf zu erwarten ist, bei einer Proteinverfügbarkeit von 10 Tagen in Form von Rinderleber. Die Ergebnisse zeigen auch, dass eine Verfügbarkeit von einem Tag nicht ausreichend ist, um eine Entwicklung über das zweite Stadium hinaus zu ermöglichen. Dies impliziert, dass eine Fliege nach dem Schlüpfen eine längere Verfügbarkeit an Protein als einen Tag benötigt.

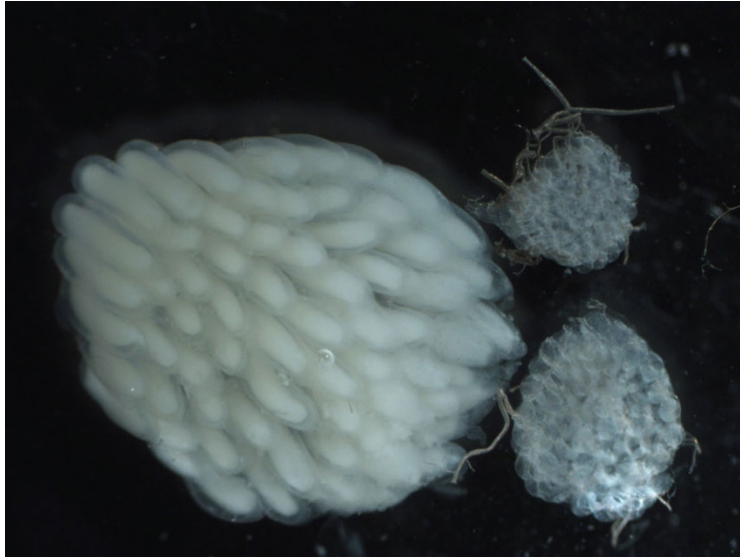
Ähnliche Aussagen lassen sich über die Präsenz von frühreifen Eiern treffen. Die vorliegenden Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Dauer der Fütterung von Rinderleber einen Einfluss auf das Vorhandensein von frühentwickelten Eiern im genitalen Trakt von Schmeißfliegen hat. Je länger Rinderleber eine Fliege zur Verfügung hatte, desto früher befanden sich frühentwickelte Eier im genitalen Trakt der Fliegen. Allerdings lassen sich lediglich Aussagen über eine Verfügbarkeit von fünf und zehn Tagen treffen, da es bei einer Verfügbarkeit von 15 Tagen zu Eiablagen kam, wodurch keine weiteren Aussagen mehr getroffen werden konnten. Die bei dieser Verfügbarkeit im genitalen Trakt gefundenen Eier könnten einerseits frühreife Eier sein, andererseits könnten die Fliegen während des Ablageprozesses aus dem Käfig entfernt worden sein.

## 5.2 Proteinquelle Milchpulver

Für die Verwendung von Milchpulver als Proteinquelle in Laboren gibt es mehrere Argumente. Zum einen wäre es eine preiswerte Alternative zu Rinderleber. Zum anderen wäre es länger haltbar und einfacher zu lagern, da es nicht gekühlt werden muss. Das in dieser Arbeit verwendete Milchpulver hatte einen Proteingehalt von 35,5 g pro 100 g, während im Vergleich dazu Leber einen Proteingehalt von 20,4 g pro 100 g (*FoodData Central*, n.d.) hat.

In vereinzelt Experimenten (Gunn & Bird, 2011; Pechal et al., 2014) wurde Milchpulver bereits erfolgreich als Proteinquelle bei Dipteren eingesetzt. Der Vergleich der in dieser Arbeit erzielten Ergebnisse zeigt allerdings, dass Milchpulver keine geeignete Wahl darstellt. Obwohl der Proteingehalt von Milchpulver deutlich höher ist als der von Rinderleber, entwickeln sich die Ovarien der Schmeißfliegen deutlich langsamer und benötigen mehr Zeit, um sich zu entwickeln. Während sich die Ovarien der Tiere bei Verwendung von Milchpulver bei einer Verfügbarkeit von 15 Tagen erst am 16. Tag bis zum Endstadium entwickelten, reichte bei Verwendung von Rinderleber eine Verfügbarkeit von 5 Tagen aus, um eine vollständige Entwicklung ab Tag 11 zu erreichen. Bei einer Verfügbarkeit von 10 Tagen war dies bereits am 10. Tag der Fall. Hervorzuheben ist, dass bei Verwendung von Milchpulver am 16. Tag drei verschiedene Entwicklungsstadien der Ovarien beobachtet wurden. Neben dem letzten Stadium wurden auch das zweite und dritte Stadium beobachtet (Abbildung 32).





**Abbildung 32: Drei verschiedenen Stadien der Ovarienentwicklung an Tag 16 bei einer 15-tägigen Proteinverfügbarkeit in Form von Milchpulver (eigene Aufnahme)**

Die Ergebnisse zeigen, dass die Wahl der Proteinquelle von großer Bedeutung für die Entwicklung der Ovarien bei Schmeißfliegen ist. Allerdings ist anzumerken, dass ein hoher Proteingehalt nicht garantiert, dass die Tiere ihn annehmen. Schmeißfliegen gehören zu den Nekrophagen, d.h. sie ernähren sich von toten Organismen (Amendt et al., 2013). Dies könnte eine Erklärung dafür sein, dass die Verwendung von Rinderleber als Proteinquelle eine schnellere und vollständigere Entwicklung der Ovarien begünstigt als die Verwendung von Milchpulver.

### 5.3 Implikation für die forensische Entomologie

Da ein forensischer Entomologe bei der Erstellung eines Gutachtens auf eine Vielzahl von Methoden zurückgreifen und das wahrscheinlichste Szenario wiedergeben muss, sollten die Auswirkungen des Phänomens der früh entwickelten Eier nicht zu stark gewichtet werden (Lutz & Amendt, 2020; Wells & King, 2001). Um dieses Problem zu umgehen, wird einerseits von einigen Autoren vorgeschlagen, die Zeit der Eiablage und des Larvenschlupfes aus den Entwicklungsstudien auszuschließen (Martín-Vega & Hall, 2016), oder es wird nur die zweite Eiablage einer Fliege verwendet (Brown et al., 2015). Darüber hinaus existiert bereits ein Protokoll zur Minimierung des Vorkommens frühreifer Eier, wonach den Fliegen für einen Zeitraum von 7-10 Tagen der Zugang zu Proteinen verwehrt wird und ihnen 30 Minuten vor der Entnahme der Eier Leber für die Oviposition zur Verfügung gestellt wird (Brown et al., 2015; K. Davies & Harvey, 2012). Andererseits gibt es alternative Methoden zur Bestimmung von PMImin. So empfahl (Erzinclioglu, 1990) bereits vor rund 30 Jahren, sich auf die Altersbestimmung der am häufigsten vorkommenden Larvengröße zu konzentrieren, anstatt auf das größte Individuum am Kadaver. Dies würde den genauesten PMI ergeben, da frühreife Eier ausgeschlossen werden. Dem steht



jedoch entgegen, dass die vorherrschende Methode nach wie vor die Altersbestimmung der größten Made ist (Z. J. O. Adams & Hall, 2003; Donovan et al., 2006; Greenberg, 1991). Eine einfache Lösung wäre daher, die Entwicklungszeit bis zum Schlupf der Maden bei den Fliegenarten zu subtrahieren, bei denen das Phänomen der frühreifen Eier beobachtet wurde (Wells & King, 2001). Denkbar wäre auch eine Konzentration auf Arten, bei denen keine frühreifen Eier festgestellt wurden. Die Wahl einer solchen Methodik muss jedoch von Fall zu Fall kritisch überdacht werden (Lutz & Amendt, 2020).

## 5.4 Methode

Die Versuche zu dieser Arbeit wurden im Winter 2023 durchgeführt. Aufgrund der kalten Außentemperaturen und der Tatsache, dass die Laborräume nicht beheizbar waren, konnte keine ausreichende Menge an Eiern aus den Laborpopulationen gewonnen werden. Infolgedessen musste die Probenanzahl drastisch reduziert werden, welche nicht zum Erstellen einer aussagekräftigen Statistik reichte. Verstärkt wurde dieses Problem durch die hohe Mortalität der adulten Fliegen. Insbesondere die erste Versuchsreihe, welche im Januar stattfand, war von diesem Problem betroffen. Diese Versuchsreihe fand ein vorzeitiges Ende.

In diesem Zuge war es ebenfalls nicht möglich, ausreichend Fliegen unmittelbar nach dem Schlüpfen für die Etablierung einer Gruppe zu erhalten. Dies ist unter anderem dem verschuldet das die Fliegen innerhalb einer Zeitspanne von bis zu fünf Tagen schlüpfen. Es wurde sich in diesem Versuch dafür entscheiden, möglichst gleichaltrige Fliegen in einem Käfig zu gruppieren, eine Verzerrung der Ergebnisse von einem Tag kann allerdings nicht ausgeschlossen werden.

Die Fruchtbarkeit der weiblichen *Calliphora vicina* kann bei einer großen Spanne an Temperaturen von etwa 12 °C bis 30 °C, erfolgen. Nach (Vinogradova, 2009) liegen die optimalen Laborbedingungen für eine Ausschöpfung des maximalen Reproduktionspotenzials einer Fliege bei Temperaturen zwischen 20 und 25 °C, mit einem Lichtzyklus von 16 Stunden Licht und 8 Stunden Dunkelheit sowie Leber als Proteinquelle. Wie wichtig die Temperatur über einen gewissen Schwellenwert für die Produktion des ersten Geleges ist, erkannte Saunders bereits im Jahr 1987. Für die Produktion bedarf es bei der Schmeißfliegenart *Calliphora vicina* 130 Tagesgrade bei einem Schwellenwert über 5°C. (L. Davies, 2006; Saunders, 1987). Die Durchführung der Versuchsreihen fanden von Anfang Januar bis Ende März 2023 in nicht beheizten Räumen statt. Es ist anzunehmen, dass die Raumtemperatur bei einer Außentemperatur von durchschnittlich um die 4 °C (*Wetter Und Klima - Deutscher Wetterdienst - Klimaüberwachung - Deutschland - Klima an Ausgewählten Wetterstationen in Hessen*, n.d.) deutlich unter diesem Optimum liegt. Bereits 1998 erkannte Davies, dass im Anfang des Frühlings eine Verschiebung der Eireifung üblich ist bei *Calliphora vicina*. Es ist plausibel anzunehmen, dass während der Wintermonate sich dies verstärkt. Nützlich wäre eine Messung der Temperaturen und Lichtverhältnisse während des Versuchverlaufes gewesen. Trotz das mit Sicherheit gesagt werden

kann, das beide Werte unter diesem Optimum liegen, bleibt die genaue Abweichung leider unklar.

Weitergehend kann keine Garantie geben werden, dass eine Fliege eine Protein aufgenommen hat und wie viel im Durchschnitt von einer einzelnen Fliege aufgenommen wurde, insbesondere bei geringer Verfügbarkeit. Dies wird besonders in der Gruppe mit einer Leberzufuhr von fünf Tagen in der dritten Versuchsreihe deutlich. Ab dem 11. Tag wurden bereits komplett entwickelte Ovarien gefunden und ab dem 13. Tag bereits frühentwickelte Eier. Im Gegensatz dazu waren die Ovarien am 15. Tag lediglich bis zum 2. Stadium fortgeschritten. Wesentlich ersichtlicher wird dieser Unterschied am 16. Tag bei einer Verfügbarkeit von 15 Tagen der Proteinquelle Milchpulver. Wie in Abbildung 32 zu sehen, sind Ovarien sowohl im zweiten, dritten als auch fünftem Stadium der Entwicklung aufzufinden.

Ein weiteres Problem stellte das Präparieren dar, insbesondere zu Beginn der Entwicklung. Aufgrund ihrer geringen Größe kann es bei der Entnahme mit der Pinzette zu Verzerrungen oder Abreisen der Ovarien kommen. Auch gegen Ende der Entwicklung gestaltet sich die Entfernung der Ovarien in ihrer Gesamtheit schwierig. Da die Ovariolen oftmals lediglich leicht aneinanderhaften, können einzelne Ovariolen beim Herausnehmen zurückbleiben. Da die Ovarien zu diesem Zeitpunkt nahezu den gesamten Abdomen füllen, ist beim Aufschneiden des Abdomens besondere Vorsicht geboten.

## 5.5 Ausblick

Betrachtet man abschließend die in dieser Arbeit generierten Ergebnisse, sind mehrere Möglichkeiten zur Optimierung in Aussicht. Einerseits gilt es, die gefundenen Resultate weiter zu untersuchen, zu anderen ihre Daseinsberechtigung in weiteren Experimenten zu untermauern.

Grundsätzlich sollte das Experiment mit einer größeren Anzahl an Individuen wiederholt werden, wie ursprünglich in der Methodik angedacht. Dies erlaubt zum einem das Erstellen einer aussagekräftigen Statistik und zum anderen können Zufallsfunde ausgeschlossen werden.

In den durchgeführten Experimenten zeigt sich, dass ab einer Proteinzufuhr von mindestens fünf Tagen frühzeitig entwickelte Eier in den genitalen Trakten der weiblichen *Calliphora vicina* gepresst werden. Diese Ergebnisse könnten durch weitere Untersuchungen ergänzt werden. Durch Abdecken der Zeitspanne von einem und fünf Tagen könnte geklärt werden, welche Proteinzufuhr mindestens notwendig ist für die Entstehung dieses Phänomens.

An diesen Punkt können weiterführende Forschungen angeschlossen werden. In Langzeitstudien lassen sich Informationen über die saisonale Verteilung innerhalb von Labor-

populationen sammeln. Diese könnten mit den Ergebnissen von Lutz über die Verteilung der frühreifen Eier bei wilden Populationen abgeglichen werden.

Zudem wäre eine Untersuchung bei weiteren forensisch relevanten Schmeißfliegenarten wie zum Beispiel bei *Lucilia sericata* von großer Bedeutung, vor allem da es bei dieser Fliege einerseits Berichte über frühreife Eier (Vanlaerhoven & Anderson, 2001), zum anderem gibt es Berichte über Resorption der Oozyten (Wall et al., 2002).

Weiteren Forschungsbedarf ergibt sich aus dem Vergleich mit der Zucht der Laborpopulationen. Für die Oviposition und Oogenese erhalten die Fliegen einmal die Woche Leber für eine Dauer von drei Stunden. Trotz das die Zufuhr an Protein wesentlich geringer ist als bei den Versuchsreihen, sind unter diesen Bedingungen ebenfalls frühentwickelte Eier zu finden. Ein Versuch mit fluktuierenden Proteinverfügbarkeiten wäre daher für die Labore von immenser Bedeutung, um infolgedessen die vorherrschende Methodik zu bedenken.

## 6 Zusammenfassung

Eines der Ziele der forensischen Entomologie besteht darin, die Besiedlung der menschlichen Leichen durch Insekten zeitlich einzuordnen, um den Todeszeitpunkt des Opfers zu bestimmen. In diesem Zusammenhang sind Schmeißfliegen (*Calliphoridae*) eine der forensisch relevantesten Insektenarten, da sie in der Regel die ersten Besiedler einer Leiche sind. Die Altersbestimmung forensisch relevanter Insektenfunde während der juvenilen Stadien der Tiere ermöglicht eine Eingrenzung der Mindestliegezeit. Hierbei findet in der Regel die Methode der Altersbestimmung des ältesten Individuums Anwendung. Allerdings kann es bei Schmeißfliegen wie *Calliphora vicina* aufgrund des Phänomens der frühentwickelten Eier zu einer Verschiebung der minimalen Liegezeit kommen. Sollte die Fliege nach einer Proteinaufnahme keine geeignete Stelle zur Eiablage finden, kann dies dazu führen, dass ein Ei in den genitalen Trakt des Tieres gepresst wird und sich hier weiterentwickelt bis gegeben falls in das erste Larvenstadium. Bei einer Eiablage ist ein solches Ei deutlich älter als die restlichen Eier des Geleges.

Die vorliegende Arbeit untersucht die Entwicklung der Ovarien bei einer differierenden Proteinverfügbarkeit, hierbei wurde ein besonderes Augenmerk auf das Vorhandensein des Phänomens der frühentwickelten Eier gelegt. Es konnte gezeigt werden, dass eine ausreichende Proteinaufnahme für die vollständige Entwicklung von Ovarien notwendig ist und dass eine unzureichende Proteinverfügbarkeit zu einer verlangsamten Ovarienentwicklung und damit verbunden zu einer verzögerten Eiablage führen kann.

Weiterhin wurde festgestellt, dass je nach Ernährung ein erheblicher Unterschied in der Entwicklung der Ovarien besteht. Die Proteinquelle Rinderleber führt zu einer deutlich schnelleren Entwicklung im Vergleich zu der Proteinquelle Milchpulver, was die Ernährung zu einem Schlüsselfaktor für die Entwicklung der Ovarien macht.

Insgesamt lässt sich festhalten, dass die vorliegende Arbeit, das Verständnis über die Bedeutung der Proteinverfügbarkeit und Wahl der Proteinquelle für die Ovarienentwicklung der Schmeißfliegen verbessert, jedoch weitere Forschungen in diesem Gebiet nötig sind.



## Literatur

- Adams, T. S., & Reinecke, J. P. (1979). The Reproductive Physiology of the Screwworm, *Cochliomyia Hominivorax* (Diptera: Calliphoridae). I. Oogenesis. *Journal of Medical Entomology*, 15(5–6), 472–483. <https://doi.org/10.1093/jmedent/15.5-6.472>
- Adams, Z. J. O., & Hall, M. J. R. (2003). Methods used for the killing and preservation of blowfly larvae, and their effect on post-mortem larval length. *Forensic Science International*, 138(1–3), 50–61. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2003.08.010>
- Allen, J. C. (1976). A modified sine wave method for calculating degree days. *Environmental Entomology*, 5(3), 388–396.
- Amendt, J., Campobasso, C. P., Gaudry, E., Reiter, C., LeBlanc, H. N., & J. R. Hall, M. (2007). Best practice in forensic entomology—standards and guidelines. *International Journal of Legal Medicine*, 121(2), 90–104. <https://doi.org/10.1007/s00414-006-0086-x>
- Amendt, J., Klotzbach, H., Benecke, M., Krettek, R., & Zehner, R. (2004). Forensische entomologie. *Rechtsmedizin*, 14(2), 127–140. <https://doi.org/10.1007/S00194-004-0254-6/FIGURES/5>
- Amendt, J., Krettek, R., Niessen, G., & Zehner, R. (2013). *Forensische Entomologie: ein Handbuch*. Verlag für Polizeiwissenschaft. <https://books.google.de/books?id=bYxSXwAACAAJ>
- Amendt, J., Krettek, R., & Zehner, R. (2004). Forensic entomology. *Naturwissenschaften*, 91(2), 51–65. <https://doi.org/10.1007/s00114-003-0493-5>
- Amendt, J., Richards, C. S., Campobasso, C. P., Zehner, R., & Hall, M. J. R. (2011). Forensic entomology: Applications and limitations. *Forensic Science, Medicine, and Pathology*, 7(4), 379–392. <https://doi.org/10.1007/S12024-010-9209-2/FIGURES/3>
- Amendt, J., Zehner, R., & Krettek, R. (2005). Insekten auf Leichen: Forensische Entomologie. *Biologie in Unserer Zeit*, 35(4), 232–240. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/biuz.200410284>
- Anderson, G. S. (2000). Minimum and maximum development rates of some forensically important Calliphoridae (Diptera). *Journal of Forensic Sciences*, 45(4), 824–832. <http://europepmc.org/abstract/MED/10914578>

- Anderson, G. S. (2010). Decomposition and invertebrate colonization of cadavers in coastal marine environments. *Current Concepts in Forensic Entomology*, 223–272. [https://doi.org/10.1007/978-1-4020-9684-6\\_12/FIGURES/39\\_12](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-9684-6_12/FIGURES/39_12)
- Archer, M. S. (2004). Rainfall and temperature effects on the decomposition rate of exposed neonatal remains. *Science & Justice*, 44(1), 35–41. [https://doi.org/10.1016/S1355-0306\(04\)71683-4](https://doi.org/10.1016/S1355-0306(04)71683-4)
- Avancini, R. M. P., & do Prado, A. P. (1986). Oogenesis in *Chrysomya putoria* (Wiedemann) (Diptera : Calliphoridae). *International Journal of Insect Morphology and Embryology*, 15(5–6), 375–384. [https://doi.org/10.1016/0020-7322\(86\)90031-0](https://doi.org/10.1016/0020-7322(86)90031-0)
- Baskerville, G. L., & Emin, P. (1969). Rapid Estimation of Heat Accumulation from Maximum and Minimum Temperatures. *Ecology*, 50(3), 514–517. <https://doi.org/10.2307/1933912>
- Brewer, F. D. (1993). Meridic Diets For Adult Screwworm (Diptera: Calliphoridae)2. *Journal of Entomological Science*, 28(2), 197–204. <https://doi.org/10.18474/0749-8004-28.2.197>
- Brown, K., Thorne, A., & Harvey, M. (2015). *Calliphora vicina* (Diptera: Calliphoridae) pupae: a timeline of external morphological development and a new age and PMI estimation tool. *International Journal of Legal Medicine*, 129(4), 835–850. <https://doi.org/10.1007/s00414-014-1068-z>
- Byrd, J. H., & Butler, J. F. (1997). Effects of Temperature on *Chrysomya rufifacies* (Diptera: Calliphoridae) Development. *Journal of Medical Entomology*, 34(3), 353–358. <https://doi.org/10.1093/jmedent/34.3.353>
- Byrd, J. H., & Castner, J. L. (Eds.). (2009). *Forensic Entomology*. CRC Press. <https://doi.org/10.1201/NOE0849392153>
- Campobasso, C. Pietro, Di Vella, G., & Introna, F. (2001). Factors affecting decomposition and Diptera colonization. *Forensic Science International*, 120(1–2), 18–27. [https://doi.org/10.1016/S0379-0738\(01\)00411-X](https://doi.org/10.1016/S0379-0738(01)00411-X)
- Catts, E. P., & Goff, M. L. (1992). Forensic Entomology in Criminal Investigations. *Annual Review of Entomology*, 37(1), 253–272. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.37.010192.001345>
- Centeno, N., Maldonado, M., & Oliva, A. (2002). Seasonal patterns of arthropods occurring on sheltered and unsheltered pig carcasses in Buenos Aires Province (Argentina). *Forensic Science International*, 126(1), 63–70. [https://doi.org/10.1016/S0379-0738\(02\)00037-3](https://doi.org/10.1016/S0379-0738(02)00037-3)

- Davidson, J. (1944). On the Relationship between Temperature and Rate of Development of Insects at Constant Temperatures. *The Journal of Animal Ecology*, 13(1), 26. <https://doi.org/10.2307/1326>
- Davies, K., & Harvey, M. (2012). Precocious egg development in the blowfly *Calliphora vicina*: implications for developmental studies and post-mortem interval estimation. *Medical and Veterinary Entomology*, 26(3), 300–306. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1365-2915.2011.01004.x>
- Davies, L. (2006). Lifetime reproductive output of *Calliphora vicina* and *Lucilia sericata* in outdoor caged and field populations; flight vs. egg production? *Medical and Veterinary Entomology*, 20(4), 453–458. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2915.2006.00659.x>
- Davies, L., & Ratcliffe, G. G. (1994). Development rates of some pre-adult stages in blowflies with reference to low temperatures. *Medical and Veterinary Entomology*, 8(3), 245–254. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2915.1994.tb00506.x>
- Dettmeyer, R., Veit, F., & Verhoff, M. (2019). *Thanatologie* (pp. 7–26). [https://doi.org/10.1007/978-3-662-58658-7\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-662-58658-7_2)
- Donovan, S. E., Hall, M. J. R., Turner, B. D., & Moncrieff, C. B. (2006). Larval growth rates of the blowfly, *Calliphora vicina*, over a range of temperatures. *Medical and Veterinary Entomology*, 20(1), 106–114. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2915.2006.00600.x>
- Eggert, A.-K., Müller, J. K., Wimmer, E. A., & Zissler, D. (2010). Fortpflanzung und Entwicklung. In *Lehrbuch der Entomologie* (pp. 357–463). Spektrum Akademischer Verlag. [https://doi.org/10.1007/978-3-8274-2618-5\\_13](https://doi.org/10.1007/978-3-8274-2618-5_13)
- Erzinclioglu, Y. Z. (1990). On the Interpretation of Maggot Evidence in Forensic Cases. *Medicine, Science and the Law*, 30(1), 65–66. <https://heinonline.org/HOL/P?h=hein.journals/mdsclw30&i=65>
- Faucherre, J., Cherix, D., & Wyss, C. (1999). Behavior of *Calliphora vicina* (Diptera, Calliphoridae) Under Extreme Conditions. In *Journal of Insect Behavior* (Vol. 12, Issue 5).
- FoodData Central*. (n.d.). Retrieved April 9, 2023, from <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/169451/nutrients>
- Galloway, A., Birkby, W. H., Jones, A. M., Henry, T. E., & Parks, B. O. (1989). Decay rates of human remains in an arid environment. *Journal of Forensic Sciences*, 34(3), 607–616. <http://europepmc.org/abstract/MED/2738563>
- Gennard, D. (2012). *Forensic Entomology: An Introduction*. John Wiley & Sons.



- Goff, M. L. (2010). Early postmortem changes and stages of decomposition. *Current Concepts in Forensic Entomology*, 1–24. [https://doi.org/10.1007/978-1-4020-9684-6\\_1/FIGURES/20\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-9684-6_1/FIGURES/20_1)
- Grassberger, M., Friedrich, E., & Reiter, C. (2003). The blowfly *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae) as a new forensic indicator in Central Europe. *International Journal of Legal Medicine*, 117(2), 75–81. <https://doi.org/10.1007/s00414-002-0323-x>
- Grassberger, M., & Reiter, C. (2001). Effect of temperature on *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae) development with special reference to the isomegalen- and isomorphen-diagram. *Forensic Science International*, 120(1–2), 32–36. [https://doi.org/10.1016/S0379-0738\(01\)00413-3](https://doi.org/10.1016/S0379-0738(01)00413-3)
- Greenberg, B. (1991). Flies as Forensic Indicators. *Journal of Medical Entomology*, 28(5), 565–577. <https://doi.org/10.1093/jmedent/28.5.565>
- Greenberg, B., & Kunich, J. C. (2002). *Entomology and the Law Flies as Forensic Indicators*. Cambridge University Press.
- Gunn, A., & Bird, J. (2011). The ability of the blowflies *Calliphora vomitoria* (Linnaeus), *Calliphora vicina* (Rob-Desvoidy) and *Lucilia sericata* (Meigen) (Diptera: Calliphoridae) and the muscid flies *Muscina stabulans* (Fallén) and *Muscina prolapsa* (Harris) (Diptera: Muscidae) to colonise buried remains. *Forensic Science International*, 207(1–3), 198–204. <https://doi.org/10.1016/J.FORSCIINT.2010.10.008>
- Hall, M., Whitaker, A., & Richards, C. (2012). Forensic Entomology. In *Forensic Ecology Handbook* (pp. 111–140). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781118374016.ch8>
- Hammack, L. (1999). Stimulation of oogenesis by proteinaceous adult diets for screw-worm, *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae). *Bulletin of Entomological Research*, 89(5), 433–440.
- Harlow, P. M. (1956). A Study of Ovarial Development and Its Relation to Adult Nutrition in the Blowfly *Protophormia Terrae-Novae* (R.D.). *Journal of Experimental Biology*, 33(4), 777–797. <https://doi.org/10.1242/jeb.33.4.777>
- Hayes, E. J., & Wall, R. (1999). Age-grading adult insects: a review of techniques. *Physiological Entomology*, 24(1), 1–10. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3032.1999.00104.x>
- Hofer, I. M. J., Hart, A. J., Martín-Vega, D., & Hall, M. J. R. (2017). Optimising crime scene temperature collection for forensic entomology casework. *Forensic Science International*, 270, 129–138. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2016.11.019>

- Janisch, E. (1932). THE INFLUENCE OF TEMPERATURE ON THE LIFE-HISTORY OF INSECTS. *Transactions of the Royal Entomological Society of London*, 80(2), 137–168. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2311.1932.TB03305.X>
- Leblanc, H. N., & Logan, J. G. (2010). Exploiting insect olfaction in forensic entomology. *Current Concepts in Forensic Entomology*, 205–221. [https://doi.org/10.1007/978-1-4020-9684-6\\_11/FIGURES/5\\_11](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-9684-6_11/FIGURES/5_11)
- Lutz, L., & Amendt, J. (2020). Precocious egg development in wild *Calliphora vicina* (Diptera: Calliphoridae) — An issue of relevance in forensic entomology? *Forensic Science International*, 306, 110075. <https://doi.org/10.1016/J.FORSCIINT.2019.110075>
- Lutz, L., Williams, K. A., Villet, M. H., Ekanem, M., & Szpila, K. (2018). Species identification of adult African blowflies (Diptera: Calliphoridae) of forensic importance. *International Journal of Legal Medicine*, 132(3), 831–842. <https://doi.org/10.1007/s00414-017-1654-y>
- Lutz, L., Zehner, R., Verhoff, M. A., Bratzke, H., & Amendt, J. (2021). It is all about the insects: a retrospective on 20 years of forensic entomology highlights the importance of insects in legal investigations. *International Journal of Legal Medicine*, 135(6), 2637–2651. <https://doi.org/10.1007/s00414-021-02628-6>
- Madea, B., Jachau, K., Reibe, S., Schmidt, P., Kernbach-Wighton, G., Peschel, O., Henn, V., Meissner, C., Oehmichen, M., Thali, M., Lessig, R., Pollak, S., & Zollinger, U. (2015). Thanatologie. In *Rechtsmedizin* (pp. 33–170). Springer Berlin Heidelberg. [https://doi.org/10.1007/978-3-662-43500-7\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-662-43500-7_3)
- Madea, B., Wiegand, P., & Mußhoff, F. (2015). Aufgaben und Struktur des Faches. In *Rechtsmedizin* (pp. 1–15). Springer Berlin Heidelberg. [https://doi.org/10.1007/978-3-662-43500-7\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-662-43500-7_1)
- Madra, A., Fraczak, K., Grzywacz, A., & Matuszewski, S. (2015). Long-term study of pig carrion entomofauna. *Forensic Science International*, 252, 1–10. <https://doi.org/10.1016/J.FORSCIINT.2015.04.013>
- Magni, P., Guercini, S., Leighton, A., & Dadour, I. (2013). Forensic entomologists: An evaluation of their status. *Journal of Insect Science*, 13(1), 78. <https://doi.org/10.1673/031.013.7801/18152276/JIS13-0078.PDF>
- Martín-Vega, D., & Hall, M. J. R. (2016). Estimating the age of *Calliphora vicina* eggs (Diptera: Calliphoridae): determination of embryonic morphological landmarks and preservation of egg samples. *International Journal of Legal Medicine*, 130(3), 845–854. <https://doi.org/10.1007/s00414-015-1308-x>

- Núñez-Vázquez, C., Tomberlin, J. K., Cantú-Sifuentes, M., & García-Martínez, O. (2013). Laboratory development and field validation of *Phormia regina* (Diptera: Calliphoridae). *Journal of Medical Entomology*, *50*(2), 252–260. <https://doi.org/10.1603/ME12114>
- Nuorteva, P. (1963a). Synanthropy of blowflies (Dipt., Calliphoridae) in Finland. *Annales Entomologici Fennici*, *29*(1).
- Nuorteva, P. (1963b). Synanthropy of blowflies (Dipt., Calliphoridae) in Finland. *Annales Entomologici Fennici*, *29*(1).
- Payne, J. A. (1965). A Summer Carrion Study of the Baby Pig *Sus Scrofa* Linnaeus. *Ecology*, *46*(5), 592–602. <https://doi.org/10.2307/1934999>
- Pechal, J. L., Moore, H., Drijfhout, F., & Benbow, M. E. (2014). Hydrocarbon profiles throughout adult Calliphoridae aging: A promising tool for forensic entomology. *Forensic Science International*. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2014.10.019>
- Pérez, S. P., Duque, P., & Wolff, M. (2005). Successional Behavior and Occurrence Matrix of Carrion-Associated Arthropods in the Urban Area of Medellín, Colombia. *Journal of Forensic Sciences*, *50*(2), 1–7. <https://doi.org/10.1520/JFS2004046>
- Reiter, C. (1984). Zum Wachstumsverhalten der Maden der blauen Schmeißfliege *Calliphora vicina*. *Zeitschrift Für Rechtsmedizin*, *91*(4), 295–308. <https://doi.org/10.1007/BF02332323>
- Rodriguez III, W. C. (1982). *Insect activity and its relationship to decay rates of human cadavers in East Tennessee*.
- Rognes. (1990). *Blowflies (Diptera, Calliphoridae) of Fennoscandia and Denmark*. Brill. <https://doi.org/10.1163/9789004273498>
- Saunders, D. S. (1987). Maternal influence on the incidence and duration of larval diapause in *Calliphora vicina*. *Physiological Entomology*, *12*(3), 331–338. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3032.1987.tb00758.x>
- Schmitt, M. (2022). Fortpflanzung und Entwicklung. In *Insektenwunderwelt - Einstieg in die Entomologie* (pp. 79–97). Springer Berlin Heidelberg. [https://doi.org/10.1007/978-3-662-64077-7\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-662-64077-7_3)
- Schroeder, H., Klotzbach, H., & Püschel, K. (2003). Insects' colonization of human corpses in warm and cold season. *Legal Medicine*, *5*, S372–S374. [https://doi.org/10.1016/S1344-6223\(02\)00135-9](https://doi.org/10.1016/S1344-6223(02)00135-9)
- Sharanowski, B. J., Walker, E. G., & Anderson, G. S. (2008). Insect succession and decomposition patterns on shaded and sunlit carrion in Saskatchewan in three different

- seasons. *Forensic Science International*, 179(2–3), 219–240.  
<https://doi.org/10.1016/J.FORSCIINT.2008.05.019>
- Shean, B. S., Messinger, L., & Papworth, M. (1993). Observations of differential decomposition on sun exposed v. shaded pig carrion in coastal Washington State. *Journal of Forensic Science*, 38(4), 938–949.
- Shi, Y. W., Liu, X. S., Wang, H. Y., & Zhang, R. J. (2009). Seasonality of insect succession on exposed rabbit carrion in Guangzhou, China. *Insect Science*, 16(5), 425–439.  
<https://doi.org/10.1111/J.1744-7917.2009.01277.X>
- Sivell, O. (2021). *Blow flies (Diptera: Calliphoridae, Polleniidae, Rhiniidae), Handbooks for the Identification of British Insects 10 (16)*.
- Smith, K. G. V. (1986). *A manual of forensic entomology*.
- Spradbery, J. P., & Sands, D. P. A. (1976). Reproductive system and terminalia of the old world screw-worm fly, *Chrysomya bezziana* villeneuve (Diptera : Calliphoridae). *International Journal of Insect Morphology and Embryology*, 5(6), 409–421.  
[https://doi.org/10.1016/0020-7322\(76\)90014-3](https://doi.org/10.1016/0020-7322(76)90014-3)
- Thomas, D. B. (1993). Fecundity and Oviposition in Laboratory Colonies of the Screw-worm Fly (Diptera: Calliphoridae). *Journal of Economic Entomology*, 86(5), 1464–1472. <https://doi.org/10.1093/jee/86.5.1464>
- Thyssen, P. J. (2010). Keys for identification of immature insects. *Current Concepts in Forensic Entomology*, 25–42. [https://doi.org/10.1007/978-1-4020-9684-6\\_2/FIGURES/8\\_2](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-9684-6_2/FIGURES/8_2)
- Vanlaerhoven, S., & Anderson, G. (2001). Implications of using development rates of blow fly (Diptera: Calliphoridae) eggs to determine postmortem interval. *Entomological Society of British Columbia*, 98, 191–196.
- Villet, M. H., & Amendt, J. (2011). *Advances in Entomological Methods for Death Time Estimation* (pp. 213–237). [https://doi.org/10.1007/978-1-61779-249-6\\_11](https://doi.org/10.1007/978-1-61779-249-6_11)
- Villet, M. H., Richards, C. S., & Midgley, J. M. (2009). Contemporary Precision, Bias and Accuracy of Minimum Post-Mortem Intervals Estimated Using Development of Carrion-Feeding Insects. In *Current Concepts in Forensic Entomology* (pp. 109–137). Springer Netherlands. [https://doi.org/10.1007/978-1-4020-9684-6\\_7](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-9684-6_7)
- Vinogradova, E. B. (2009). Effect of food and temperature on the reproduction of the blow-fly, *Calliphora vicina* R.-D. (Diptera, Calliphoridae), a popular model object in biological research. *Entomological Review*, 89(2), 137–142.  
<https://doi.org/10.1134/S001387380902002X>

- Voss, S. C., Forbes, S. L., & Dadour, I. R. (2008). Decomposition and insect succession on cadavers inside a vehicle environment. *Forensic Science, Medicine, and Pathology*, 4(1), 22–32. <https://doi.org/10.1007/S12024-007-0028-Z/FIGURES/4>
- Voss, S. C., Spafford, H., & Dadour, I. R. (2009). Annual and seasonal patterns of insect succession on decomposing remains at two locations in Western Australia. *Forensic Science International*, 193(1–3), 26–36. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2009.08.014>
- Wall, R., Langley, P. A., & Morgan, K. L. (1991). Ovarian development and pteridine accumulation for age determination in the blowfly *Lucilia sericata*. *Journal of Insect Physiology*, 37(12), 863–868. [https://doi.org/10.1016/0022-1910\(91\)90001-G](https://doi.org/10.1016/0022-1910(91)90001-G)
- Wall, R., Wearmouth, V. J., & Smith, K. E. (2002). Reproductive allocation by the blow fly *Lucilia sericata* in response to protein limitation. *Physiological Entomology*, 27(4), 267–274. <https://doi.org/https://doi.org/10.1046/j.1365-3032.2002.00296.x>
- Wells, J., & King, J. (2001). Incidence of precocious egg development in flies of forensic importance (Calliphoridae). *The Pan-Pacific Entomologist*, 77, 235–239.
- Wessels, F. J., Kristal, R., Rourke, M., Hatle, J. D., & Hahn, D. A. (2011). The timing of resource availability does not affect reproductive allotment or the rate of oocyte development in the flesh fly, *Sarcophaga crassipalpis*. *Ecological Entomology*, 36(4), 401–408. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1365-2311.2011.01273.x>
- Wetter und Klima - Deutscher Wetterdienst - Klimaüberwachung - Deutschland - Klima an ausgewählten Wetterstationen in Hessen.* (n.d.). Retrieved April 9, 2023, from <https://www.dwd.de/DE/leistungen/kvo/hessen.html?nn=480164>
- Wigglesworth, V. B. (1972). Water and Temperature. In *The Principles of Insect Physiology* (pp. 663–699). Springer Netherlands. [https://doi.org/10.1007/978-94-009-5973-6\\_14](https://doi.org/10.1007/978-94-009-5973-6_14)

## Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich an allen Personen herzlichst bedanken, die mich während der Anfertigung dieser Bachelorarbeit unterstützt, motiviert und mir stets zur Seite standen.

Zunächst möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Dirk Labudde für die Übernahme der Rolle des Erstprüfers bedanken.

Herr Prof. Dr. Jens Amendt danke ich nicht nur für die Übernahme des Zweitprüfers und die Möglichkeit bei ihm meine Bachelorarbeit anfertigen zu können, sondern auch dafür, mein Pflichtpraktikum bei ihm am Institut für Rechtsmedizin in Frankfurt am Main absolvieren zu können. Während dieser Zeit konnte sehr viele Einblicke und Wissen über die forensische Entomologie und Rechtsmedizin sammeln. Dank deiner konstruktiven und stets humorvollen Kritik konnte ich zudem sehr viel über das wissenschaftliche Schreiben lernen.

Ebenfalls möchte ich mich an dieser Stelle bei Frau Dr. Lena Lutz und Frau Luise Thümmel, für das Beantworten jeglicher Fragen und zahlreichen Tipps bedanken. Auch für das Bereitstellen der Versuchstiere und Übernehmen der von einigen Probenentnahme möchte ich mich an dieser Stelle bedanken.

Besonderen Dank gebührt auch allen Mitstudierende in der forensischen Entomologie während meiner Zeit am Institut. Eure Unterstützung und Zusammenarbeit waren unerlässlich für den Erfolg dieser Arbeit und ich bin dankbar für die Freundschaften, die in dieser Zeit entstanden ist. Vielen Dank für die unvergesslichen Erinnerungen!

Abschließend möchte ich mich von Herzen bei meinen Freunden und meiner Familie bedanken, insbesondere bei meinen Eltern, für die unermüdliche Unterstützung während meiner Bachelorarbeit und des gesamten Studiums. Ohne euch hätte ich diesen Meilenstein nicht erreicht. Vielen Dank auch für das etliche Korrekturlesen meiner Arbeiten, das mich des Öfteren vor der ein oder anderen Grammatik und Rechtsschreibpanne bewahrt hat.

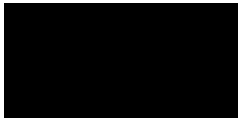
# **Selbstständigkeitserklärung**

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und nur unter Verwendung der angegebenen Literatur und Hilfsmittel angefertigt habe.

Stellen, die wörtlich oder sinngemäß aus Quellen entnommen wurden, sind als solche kenntlich gemacht.

Diese Arbeit wurde in gleicher oder ähnlicher Form noch keiner anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Mannheim, den 09. April 2023



Michelle Göppinger