

Zur Arbestimmung der Puparien forensisch bedeutsamer Schmeißfliegen

C. Reiter und G. Wollnek

Institut für Gerichtliche Medizin der Universität Wien, Sensengasse 2, A-1090 Wien,
Österreich

A Key to the Puparia of Forensically Important Blow-fly Species

Summary. The cephalopharyngealsclerite and the morphology of the 12th puparian segment provide useful recognition features to distinguish the puparia of forensically important blow-fly species. In addition it was found that the size of the puparia can only make restricted reference to the identification of the species. The most useful characters of the puparia are finally collected in a classification key.

Key words: Forensic entomology – Blow-fly puparia, key to the species

Zusammenfassung. Die Morphologie des Kieferapparates sowie des 12. Pupariensegmentes konnten als aussagekräftige Merkmale zur Arbestimmung forensisch bedeutsamer Schmeißfliegenpuparien nachgewiesen werden. Die Größe der Puparien bietet höchstens orientierende Hinweise auf die Fliegenart. Zusammenfassend werden die wichtigsten Merkmale der Puparien in einem Bestimmungsschlüssel aufgelistet.

Schlüsselwörter: Forensische Entomologie – Schmeißfliegenpuparien, Artbestimmung

Einleitung

Bei der Untersuchung eines durch Madenfraß veränderten Leichnams kommt der gezielten Suche nach den jeweils ältesten Entwicklungsstadien allergrößte Bedeutung zu. Ein nicht Berücksichtigten allfällig vorhandener Puparien bei der Berechnung der Todeszeit wäre zwangsläufig mit schwerwiegenden Fehlern verbunden. Es muß daher stets in der Umgebung des Toten – die Maden können

Sonderdruckanfragen an: Dr. C. Reiter (Adresse siehe oben)

bekanntlich vor der Verpuppung mehrere Meter weit vom Leichnam abwandern – eingehend nach der Existenz von Puparien gefahndet werden. Erst die eindeutige Bestimmung der aufgefundenen Puparien im Hinblick auf die Zugehörigkeit zu gewissen forensisch bedeutsamen Fliegengattungen und -arten ermöglicht es, konkrete zeitliche Angaben über die Liegedauer des Leichnams zu machen, da die einzelnen Arten unterschiedlich lange Larven- und Puppenzeiten aufweisen.

Diese Bestimmung lässt sich in althergebrachter Weise nach Weiterzucht der Puppen an Hand der geschlüpften Fliegen [6] durchführen; eine solche Zucht bedarf aber eines nicht unerheblichen Zeit- und Arbeitsaufwandes. Unter folgenden drei Gegebenheiten kann eine Artbestimmung durch die Methode der Weiterzucht nicht erzielt werden und ist ausschließlich anhand morphologischer Merkmale der Puparien möglich:

- 1) wenn nach dem Schlüpfen der Imagines leere Puparien vorliegen;
- 2) wenn der Puparieninhalt durch mechanische, thermische oder chemische (Insektizide) Einflüsse geschädigt ist und ein Schlüpfen der Imagines nicht erzielt werden kann.
- 3) wenn eine rasche Artbestimmung erforderlich ist und das Ergebnis der Weiterzucht nicht abgewartet werden kann.

Da Bestimmungstabellen und Arbeitsmethoden zur Identifizierung forensisch bedeutsamer Fliegenpuparien selbst im entomologischen Schrifttum fehlen, erschienen diesbezüglich Untersuchungen angezeigt. Um zu aussagekräftigen Ergebnissen zu gelangen, wurden die aus einem Eiballen gewonnenen Maden bis zur Verpuppung weitergezüchtet und die Puppenhülsen nach dem Schlüpfen der Fliegen mit diesen verglichen. Es wurde an Hand dreier markanter morphologischer Merkmale der Puparien untersucht, ob eine eindeutige und rasche Artbestimmung möglich ist.

Material und Methodik

Hundertzweiundfünzig isoliert abgelegte Fliegeneiballen wurden bei unterschiedlichem Nahrungsangebot und Temperaturen von 18–30°C im Labor weitergezüchtet [4]. Nach Verpuppung der Maden wurde ein Teil der Puparien in heißem 10%igen Formaldehyd abgetötet und anschließend asserviert. Der verbliebene Rest wurde bis zum spontanen Schlüpfen der Fliegen (Imagines) verwahrt.

Die Puparien der Familienreihe *Muscidea (Schizophora)* – diese umfasst nahezu alle forensisch bedeutsamen Fliegenarten – lassen beidseits lateral am vorderen Puparienpol vom 1. bis inklusive 4. Segment eine Sollbruchstelle erkennen (Abb. 1). Beim Schlüpfen aus dem Puparium wird diese Naht durch die pulsierende Stirnblase der Imago aufgesprengt [2] und es kommen zwei klappenförmige Polhälften zur Ausbildung (Abb. 2). Die dorsale Polklappe, sie wird oft vollständig abgesprengt und geht sehr leicht bei unvorsichtiger Handhabung verloren, lässt immer die paarig angeordneten Vorderstigmen erkennen und zeigt eine apikale Einkerbung der Bruchkante. Die meist am Puparium verbleibende ventrale Polklappe mit einer apikal gelegenen zahnförmigen Kontur enthält an der konkaven Innenseite das abgestoßene Cephalopharyngealskelett (Abb. 2b).

Nach dem Schlüpfen aus der Puppe und spontaner Erhärtung des ursprünglich silbrig-weißen und weichen Chitinskelettes an der Luft, konnten die Fliegen der jeweiligen Züchtung abgetötet und unter dem Operationsmikroskop nach Gattung und Art bestimmt werden [6]. Die mit Hilfe ihrer Imagines eindeutig bestimmten Puparien wurden durchlicht-

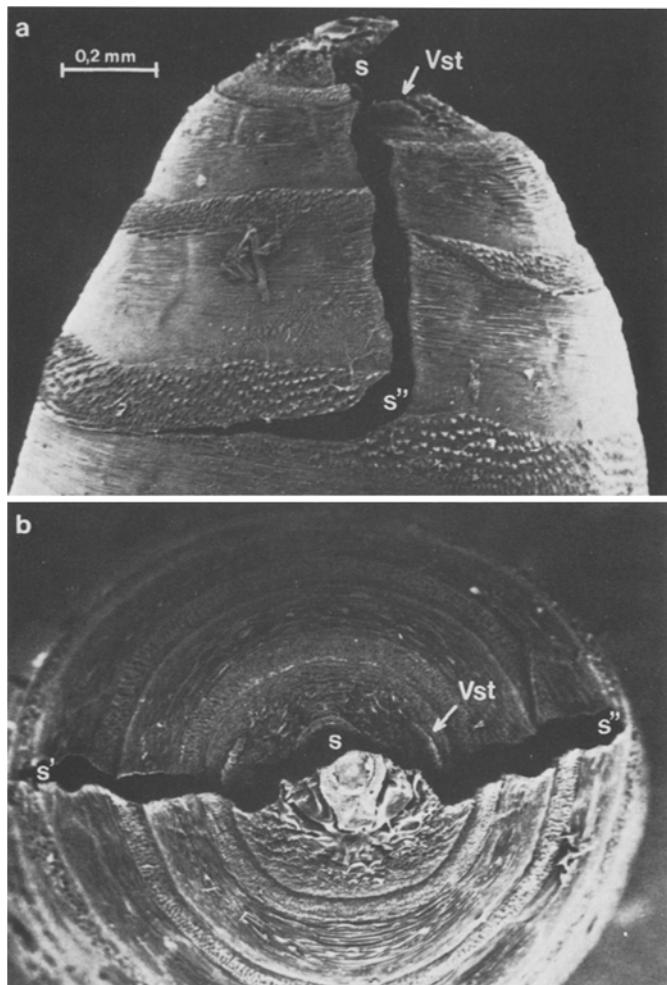


Abb. 1a, b. Vorderer Pol des leeren Pupariums von *Lucilia caesar*. **a** Seitenansicht. Links: ventrale Polklappe, rechts: dorsale Polklappe mit linkem Vorderstigma (Vst), s-s'': Sollbruchstelle (1.-4. Puppensegment). **b** Apikale Ansicht. Unten: ventrale Polklappe mit medianem zahnförmigen Vorsprung der Kontur. Sollbruchstelle: s'-s-s''

mikroskopisch, auflichtmikroskopisch bzw. rasterelektronenoptisch im Hinblick auf ihre räumlichen Dimensionen, die Charakteristika ihres Kieferapparates (Cephalopharyngealskelet) und die Morphologie des 12. Pupariensegmentes untersucht. Größenbestimmungen wurden mit Hilfe eines Meßokulares am Operationsmikroskop durchgeführt. Zur Überprüfung der so erhobenen Daten wurden rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen – in die Fotographien sind entsprechende Maßstäbe hineinprojiziert – vermessen. Es zeigte sich, daß die gelegentlich aufgetretenen Abweichungen höchstens in der Größenordnung von nur wenigen 1/100 mm lagen. Die weniger aufwendige auflichtmikroskopische Vermessung im Operationsmikroskop bei Vergrößerungen von 25–40fach erwies sich somit gegenüber der elektronenmikroskopischen Untersuchung als in der Praxis ebenso aussagekräftig und rascher durchführbar.

Zur Untersuchung des Cephalopharyngealskelettes wurden die ventralen Polklappen der Puparien wenige Minuten in 10%iger NaOH oder konzentriertem Diäthylentriamin zum

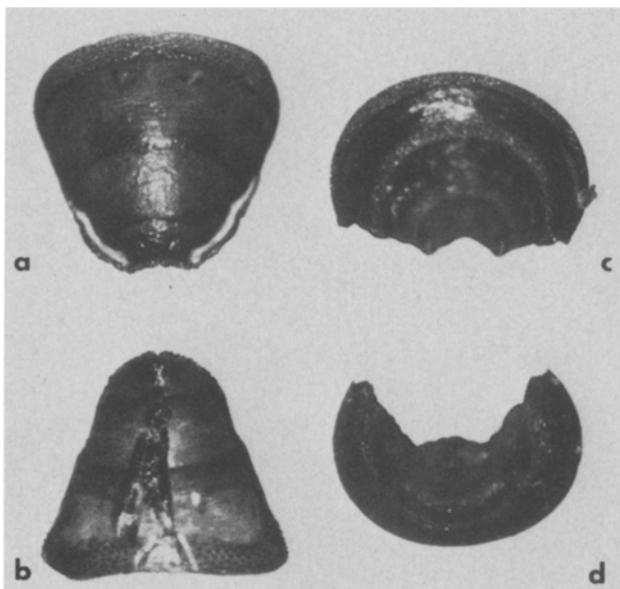


Abb. 2a-d. Isolierte Polklappen. **a** Dorsale Polklappe (Innenansicht). **b** Ventrale Polklappe (Innenansicht) mit Cephalopharyngealsklerit. Apikale Ansicht der dorsalen Polklappe (**c**) und ventralen Polklappe (**d**).

Sieden gebracht [3] und anschließend gewässert. Auf diese Weise kommt es zur Maceration und Verflüssigung aller nicht chitinhaltigen Elemente. Nach unserer Erfahrung erschwert eine zu kurze Maceration die anschließend unter dem Durchlichtmikroskop (Lupenvergrößerung) vorzunehmende Herauslösung des Cephalopharyngealskelettes mit Hilfe von Zupfnadeln. Langes Verweilen in der Macerationsflüssigkeit führt zur Depigmentierung des Kieferapparates, wodurch wichtige Details der Beobachtung entzogen werden können. Zur weiteren mikroskopischen Untersuchung des entnommenen Cephalopharyngealskelettes hat sich Glyzerin als optisch geeignetstes Einschlußmedium erwiesen.

Ergebnisse

Puppenmaße

Zwanzig Puparien, jedes erfolgreich bis zum Schlüpfen der Imagines gezüchteten Eiballen wurden im Hinblick auf ihre räumlichen Dimensionen nach drei Gesichtspunkten vermessen.

- a) Länge des Pupariums vor dem Schlüpfen (1.-12. Segment),
- b) Länge der leeren Puparienhülse nach Absprengen der Polklappen (5.-12. Segment) und
- c) größter Durchmesser des Pupariums.

Die erhobenen Maße (in Millimeter) der Schmeißfliegenpuparien sind in Tabelle 1 zusammengefaßt, wobei die angeführte Zahl der jeweils untersuchten Eiballen (*n*) gleichzeitig in groben Zügen die relative Häufigkeit der einzelnen Arten in unserem Untersuchungsgut wiedergibt.

Tabelle 1.

	<i>n</i>	Länge (1.-12. Segment)	Länge (5.-12. Segment)	Max. Durch- messer
<i>Calliphora vicina</i>	90	7,0- 9,5	5,5-8,5	3,0-4,0
<i>Calliphora vomitoria</i>	16	10,0-11,0	8,0-9,0	3,5-4,0
<i>Lucilia sericata</i>	25	6,0- 8,0	5,0-6,5	2,0-3,0
<i>Lucilia ampullacea</i>	4	4,8- 7,5	4,2-6,0	1,8-3,0
<i>Lucilia caesar</i>	3	4,8- 5,5	4,0-4,5	1,7-2,1
<i>Protophormia terraenovae</i>	11	8,5- 9,0	7,0-7,5	3,2-3,7
<i>Phormia regina</i>	3	7,2- 7,7	5,8-6,2	3,0-3,5

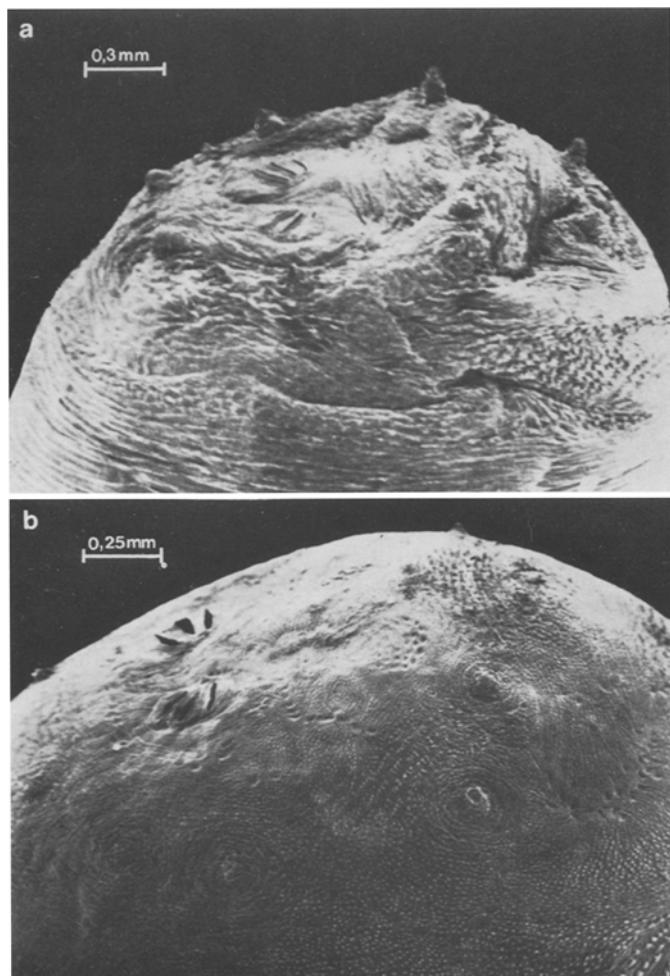


Abb. 3a, b. Hinterer Puparienpol. **a** *Calliphora vomitoria* mit plan-konkaver Stigmenplatte und **b** *Calliphora vicina* mit konvexer Stigmenplatte

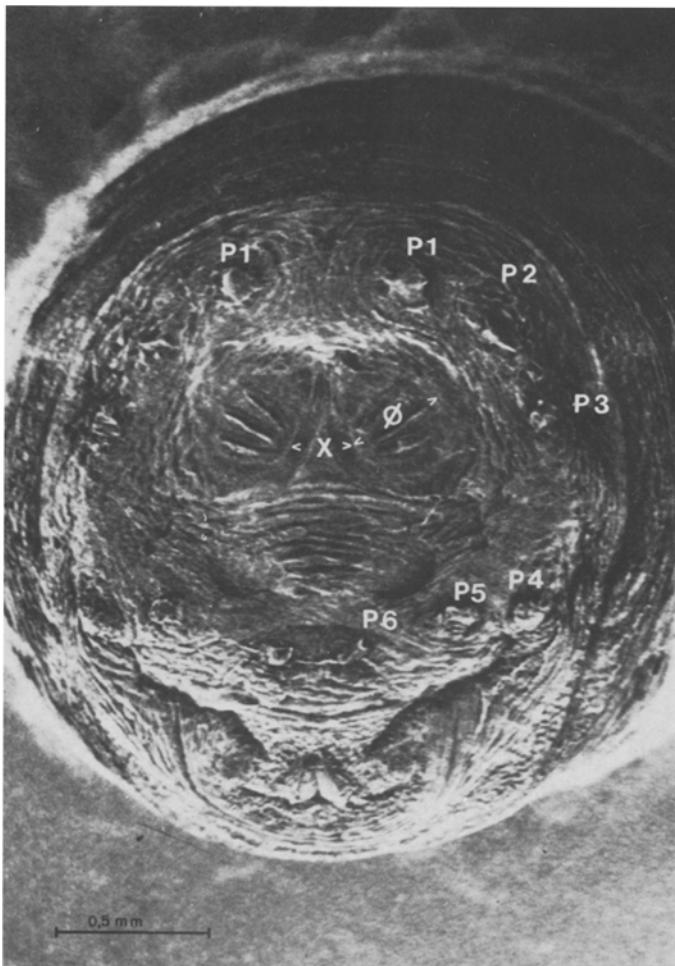


Abb. 4. Hinterer Puparienpol von *Calliphora vomitoria* mit Kennzeichnung der Papillen sowie der Distanz x und ϕ

Die individuellen Größenunterschiede der einzelnen Puparien in jeweils derselben Charge waren wesentlich geringer als zwischen den Individuen der Züchtungen mit unterschiedlichen Versuchsbedingungen.

Cephalopharyngealskelett

Während der Puppenzeit kommt es anläßlich der Ausbildung des Fliegenkopfes [1, 5] zur Exkorporation des Cephalopharyngealskelettes aus der Puppe, wobei die funktionslos gewordenen Sklerite an der konkaven Innenseite der ventralen Polklappe des Pupariums zu liegen kommen. Bei unseren Untersuchungen zeigte es sich, daß die vorderen Abschnitte des Kieferapparates [4] – beide Mundhaken, ein allfällig vorhandenes unpaares, accessorisches Sklerit sowie das H-Stück – immer regelrecht angeordnet und nicht deformiert einer mikrosko-

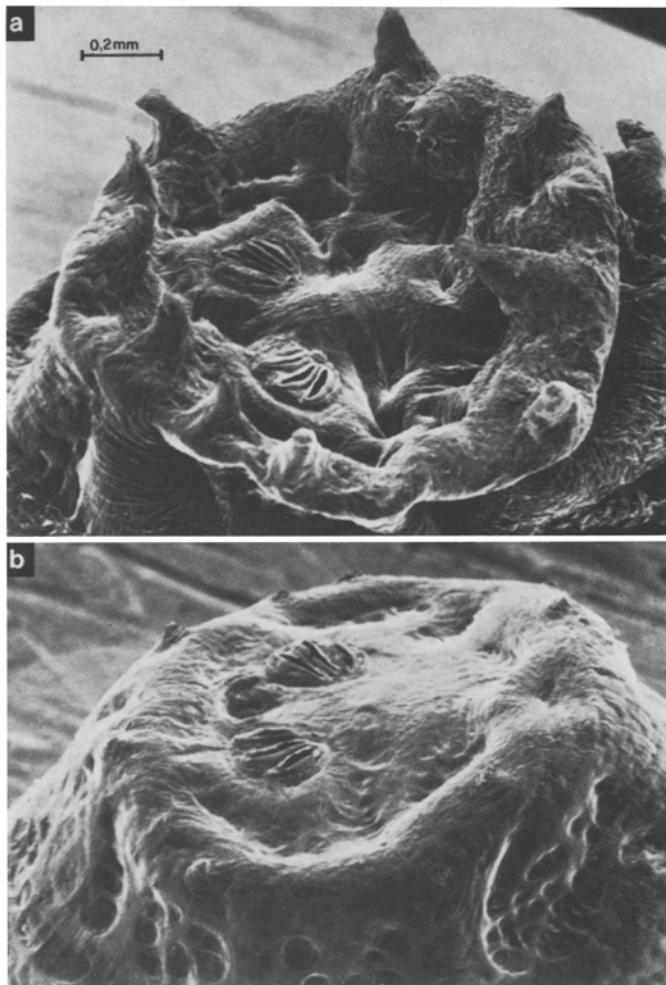


Abb. 5. Hinterer Puparienpol mit wallartig aufgeworfenem Rand der Stigmenplatte bei *Protophormia terraenovae* (a) und *Phormia regina* (b)

pischen Untersuchung zur Verfügung stehen. Das Basalstück ist oft geknickt oder fragmentiert. Die Existenz eines unpaaren accessorischen Sklerites (UaS) zwischen beiden Mundhaken, seine Größe und Form stellen bei den einzelnen Arten konstante Merkmale des Kieferapparates dar und erlauben eine Gliederung der forensisch bedeutsamen Schmeißfliegenpuparien in drei Gruppen:

- 1) großes, stark pigmentiertes, nagelförmiges, unpaares Sklerit bei allen Calliphoraarten;
- 2) kleines, mäßig stark pigmentiertes, ovales, unpaares Sklerit bei *Lucilia ampullacea*;
- 3) fehlendes, unpaares Sklerit bei *Lucilia sericata*, *Lucilia caesar*, *Protophormia terraenovae* und *Phormia regina*.

Morphologie des 12. Pupariensegmentes

Der Familie der Calliphoridae ist ein einheitlicher Grundbauplan des 12. Pupariensegmentes eigen. Auf der unterschiedlich gewölbten Stigmenplatte finden sich, wie bei den Maden, zwei annähernd kreisrunde Hinterstigmen mit je drei Stigmenschlitzen. Die Stigmenplatte ist bei *Calliphora vomitoria* (Abb. 3a), *Protophormia terraenovae* und *Phormia regina* (Abb. 5) plan bis konkav, bei *Calliphora vicina* (Abb. 3b) und den Luciliaarten konvex. Um die Hinterstigmen sind immer sechs Papillenpaare (P1-P6) zirkulär und symmetrisch zur median-sagittalen Ebene angeordnet (Abb. 4). Bei *Protophormia terraenovae* und *Phormia regina* sitzen die Papillen P1-P6 einem zirkulär am Rand des Stigmenfeldes angeordneten Wall auf (Abb. 5). P4 ist bei allen Calliphora- und Luciliaarten, P5 bei *Protophormia terraenovae* und *Phormia regina* am größten.

Zur Artbestimmung wurden die Abstände P1P1 und P1P3, der Durchmesser der Hinterstigmen (ϕ) und die Distanz zwischen den Hinterstigmen (x) gemessen (Abb. 4) und ihre durchschnittlichen Werte (mm) in Tabelle 2 aufgelistet.

Das proportionelle Verhältnis der vier Parameter wird durch individuelle Größenunterschiede bei Puparien derselben Art nicht verändert.

Tabelle 2.

	P1P1	P1P3	ϕ	x
<i>Calliphora vicina</i>	0,77	0,77	0,24	0,24
<i>Calliphora vomitoria</i>	0,66	0,66	0,31	0,18
<i>Lucilia sericata</i>	0,36	0,50	0,21	0,17
<i>Lucilia ampullacea</i>	0,40	0,46	0,24	0,16
<i>Lucilia caesar</i>	0,38	0,48	0,24	0,10
<i>Protophormia terraenovae</i>	0,41	0,60	0,26	0,29
<i>Phormia regina</i>	0,52	0,57	0,25	0,20

Schlußfolgerung

Während die Puparienmaße zur Identifizierung forensisch bedeutsamer Schmeißfliegen höchstens orientierende Hinweise liefern, kann hingegen anhand der Untersuchungsergebnisse der Kieferapparate und der 12. Pupariensegmente die folgende abschließende Tabelle zur praktischen Artbestimmung aufgestellt werden:

Bestimmungstabelle

- 1) tiefe, kraterförmige Stigmenhöhle am 12. Segment, P5 am größten – *Sarcophagidae*
- 2) ebene bzw. konvexe Stigmenplatte am 12. Segment ohne Papillen oder stechapfelförmige Puparien – *Muscidae*
- 3) konkave, ebene bzw. konvexe Stigmenplatte am 12. Segment mit sechs Papillenpaaren – *Calliphoridae* (4)
- 4) wallförmiger Rand der Stigmenplatte mit sechs Papillenpaaren und Stigmengrube, P5 am größten (13); ebene, konkave oder konvexe Stigmenplatte, P6 am größten (5, 6)

- 5) ebene bis konkave Stigmenplatte mit mittelgroßen Papillen, \emptyset groß
 $x < \emptyset$
 $\overline{P1P1} = \overline{P1P3}$
 UaS groß, nagelförmig, stark pigmentiert – *Calliphora vomitoria*
- 6) konvexe Stigmenplatte mit kleinen Papillen
 $x = \emptyset$ (7)
 $x < \emptyset$ (8)
- 7) \emptyset mittelgroß,
 $\overline{P1P1} = \overline{P1P3}$
 UaS groß, nagelförmig, stark pigmentiert – *Calliphora vicina*
- 8) $\overline{P1P1} = \overline{P1P3}$ (9)
 $\overline{P1P1} < \overline{P1P3}$ (10)
- 9) UaS klein, oval, mäßig pigmentiert
 \emptyset mittelgroß – *Lucilia ampullacea*
- 10) $\overline{P1P1} = 2x$ (11)
 $\overline{P1P1} > 3x$ (12)
- 11) UaS fehlt
 \emptyset klein – *Lucilia sericata*
- 12) UaS fehlt
 \emptyset mittelgroß – *Lucilia caesar*
- 13) $\overline{P1P1} < \overline{P1P3}$ (14)
 $\overline{P1P1} = \overline{P1P3}$ (15)
- 14) Papillen 1–6 sehr groß
 UaS fehlt
 \emptyset mittelgroß
 $x = \emptyset$ – *Protophormia terraenovae*
- 15) Papillen 1–6 klein
 Uas fehlt
 \emptyset mittelgroß
 $x = \emptyset$ – *Phormia regina*

Zeichenerklärung zur Bestimmungstabelle

UaS = unpaares accessorisches Sklerit

Hst = hintere Atemöffnung

x = Distanz zwischen hinteren Atemöffnungen

\emptyset = Durchmesser der hinteren Atemöffnung

$x > \emptyset$ = x deutlich größer als \emptyset

$x < \emptyset$ = x deutlich kleiner als \emptyset

Danksagung. Wir danken Fr. Dr. Klepal, Institut für Zoologie, Abteilung für Ultrastrukturforschung für die freundliche Unterstützung bei der Anfertigung der rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen.

Literatur

1. Fraenkel G, Bhaskaran G (1973) Pupariation and pupation in cyclorrhaphous flies (Diptera) terminology and interpretation. Ann Entomol Soc Am 66:418
2. Hennig W (1948–1952) Die Larvenformen der Dipteren I–III. Akademie Verlag, Berlin
3. Krauter D (1981) Ein rasch arbeitendes, schonendes Mazerationsmittel für Chitin-präparate: Diäthylentriamin. Mikrokosmos 69, H12:395
4. Reiter C, Wollenek G (1982) Bemerkungen zur Morphologie forensisch bedeutsamer Fliegenmaden. Z Rechtsmed 89:197–206
5. Zdarek J, Fraenkel G (1972) The mechanism of puparium formation in flies. J Exp Zool 179:315
6. Zumpt F (1956) Calliphoridae. In: Lindner E (Hrsg) Die Fliegen der palaearktischen Region. Stuttgart