



UNIVERSITY OF BIALYSTOK Institute of Biology

Świerkowa 20B, 15-950 Białystok, POLAND
tel./fax: +48 85 745 73 02

Białystok, 9 May, 2009

Dr. Marcin Sielezniew
Department of Invertebrate Zoology
e-mail: marcins@uwb.edu.pl

Review of the doctoral thesis of Mgr. Pavel Pech

Evoluce sociálního parazitismu rodu *Phengaris* (*Maculinea*) [The evolution of the social parasitism of *Phengaris* (*Maculinea*)]

The topic of the Ph.D. thesis of Mgr. Pavel Pech is related to *Phengaris* (*Maculinea*) butterflies - probably the most intensively studied group of insects in Europe. Between 2002 and 2005 a large EU funded project was conducted, yielding an enormous number of papers concerning different aspects of *Phengaris*' biology and ecology. Surprisingly, classic systematic comparative evolutionary research into morphological characters turned out to be largely neglected by the principal contractors of the project. In my opinion the studies which Mgr. Pavel Pech included in his thesis filled this gap perfectly. Moreover a very valuable multidisciplinary synthesis was made.

It is generally a difficult task to review a thesis which mainly consist of papers which have already been published in good journals. Pavel Pech's doctoral thesis includes three published papers. Two of them have appeared in leading journals (*Cladistics*, *Systematic Entomology*), the third one was also published in a perfectly respectable journal (*Sociobiology*).

Published results in nomenclature have already proved to be very influential and visible at first sight. However, it should be also admitted that they have triggered some confusion in recently published papers, i.e. some authors have started to apply the generic name *Phengaris* instead of *Maculinea* for European species, while others are still using *Maculinea*, referring to the 'common use rule'. The same concerns *P. 'rebeli'*. Personally I do not see any problem in the new names. The most famous species, *Phengaris arion*, has changed its generic name five times since it was described by Linnaeus. Fortunately *Phengaris* was recently applied in the *Climatic Risk Atlas of European Butterflies*, co-authored by 16 scientists, and therefore I believe that the revision proposed in the paper co-authored by Pavel Pech has finally been accepted and hopefully will be consistently used.

The manuscript included in the thesis i.e. 'Phylogeny and biogeography of the *Glaucopsyche* section blue butterflies with generic reclassification' will certainly be published in a high ranking journal e.g. *Systematic Entomology*. My only reservation concerns Appendix II which in my opinion should not be included in the Ph.D in its present form. It consists of 44 pages and it is not sufficiently explained in the main text. I can only suspect that there is a matrix of both morphological and molecular characters. I'm not convinced it is really necessary to include the latter data which are in fact not original, are practically impossible to understand and finally make the thesis only much heavier!

I would prefer to see some details concerning morphological studies in an Appendix. At the moment it is impossible to state which characters of particular species were extracted from the literature (and which references) and which resulted from original studies. I mean that e.g. somebody interested in a particular detailed character or a particular species is not able to simply check where this information is included. It is much easier for molecular data as the accession code to the gene bank is given for every species.

By the way I found in the matrices that there are two characteristics differentiating the male genitalia of *P. alcon* and *P. 'rebeli'* – two the most controversial taxa in the whole long *Phengaris* story. Although I do not question that both butterflies should be regarded as one species in the light of present knowledge it would be interesting to hear an opinion on whether it is reasonable to use these features in determination e.g. at subspecies level.

The chapter 'Meeting the host – a key of the evolution of *Phengaris* parasitism', although it is purely a kind of review, is also very interesting, because of the novel ideas and hypotheses explaining convincingly why *Myrmica* became the main victims of the social parasitism of *Phengaris*. I hope that it will be also published somewhere soon.

Finally, I have some thoughts concerning the last chapter, i.e. the *Sociobiology* paper. It might be a bit irritating for a field ecologist to read a review paper on host-ant specificity of *Phengaris* butterflies prepared by authors who have no field experience in this topic. Gathering a reasonable (i.e. publishable) sample is often very difficult and this kind of paper based purely on statistical analyses of data published by other scientists may be even regarded as a kind of 'social parasitism'. From my opinion based on studies in Poland, every *Phengaris* species including the butterfly called *P. 'rebeli'* is different and fascinating and drawing conclusions about host-ant specificity of the whole genus even at local scale is risky. It is also a bit surprising that Mgr. Pawel Pech who is a declared myrmecologist did not make probably any attempt to gain insight into butterfly-ant relationships even in Czechia. However I understand that it was out of the scope of the thesis. I must also admit that Mgr. Pech and his colleagues are aware of some limitations of their analyses and many of their conclusions are interesting, true, quite novel and even inspiring. I hope that some of hypotheses made will be tested in the future

Concluding in my opinion the scientific output of Mgr. Pavel Pech presented in his thesis is outstanding and fully deserves to be awarded a doctoral degree.

A handwritten signature in blue ink, consisting of a stylized 'M' followed by a long, sweeping horizontal line that curves upwards at the end.

Marcin Sielezniew

Posudek disertační práce

Autor: **Mgr. Pavel Pech**

Název práce: **Evoluce sociálního parazitismu rodu *Phengaris* (*Maculinea*)**

Školitel: Prof. RNDr. Jan Zrzavý, CSc.

Pracoviště: katedra zoologie, Přírodovědecká fakulta Jihočeské university, České Budějovice

Autor předložil soubor tří publikovaných prací a dvou dosud nepublikovaných rukopisů. Disertační práce je doplněna prohlášením spoluautorů o jejich podílu na jednotlivých publikacích. Tento soubor publikací je doplněn rozsáhlým úvodem a shrnutím základních výsledků.

Cílem výzkumného projektu bylo studium interakcí mezi mravenci a jejich obligátními parasy, modrásky z rodu *Phengaris*. Autor se soustředil především fylogenetickou klasifikaci této skupiny, na vliv biologie mravenců na evoluci parazitismu u modrásků a posloupnost vývoje parazitismu. Testování jednotlivých hypotéz o evoluci myrmekofilie je založeno na fylogenetických analýzách. Autor přitom využil především morfologické a ekologické znaky, v menším rozsahu i molekulárních data.

Během zpracování doktorandského projektu autor publikoval tři studie, většinou v renomovaných časopisech v oboru. Zásadní publikací je: “Phylogeny of *Maculinea* blues (Lepidoptera: Lycaenidae) based on morphological and ecological characters, and the evolution of parasitic myrmecophily“ otištěná v časopise *Cladistics*. Překvapivě tato významná publikace ucedená jako první v rámci disertační práce byla uveřejněna na samotném počátku řešení doktorandského projektu. Práce publikovaná v *Systematic Entomology* se zabývá především klasifikací skupiny *Phengaris-Maculinea*.

Jako příloha 3 je uveden rukopis zabývající se fylogenezí sekce *Glaucopsyche*. Fylognetická analýza je založena jednak na velmi rozsáhlém souboru morfologických dat a dále na kombinaci dvou souborů molekulárních dat dříve publikovaných jinými autory. To, že doktorand nedoplnil žádná nová molekulární data kontrastuje s jeho konstatováním, že „analýza je ovlivněna nedostatkem informací o mnoha, často kritických taxonech“ (p. 51). Morfologická matice uvedená v Appendix 2 (appendix nemá v nadpisu legendu) je ve velmi surovém stavu – byla vytištěna v textovém editoru, který pomlčky považoval za dělení slov. Preferoval bych interleaved format s definicí posic. Podobně stromy jsou tištěny v rozdílné grafice, což omezuje jejich srovnání. V přehledu znaků je uvedeno 194 znaků a v Appendix 2 mnohem více (nečíslovaných) posic. Předpokládám, že tyto posice odpovídají molekulárním datům, potom je ale nevhodné, aby u druhů na str. 78 byly jednou na posicích cca 200+ jednou pomlčky a podruhé otazníky. Kódování bude mít vliv na výsledek analýzy pouze pokud gaps budou hodnoceny jako 5. znak, přesto by mělo být kódování jednotné. Ve výsledcích je sice

vedeno, kolik druhů zůstalo v analýze po vyřazení taxonů s nekompletními daty, domnívám se, že by bylo vhodnější uvést i počet rodů v analýze, protože práce řeší spíše fylogenetické vztahy na úrovni rodů než druhů. Tento údaj je možné vypátrat v tabulkách, ale pokud je v textu informace o počtu taxonů v analýze, měla by být uvedena ta podstatnější. Autor uvádí, že použil pro určení modelu evoluce DNA programy PAUP a MrModelTest. Který výsledek použil pro analýzu? Jak postupoval při určení modelu v programu PAUP? Proč nepoužil spíše program Modeltest pro určení modelu z rozsáhlejšího setu, což by mohlo indikovat použití suboptimálního modelu v MrBayes z důvodu omezeného počtu implementovaných modelů v tomto programu. Ačkoliv v abstraktu je uveden závěr o původu myrmekofilie *Phengaris* ve východní Asii, kde dominuje *Myrmica*, v diskusi o této hypotéze není zmínka. Nenašel jsem žádnou diskusi na téma, jak korespondovaly výsledky kombinované analýzy se závěry publikovanými na základě molekulárních dat dřívějšími autory. Zajímalo by mne, jak se projevilo množství neznámých nebo neaplikovatelných stavů znaků na robustnosti fylogenetické hypotézy?

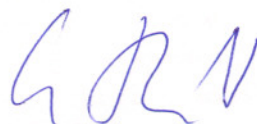
Rukopis uvedený v příloze 4 shrnuje dosavadní znalosti o evoluci parasitismu v rodu *Phengaris*. Zajímalo by mne, kam tento rukopis byl nebo bude předložen do tisku a jaká nová zjištění vedla k jeho napsání.

Obecně k disertační práci mám následující dotaz: Ačkoliv ve dvou pracích byla použita pro konstrukci fylogenetického stromu molekulární data, jednalo se o v obou případech data dříve publikovaná jinými autory. I autor se zmiňuje o tom, že není možné získat materiál z předpokládaného centra vzniku skupiny ve východní Asii. Přesto se chci dotázat, zda nebylo možné alespoň částečně doplnit molekulární data novými sekvencemi, které by zvýšily robustnost fylogenetických hypotéz. Například se autor zmiňuje o druhu *Phengaris nausithous* z východní Evropy, kde dosavadní data ukazují na dlouhodobou diversifikaci uvnitř této linie (příloha 2, p. 39). Ačkoliv se autor zmiňuje o urgentní nutnosti fylogeografické analýzy, nepodnikl v tomto směru žádnou akci. Vzhledem k tomu, že pracoviště doktoranda disponuje molekulárně biologickou laboratoří, domnívám se, že se doktorand s těmito technikami měl seznámit.

Celkově hodnotím předloženou práci kladně. Autor shromáždil množství primárních dat především o morfologii studované skupiny a podrobně studoval ekologii rodu *Phengaris* a jeho příbuzných. Převážnou část výsledků již publikoval v mezinárodních prestižních časopisech, což dokládá vysokou kvalitu jeho práce.

Předložená disertační práce splňuje požadavky předepsané pro úspěšné dokončení doktorandského studia, a proto tuto práci doporučuji k obhajobě.

V Olomouci 7. 5. 2009



Doc. Ing. Ladislav Bocák, Ph D.

Oponentský posudek disertační práce

„Evoluce sociálního parazitismu rodu *Phengaris (Maculinea)*“

Autor disertační práce: Mgr. Pavel Pech

Školitel: Prof. RNDr. Jan Zrzavý, CSc.

Posudek zpracoval: Prof. RNDr. Zdeněk Laštůvka, CSc.

Disertant předkládá soubor několika studií, ve kterých shrnuje výsledky svého výzkumu modrásků rodu *Phengaris* a příbuzných rodů se zvláštním zřetelem na vývoj sociálního parazitismu těchto motýlů. Součástí řešených problémů byla také fylogenetická analýza celé skupiny *Glaucopteryx*. Na úvodní část v rozsahu 14 stran navazuje pět obsáhlých příloh – publikovaných prací nebo rukopisů připravených k tisku. Celkem má disertační práce 147 stran.

V úvodní části autor shrnuje podstatné informace o myrmekofilních modráscích včetně solidní literární rešerše, podrobněji se zabývá životním cyklem modrásků rodu *Phengaris*, zejména jejich sociálním parazitismem. Dále rozebírá fylogenetické postavení obligátně myrmekofilních druhů v sekci *Glaucopteryx*, diskutuje za jakých podmínek a jakými evolučními kroky se vyvinula biologie rodu *Phengaris* a porovnává způsob života myrmekofilů z různých systematických skupin.

První přílohou je práce publikovaná v časopise *Cladistics*. Zabývá se fylogenií modrásků rodu *Maculinea* a v návaznosti evolucí parazitické myrmekofilie. Disertant práci zpracoval společně se třemi spoluautory. Hodnocení je podloženo rozsáhlým souborem morfologických a ekologických znaků. Se třemi spoluautory disertant publikoval i práci zařazenou ve druhé příloze. Pokračuje v ní ve studiu fylogeneze uvedené skupiny modrásků se zřetelem na dvojici taxonů *Maculinea* – *Phengaris* a k morfologickým znakům připojuje i molekulární data. Výsledkem je reklasifikace celé skupiny, resp. synonymizace jmen *Maculinea* s *Phengaris* a převedení druhů řazených tradičně do rodu *Maculinea* do nové kombinace. Třetí přílohou je rukopis práce, která navrhuje klasifikaci druhově bohaté a taxonomicky poměrně komplikované skupiny *Glaucopteryx*. Klasifikace se opět opírá o morfologické i molekulární znaky. Změny se týkají i některých klasických rodů, kromě *Maculinea* také např. *Philotes* nebo *Pseudophilotes*. Výsledky práce lze označit za pozoruhodné v tom smyslu, že si vynutí přepracování zažité klasifikace této skupiny modrásků, což postihne i středoevropské taxony. Z výsledků je zřejmé, že snaha některých autorů řadit druhy rodu *Maculinea* do rodu *Glaucopteryx* není opodstatněná, výsledky naopak podporují oprávněnost synonymizace taxonů *Maculinea* a *Phengaris*. Už ne tak jednoznačně podložený se mi zdá návrh synonymizace *Pseudophilotes* a *Scolitantides*. Autoři uvádějí některé z výsledků podmíněně nebo jako návrhy. Znamená to, že formální reklasifikaci provedou v některé z dalších prací? Proč to nebylo provedeno zde? Nebo se autorům zdá, že závěry nejsou dostatečně podloženy? Není uvedeno, zda je rukopis hotový, příp. již předložený k tisku. Rovněž čtvrtou přílohou je rukopis dosud nepublikované práce, disertant je zde jediným autorem. Práce se zabývá problematikou evoluce myrmekofilie rodu *Phengaris*. Rukopis se do značné míry podobá úvodní části disertační práce, nemá klasické členění vědecké práce, spíše je psán jako kvalifikované review. Opět není uvedeno, zda jde o hotový rukopis a co dále s ním autor zamýšlí. Blízkou problematikou se zabývá

poslední z prací, kterou disertant publikoval společně se dvěma spoluautory v časopise Sociobiology.

Disertační práce má odpovídající náležitosti, předložený soubor prací je pro tento účel naprosto dostačující. K práci nemám žádné zásadní poznámky obsahového rázu, pouze několik drobných, většinou formálních připomínek nebo dotazů:

1. V názvu práce je uvedeno „...Phengaris (Maculinea)“. Mínil tím autor, že Maculinea je podrodem rodu Phengaris (viz ICZN čl. 6.1 nebo pozn. Překladatelů 4)? Z jeho publikací to nevyplývá, pak by měl být zvolen způsob psaní Phengaris (= Maculinea) nebo jiný.
2. V některých publikovaných pracích (např. str. 18) jsou jako autoři druhů Phengaris nausithous a P. teleius uvedeni Bergsträsser et al. Pokud se na popisu podílelo více autorů, měli by být jmenováni (nikoli „et al.“), ale obecně je autorství těchto druhů připisováno pouze Bergsträsserovi. Autor dílo Bergsträssera nikde necituje, zajímalo by mě, jestli je studoval a jak to skutečně s autorstvím uvedených taxonů je.
3. Tabulka na str. 4 měla mít číslo (i když je jediná) s řádným odkazem v textu.
4. Pro označení rostlinného pletiva autor používá nesprávně tkáň.
5. Na nemnoha stranách úvodního textu se autor dopustil několika chyb, resp. postupoval v rozporu s normami pro psaní textů např. při desetinném členění názvů kapitol se za čísla kapitol nedělá tečka, autor nerozlišuje spojovník od pomlčky, čísla stran závěrečných prací se počítají od titulního listu, stadium se píše s krátkým „a“, je rozdíl mezi 90% a 90 %.
6. V rukopisu 3. přílohy je opakovaně uvedena tab. 1 (str. 58 a 60).

Závěr

Disertační práce splnila stanovené cíle a k jejich dosažení autor využil odpovídajících moderních metod. Práce podstatným způsobem obohacuje stávající informace o fylogenezi, bionomii a ekologických vztazích modrásků sekce Glaucopsyche. Tím autor přispěl k rozvoji systematické entomologie a ekologie hmyzu jako vědních oborů. Celkově hodnotím disertační práci jako velmi kvalitní a ucelené dílo, autor v ní prokázal schopnost samostatně vědecky pracovat, organizovat vědeckou práci a prezentovat získané výsledky. Proto ji doporučuji k obhajobě a po jejím obhájení doporučuji udělit Mgr. Pavlu Pechovi titul „Ph.D.“.