

**Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta
Katedra zoologie**

**Charles University, Faculty of Science
Department of zoology**

Doktorský studijní program: Zoologie
Ph.D. study program: Zoology

Autoreferát disertační práce
Summary of the Ph.D. Thesis



Morfologie a evoluce vybraných skupin Palaeodictyopterida
(Insecta: Palaeoptera)

Morphology and evolution of selected groups of Palaeodictyopterida
(Insecta: Palaeoptera)

Mgr. Martina Pecharová

Školitel/Supervisor: RNDr. Jakub Prokop, Ph.D.

Praha, 2017

Abstrakt

Palaeodictyoptera jsou pozoruhodným nadřádem hmyzu, který tvořil značnou část diverzity hmyzu svrchního paleozoika, koncem permu však z fosilního záznamu mizí. Hlavní synapomorfii zástupců nadřádu je bodavě-sací ústní ústrojí ve formě rostra, které bylo tvořeno pěti stylety. Toto rostrum pravděpodobně sloužilo k nabodávání rostlinných pletiv a sání šťáv. Stejný typ ústního ústrojí sdílely s dospělci i larvy Palaeodictyoptera. Vnější genitálie nadřádu vykazují také důležité morfologické znaky. Samčí genitálie jsou tvořeny párem gonostylů a dvěma laloky penisu, podobnou morfologii genitálií nalézáme u recentních Ephemeroptera. Samičí genitálie Palaeodictyoptera jsou vyvinuty v kladélko, které lze srovnat s endofytickým kladélkem některých recentních Odonata. Tyto morfologické znaky také ukazují na možné postavení Palaeodictyoptera jako sesterského taxonu k Odonoptera + Panephemoptera.

Hlavním cílem práce bylo popsat nové zástupce řádu Megaseoptera, druhé nejpočetnější skupiny nadřádu Palaeodictyoptera. Křídelní žilnatina Megaseoptera vykazuje ve srovnání s bazálním řádem Palaeodictyoptera postupnou redukci podélných i příčných žilek. Další tělní struktury byly pozorovány hlavně u čeledi Brodiopteridae a Protohymenidae, u kterých byly nalezeny rozdíly v délce ústního ústrojí a morfologii genitálií. To nám poskytuje představu o specializaci na různé potravní zdroje v rámci jednoho řádu. Vedlejším cílem bylo studium larev řádu Palaeodictyoptera, jejichž morfologie oblasti artikulace křídelních pochev poskytla podporu pro duální teorii vzniku hmyzího křídla.

Abstract

Palaeodictyoptera is remarkable insect superorder, which formed a significant part of the diversity of upper Paleozoic insects, but disappeared by the end of the Permian. The main synapomorphy of the superorder is the piercing-sucking mouthparts in the form of a rostrum consisting of five styles. This rostrum was probably used to pierce on plant tissue and the juice sucking. The same type of mouthparts shared by adults was present also in larvae of Palaeodictyoptera. The external copulatory organs of the superorder members was also showed some morphological interests. The male genitalia consist of a pair of gonostyli and two penial lobes, similarly to the genitalia of recent Ephemeroptera. The female genitalia of Palaeodictyoptera are developed in a form of the ovipositor that can be compared with the endophytic ovipositor of some recent Odonata. This morphological features support placement of Palaeodictyoptera as sister group of Odonoptera + Panephemeroptera.

The main aim of the work was to describe new representatives of the order Megasecoptera, the second largest group of Palaeodictyoptera. Wing venation of Megasecoptera exhibits a reduction of the longitudinal and cross veins in comparison with the order Palaeodictyoptera. Other body structures were examined mainly in the families Brodiopteridae and Protohymenidae, where differences in the length of the mouthparts and genital morphology were found. This gives us the idea of specializing in a variety of food sources within a single order. The secondary task was to study the larvae of the order Palaeodictyoptera, whose morphology of the articulation of the wing sheaths given support for the dual theory wing origin hypothesis.

Obsah

- 1 Úvod
- 2 Cíle práce
- 3 Materiál a metodika
- 4 Výsledky a diskuse
- 5 Závěry
- 6 Použitá literatura

Curriculum vitae

Seznam publikací

English version

Contents

- 1 Introduction
- 2 Aims of the study
- 3 Material and methods
- 4 Results and discussion
- 5 Conclusions
- 6 References

Curriculum vitae

Selected publications

1 Úvod

Studium fosilního hmyzu přináší nenahraditelný zdroj informací, týkajících se evoluce a diverzity jedné z neúspěšnějších skupin živočichů. Nejčastěji nalézány fosíliemi hmyzu jsou jejich křídla. Podle uspořádání křídelní žilnatiny lze křídla přiřadit k jednotlivým řádům i systematicky nižším taxonům. Navzdory tomu jsou křídla ancestrálních skupin Pterygota poměrně problematická, charakteristické znaky na nich nejsou ještě vyvinuty a nebo zde nalézáme ojedinělé znaky, jejichž srovnání s recentním hmyzem není možné. O to větší význam mají fosilní nálezy kompletních jedinců, které poskytují informace o morfologii dalších tělních struktur jako např. ústního ústrojí, artikulaci křídel a genitálií.

Nadřád Palaeodictyoptera je považován za sesterskou skupinu k Panephemeroptera+Odonoptera (recentní jepice a vážky s jejich ancestrálními liniemi) (např. Kukalová-Peck, 1991). Alternativní hypotézu představuje postavení Palaeodictyoptera jako sesterské k Neoptera, tvořící tak spolu skupinu Neopterygota (Sroka a kol., 2015). Fylogeneze Panephemeroptera byla v nedávné době studována např. Staniczem a kol. (2011) a Odonoptera byly předmětem studií autorů Petrulevičius a Gutiérrez (2016) nebo dříve Bechlym a kol. (2001). V posledně zmíněné práci je popsán unikátní materiál patřící zástupci Meganisoptera, kde je patrný párový penis – možná synapomorfie Palaeoptera, která se vyskytuje jak u Panephemeroptera tak právě i u Palaeodictyoptera.

2 Cíle práce

Hlavním cílem práce bylo prostudovat dosud nepopsaný materiál fosilního hmyzu nadřádu Palaeodictyoptera. V první radě se jednalo o zástupce několika čeledí řádu Megaseoptera. Rozsáhlý materiál ze svrchního karbonu Číny byl použit jako podklad ke zpracování diplomové práce na téma: Morfologie a taxonomie nově objevených zástupců skupiny Megaseoptera ze svrchního karbonu severní Číny (Insecta: Palaeodictyopteroidea), obhájené v roce 2013. V diplomové práci však byl hlavní důraz kladen na aplikování metod geometrické morfometrie na soubor křídel a nemohl tak být věnován dostatečný prostor ke zhodnocení ostatních tělní struktur. Zachování materiálu se později navíc ukázalo jako vhodné pro studium pomocí skenovací elektronové mikroskopie. Další dostupný materiál z permu Ruska, náležící čeledím Protohymenidae a Scytohymenidae, se taktéž vyznačoval zachováním některých dalších tělních struktur, např. ústního ústrojí. Do čeledi Brodiidae byl zařazen nový nález ze svrchního karbonu Kanady. Dalším zdrojem informací byl materiál ze sideritových konkrecí z lokality Mazon Creek (USA), z kterého byl popsán nový zástupce čeledi Protohymenidae. Stejný materiál sloužil i jako základ pro vedlejší cíl práce, kterým bylo prostudování nových i již popsaných larev Palaeodictyoptera a srovnání těchto poznatků v nových souvislostech.

3 Materiál a metodika

V této části jsou shrnuty informace o fosilním materiálu pocházejícím z několika lokalit, na jehož základě byla vypracována stěžejní část studií.

Permská lokalita Tshekarda (kungur) se nachází na levém břehu řeky Sylva, západním svahu pohoří Ural v Rusku. Fosílie se zde nacházejí v jílovcích souvrství Koshelevka (Ponomaryova a kol., 1998). Početný materiál ze svrchního karbonu Číny (lokalita Xiaheyan, autonomní oblast Ningxia) pochází ze souvrství Tupo, z baškiru (ekvivalent namuru B–C, stáří cca 315 Ma). Hmyz je zde zachován v podobě kompresních fosilií v nejvýše položené jednotce souvrství Tupo, ve vrstvách šedočerných a černých břidlic (Zhang a kol., 2012). Další zkoumaný materiál pochází ze sideritových kongrecí svrchního karbonu lokality Mazon Creek (Illinois, USA), která je oprávněně považována za *Lagerstätte*. Tímto termínem se označují naleziště s unikátním způsobem zachování fosilií živočichů i rostlin. Zachování v sideritových kongrecích umožňuje oproti kompresním fosiliím studovat reliéf, fosílie je zachována víceméně trojrozměrně (Wittry, 2012). Je proto možné tyto je zkoumat pomocí mikro-CT. Další fosílie pochází z Fosilních útesů Joggins (= Joggins Fossil Cliffs, souvrství Joggins, pennsylvan, Cumberlandská pánev, Nova Scotia, Kanada), které patří k světovému dědictví UNESCO. Ostatní materiál, pocházející z dalších lokalit karbonu a permu, sloužil primárně pro srovnání s nově popisovaným materiálem a jeho původ je podrobně popsán v jednotlivých studiích.

Pro pozorování fosilních vzorků byl primárně používán stereomikroskop Nikon SMZ 645 a Leica MZ 12.5. Kresby byly vytvořeny buď pomocí Leica MZ 12.5 s nástavcem *camera lucida* (umožňující přímé kreslení při současném pozorování vzorku) nebo ze složených fotografií se souběžnou korekcí kresby se vzorkem pod stereomikroskopem. Fotografie vzorků byli pořízeny digitálním fotoaparátem Canon D550 s objektivy MP-E 65 mm a EF 50 mm, následně složeny v programu Helicon Focus Pro a poté popřípadě upraveny v Adobe Photoshop CS6. Některé vzorky byly před fotografováním pokryty vrstvou ethanolu pro zvýraznění struktur.

Digitální mikroskop Keyence VHX VH-Z20UR umístěný na paleontologickém oddělení Národního muzea byl využit k vytvoření 3D modelů, např. detailů thoraxu larev. Výhodou modelů je možnost úprav v softwaru VHX-5000 communication software a pozdější využití v dalších studiích.

Skenovací elektronový mikroskop (SEM) je dnes velmi rozšířený přístroj pro studování povrchu nejrůznějších materiálů. Jeho oblíbenost v minulosti významně narostla po jeho zdokonalení na environmentální skenovací elektronový mikroskop (ESEM), který byl uveden v roce 1988 (Joy, 2006; Danilatos, 2009). Pro pozorování vzorků pomocí SEM je nutné, aby byl vzorek zbaven vody, jejíž evaporace by ve vakuu by způsobila smrštění a znehodnocení vzorku. Pokud vzorek není dobrým elektrickým vodičem, je nezbytné ho opatřit vrstvou kovu, obvykle 3–10 nm silnou vrstvou zlata (Joy, 2006). Tento proces u ESEM však odpadá, vzorek je pozorován při nízkém tlaku vzduchu v komoře (kolem 50–70 kPa), proto nepotřebuje být zcela zbaven vody. Také není zapotřebí pozlacení, které u fosilního materiálu často není

možné. Pomocí ESEM byly v rámci výzkumu pozorovány vzorky ze sideritových konkrecí i kompresní fosílie. Nejlepších detailů bylo dosaženo u materiálu z Číny, pravděpodobně díky dobré vodivosti horniny, obsahující hodně uhlíku a také díky jemnosti sedimentu. Snímky byly pořízeny pomocí ESEM Hitachi S-3700N na paleontologickém oddělení Národního muzea a poté upraveny pomocí Adobe Photoshop CS6

Data pro vytvoření 3D modelů byly získány pomocí rentgenové počítačové mikrotomografie (mikro-CT) ve Středoevropském technologickém institutu CEITEC v Brně prostřednictvím přístroje GE phoenix|X-ray tomography system v|tome|x. Jednotlivé 3D modely hmyzu z konkrecí byly vytvořeny za pomoci softwaru Amira.

4 Výsledky a diskuse

V rámci práce byli v první řadě studovaní zástupci pěti čeledí řádu Megasecoptera. Menší, avšak neméně důležitou součástí práce, bylo studium larev řádu Palaeodictyoptera.

V rámci původně permské čeledě **Protohymenidae** byl přidán nový rod a druh, rozšiřující výskyt čeledě do svrchního karbonu. Dále byl popsán nový druh rodu *Protohymen* Tillyard, 1924, který zachováním báze ústního ústrojí a tentoria (endoskeletu hlavy) významně přispívá k poznání dosud neznámé morfologie těchto struktur. Příbuzná čeleď **Scytohymenidae** byla doplněná o nového jedince druhu *Scytohymen extremus* Martynov, 1937, který jako první v rámci čeledě ukazuje morfologii tělních struktur včetně detailů jednotlivých facet složených očí.

Studium materiálu ze svrchního karbonu Číny doplnilo poznatky o čeledích **Brodiopteridae** a **Aykhalidae**. Nový druh *Brodioptera sinensis* Pecharová, Ren a Prokop, 2015 (**Brodiopteridae**, viz Pecharová a kol., 2015a) umožnil vedle studia rozsáhlého souboru křídel také zhodnocení jedinečných tělních struktur jako např. extrémně dlouhého ústního ústrojí a samčích i samičích genitálií. Pomocí environmentálního skenovacího elektronového mikroskopu byly odhaleny mikrostruktury na povrchu těla *B. sinensis* (viz Prokop a kol., 2016b). Čeleď **Aykhalidae** byla rozšířena o dva nové rody (druhy *Sinopalaeopteryx olivieri*, *S. splendens* a *Namuroptera minuta* popsány Pecharová, Prokop a Ren, 2015 v Pecharová a kol., 2015b) a morfologii ústního ústrojí.

Nový druh čeledi **Brodiiidae** ze svrchního karbonu, *Brodia jogginsensis* Prokop a kol., 2017, jako první v rámci čeledě ukazuje pozici všech křídel. Práce je také rozšířena o

diskuzi týkající se některých larev, které by mohly patřit zástupcům této čeledě.

Studie založená na larválních stádiích řádu **Palaeodictyoptera** může posloužit jako podpora nejnovější teorie duálního původu křídla z elementů pronota i pleury. Na několika larvách je představena morfologie báze křídelní pochvy, kde je zřetelně oddělená anteriorní artikulovaná část (původem z pleurálních elementů) a posteriorní část, plynule propojená se skutelem nota (původem z nota).

Poslední článek se věnuje zástupcům čeledi **Spilapteridae** (řádu Palaeodictyoptera) ze svrchního karbonu. Vedle popisu nového jedince *Homaloneura* cf. *dabasinskasi* Carpenter, 1964 je zde popsána jedinečně zachovaná larva *Bizzarea obscura* Prokop a kol., 2016, která s jistou pravděpodobností náleží do stejné čeledě. Tato larva se morfologicky výrazně odlišuje od dosud popsaných larev Palaeodictyoptera.

5 Závěry

Doplnění morfologie rozličných tělních struktur řádu **Megaseoptera** bylo významně rozšířeno o detaily týkající se hlavy (ústní ústrojí, endoskelet, složené oči, tykadla), thoraxu (končetiny), abdomenu (samčí i samičí genitálie, cerky). Použitím ESEM byly objeveny sety na membráně křídla, zoubky valvul endofytického kladélka.

Morfologie báze křídelních pochev larválních stádií řádu **Palaeodictyoptera** se ukázala jako možná podpora pro duální hypotézu vzniku křídla a je také prvním krokem ve srovnání morfologie artikulace u dospělců nadřádu Palaeodictyoptera.

6 Použitá literatura

- Bechly, G., Brauckmann, C., Zessin, W. & Gröning, E. 2001.** New results concerning the morphology of the most ancient dragonflies (Insecta: Odonoptera) from the Namurian of Hagen-Vorhalle (Germany). *Z. Zool. Syst. Evolutionsforsch.* 39, 4: 209–226.
- Danilatos, G. D. 2009.** Optimum beam transfer in the environmental scanning electron microscope. *Journal of Microscopy* 234 (1): 26–37. doi:10.1111/j.1365-2818.2009.03148.x. PMID 19335454.
- Joy, D. C. 2006.** Scanning Electron Microscopy. *Materials Science and Technology*; doi: 10.1002/9783527603978.
- Kukalová-Peck, J. 1991.** Fossil history and the evolution of hexapod structures. 144–182. In: *The Insects of Australia*. CSIRO. 2nd ed. Melbourne univ. press. Carlton.
- Petrulevičius, J. F. & Gutiérrez, P. R. 2016.** New basal Odonoptera (Insecta) from the lower Carboniferous (Serpukhovian) of Argentina. *Archivos Entomológicos* 16:341–358.
- Ponomaryova, G.Y.U., Novokshonov, V. G. & Naugolnykh, S.V. 1998.** Tshekarda – A Locality of Permian Fossil Plants and Insects. Perm University; Perm, Russia.
- Sroka, P., Staniczek, A. H. & Bechly, G. 2015.** Revision of the giant pterygote insect *Bojophlebia prokopi* Kukalová-Peck, 1985 (Hydropalaeoptera: Bojophlebiidae) from the Carboniferous of the Czech Republic, with the first cladistic analysis of fossil palaeopterous insects. *Journal of Systematic Palaeontology* 13:963–982.
- Wittry, J. 2012.** *The Mazon Creek Fossil Fauna*. Chicago: ESCONI Associates.
- Zhang, Z., Schneider, J. W. & Hong, Y. 2012.** The most ancient roach (Blattodea): a new genus and species from the earliest Late Carboniferous (Namurian) of China, with a discussion of the phylomorphogeny of early blattids. *Journal of Systematic Palaeontology* 11: 27–40.

Curriculum vitae

Mgr. Martina Pecharová

Datum narození: 14. října 1988

Adresa působiště: Univerzita Karlova,
Katedra Zoologie,
Viničná 7, 128 44 Praha 2

E-mail: pecharom@natur.cuni.cz
mp.martina@seznam.cz

Vzdělání:

2013–nyní Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta
Doktorské studium, obor: Zoologie

Téma disertační práce: Morfologie a evoluce vybraných skupin Palaeodictyoptera (Insecta: Palaeoptera)

Vedoucí práce: RNDr. Jakub Prokop, Ph.D.

2011–2013 Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta, Magisterské studium, program: Biologie, obor: Zoologie

Téma diplomové práce: Morfologie a taxonomie nově objevených zástupců skupiny Megasecoptera ze svrchního karbonu severní Číny (Insecta: Palaeodictyopteroidea)

Vedoucí práce: RNDr. Jakub Prokop, Ph.D.

2008–2011 Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta
Bakalářské studium, program: Geologie, obor: Praktická geobiologie

Téma bakalářské práce: Gigantismus u hmyzu a dalších členovců během paleozoika

Vedoucí práce: RNDr. Jakub Prokop, Ph.D.

Seznam publikací

Prokop, J., **Pecharová, M.**, Nel, A., Hörschemeyer, T., Krzemińska, E., Krzemiński, W. & Engel, M. S. **2017a**. Paleozoic nymphal wing pads support dual model of insect wing origins. *Current Biology* 27: 263–269.

Prokop, J., **Pecharová, M.**, Nel, A., Grey, M. & Hörschemeyer, T. **2017b**. A remarkable insect from the Pennsylvanian of the Joggins Formation in Nova Scotia, Canada: insights into unusual venation of Brodiidae and nymphs of Megasecoptera, *Journal of Systematic Palaeontology*; doi: 10.1080/14772019.2017.1283364

Prokop, J., Nel, A., Engel, M. S., **Pecharová, M.** & Hörschemeyer, T. **2016a**. New Carboniferous fossils of Spilapteridae enlighten postembryonic wing development in Palaeodictyoptera. *Systematic Entomology* 41: 178–190.

Prokop, J., **Pecharová, M.** & Ren, D. **2016b**. Hidden surface microstructures on Carboniferous insect *Brodioptera sinensis* (Megasecoptera) enlighten functional morphology and sensorial perception. *Scientific Reports* 6: 28316; doi: 10.1038/srep28316.

Prokop J., **Pecharová, M.** & Nel A. **2016c**. New Cenozoic dragonflies from the Most Basin and Středohoří Complex volcanic area (Czech Republic, Germany). *Journal of Natural History* 50; doi: 10.1080/00222933.2016.1193648

Pecharová, M., Ren, D. & Prokop, J. **2015a**. A new palaeodictyopteroid (Megasecoptera: Brodiopteridae) from the Early Pennsylvanian of northern China reveals unique morphological traits and intra-specific variability. *Alcheringa* 39: 236–249.

Pecharová, M., Prokop, J. & Ren, D. **2015b**. Early Pennsylvanian aykhalids from Xiaheyan of northern China and their palaeogeographical significance (Insecta: Megasecoptera). *Comptes Rendus Palevol* 14: 613–624.

Li Y., Ren D., **Pecharová M.**, & Prokop J. **2013**. A new palaeodictyopterid from the Upper Carboniferous of China enlightens close relationships of insect fauna between Quilianshian (northern China) and Laurussia (Insecta: Palaeodictyoptera: Spilapteridae). *Alcheringa* 37(4): 487–495.

1 Introduction

The study of fossil insects provides us an exceptional source of information on the evolution and diversity of one of the most successful animal groups. The most common insect fossils are their wings. According to wing venation arrangement, the wings can be assigned to specific insect orders as well as systematically lower taxa. Despite this, the wings of the ancestral groups of Pterygota are quite problematic, some characters are not yet developed, or there can be found unique features that are not comparable to recent insects. Thus the fossil material of complete individuals that provide information on the morphology of other body structures such as the mouthparts, articulation of the wings and genitals is very important.

Palaeodictyoptera is considered to be a sister group to Panephemeroptera + Odonatoptera (recent mayflies and dragonflies with their ancestral lines) (e.g. Kukalová-Peck, 1991). An alternative hypothesis is the position of Palaeodictyoptera as a sister group to Neoptera, thus forming the Neopterygota group (Sroka *et al.*, 2015). Phylogeny of Panephemeroptera has been recently studied by Staniczek *et al.* (2011) and Odonatoptera were the subject of studies by Petrulėvičius and Gutiérrez (2016), or earlier by Bechly *et al.* (2001). In the lastly mentioned work, there were described unique material belonging to representative of Meganisoptera with paired penis – presumable synapomorphy of Palaeoptera, which occurs both in Panephemeroptera and Palaeodictyoptera.

2 Aims of the study

The main aim of the work was to study the previously unpublished material of the fossil insect of superorder Palaeodictyoptera. The first objective is to describe representatives of several families of the order Megaseoptera. On the basis of extensive material from the Upper Carboniferous of China diploma thesis were written, the topic was: Morphology and taxonomy of the newly discovered representatives of the Megaseoptera from the Upper Carbon of North China (Insecta: Palaeodictyopteroidea), defended in 2013. In the diploma thesis, however, the main part focused on applying methods of geometric morphometrics to a set of wings, and thus lacking sufficient space to evaluate other body structures. Preservation of this material later turned out to be suitable for study by scanning electron microscopy. Other material for study was available from the locality in Russia, belonging to Protohymenidae and Scythohymenidae and was also characterized by the preservation of some special body structures, such as the mouthparts etc. A new specimen from the Upper Carboniferous material of Canada was included in the Brodiidae family. Another source of information was a material from siderite nodules from Mazon Creek (USA), also from which a new representative of the Protohymenidae family was described. The same material served as a basis for the secondary aim of the work, which was to study the new and already described larvae of order Palaeodictyoptera and to compare these findings in new context.

3 Material and methods

This section summarizes information on fossil material from several localities, on the basis of which the main part of the studies was created.

The Permian locality Tshekarda (Kungurian) is located on the left bank of the Sylva River, on the western slope of the Ural Mountains in Russia. Fossils are found in mudstone strata of the Koshelevka Formation (Ponomaryova *et al.*, 1998). Numerous material comes from Upper Carboniferous of China (Xiaheyan, Ningxia Autonomous Region), from Tupo Formation, Bashkirian (equivalent to Namurian B–C, about 315 Ma). The insects here are preserved in the form of compression fossils in the uppermost unit of the Tupo Formation, in the layers of grayish black and black shales (Zhang *et al.*, 2012). The other studied material comes from the siderite nodules of the Upper Carboniferous of Mazon Creek (Illinois, USA), which is considered as *Lagerstätte*. This term labels a site with an exceptional preservation of the fossil animals and plants. Conservation in siderite nodules allows to study the relief, the fossil is preserved more or less three-dimensional in contrast to compression fossils (Wittry, 2012). Nodules are therefore available to examination by micro-CT. Other fossil come from the Joggins Fossil Cliffs (Pennsylvanian, Cumberland Basin, Nova Scotia, Canada), a UNESCO World Heritage Site. The remaining material originating from other carbon and perm locations served primarily for comparison with the newly described material, and its details are described in certain studies.

For observation of fossil samples, the Nikon SMZ 645 and Leica MZ 12.5 stereomicroscopes were primarily used.

Drawings were created either with the Leica MZ 12.5 with *camera lucida* attachment (allowing direct drawing while observing the sample), or from composite photographs with simultaneous correction with the specimen under the stereomicroscope. Sample photos were taken with the Canon D550 digital camera with 65 mm MP-E and 50 mm EF lenses, then stacked with Helicon Focus Pro and then edited in Adobe Photoshop CS6. Some samples were coated with an ethanol layer before shooting to highlight structures.

The Keyence VHX VH-Z20UR digital microscope, located at the Department of Palaeontology of National Museum in Prague, was used to create 3D models, such as details of thorax of larvae. The advantage of these models is the possibility of editing in the VHX-5000 communication software and later use in other studies.

The scanning electron microscope (SEM) is today a very widespread device for studying the surface of various materials. Its popularity has grown significantly since its enhancement to the Environmental Scanning Electron Microscope (ESEM), which was introduced in 1988 (Joy, 2006; Danilatos, 2009). For sample observation using SEM, it is necessary for the sample to be get rid of water, the evaporation of could cause shrinkage and deterioration of the sample in the vacuum. If the sample is not a good electrical conductor, it is necessary to provide it with a layer of metal, usually 3-10 nm thick layer of gold (Joy, 2006). However, this process is not necessary in ESEM, the sample is observed at low air pressure in the chamber (about 50-70 kPa), therefore it does not need to be completely dehydrated. Also, there is no need for adding the layer of gold that is often impossible for fossil material. Using ESEM, samples from siderite nodules

and compression fossils were observed. The best detail has been achieved with material from China, probably due to good conductivity of the sediment, containing a lot of carbon and also due to the fine-grained sediment. Images were taken using the ESEM Hitachi S-3700N at the Department of Palaeontology of National Museum in Prague and then edited using Adobe Photoshop CS6

Data for the creation of 3D models were obtained by GE phoenix|X-ray tomography system v|tome|x (micro-CT) at the CEITEC (Central Institute of Technology) in Brno. Individual 3D models of insects from nodules were created using the Amira software.

4 Results and discussion

In the first part of the work, representatives of five families of the order Megaseoptera were studied. Minor but not less important part of the work was the study of the Palaeodictyoptera larvae.

In the originally Permian family **Protohymenidae**, a new genus and species have been added to extend the range of the family into the Upper Carboniferous. In addition, a new species of *Protohymen* Tillyard, 1924, was described with the bases of the mouthparts and the tentorium (head endoskeleton) preserved, significantly contributes to the knowledge of unknown morphology of these structures. The related family **Scytohymenidae** was supplemented by a new specimen of *Scytohymen extremus* Martynov, 1937, the first specimen of the family to show the morphology of the body structures, including the details of the individual facets of the compound eyes.

The study of material from the Upper Carboniferous of China supplemented the knowledge of the families **Brodipteridae** and **Aykhalidae**. The new species of *Brodiptera sinensis* Pecharová, Ren and Prokop, 2015 (**Brodipteridae**, see Pecharová *et al.*, 2015a), in addition to an extensive set of wings, also allowed the evaluation of unique body structures such as extremely long mouthparts and male and female genitalia. Using an environmental scanning electron microscope, microstructures on the body surface of *B. sinensis* were detected (see Prokop *et al.*, 2016b). The family Aykhalidae was extended by two new genera (*Sinopalaeopteryx olivieri*, *S. splendens* and *Namuroptera minuta*, all described by Pecharová, Prokop and Ren, 2015 in Pecharová *et al.*, 2015b) and morphology of the mouthparts.

The new species of the Upper Carboniferous family **Brodiidae**, *Brodia jogginsensis* Prokop *et al.*, 2017, is the first specimen in the family to show the position of all the wings. The work is also expanded with a discussion of some larvae that could be linked with this family.

A study based on the **Palaeodictyoptera** larval stages can serve as support for the latest dual origin of the wings from the pronotal and pleural components. Several larvae present the morphology of the base of the wing sheaths, where is the distinctly separated anterior articulated part (originating from the pleural elements) and the posterior part, continuously connected with the scutellum of notum (originating from dorsal part of thorax).

The last article is dedicated to representatives of the family **Spilapteridae** (order Palaeodictyoptera) from the Upper Carboniferous. In addition to describing the new individual of *Homaloneura* cf. *dabasinskasi* Carpenter, 1964,

there is described the uniquely preserved larva *Bizzarea obscura* Prokop *et al.*, 2016, which probably belongs to the same family. This larva differs markedly from the previously described larvae of Palaeodictyoptera.

5 Conclusions

The morphology of various body structures of the Megasecoptera was significantly extended by head details (mouthparts, endoskeleton, compound eyes, antennae), thorax (limb), abdomen (male and female genitalia, cerci). Using ESEM, setae were found on the wings membrane, and the teeth of the endophytic ovipositor.

The morphology of wing sheaths of larval stages (Palaeodictyoptera) has proved to be a possible support for the dual wing origin hypothesis and is also the first step in the comparison of morphology of articulation in adults of Palaeodictyoptera.

6 References

- Bechly, G., Brauckmann, C., Zessin, W. & Gröning, E. 2001.** New results concerning the morphology of the most ancient dragonflies (Insecta: Odonoptera) from the Namurian of Hagen-Vorhalle (Germany). *Z. Zool. Syst. Evolutionsforsch.* 39, 4: 209–226.
- Danilatos, G. D. 2009.** Optimum beam transfer in the environmental scanning electron microscope. *Journal of Microscopy* 234 (1): 26–37. doi:10.1111/j.1365-2818.2009.03148.x. PMID 19335454.
- Joy, D. C. 2006.** Scanning Electron Microscopy. *Materials Science and Technology*; doi: 10.1002/9783527603978.
- Kukalová-Peck, J. 1991.** Fossil history and the evolution of hexapod structures. 144–182. In: *The Insects of Australia*. CSIRO. 2nd ed. Melbourne univ. press. Carlton.
- Petrulevičius, J. F. & Gutiérrez, P. R. 2016.** New basal Odonoptera (Insecta) from the lower Carboniferous (Serpukhovian) of Argentina. *Archivos Entomológicos* 16:341–358.
- Ponomaryova, G.Y.U., Novokshonov, V. G. & Naugolnykh, S.V. 1998.** Tshekarda – A Locality of Permian Fossil Plants and Insects. Perm University; Perm, Russia.
- Sroka, P., Staniczek, A. H. & Bechly, G. 2015.** Revision of the giant pterygote insect *Bojophlebia prokopi* Kukalová-Peck, 1985 (Hydropalaeoptera: Bojophlebiidae) from the Carboniferous of the Czech Republic, with the first cladistic analysis of fossil palaeopterous insects. *Journal of Systematic Palaeontology* 13:963–982.
- Wittry, J. 2012.** *The Mazon Creek Fossil Fauna*. Chicago: ESCONI Associates.
- Zhang, Z., Schneider, J. W. & Hong, Y. 2012.** The most ancient roach (Blattodea): a new genus and species from the earliest Late Carboniferous (Namurian) of China, with a discussion of the phylomorphogeny of early blattids. *Journal of Systematic Palaeontology* 11: 27–40.

Curriculum vitae

Mgr. Martina Pecharová

Date of birth: 14th October 1988

Institutional address: Charles University,
Department of Zoology,
Viničná 7, 128 44 Prague 2

E-mail: pecharom@natur.cuni.cz
mp.martina@seznam.cz

Education:

2013–now Charles University, Faculty of Science
Doctoral study, Study program: Zoology

Title of Ph.D. thesis: Morphology and evolution of selected
groups of Palaeodictyoptera (Insecta: Palaeoptera)

Supervisor: RNDr. Jakub Prokop, Ph.D.

2011–2013 Charles University, Faculty of Science,
Master's study, Program: Biology, Field of
study: Zoology

Title of master's thesis: Megasecoptera: morphology and
taxonomy of newly discovered specimens from Upper
Carboniferous of northern China (Insecta:
Palaeodictyopteroidea)

Supervisor: RNDr. Jakub Prokop, Ph.D.

2008–2011 Charles University, Faculty of Science,
Bachelor's study, program: Geology,
Field of study: Applied Geobiology,

Title of bachelor's thesis: Gigantism of Palaeozoic insects and
other arthropods

Supervisor: RNDr. Jakub Prokop, Ph.D.

List of publications

Prokop, J., **Pecharová, M.**, Nel, A., Hörnschemeyer, T., Krzemińska, E., Krzemiński, W. & Engel, M. S. **2017a**. Paleozoic nymphal wing pads support dual model of insect wing origins. *Current Biology* 27: 263–269.

Prokop, J., **Pecharová, M.**, Nel, A., Grey, M. & Hörnschemeyer, T. **2017b**. A remarkable insect from the Pennsylvanian of the Joggins Formation in Nova Scotia, Canada: insights into unusual venation of Brodiidae and nymphs of Megasecoptera, *Journal of Systematic Palaeontology*; doi: 10.1080/14772019.2017.1283364

Prokop, J., Nel, A., Engel, M. S., **Pecharová, M.** & Hörnschemeyer, T. **2016a**. New Carboniferous fossils of Spilapteridae enlighten postembryonic wing development in Palaeodictyoptera. *Systematic Entomology* 41: 178–190.

Prokop, J., **Pecharová, M.** & Ren, D. **2016b**. Hidden surface microstructures on Carboniferous insect *Brodioptera sinensis* (Megasecoptera) enlighten functional morphology and sensorial perception. *Scientific Reports* 6: 28316; doi: 10.1038/srep28316.

Prokop J., **Pecharová, M.** & Nel A. **2016c**. New Cenozoic dragonflies from the Most Basin and Středohoří Complex volcanic area (Czech Republic, Germany). *Journal of Natural History* 50; doi: 10.1080/00222933.2016.1193648

Pecharová, M., Ren, D. & Prokop, J. **2015a**. A new palaeodictyopteroid (Megasecoptera: Brodiopteridae) from the Early Pennsylvanian of northern China reveals unique morphological traits and intra-specific variability. *Alcheringa* 39: 236–249.

Pecharová, M., Prokop, J. & Ren, D. **2015b**. Early Pennsylvanian aykhalids from Xiaheyan of northern China and their palaeogeographical significance (Insecta: Megasecoptera). *Comptes Rendus Palevol* 14: 613–624.

English version

Li Y., Ren D., **Pecharová M.**, & Prokop J. **2013**. A new palaeodictyopterid from the Upper Carboniferous of China enlightens close relationships of insect fauna between Quilianshian (northern China) and Laurussia (Insecta: Palaeodictyoptera: Spilapteridae). *Alcheringa* 37(4): 487–495.