

VPLIV SVETLOBE NA STARANJE KRIL
DNEVNIH METULJEV

VPLIV SVETLOBE NA STARANJE KRIL
DNEVNIH METULJEV

BIOLOGIJA

Raziskovalna naloga

Emma Ravnihar, 3. MM

3. letnik

izr. prof. dr. Gregor Belušič - Oddelek za biologijo, Biotehniška
fakulteta, Univerza v Ljubljani

svetovalka Metka Škornik, univ. dipl. biol. in prof. biol. - Gimnazija
Bežigrad, Ljubljana

2022

GIMNAZIJA BEŽIGRAD

KAZALO VSEBINE

1 POVZETEK	1
2 SUMMARY	1
3 UVOD	2
3.1 CILJI IN HIPOTEZE.....	2
4 TEORETIČNI DEL.....	3
4.1 METULJI.....	3
4.2 VID	3
4.3 ELEKTROMAGNETNI IN VIDNI SPEKTER.....	3
4.3.1 SPEKTRALNE BARVE	3
4.4 ČLOVEŠKI BARVNI VID IN ZAZNAVA BARV	4
4.5 SESTAVLJENE OČI IN BARVNI VID PRI METULJIH	5
4.6 LUSKE IN OBARVANOST TELESA	7
4.6.1 LUSKE.....	7
4.6.2 PIGMENTNA OBARVANOST	7
4.6.3 STUKTURNA OBARVANOST	8
4.6.4 KOMPLEKSNE BARVE	10
4.7 POMEN OBARVANOSTI ZA METULJA	11
4.7.1 ZNOTRAJVRSTNA IN MEDVRSTNA PREPOZNAVA	11
4.7.2 SVARILNA OBARVANOST	12
4.8 STARANJE KRIL	13
4.8.1 IZBOR VRST	13
5 EKSPERIMENTALNI DEL	17
5.1 MATERIALI IN METODE DELA.....	17
5.1.1 MATERIAL	17
5.1.2 OPIS APARATA ZA MERJENJE	18
5.1.3 SPEKTROFOTOMETRIJA	19
5.2 LABORATORIJSKO DELO	19
5.2.1 PRVI DEL: IZPOSTAVITEV TERARIJSKI LUČI	20
5.2.2 DRUGI DEL: IZPOSTAVITEV UV C LUČI.....	22
6 REZULTATI.....	23
7 RAZPRAVA	30

8 ZAKLJUČEK.....	31
9 ZAHVALA.....	31
10 LITERATURA.....	32
10.1 VIRI SLIK.....	33

KAZALO SLIK

Slika 1: Poenostavljen spekter elektromagnetnega valovanja.....	4
Slika 2: Približki pasov spektralnih barv.....	4
Slika 3: Spektralna občutljivost treh vrst čepnic.....	4
Slika 4: Metuljev barvni vid.....	5
Slika 5: Diskriminantna funkcija barvnega vida lastovičarja.....	6
Slika 6: Skica metuljeve luske.....	7
Slika 7: Konstruktivna in destruktivna interferenca	8
Slika 8: Pojav interference na periodičnih nanostrukturah	9
Slika 9: Nastanek strukturne obarvanosti	10
Slika 10: Mehanizem nastanka barve s pigmenti in strukturami.....	11
Slika 11: Samec in samica gospice; sveža in stara.....	13
Slika 12: Samec gospice.....	14
Slika 13: Samica gospice.....	14
Slika 14: Samec navadnega senožetnika, zgornja stran kril.....	14
Slika 15: Samec navadnega senožetnika, spodnja stran kril	14
Slika 16: Samec monarh.....	15
Slika 17: Samica monarha.....	15
Slika 18: Samec kleopatre.....	15
Slika 19: Samica kleopatre.....	15
Slika 20: <i>Heliconius erato</i> , zgornja stran kril.....	16
Slika 21: <i>Morpho peleides</i> , zgornja stran kril.....	16
Slika 22: <i>Morpho peleides</i> , spodnja stran kril	16
Slika 23: Admiral, zgornja stran kril.....	17
Slika 24: Shema aparata za merjenje.....	18
Slika 25: Princip delovanja spektrofotometra	19
Slika 26: Relativna iradianca uporabljenih luči (terarijske in UV C) v različnih delih elektromagnetnega spektra.....	20
Slika 27: Zgornja stran kril izbranih vrst na milimeterskem papirju.....	20
Slika 28: Spodnja stran kril izbranih vrst na milimeterskem papirju.....	21
Slika 29: Krila, pritrjena na stiropor, pripravljena na izpostavitve terarijski luči.....	21
Slika 30: Krila pod izpostavljenostjo terarijski luči.....	22
Slika 31: Admiral (<i>Vanessa atalanta</i>).....	22
Slika 32: Sprednja krila poštarja (<i>Heliconius erato</i>).....	22
Slika 33: Krila izpostavljena UV C luči.....	23
Slika 34: Vzorci kril, slikani po 8-urni izpostavljenosti UV C svetlobi.....	24
Slika 35: Vzorci kril, slikani po 42-urni izpostavljenosti UV C svetlobi.....	24
Slika 36: Relativna reflektanca kril metuljev <i>D. plexippus</i> , <i>V. atalanta</i> in <i>G. cleopatra</i> v odvisnosti od časa izpostavljenosti svetlobi.....	25

Slika 37: Relativna reflektanca kril metuljev <i>A. paphia</i> , <i>C. croceus</i> in <i>H. erato</i> v odvisnosti od časa izpostavljenosti svetlobi.....	26
Slika 38: Relativna reflektanca kril morfa (<i>Morpho peleides</i>)	27
Slika 39: Modre luske na krilih morfa (<i>Morpho peleides</i>).....	28
Slika 40: Oranžne luske na krilih gospice (<i>Argynnis paphia</i>).....	28
Slika 41: Zelene luske na krilih gospice (<i>Argynnis paphia</i>).....	29
Slika 42: Oranžne luske na krilih kleopatre (<i>Gonepteryx cleopatra</i>).....	29

KAZALO TABEL

Tabela 1: Mehanizmi nastanka barv pri gospici (<i>Argynnis paphia</i>).....	14
Tabela 2: Mehanizmi nastanka barv pri navadnem senožetniku (<i>Colias croceus</i>).....	14
Tabela 3: Mehanizmi nastanka barv pri monarhu (<i>Danaus plexippus</i>).....	15
Tabela 4: Mehanizmi nastanka barv pri kleopatri (<i>Gonepteryx cleopatra</i>).....	15
Tabela 5: Mehanizmi nastanka barv pri poštarju (<i>Heliconius erato</i>).....	16
Tabela 6: Mehanizmi nastanka barv pri morfu (<i>Morpho peleides</i>).....	16
Tabela 7: Mehanizmi nastanka barv pri admiralu (<i>Vanessa atalanta</i>).....	17

1 POVZETEK

Metulji so barviti po zaslugi pigmentnih in strukturnih barv v luskah (Mouchet in Vukusic, 2018). Obstojnost barv je zanje zelo pomembna, saj služi prepoznavi osebkov (Kemp in Rutowski, 2011), ali pa ima kamuflažno ali svarilno vlogo (Dell'aglio in sod., 2016). Metulji imajo natančen barvni vid, zato lahko sprememba barve telesa povzroči težave v prepoznavi. Posledično sta uspešnost in preživetje vrste odvisna od stabilnosti barv. Če prezimijo, lahko metulji živijo tudi več mesecev, zato morajo biti barve odporne na UV žarke in na mehanske poškodbe. Ker se krila metuljev starajo in barve bledijo, nas je zanimalo, ali je razlog za staranje lahko dolgotrajna izpostavljenost svetlobi. Vzorci kril so bili 3 tedne izpostavljeni svetlobi iz UV A in UV B dela elektromagnetnega spektra, kar barve kril ni spremenilo pri nobeni vrsti. Naknadno so bili vzorci izpostavljeni še UV C svetlobi, ki je spremenila barve strukturnega nastanka, pigmentne barve pa so ostale nespremenjene. Ker UV C sevanje ni prisotno na Zemljinem površju, saj ga blokira ozonska plast, lahko rečemo, da so vse barve metuljevih kril fotostabilne, še posebej zanimivo pa je, da so pigmenti popolnoma UV stabilni, saj nam je sicer iz vsakdanjega življenja znano, da večina materialov na svetlobi blede. Metulji so tako skozi evolucijski razvoj razvili ustrezne načine zaščite obarvanosti pred vplivi svetlobe, poškodbe pa verjetno nastajajo iz mehanskih razlogov, kot sta letenje in boj pred plenilci.

Ključne besede: metulji, pigmentne barve, strukturne barve, bledenje, ultravijolična svetloba.

2 SUMMARY

Butterflies are colourful due to pigmentary and structural colours in their scales (Mouchet and Vukušič, 2018). The durability of colour patterns is important for them, as it serves to recognize the individuals (Kemp and Rutowski, 2011), or has a camouflage or warning role (Dell'aglio et al., 2016). Butterflies have accurate colour vision, so changing colour of their body can cause recognition problems. As a result, the performance and survival of the species depend on the stability of the colours. If they overwinter, they can live for several months, so the colour patterns must be resistant to UV rays and mechanical damage. As the butterfly wings age and the colours fade, we wondered if the aging could be due to long-term exposure to light. The wing samples were constantly exposed to UV A and UV B light for 3 weeks, which did not change the colour of the wings in any species. Subsequently, the samples were exposed to UV C light, which bleached the structural colours, while the pigmentary colours remained unchanged. As UVC radiation is not present on the Earth's surface, we can say that all colours of butterfly wings are photostable, and it is especially interesting that the pigments in butterflies are completely UV stable, while most materials age or fade in the light. Butterflies have thus evolved appropriate ways to protect the colouration from the effects of light, and damage is likely to be caused by mechanical reasons such as flying and evading predators.

Key words: butterflies, pigmentary colours, structural colours, fading, ultraviolet light.

3 UVOD

Metulji imajo sestavljene oči, s katerimi so sposobni zaznavati oblike, barve in gibanje predmetov.

Barvni vid metulja prekaša človeškega, z razponom od UV do rdečega dela spektra in ločljivostjo do 1 nanometra natančno. Barvni vid (Arikawa, 2017), ki temelji na štirih osnovnih barvah, uporabljajo za prepoznavo gostiteljskih rastlin ter sovrstnikov, zlasti drugega spola (Kinoshita in Stewart, 2020). Obarvanost telesa je pomembna za znotraj in medvrstno prepoznavo (Kemp in Rutowski, 2011), pogosto pa ima kamuflažno ali svarilno vlogo in ni namenjena metuljem, temveč plenilcem (Dell'aglio in sod., 2016).

Metulji so barviti po zaslugi lusk na krilih, s katerimi lahko tvorijo barvite vzorce na osnovi pigmentnih in strukturnih barv (Mouchet in Vukusic, 2018). Pigmenti dajejo barvo tako, da absorbirajo del svetlobnega spektra; preostalo svetlobo lahko zaznamo kot obarvano. Strukturne barve dajejo barvo tako, da povzročajo odboj svetlobe na periodičnih strukturah. Perioda je dovolj majhna, da pride do (konstruktivne in destruktivne) interference med svetlobo, odbito iz zaporednih plasti. Določene valovne dolžine svetlobe izginejo, druge se ohranijo. Takšna barva je odvisna od vpadnega kota svetlobe in kota opazovanja, saj se s tem spreminja dolžina poti svetlobe skozi periodične plasti v materialu. Temu fenomenu pravimo iridescenca (Stuart-Fox in sod., 2021), barvam pa iridescenčne oziroma strukturne barve.

Dnevni metulji živijo nekaj tednov, lahko pa prezimijo v odrasli obliki in živijo več mesecev. Zato morajo biti barvni vzorci obstojni; odporni na UV žarke in na mehanske poškodbe. Zanimalo nas je, ali lahko dolgotrajna izpostavljenost svetlobi spremeni barvo kril.

3.1 CILJI IN HIPOTEZE

Cilj naloge je bil ugotoviti, če in kako svetloba vpliva na staranje kril dnevnih metuljev vrst *Danaus plexippus*, *Argynnis paphia*, *Vanessa atalanta*, *Colias croceus*, *Gonepteryx cleopatra*, *Morpho peleides* in *Heliconius erato*.

Postavljene so bile naslednje hipoteze:

- Hipoteza 1: Dolgotrajno osvetljevanje s svetlobo bo spremenilo barvo kril.
- Hipoteza 2: Svetloba bo izrazito vplivala na pigmentne barve, manj na strukturne barve.
- Hipoteza 3: Staranje bo izrazito ob osvetljevanju s kratkovalovno, UV svetlobo.

4 TEORETIČNI DEL

4.1 METULJI

Metulji so drugi največji red v razredu žuželk (Insecta), v katerega uvrščamo preko 160.000 opisanih vrst dnevnih in nočnih metuljev.

Od vseh ostalih skupin žuželk jih jasno ločuje poraščenost celotnega telesa, predvsem pa kril z drobnimi luskicami. Po tej značilnosti so dobili tudi znanstveno ime *Lepidoptera*, ki izvira iz grških besed *lepidō*, ki pomeni »luskast« in *pteron*, ki pomeni »krilo«. Metulji (*Lepidoptera*) so torej »luskokrilci«. (Metulji, 2021)

Po zaslugi lusk v krilih in na telesu so metulji tako barviti. Luske so tvorbe, ki omogočajo nalaganje pigmentov in tvorbo nanostruktur, zato so lahko barvite. Z njimi metulji tvorijo številne barvne vzorce, zaradi katerih odrasle težko zamenjamo za katero drugo skupino žuželk.

4.2 VID

Za uspešen razvoj in preživetje vsakega organizma je zaznavanje okolja izrednega pomena. Za zaznavanje dražljajev iz okolja smo razvili posebne, čutilne celice, ki jim pravimo tudi receptorji. Skozi evolucijski razvoj mnogoceličnih organizmov so se receptorji specializirali za zaznavo tako kemijskih (kemoreceptorji) kot mehanskih dražljajev (mehanoreceptorji), kasneje pa smo iz teh dveh tipov receptorskih celic razvili skorajda vsa čutila, ki nam omogočajo zaznavo okolice. Obstajajo pa tudi celice, ki jih ne vzdražijo niti kemijski niti mehanski dražljaji. To so vidne čutnice. Te vzdraži svetloba, zaradi česar jih imenujemo fotoreceptorji. (Stušek, 2014) Fotoreceptorji se lahko nahajajo kjerkoli na telesu organizmov, na primer v koži slepih živali. V takem primeru omogočajo le zaznavo svetlobe in teme. Fotoreceptorji, ki se nahajajo na očesu, pa omogočajo zaznavo slike, kar poznamo kot vid.

4.3 ELEKTROMAGNETNI IN VIDNI SPEKTER

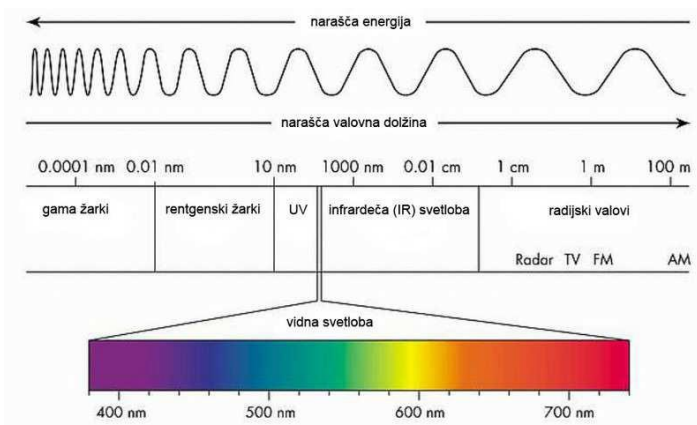
Svetloba je medij, preko katerega dobimo velik del informacij iz okolja s pomočjo vida. Obravnavamo jo kot elektromagnetno valovanje v določenem delu elektromagnetnega spektra.

Elektromagnetno valovanje je nihanje elektromagnetnega polja v prostoru. Elektromagnetni spekter je razpon vseh mogočih frekvenc elektromagnetnega valovanja in je zvezen in neskončen. Obsega vse od najnižjih frekvenc do visokofrekvenčnega gama sevanja. Poenostavljen spekter elektromagnetnega valovanja predstavlja Slika 1. (Spekter elektromagnetnega valovanja, 2020)

Človeško oko je sposobno zaznati le en del elektromagnetnega spektra, ki ga imenujemo vidni spekter. Elektromagnetno sevanje v tem razponu valovnih dolžin se imenuje vidna svetloba.

4.3.1 SPEKTRALNE BARVE

Barve, ki jih tvori vidna svetloba ene valovne dolžine, imenujemo spektralne barve. Kljub temu, da je vidni spekter zvezen in zato ni očitnih meja med eno in drugo barvo, lahko pasovi služijo kot približek (glej Slika 2).



barva	valovna dolžina
vijolična	380–450 nm
modra	450–495 nm
zelena	495–570 nm
rumena	570–590 nm
oranžna	590–620 nm
rdeča	620–750 nm

Slika 1: Poenostavljen spekter elektromagnetnega valovanja

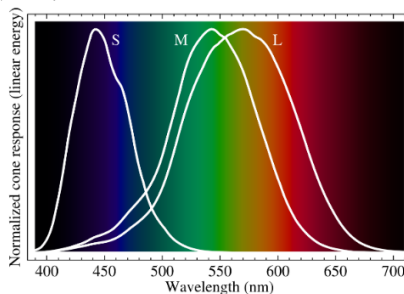
Slika 2: Približki pasovi spektralnih barv

Oči mnogih drugih živih vrst zaznavajo različne druge valovne dolžine kot svoj vidni spekter. Za primer, mnoge žuželke, kot so čebele, vidijo svetlobo tudi v ultravijoličnem (UV) spektru, kar je koristno za iskanje cvetnega nektarja. Iz tega razloga, rastlinske vrste, katerih življenjski cikli so vezani na oprasevanje žuželk, tvorijo UV vzorce in povečujejo svoj reprodukcijski uspeh, ne glede na to, da jih zaradi tega človeške oči ne zaznavajo kot bolj barvite. (Vidni spekter, 2021)

4.4 ČLOVEŠKI BARVNI VID IN ZAZNAVA BARV

Človeško oko zaznava valovne dolžine svetlobe od 380 do 750 nanometrov. Svetlobo zaznavamo s čepnicami in paličnicami, dvema tipoma čutnih celic, ki se nahajata v očesu. Čepnice so celice, ki so občutljive na različne valovne dolžine svetlobe, torej na barve. Delimo jih na rdeče, zelene in modre - torej glede na del spektra, ki ga zaznavajo. Na čepnicah so za svetlobo občutljivi proteinski receptorji (opsini), sleherni opsin pa zaznava eno od treh barv. Ko fotoni svetlobe dosežejo opsine, ti spremenijo obliko in sprožijo prenos informacij v obliki električnih dražljajev po vidnem živcu do možganov, ki potem to interpretirajo kot barvo. (Vid, 2021)

Ker naše oko zaznava tri različne pasove valovnih dolžin svetlobe, ki ustrezajo subjektivnim zaznavam zelene, modre in rdeče barve, pravimo, da imamo tribarvni vid - smo trikromati. V možganih barve nastanejo z vzorcem vzburjenja, ki ga proži zaznava v treh vrstah čutnic. Naravni dražljaji vsebujejo najrazličnejše kombinacije spektralnih vzorcev in niso omejeni na tri osnovne barve. Z umetnimi viri (na primer na zaslonih ali v tisku) pa lahko ponazorimo vse barve s kombinacijo treh osnovnih.



Slika 3: Spektralna občutljivost treh vrst čepnic; na abscisi je valovna dolžina svetlobe v nanometrih. Vrhovi občutljivosti ustrezajo valovnim dolžinam rdeče, zelene in modre. S, M, L, kratko- (S), srednje- (M) in dolgovalovne (L) čepnice.

4.5 SESTAVLJENE OČI IN BARVNI VID PRI METULJIH

Metulji imajo sestavljene oči, ki zasedajo večji del razmeroma velike glave. Sestavljene oči so zgrajene iz manjših enot, imenovanih omatidiji. Omatidij je enota, ki vzorči posamezen del vidnega polja, in je ekvivalenten posameznemu točkovnemu senzorju v kameri. Vsak omatidij ima 9 fotoreceptorskih celic, vsaka od njih pa vsebuje mikrovile, v katerih se nahaja vidni pigment.

Tako človeške, kot tudi čebelje oči so opremljene s spektralnimi receptorji treh razredov. Spektralna občutljivost čebeljih receptorjev je najvišja v UV, modrem in zelem delu spektra valovne dolžine, kar daje fiziološko podlago čebeljemu trikromatskemu barvnemu vidu. Taka organizacija očesa je pogosta med žuželkami. (Arikawa, 2017)

Oči metuljev so strukturno sicer podobne čebeljim, vendar pa je njihova spektralna organizacija precej kompleksnejša. Japonski lastovičar je ena prvih vrst metuljev pri katerih je bila natančno opredeljena spektralna organizacija oči – v nadaljevanju opisane sposobnosti metuljevega vida so rezultati študij lastovičarja.

Pravi barvni vid pomeni, da žival razloči med svetlobo različnih valovnih dolžin (različnimi barvami), neglede na njihovo intenziteto, in pri tem uporablja vsaj 2 fotoreceptorja z različnima vrhovoma spektralne občutljivosti. (Kinoshita, 2020)



Slika 4: Metuljev barvni vid. Metulje, ki so prej obiskovali modre tarče, so naučili, da z nektarjem povežejo rumeno tarčo. Naučeni osebkci so izmed različnih barv znali ločiti rumeno, tudi med sivimi odtenki so prepoznali rumeno. (Vir: Kinoshita in Arikawa, 2014)

Kombinacije različnih raziskav so razkrile, da imajo lastovičarji v omatidijih 6 spektralnih razredov receptorjev v treh fiksnih kombinacijah. Spektralno heterogeni omatidiji so naključno razporejeni v heksagonalni mreži sestavljenega očesa. Kljub prvotnim idejam, da so metulji lastovičarji morda heksakromati in uporabljajo vseh 6 fotoreceptorskih razredov za svoj barvni vid, pa so raziskave potrdile, da naj bi pri ustvarjanju barvnega vida sodelovali 4 od šestih spektralnih receptorskih razredov (in ne vseh šest); UV, moder, zelen in rdeč, zato lahko pri metuljih govorimo o tetrakromatskem barvnem vidu. Dva od šestih spektralnih receptorskih razredov, ki ne sodelujeta pri barvnem vidu, služita zaenkrat še neznanemu razlogu.

Naključno razporejeni omatidiji treh različnih vrst so pogosta značilnost metuljevih oči, vendar se spektralna občutljivost in število razredov fotoreceptorjev med vrstami precej razlikuje. Število razredov je pri nekaterih vrstah lahko tudi 9 ali celo 15. Spektralna občutljivost se lahko spreminja tudi med spoloma. (Kinoshita in Stewart, 2020) Primer so metulji iz rodu *Heliconius*, ki imajo fotoreceptorje s spektralnimi občutljivostmi v UV in vijoličnem delu spektra. Danes že vemo, da imajo samice metulja *Heliconius erato* dva različna fotoreceptorja za UV svetlobo,

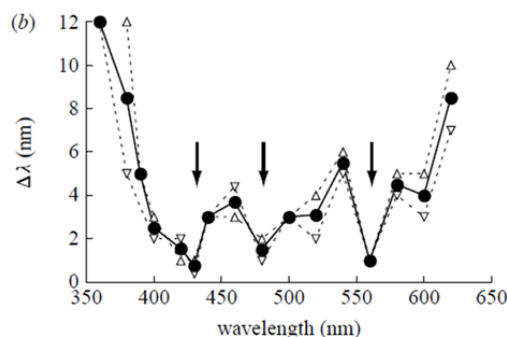
samci pa samo enega, kar pomeni da samice lahko razločijo med UV valovnimi dolžinami, samci pa tega ne morejo. Spolno dimorfični vidni sistem *H. erato* se je oblikoval zaradi spolne selekcije. (Finkbeiner in Briscoe, 2021)

Kompleksnost in učinkovitost vida pri metuljih je tesno povezana z dejstvom, da se metulji pri iskanju cvetov, na katerih se pasejo (v nadaljevanju: tarčnih cvetov), zanašajo na barvni vid. Njihovo pašniško vedenje lahko opišemo s tremi zaporednimi koraki; vidna prepoznavna tarčnega cveta, približevanje cvetu in pristanek na cvetu, na katerem se hrani. Med tem procesom se metulji zanašajo na številne prepoznavne vidne znake. Na primer barva je pomemben signal za prepoznavo cveta na daljše razdalje.

Vse vidne sposobnosti so odvisne od svetlobnih informacij, ki jih sprejmejo fotoreceptorji v mrežnici. Kot že prej rečeno, v različnih vrstah metuljev so velike razlike v organizaciji mrežnice, številih spektralnih fotoreceptorskih razredov, heterogenostjo omaditijev, spolnim dimorfizmom in lokalno specializacijo sestavljenega očesa. Te razlike dajejo veliko raznolikost vidne ekologije metuljev, mnogo vrst se pri paši vede tudi specifično glede na njihovo lokalno okolje.

Razločimo lahko med kromatskim (barvnim) in akromatskim (nebarvnim) vidom.

Tetrakromatski barvni vid metuljem omogoča visoko občutljivo zaznavo različnih valovnih dolžin znotraj širokega spektralnega razpona, zato posledično lahko razločijo med sabo različne monokromatske barve (nastale iz ene valovne dolžine) v treh delih spektra valovne dolžine, ki se razlikujejo med seboj za samo 1 nanometer, kar je več kot katera koli druga žival. (Kinoshita in Stewart, 2020)



Slika 5: Diskriminantna funkcija barvnega vida lastovičarja; minimalna razlika med sosednjima monokromatskima barvama, ki ju je metulj sposoben zanesljivo razločiti, v odvisnosti od valovne dolžine. Puščice označujejo tri lokalne minime, ki ustrezajo teoretičnemu modelu tetrakromatskega vida. (Vir slike: Kinoshita in Stewart, 2020)

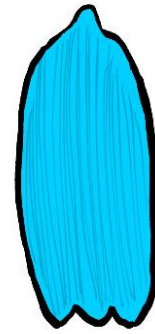
Spektralni receptorji, ki sodelujejo pri metuljevem barvnem vidu, lahko prispevajo tudi k metuljevemu akromatskemu vidu. Ko je rob tarče zamegljen, ali je intenziteta kontrasta med tarčo in ozadjem nizka, metulj odlaša s pristankom na tarči. Zato znanstveniki menijo, da tudi zaznavanje roba, ki temelji na akromatskem kontrastu, igra pomembno vlogo pri pristanku na cvetu. (Kinoshita in Stewart, 2020)

4.6 LUSKE IN OBARVANOST TELESA

4.6.1 LUSKE

Metulji sodijo med ene najbolj opaznih in barvitih žuželk. Barviti so po zaslugi lusk na krilih, s katerimi lahko tvorijo barvite vzorce na osnovi pigmentnih in strukturnih barv (Mouchet in Vukusic, 2018).

Luske se razvijejo še v bubi iz celic povrhnjice v epitelnem sloju kril in so neke vrste sploščene dlake, ki se z enim koncem pritrjajo na površino povrhnjice kril pod kotom 10-20°. Pri različnih vrstah metuljev so luske po obliki zelo različne, a običajno so dolge 200 µm in široke 100 µm. Prekrivajo obe površini kril.



Slika 6: Skica metuljeve luske

Makroskopsko vidne barve in vzorci nastanejo iz dveh oziroma treh plasti lusk v krilih. Vendar pa barve seveda ne dajejo luske same po sebi, temveč pigmenti ali nanostrukture, ki se nahajajo v luskah ali na površini lusk. Čeprav je večina barv pigmentnega nastanka, veliko izstopajočih barv nastane tudi zaradi raznolikih nanostruktur.

Ločimo 2 vrsti lusk – krovne in spodnje luske. Krovne luske se običajno nahajajo nad spodnjimi in so lahko prosojne, pri čemer lahko tudi vplivajo na svetlobo, ki tvori barvo z odbojem od spodnjih lusk. V ostalih primerih pa so krovne luske najbolj obdarjene s pigmenti ali nanostrukturami, ki ustvarjajo barvo in najbolj prispevajo k izgledu kril. Pri različnih vrstah metuljev se luskaste površine in spodnje membrane kril zelo razlikujejo glede na strukturne in optične značilnosti, ter prispevek k izgledu kril.

Vsaka luska se oblikuje v poznejših obdobjih razvoja bube iz ene same celice, ki izloči zunanji ščit iz povrhnjice. Ta balonasta zaščita propade in nastane ploska luska, katere spodnji sloj povrhnjice je ploščat in neokrnjen, zgornji sloj pa ima lahko kompleksno zgrajene grebene (slemena), luknje, ploska področja, podporne in druge strukture. Običajno ravno te strukture v zgornji povrhnjici bistveno prispevajo k odboju svetlobe iz luske, čeprav ima tudi spodnji sloj lusk optično funkcijo. (Kemp in Rutowski, 2011)

4.6.2 PIGMENTNA OBARVANOST

Ena od oblik obarvanosti kril dnevnih metuljev je že prej omenjena pigmentna obarvanost. Pigmentne molekule pogosto delujejo kot filtri svetlobe in dajejo barvo tako, da selektivno absorbirajo del svetlobnega spektra; preostala, neabsorbirana svetloba pa se odbije ali razprši - to svetlobo lahko zaznamo kot obarvano. (Kemp in Rutowski, 2011)

Nekaj glavnih skupin pigmentov so že izločili iz metuljevih kril:

- Pteridini

Ta skupina pigmentov absorbira krajše valovne dolžine spektra, kar povzroči odboj svetlobe, ki jo človeško oko zazna kot rdečo, oranžno in rumeno.

Zanimivo je, da so pteridini od vseh pigmentov najbolj bogati z dušikom. Posledično so lahko kazalec kvalitete posameznega metulja pri vrstah, katerih rast in razvoj sta pogosto omejena z viri hrane v okolju in je lahko posledično tudi nalaganje pteridinov omejeno.

- Melanini

Ti sodelujejo pri ustvarjanju črnih in rjavih barv.

Melanini so derivati tirozina. To je pogosta aminokislina, zato je sinteza melaninov načeloma energijsko manj zahtevna. Vendar pa melanin sodeluje pri zajemanju tujkov v metuljevem imunskem odzivu, kar pomeni da nalaganje melanina v krilih lahko tekmuje z melaninom, potrebnim za imunski odziv.

- Flavonoidi

Ta skupina pigmentov absorbira krajše valovne dolžine in sodeluje pri ustvarjanju rumene barve in drugih dolgovalovnih barv. Flavonoidov metulji sami ne morejo sintetizirati, zato jih morajo v telo vnesti s prehrano v fazi gosenice.

- Omokromi

(Kemp in Rutowski, 2011)

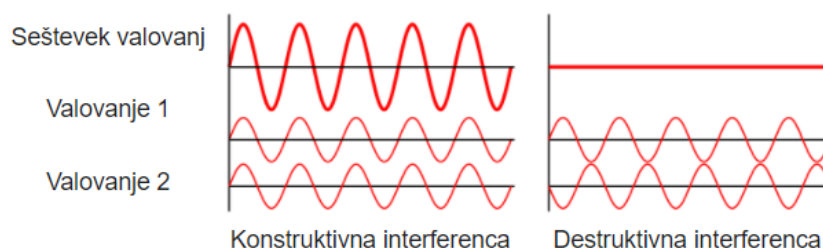
Pomembno je vedeti, da pigmenti lahko absorbirajo tudi svetlobo iz UV dela spektra, kar pa ne vpliva na barvo, ki jo zaznavajo človeške oči, vendar pa to zaznavajo metulji.

4.6.3 STUKTURNA OBARVANOST

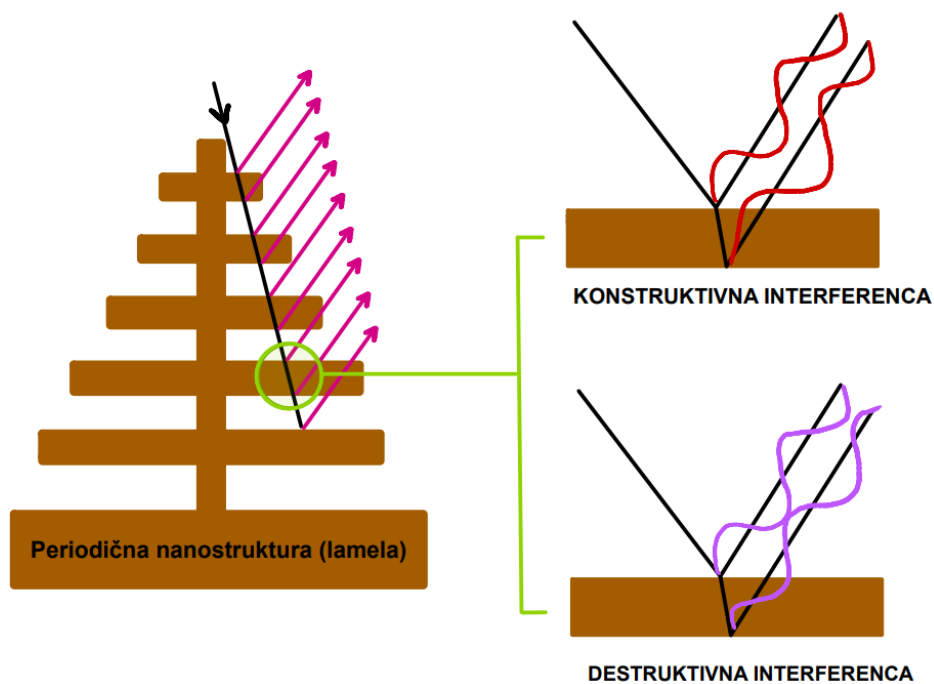
Čeprav je večina barv pigmentnega nastanka, veliko izstopajočih barv nastane tudi zaradi raznolikih izredno majhnih struktur (nanostruktur), kot so na primer prej omenjeni grebeni, doline, ploska področja in ostale strukture, ki se nahajajo na luskah. Pogosto so porozne in pri metuljih so sestavljene večinoma iz hitina. (Mouchet in Vukusic, 2018) Temu tipu obarvanosti rečemo strukturna obarvanost, nastanek barve na ta način pa je precej kompleksnejši od pigmentne obarvanosti.

Strukturna obarvanost nastane zaradi interakcije svetlobe s periodičnimi nanostrukturami. Svetloba se odbija na meji med zrakom in površino nanostrukture. Odbiti fotoni se lahko ojačajo ali ošibijo zaradi pojava interference. Pogoji za pojav interference je dovolj majhna razdalja med plastmi (perioda), ki mora biti podobna valovni dolžini svetlobe.

Interferenca je pojav, ko se dve valovanji srečata na istem mestu in nastane nov valovni vzorec. Kjer se valovni hrbti prvega valovanja ujema z valovnimi hrbti drugega valovanja, se skupna amplituda poveča (valovanji se seštejeta). Pravimo, da tam pride do konstruktivne interference. Na mestu, kjer pride valovni hrbet prvega valovanja na valovno dolino drugega valovanja se valovanji vzajemno oslabita (se odštejeta oziroma izničita). Pojav se imenuje destruktivna interferenca. (Interferenca, 2021)



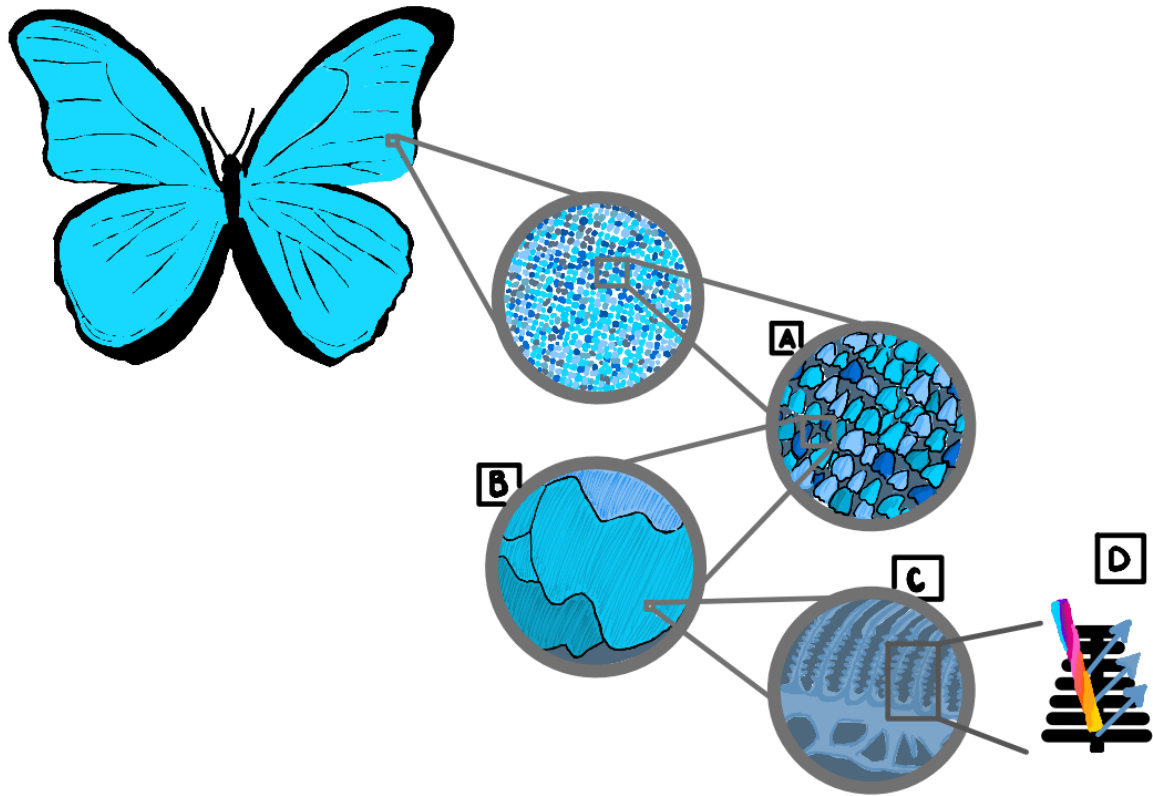
Slika 7: Konstruktivna in destruktivna interferenca



Slika 8: Pojav interference na periodičnih nanostrukturah

V primeru, da pride do destruktivne interference, se ta svetloba ne bo odbila. Če pa pride do konstruktivne interference, se bo taka svetloba odbila, podobno kot svetloba, ki je pri pigmentni obarvanosti pigmentne molekule ne absorbirajo.

Odbita barva je odvisna od vpadnega kota svetlobe in kota opazovanja, saj se s tem spreminja efektivna perioda plasti v materialu oziroma dolžina poti svetlobe znotraj materiala. Temu fenomenu, pri katerem se barva oziroma barvni odtenek spreminja glede na kot opazovanja površine, pravimo iridescenca (Stuart-Fox in sod., 2021), barvam, ki nastanejo na tak način pa iridescenčne ali strukturne barve.



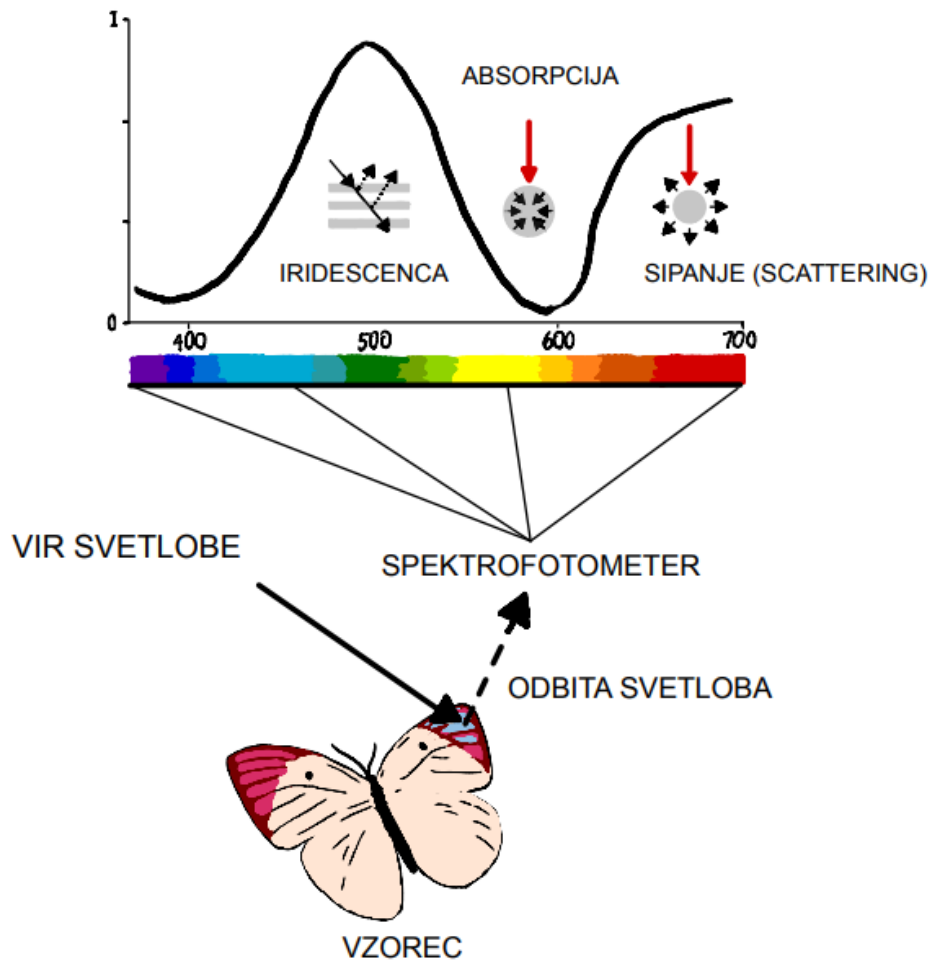
Slika 9: Nastanek strukturne obarvanosti; (A) Luske so organizirane v vrstah. (B) Vsaka luska je sestavljena iz tisoče grebenov oziroma slemen. (C) Grebene v vsaki luski sestavljajo nanostrukture (njihova oblika spominja na smreko), ki dajejo barvo z odbojem svetlobe. Ker je ta barve popolnoma fizičnega izvora, rečemo taki barvi strukturna barva. (D) Odboj modre svetlobe pri približno 480 nanometrih. (Slika prirejena po: <https://tinyurl.com/9459recm>)

4.6.4 KOMPLEKSNE BARVE

Pogosto lahko v organizmih najdemo tudi kombinacijo dveh različnih tipov obarvanj, ki so razlog njihovega specifičnega izgleda (Mouchet in Vukusic, 2018). Barva metuljih lusk je običajno prispevek enega, ali še bolj pogosto, produkt večih mehanizmov nastajanja barve. Tako lahko dobimo barve, ki so hkrati pigmentne in strukture, ali pa zraven prispeva še kakšen drug mehanizem.

Odboj svetlobe v UV delu, ki je vključen v tak tip barv ima pomembno vlogo zaradi informacij, ki jih lahko nosi taka barva. (Kemp in Rutowski, 2011)

Pri nekaterih metuljih iz rodu *Morpho*, iridescentna barva modrih lusk ustvari izjemno intenziven vidni signal, ki ga zlahka opazimo na daleč. To je posledica interakcije lusk na zgornji in spodnji strani krila. Črne, rjave in rumene luske na spodnji strani kril vsebujejo pigmente, ki absorbirajo zeleno in rdečo svetlobo in tako omogočajo, da zgornja iridescentna modra stran pride do bistveno močnejšega izraza. (Kemp in Rutowski, 2011)



Slika 10: Mehanizem nastanka barve s pigmenti in strukturami. Kratkovalovne barve nastanejo zlasti z odbojem iz struktur, dolgovalovne pa zaradi absorpcije svetlobe na pigmentih. Sipanje svetlobe je naključen, neusmerjen odboj (zrcalast odboj pa je usmerjen, zato ohranja sliko). (Slika prirejena po: <https://tinyurl.com/yeyk7ndc>)

4.7 POMEN OBARVANOSTI ZA METULJA

Le redke vrste se lahko primerjajo z raznolikostjo barvnih vzorcev, kakršne lahko najdemo pri metuljih. Njihova krila so namreč ena najživahnjejših, najbolj živobarvnih in optično kompleksnih obarvanih tvorb v naravi. (Kemp in Rutowski, 2011)

Obarvanost telesa je pomembna za znotraj in medvrstno prepoznavo (Kemp in Rutowski, 2011), pogosto pa ima kamuflažno ali svarilno vlogo in ni namenjena metuljem, temveč plenilcem (Dell'aglio in sod., 2016). V vsakem primeru je obarvanost pogosto ključnega pomena za preživetje vrste in je posledično pogosto predmet selekcijskega pritiska.

4.7.1 ZNOTRAJVRSTNA IN MEDVRSTNA PREPOZNAVA

Barve naj bi se v celoti ali vsaj delno razvile zaradi njihove vloge pri vizualni signalizaciji. V nekaterih primerih ti signali označujejo identiteto vrste, spol in spolno kvaliteto osebkov. Tovrstni signali so se verjetno razvili kot sekundarne spolne značilnosti, za katere je znano, da so pogosto pretirane. Te lastnosti lahko vplivajo na privlačnost samca ali samice ali pa namigujejo na telesno in fiziološko stanje nosilca, na njegove sposobnosti hranjenja na paši ali

skrbnega starša, kvaliteto njegovega teritorija ali kvaliteto ali potencialno kompatibilnost njegovega genoma.

Mnogi spolni znaki so opisani kot pretirani in določajo sposobnost preživetja njihovih nosilcev. Obstajajo dokazi, da samice izbirajo samce, ki so lepše obarvani. Izbira samice lahko vpliva na kvalitativen vidik izražanja barvnih signalov, kar posledično pomeni, da so samci obarvani potencialno z namenom signaliziranja funkcionalnega genoma in genetske kvalitete. Pretirana obarvanost pri samcih lahko pomaga bolje razumeti spolni dimorfizem pri metuljih. Številni avtorji so razlike med spoloma pripisali spolni selekciji. (Kemp in Rutowski, 2011)

4.7.2 SVARILNA OBARVANOST

Svarilna obarvanost je le ena izmed mnogih oblik aposematizma - pojava, ko organizem signalizira svoji okolici, da je nevaren ali neužiten, običajno strupen. Gre za protiplenilsko prilagoditev, katere funkcija je odvrniti plenilca od napada, kar koristi tako plenilcu kot plenu. Plenilec prihrani energijo za lov in se izogne tveganju zastrupitve, plen pa tveganju poškodbe ali smrti zaradi napada. Nasprotno od barvnega zlivanja z okolico, čemur lahko rečemo tudi kriptičnost, pri aposematizmu žival oddaja dražljaje, ki jo naredijo bolj izstopajočo. Mnogo živali »oglašuje« obrambne mehanizme, kot so toksini, ostre bodice ali ožigalke, z živo obarvanostjo telesa, pogosto s kontrastnimi vzorci. Kontrastni vzorci so precej učinkovita metoda obrambe, saj je oddajanje svarilnih znakov preko obarvanosti za razliko od mnogo drugih primerov komunikacije (npr. oglašanja) nenehno. (Aposematizem, 2019)

Aposematizem se pojavlja v vsem živalskem kraljestvu, med drugim pa živahne, kontrastne vzorce za obrambo pred plenilci, ki se pri lovu zanašajo na vizualne lastnosti plena, pogosto izkoriščajo tudi metulji. Barve kot so npr. rdeča, rumena ali oranžna so običajno v velikem kontrastu s ozadjem in so pogosto uporabljene, da naznanijo neužitnost. Na ta način živobarvni signali podpirajo hitro razločevanje od kriptičnega plena; tistega, ki se zlije z okolico. Že dolgo časa velja, da prav ti signali omogočajo plenilcem učenje izogibanja, v primerjavi z manj vidno, kamuflažno obarvanostjo.

Ptice veljajo za enega glavnih plenilcev metuljev in so primarni dejavnik selekcijskega pritiska na njihovo aposematsko obarvanost. Lahko se naučijo izogibanja živobarvnemu plenu, če imajo prej z njim neprijetne izkušnje. Ta sposobnost učenja vodi so selekcijske prednosti najbolj kontrastnih, barvnih vzorcev v lokalnih območjih in ustvarja aposematizem skozi katerega se napadi plenilcev zmanjšujejo. Biologi že dolgo verjamejo, da se ptice izogibajo plenu živih barv, vendar pa je nujno, da si ptice te barve tudi zapomnijo. Učenje in pozabljanje sta tako nujna za vzdrževanje teh procesov. Prepoznavna aposematskega signala ni mogoča, če plenilci pozabijo izkušnje s prejšnjim plenom. Svarilni signali naj bi torej bili zapomnljivi, da izzovejo nizke ravni pozabljanja in povečajo odpor plenilcev.

Pomembna vloga svarilne obarvanosti pri povečevanju opora plenilca, je bila do sedaj že večkrat potrjena s številnimi raziskavami. Danes tako že z gotovostjo lahko trdimo, da obarvanost igra ključno vlogo pri preživetju vrste. Dejstvo, da žive barve povečajo izogibanje aposematskemu plenu pojasni, zakaj žuželke pogosto razvijejo živo obarvanost. (Dell'aglio, 2016)

4.8 STARANJE KRIL

Dnevni metulji živijo nekaj tednov, lahko pa prezimijo v odrasli obliki in živijo več mesecev, to pa je razlog, da morajo biti barvni vzorci obstojni; odporni na UV žarke in na mehanske poškodbe.

Vendar se krila metuljev starajo, in se ne obnavljajo, kar je razvidno iz spodnjih slik gospice (*Argynnis paphia*).



Slika 11: Samec (a,b) in samica (c,d) gospice; sveža (a,c), stara (b,d).
(Vir slike: Ilić in sod., 2022)

Če krila niso odporna in začne barva propadati ima to lahko velike posledice za metulje. Zaradi zbledelosti se lahko izgubijo ključne vloge obarvanosti kril; lahko se izgubi ustrezna kamuflažna barva, kar povzroči da se metulj ne skrije več tako dobro z okolico in postane lažji plen. Če nekoč žive barve zbledijo, izgubijo svoj intenzivni aposematski signal, da je metulj neužiten ali strupen. Posledično se zmanjša odpor plenilca do plena, ki ne izgleda več strupen, ali pa so krila postarana celo do te mere, da je metulj neprepoznaven, kar pomeni, da se plenilec ne spomni, da bi imel s tako vrsto metulja predhodno negativno izkušnjo. V obeh primerih postane metulj lažja tarča plenilcev. V primeru, da je namen obarvanosti namenjen izbiri partnerja in razmnoževanju, lahko propadanje barve privede do tega, da metulj izgleda manj privlačen in signalizira slabšo spolno kvaliteto, kar poveča možnost, da ga osebek nasprotnega spola ne bo izbral za partnerja. Glede na to, da je metuljev barvni vid izjemno natančen, lahko postaranega metulja ostali osebki nemara sploh ne prepoznajo kot pripadnika svoje vrste.

Mehanizmi staranja kril še niso raziskani. Iz izkušenj vemo, da dotik metuljevih kril povzroči osip lusk, torej se krila gotovo starajo zaradi mehanske obrabe pri letu in borbi s plenilci. Zato nas je zanimalo, ali lahko barvo kril spremeni dolgotrajna izpostavljenost svetlobi.

4.8.1 IZBOR VRST

Da bi preverili vplive dolgotrajne izpostavljenosti svetlobi na barvo kril, je bilo izbranih na začetku 5 vrst metuljev raznolikih barv in vzorcev, kasneje pa sta bili še 2 dodatni vrsti, da sta povečali pestrost vzorca. Barve teh vrst so različnih nastankov, tako pigmentne, strukturne ali

kombinacija več mehanizmov. Vrste metuljev so imenovane v nadaljevanju, v tabelah pa so predstavljeni mehanizmi, s katerimi nastanejo njihove barve.

Gospica (*Argynnis paphia*)



Slika 12: Samec gospice



Slika 13: Samica gospice

Tabela 1: Mehanizmi nastanka barv pri gospici (*Argynnis paphia*)

BARVA	NASTANEK BARVE
Oranžna	pigmentna barva (omokromi in pteridini)
Črna	pigmentna barva (melanini)
Zelena (spodnja stran kril)	pigmentna barva (omokromi in pteridini)
Srebrna (spodnja stran kril)	strukturna barva

Navadni senožetnik (*Colias croceus*)



Slika 14: Samec navadnega senožetnika, zgornja stran kril



Slika 15: Samec navadnega senožetnika, spodnja stran kril

Tabela 2: Mehanizmi nastanka barv pri navadnem senožetniku (*Colias croceus*)

BARVA	NASTANEK BARVE
Oranžna	pigmentna barva (omokromi in pteridini)
Črna	pigmentna barva (melanini)
Zelena	strukturna barva

Monarh (*Danaus plexippus*)



Slika 16: Samec monarh



Slika 17: Samica monarha

Tabela 3: Mehanizmi nastanka barv pri monarhu (*Danaus plexippus*)

BARVA	NASTANEK BARVE
Oranžna	pigmentna barva (omokromi in pteridini)
Črna	pigmentna barva (melanini)
Bela	sipanje svetlobe

Kleopatra (*Gonepteryx cleopatra*)



Slika 18: Samec kleopatre



Slika 19: Samica kleopatre

Tabela 4: Mehanizmi nastanka barv pri kleopatri (*Gonepteryx cleopatra*)

BARVA	NASTANEK BARVE
Oranžna (samo samci)	pigmentna barva (omokromi in pteridini) + UV strukturna barva
Rumena	pigmentna barva
Zelena (spodnja stran)	strukturna barva

Poštar (*Heliconius erato*)



Slika 20: *Heliconius erato*, zgornja stran kril

Tabela 5: Mehanizmi nastanka barv pri poštarju (*Heliconius erato*)

BARVA	NASTANEK BARVE
Rdeča	pigmentna barva (omokromi)
Črna	pigmentna barva (melanini)
Bela	sipanje svetlobe

Morfo (*Morpho peleides*)



Slika 21: *Morpho peleides*, zgornja stran kril



Slika 22: *Morpho peleides*, spodnja stran kril

Tabela 6: Mehanizmi nastanka barv pri morfu (*Morpho peleides*)

BARVA	NASTANEK BARVE
Modra	strukturna barva
Črna	pigmentna barva (melanini)
Temno rjava	pigmentna barva (melanini)
Bela	sipanje svetlobe

Admiral (*Vanessa atalanta*)



Slika 23: Admiral, zgornja stran kril

Tabela 7: Mehanizmi nastanka barv pri admiralu (*Vanessa atalanta*)

BARVA	NASTANEK BARVE
Črna	pigmentna barva (melanini)
Temno rjava	pigmentna barva (melanini)
Bela	sipanje svetlobe
Rdeča	pigmentna barva (omokromi)

5 EKSPERIMENTALNI DEL

5.1 MATERIALI IN METODE DE LA

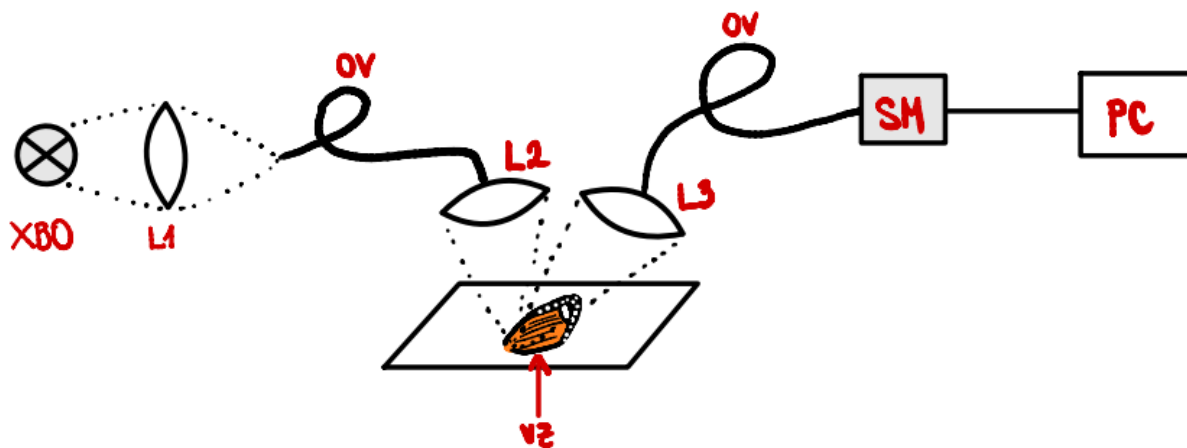
5.1.1 MATERIAL

Seznam materiala, uporabljenega pri laboratorijskem delu:

- Vzorci (najmanj 2 krili vsake vrste, odvzeti iz posušenih teles metuljev)
- Polietilenska (PET) plošča
- Aluminijasta folija
- Bucike
- Ksenonska obločnica
- 3 bikonveksne zbiralne leče
- 2 optični vlakni
- Spektrofotometer - tip Flame (proizvajalec OceanOptics) z razponom 200 – 1000 nanometrov in ustrezni priključki za računalnik
- Računalnik
- Objektno stekelce
- Mikropozicionerji, muže, prižeme, kemijska stojala za nameščanje vzorcev
- Integracijska sfera OceanOptics, model ISP-50-8-R-GT
- UV C luč Sylvania G58W T8

- Terarijska luč model JBL SOLAR REPTIL SUN T8
- OceanView
- Microsoft Excel
- Graphpad Prism
- Corel Draw
- Adobe Photoshop CS5
- Fotoaparar Sony RX10 III
- Vrstični elektronski mikroskop JSM-7500F (proizvajalec JEOL)

5.1.2 OPIS APARATA ZA MERJENJE



Slika 24: Shema aparata za merjenje (XBO – ksenonska obločnica, L1, L2, L3 – bikonveksne zbiralne leče, OV – optična vlakna, SM – spektrofotometer, PC – računalnik, VZ – vzorec)

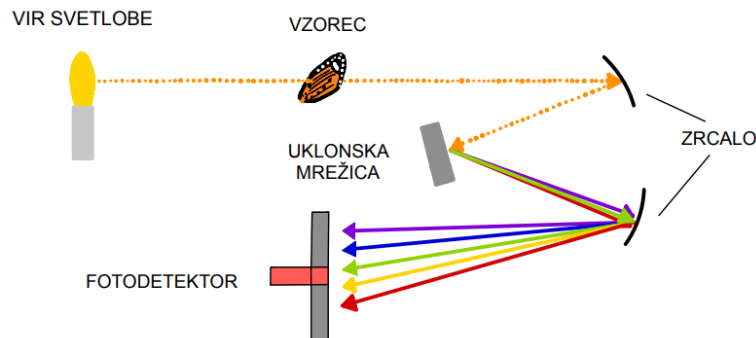
Vir svetlobe je bila ksenonska obločnica - luč, ki oddaja svetlobo enakomernega spektra med 250 in 1000 nm. Svetloba, ki jo oddala ksenonska obločnica je bila skozi zbiralno lečo L1 usmerjena naprej v optično vlakno, po katerem je bila po prevedena do druge zbiralne leče L2, ki je to svetlobo v ozkem snopu žarkov usmerila na majhno mesto na vzorčnem krilu. Vzorec (krilo) je bilo postavljen na objektnem stekelcu. Odbita svetloba se je v prav tako ozkem snopu odbila od krila in je bila preko tretje zbiralne leče L3 usmerjena naprej v drugi optični kabel, ki pa je svetlobo uvedel v spektrofotometer. Preko spektrofotometra so bile informacije dovedene do računalnika, na katerem se je v programu OceanView na zaslonu izrisal graf reflektance na ordinati in valovne dolžine v nanometrih na abscisi.

Vsakič, ko so bile na ta način opravljene meritve, so bili podatki shranjeni v računalnik, kasneje pa so bili na podlagi teh podatkov izrisani grafi (glej Rezultati).

Na ta način so bila ovrednotena vsa krila, pri morfovih krilih, ki pa so izrazito iridescentna, je bila uporabljena tudi integracijska sfera. Integracijska sfera zbere odbito svetlobo iz vseh kotov in jo usmeri v merilno vlakno, zato je izmerjeni reflektančni spekter neodvisen od kota osvetljevanja in opazovanja. To je povečalo zanesljivost meritve.

5.1.3 SPEKTROFOTOMETRIJA

Spektrofotometrija je metoda za kvantitativno analizo vzorca. Temelji na merjenju absorpcije svetlobe pri prehodu skozi vzorec in obsega uporabo spektrofotometra. Spektrofotometer primerja delež svetlobe, ki preide skozi referenčni vzorec (ta mora prepustiti maksimalno možno količino valovnih dolžin svetlobe) in skozi merjen vzorec. Ko svetloba potuje skozi vzorec, se del te svetlobe se pri tem absorbira, prepuščena svetloba pa pride do uklonske mrežice, ki jo razloči na posamezne valovne dolžine (deluje kot prizma) in jih zaporedno usmerja na fotodetektor. Fotodetektor zazna intenziteto posameznih valovnih dolžin in na podlagi tega lahko v programu izriše ustrezen graf. (Spektrofotometrija, 2021)



Slika 25: Princip delovanja spektrofotometra. (prirejeno po: <https://tinyurl.com/8k73afzy>)

5.2 LABORATORIJSKO DELO

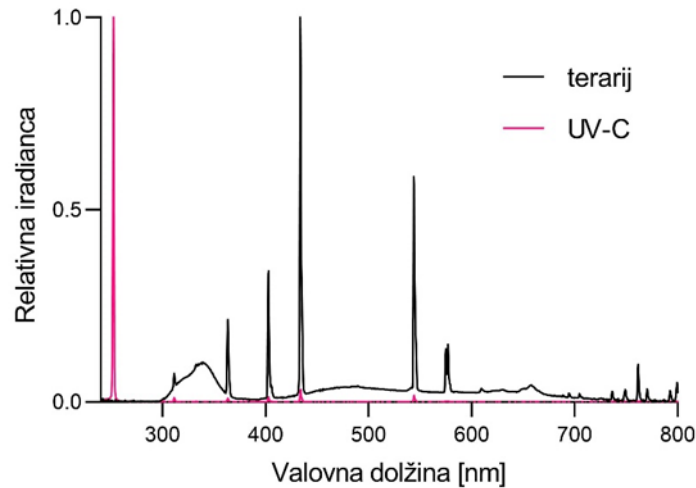
Iz arhiva Oddelka za biologijo so bila vzeta krila metuljev izbranih vrst.

Za vsako vrsto metulja sta bili vzeti najmanj 2 krili – eno za izpostavljanje svetlobi in eno za kontrolni vzorec. Količina kril je bila odvisna tudi od opazovanih barv, saj pri so pri nekaterih vrstah posamezne barve prisotne le na zgornjem ali spodnjem krilu, in od tega, koliko jih je bilo na voljo. Vsi metulji so bili že prej mrtvi, noben ni bil usmrčen z namenom izvedbe te raziskovalne naloge. Krila so bila tako rekoč »reciklirana«, saj so bila material, ki v drugih raziskavah ni bil porabljen.

Laboratorijsko delo je potekalo v dveh delih:

- 1. del: izpostavljanje kril vrst *Argynnis paphia*, *Colias croceus*, *Danaus plexippus*, *Gonepteryx cleopatra* in *Morpho peleides* terarijski lučki (valovne dolžine UV A in UV B)
- 2. del: izpostavljanje kril iz 1. dela + 2 novih vrst, *Vanessa atalanta* in *Heliconius erato*, UV C lučki

Izmerjena je bila tudi relativna iradianca (izsevana svetloba) obeh uporabljenih luči v različnih delih elektromagnetnega spektra, kar prikazuje Slika 26. Celotni količini izsevanih fotonov iz obeh virov svetlobe sta približno enaki ($\sim 10^{15}$ fotonov $s^{-1} cm^{-2}$, primerljivo z intenziteto svetlobe med 300 in 700 nm poleti opoldan), le da za terarijsko luč v UV A in UV B delu elektromagnetnega spektra, medtem ko luč iz 2. dela oddaja svetlobo iz UV C dela elektromagnetnega spektra.



Slika 26: Relativna iradianca uporabljenih luči (terarijske in UV C) v različnih delih elektromagnetnega spektra.

5.2.1 PRVI DEL: IZPOSTAVITEV TERARIJSKI LUČI

V prvem delu naloge je bilo terarijski luči izpostavljenih 5 vrst metuljev (glej sliki 27 in 28), in sicer:

- *Argynnis paphia* - gospica
- *Colias croceus* – navadni senožetnik
- *Danaus plexippus* - monarh
- *Gonepteryx cleopatra* - kleopatra
- *Morpho peleides* - morfo



Slika 27: Zgornja stran kril izbranih vrst na milimetskem papirju: (1) Gospica (*Argynnis paphia*) (2) Navadni senožetnik (*Colias croceus*) (3) Monarh (*Danaus plexippus*) (4) Kleopatra (*Gonepteryx cleopatra*) (5) Morfo (*Morpho peleides*)



Slika 28: Spodnja stran kril izbranih vrst na milimetskem papirju: (1) Gospica (*Argynnis paphia*) (2) Navadni senožetnik (*Colias croceus*) (3) Monarh (*Danaus plexippus*) (4) Kleopatra (*Gonepteryx cleopatra*) (5) Morfo (*Morpho peleides*)

Opazovan je bil vpliv izpostavljenosti svetlobi na naslednje barve:

- Gospica: oranžna (sprednje krilo, zgornja stran) in zelena (zadnje krilo, spodnja stran)
- Navadni senožetnik: oranžna (sprednje krilo, zgornja stran), zelena (sprednje krilo, zgornja stran) in zelena (zadnje krilo, spodnja stran)
- Monarh: bela, črna in oranžna (vse sprednje krilo, zgornja stran)
- Kleopatra: zelena in oranžna (sprednje krilo, zgornja stran), zelena (zadnje krilo, spodnja stran)
- Morfo: modra (sprednje in zadnje krilo, zgornja stran)

Krila so bila z bucikami pritrjena na polietilensko (PET) ploščo tako, da je bilo eno krilo na svetlobno izpostavljeni strani (glej sliko 29, desna stran), druga stran PET plošče, na kateri pa so bili pritrjeni drugi pari kril, pa je bila dvojno zavita v aluminijasto folijo zaradi preprečevanja izpostavljenost svetlobi – krila na levi polovici PET plošče (glej sliko 29, leva stran) so služila za kontrolo.



Slika 29: Krila, pritrjena na PET ploščo, pripravljena na izpostavitve terarijski luči

Krila so bila pred začetkom izpostavljanja fotografirana in pomerjena s spektrofotometrom. Prvič so bila izpostavljena terarijski luči 19. novembra 2021, od takrat naprej pa so bila izpostavljena konstantno. Skupno so bila krila izpostavljena terarijski luči 3 tedne, meritve pa so bile opravljene približno vsak teden, natančneje vsakih 6-8 dni. Po 19. novembru so bila krila s spektrofotometrom pomerjena še 25. novembra 2021, 2. decembra 2021 in 10. decembra 2021.

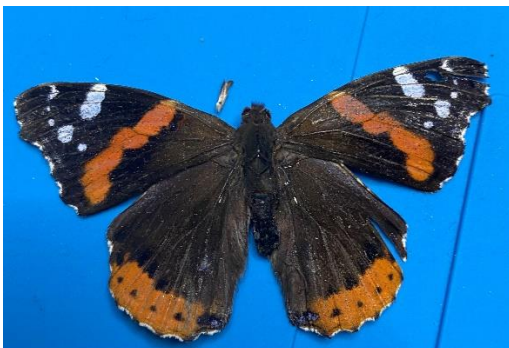


Slika 30: Krila pod izpostavljenostjo terarijski luči

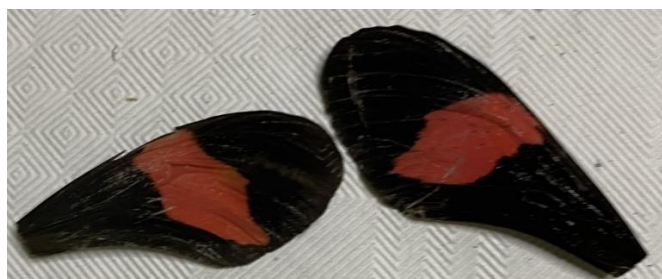
5.2.2 DRUGI DEL: IZPOSTAVITEV UV C LUČI

Po treh tednih so bila krila naknadno izpostavljena še luči, ki oddaja svetlobo krajše valovne dolžine kot terarijska luč, v UV C delu elektromagnetnega spektra. V sklopu tega dela je bila postavljena tretja hipoteza, da bo staranje kril še bolj izrazito ob osvetljevanju s kratkovalovno, UV C svetlobo.

V drugem delu, ob izpostavljanju UV C luči, sta bili krilom iz 1. dela dodani še 2 novi vrsti; admiral (*Vanessa atalanta*) in poštar (*Heliconius erato*). Namen tega je bilo opazovanje rdeče barve, ki v prvem delu ni bila prisotna v vzorcu.

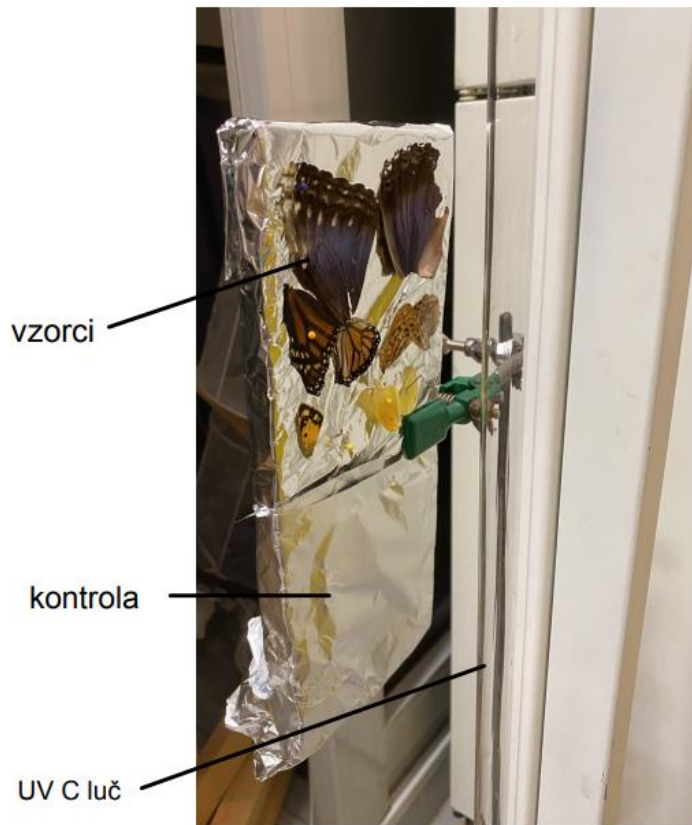


Slika 31: Admiral (*Vanessa atalanta*)



Slika 32: Sprednja krila poštarja (*Heliconius erato*)

Tokrat je bil v aluminijasto folijo zavrit tudi PET, da ga kratkovalovna svetloba ne bi poškodovala. Krila so bila ponovno pritrjena na PET z bucikami in polovica jih je bila še dodatno zavita v aluminijasto folijo za kontrolo.



Slika 33: Krila izpostavljena UV C luči (na sliki je luč ugasnjena)

Ker je bila izpostavljenost UV C luči intenzivnejša, krila niso bila izpostavljena cele dneve, temveč določeno število ur. Prvič so bila izpostavljena UV C luči za 8 ur. Po 8 urah je bila izpostavljenost prekinjena in 17. decembra 2021 so bili vzorci izmerjeni. Meritve so bile drugič (in zadnjič) opravljene 24. decembra 2021, po še dodatni izpostavljenosti za 34 ur. Krila so bila skupno izpostavljena UVC luči 42 ur.

6 REZULTATI

Kljub temu, da so bila krila v prvem delu terarijski luči konstantno izpostavljena 3 tedne, ni bilo opaziti nobenega učinka na barve kril, ne s prostim očesom niti z objektivnimi meritvami s spektrofotometrom.

Po izpostavljenosti UV C luči, so bile spremembe barv kril določenih vrst vidne že s prostim očesom, kot prikazujeta sliki 34 in 35.



Slika 34: Vzorci kril, slikani po 8-urni izpostavljenosti UV C svetlobi. Vrste so označene s kraticami, male črke označujejo izpostavljena krila (desno od rdeče črte), velike črke kontrolne vzorce, zakrite s folijo (levo od rdeče črte). Vrste: MP - *Morpho peleides*, HE - *Heliconius erato*, DP - *Danaus plexippus*, VA - *Vanessa atalanta*, AP - *Argynnis paphia*, CC - *Colias croceus* in GC - *Gonepteryx cleopatra*. *

*AP2 kontrolni vzorec se je med poskusom izgubil, vendar je bilo na podlagi ostalih kontrolnih vzorcev na sliki predpostavljeno, da je tudi AP2 krilo ostalo nespremenjeno, zato je bila fotografija AP2 kasneje dodana na sliko za primerjavo z izpostavljenim ap2 krilom.

Že po 8 urah je iz slike razvidno, da so morfova krila (mp1 in mp2) v primerjavi s kontrolo (MP1 in MP2) postala bolj temno modre barve, prej črn del krila mp1 pa je postal temno rjave barve. Krilo gospice je ap2 je v primerjavi s kontrolo AP2 precej zbledelo. S slike ni tako očitno, vendar je tudi oranžna barva krila kleopatre gc1 zbledela v primerjavi s krilom GC1. Pri ostalih krilih sprememb ni bilo opaziti.

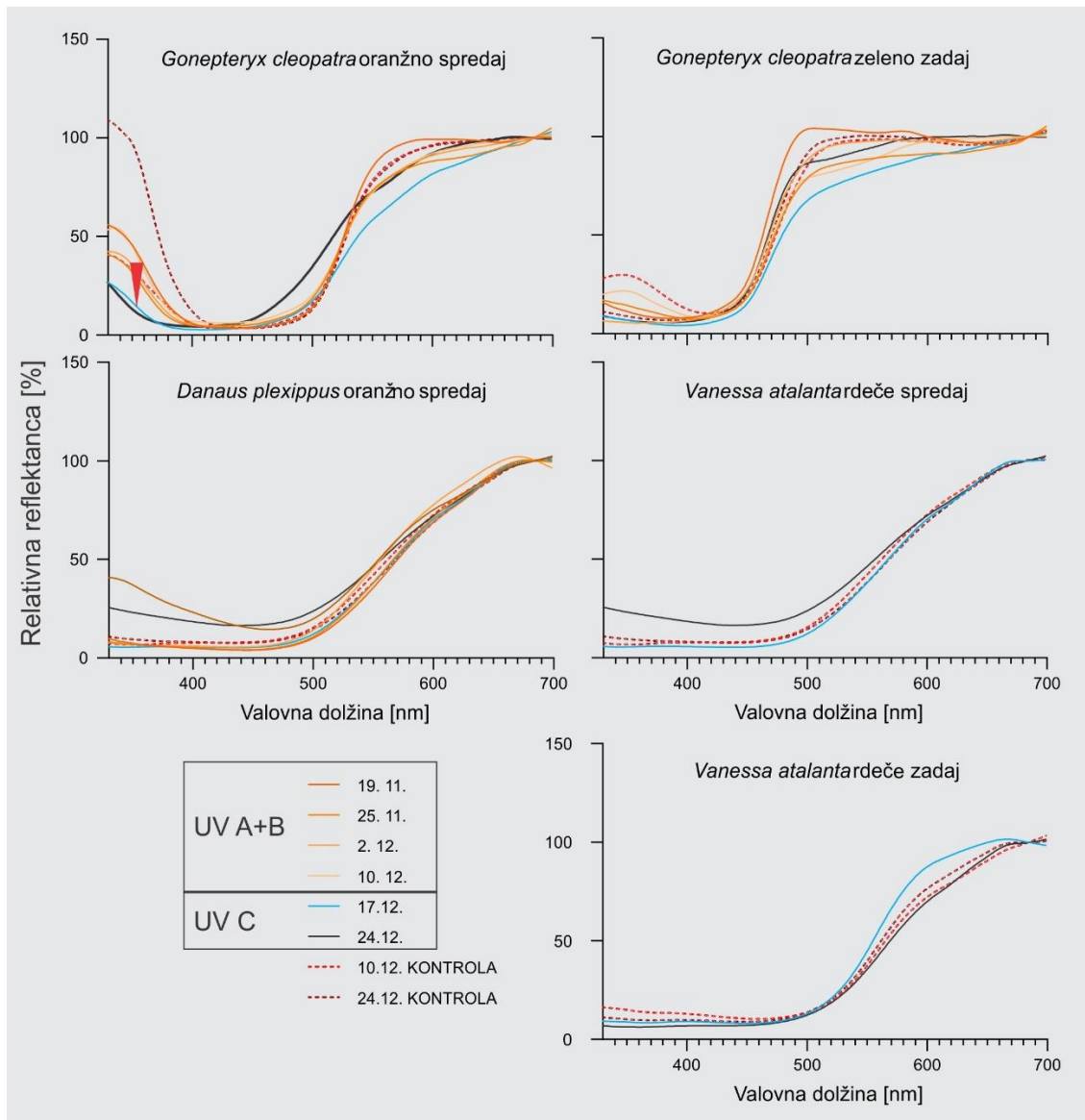


Slika 35: Vzorci kril, slikani 42-urni izpostavljenosti UV C svetlobi. Vrste so označene s kraticami, male črke označujejo izpostavljena krila (desno od rdeče črte), velike črke kontrolne vzorce, zakrite s folijo (levo od rdeče črte). Vrste: MP - *Morpho peleides*, HE - *Heliconius erato*, DP - *Danaus plexippus*, VA - *Vanessa atalanta*, AP - *Argynnis paphia*, CC - *Colias croceus* in GC - *Gonepteryx cleopatra*. *

Po 42 urah izpostavljenosti UV C svetlobi je modra barva morfovih kril povsem spremenila izgled. Modra barva na krilu mp2 je popolnoma popadla in krilo je postalo rjave barve. V krilu mp1 je temno moder odtenek še zaznati, vendar je tudi to krilo začelo izgubljati modro barvo. Prej zelena barva na krilu gospice ap2 je popolnoma izginila. Oranžna barva na krilu kleopatre

gc1 je še manj očitna, kljub temu pa spremembe niso tako očitne pri morfu in gospici. To je zato, ker je bila spremenjena UV komponenta oranžne barve pri kleopatri, te spremembe pa človeško oko ne zaznava. Ostala krila so ostala v glavnem nespremenjena.

Meritve, opravljene s spektrofotometrom tekom cele naloge, ob osvetljevanju tako s terarijsko kot UV C lučjo, so bile shranjene na računalnik. Ob koncu poskusa so bile zbrane v programu Microsoft Excel. Numerični podatki so bili poglajeni v programu Graphpad Prism, grafi pa dokončno urejeni v programu Corel Draw. Grafi so prikazani na slikah 36 in 37.

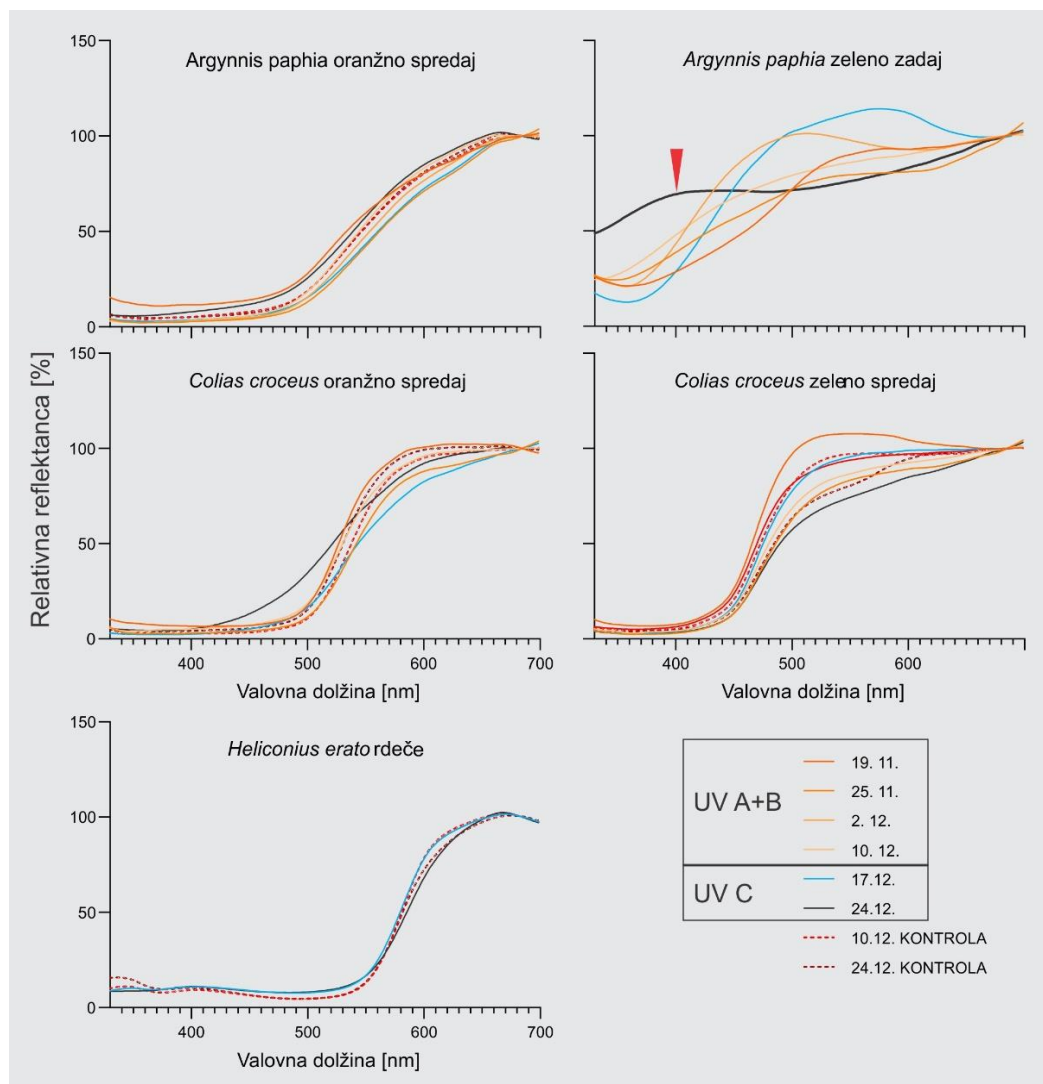


Slika 36: Relativna reflektanca kril metuljev *D. plexippus*, *V. atalanta* in *G. cleopatra* v odvisnosti od časa izpostavljenosti svetlobi. 19.11., stanje pred izpostavljenostjo; 25.11., 2.12., 10.12., krila, izpostavljena vidni, UVA in UVB svetlobi (skupaj 3 tedne); 17.12. in 24.12.; krila naknadno izpostavljena UV C svetlobi (skupaj 42 ur). Rdeča puščica prikazuje upad reflektance pri kleopatri v UV delu spektra.

Na podlagi grafov za pigmentno oranžno barvo pri monarhu (*Danaus plexippus*) lahko povemo, da se barva ob izpostavljenosti UV A, UV B in UV C svetlobi ni bistveno spremenila.

Krila admirala (*Vanessa atalanta*) so bila izpostavljena le UV C svetlobi, ki ni povzročila sprememb rdeče barve.

Oranžna barva pri kleopatri (*Gonepteryx cleopatra*) je ostala nespremenjena pri izpostavljenosti UV A in UV B svetlobi, sprememba pa je vidna v spektru po izpostavljenosti UV C svetlobi (označeno z rdečo puščico), ki je povzročila upad reflektance v UV delu spektra. Zelena barva pri kleopatri se ni spremenila.



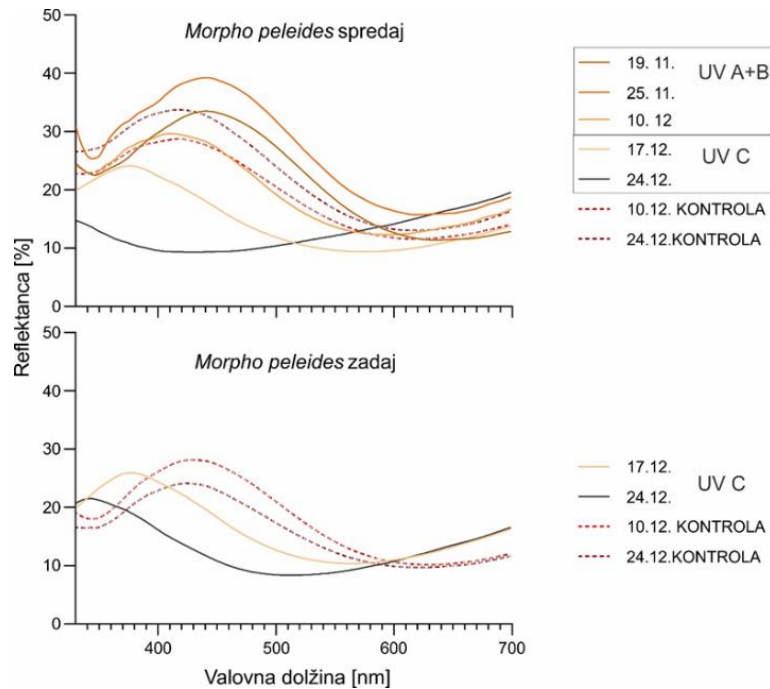
Slika 37: Relativna reflektanca kril metuljev *A. paphia*, *C. croceus* in *H. erato* v odvisnosti od časa izpostavljenosti svetlobi. 19.11., stanje pred izpostavljenostjo; 25.11., 2.12., 10.12., krila, izpostavljena vidni, UVA in UVB svetlobi (skupaj 3 tedne); 17.12. in 24.12.; krila naknadno izpostavljena UV C svetlobi (skupaj 42 ur).

Oranžna barva na krilih gospice (*Argynnis paphia*) je ostala stabilna skozi celoten poskus, ob izpostavljenosti terarijski, kot tudi UV C luči. Variabilne krivulje zelene barve pri krilu gospice so verjetno rezultat tega, da je ta zelena vsaj delno strukturnega nastanka, kar pomeni da je posledično meritev odvisna tudi od vpadnega kota svetlobe, posledično so krivulje precej različne že ob izpostavljenosti UV A in B svetlobi. Ob izpostavljenosti UV C pa je videti, da je prej zelena (modra krivulja) popolnoma uničena in nastala je bela barva (črna krivulja).

Tako oranžna kot zelena barva *C. croceus* sta ob izpostavljenosti terarijski in UV C luči ostali skoraj nespremenjeni.

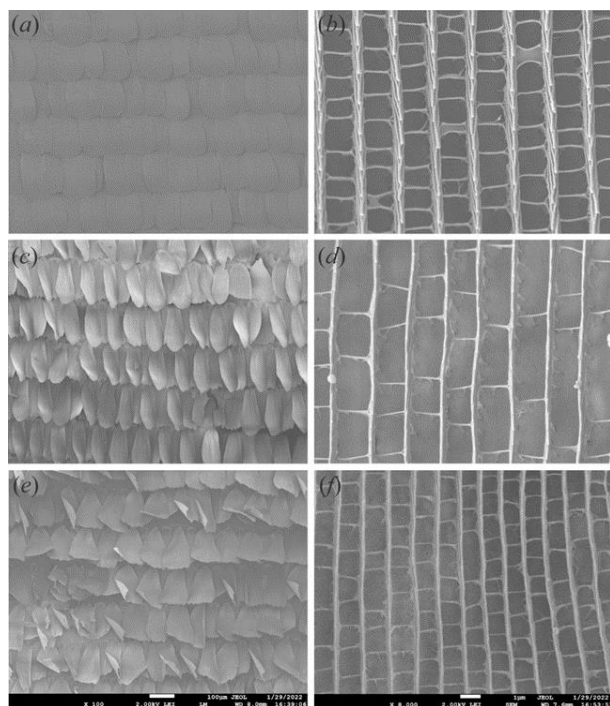
H. erato je bil izpostavljen le UV C svetlobi, ki na rdečo barvo ni imela učinka.

Verjetno od vseh vrst metuljev, je bilo najbolj očitne spremembe že s prostim očesom opaziti pri morfu (*M. peleides*). Graf relativne reflektance morfovih kril v odvisnosti od časa izpostavljenosti svetlobi prikazuje slika 38.



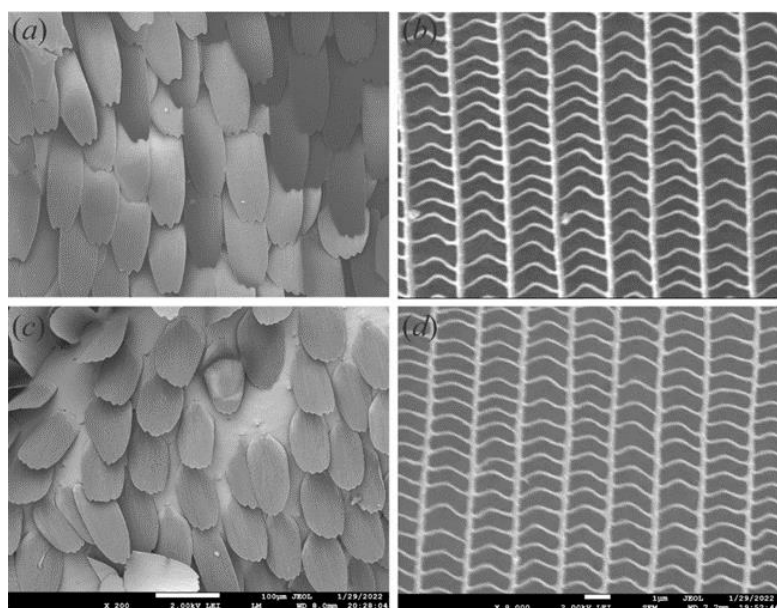
Slika 38: Relativna reflektanca kril morfa (*Morpho peleides*) v odvisnosti od časa izpostavljenosti svetlobi. 19.11., stanje pred izpostavljenostjo; 25.11., 2.12., 10.12., krila, izpostavljena vidni, UVA in UVB svetlobi (skupaj 3 tedne); 17.12. in 24.12.; krila naknadno izpostavljena UV C svetlobi (skupaj 42 ur).

Krila, za katera se je izkazalo, da so barve razpadle pod vplivom izpostavljenosti svetlobi, so bila slikana tudi z vrstičnim elektronskim mikroskopom (SEM).



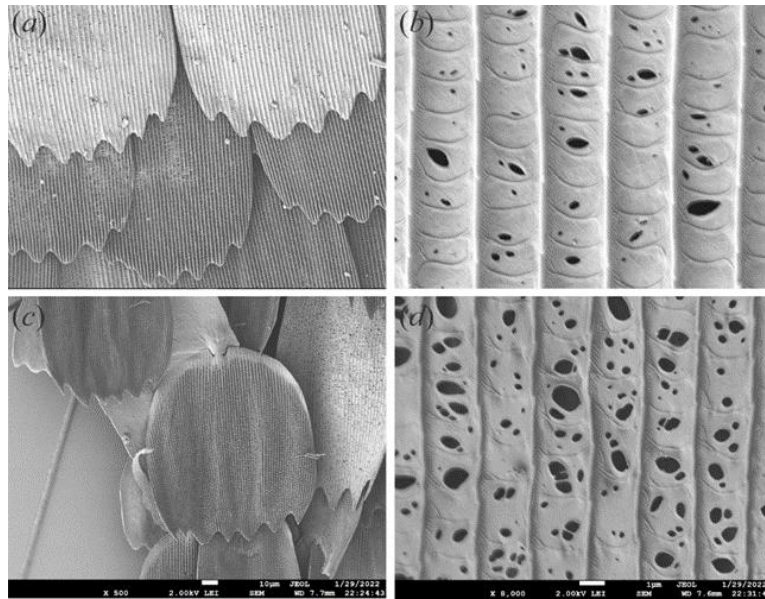
Slika 39: Modre luske na krilih morfa (*Morpho peleides*): **(a,c,e)** luske 100x povečava in **(b,d,f)** nanostrukture (grebeni, lamele) na luskah, 8000x povečava; **(a,b)** kontrolni vzorec, pred izpostavljenostjo, **(c,d)** krilo po 3-tedenski izpostavljenosti UV A in UV B svetlobi, **(e,f)** krilo po 42-urni izpostavljenosti UV C svetlobi, ob koncu poskusa

Iz slike 39 je razvidno, da so bile morfove luske rahlo upognjene in nanostrukture na luskah poškodovane že po izpostavljenosti UV A in UV B svetlobi (c,d) v primerjavi s kontrolnim vzorcem (a,b). Po izpostavljenosti UV C svetlobi, pa so bili grebeni na površini lusk popolnoma uničeni (f), luske pa so bile precej zavihane ali zmečkane, kar kaže na to, da jih je svetloba precej poškodovala, še posebej UV C, kar je bil vzrok za upad modre reflektance (glej slika 38).



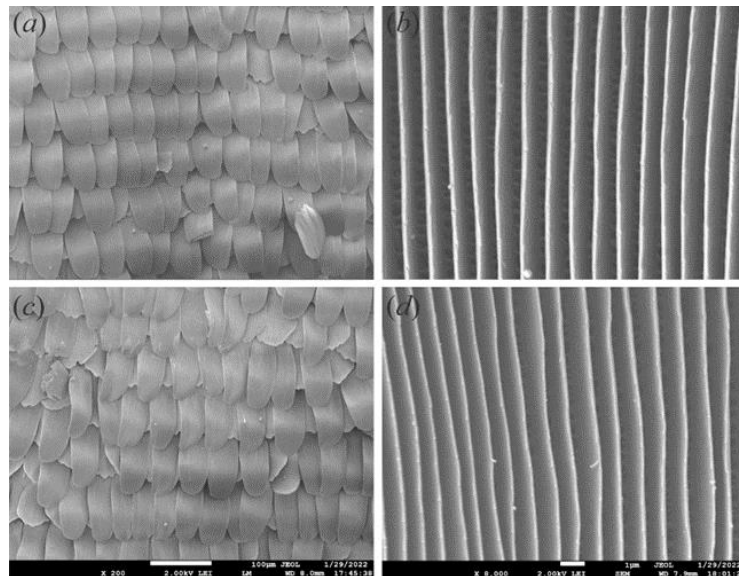
Slika 40: Oranžne luske na krilih gospice (*Argynnis paphia*): **(a,b)** sveža krila **(c,d)** mehansko poškodovana krila

Krila gospice iz slike 40 niso bila uporabljena v poskusih te raziskovalne naloge, so pa dober prikaz mehanskega staranja kril. V primerjavi s svežim vzorcem (a,b), staremu vzorcu manjka nekaj lusk (c), površina lusk pa izgleda rahlo poškodovana (d).



Slika 41: Zelene luske na krilih gospice (*Argynnis paphia*): (a,b) Kontrolni vzorec krila pod 500x (a) in 8000x povečavo (b), (c,d) Krila ob koncu poskusa, slikana na povečavi 500x (c) in 8000x (d)

Slika 41 prikazuje zelene luske na krilu gospice, ki je bilo izpostavljeno svetlobi. V primerjavi s kontrolo (a,b) je bilo največ škode opaziti pod 8000x povečavo kril ob koncu poskusa (d), iz katere je razvidno ogromno število novih lukenj v površinskih strukturah lusk.



Slika 42: Oranžne luske na krilih kleopatre (*Gonepteryx cleopatra*): (a,b) Kontrolni vzorec krila pod 200x (a) in 8000x (b) povečavo (c,d) Krila ob koncu poskusa, slikana na povečavi 200x (c) in 8000x (d)

V primerjavi s kontrolo (a,b), je tudi pri oranžnih luskah kleopatre opaziti upognjene luske (c) po poskusu in rahlo spremenjene površinske strukture (d).

7 RAZPRAVA

V tej nalogi smo preverjali, ali bo izpostavitve različnim valovnim dolžinam svetlobe vplivala na staranje kril metuljev vrst *Argynnis paphia*, *Colias croceus*, *Danaus plexippus*, *Gonepteryx cleopatra*, *Morpho peleides*, *Vanessa atalanta* in *Heliconius erato*. Pred začetkom naloge so bile glede staranja metuljevih kril pod vplivom svetlobe postavljene tri hipoteze; prva hipoteza, da bo dolgotrajno osvetljevanje s svetlobo bo spremenilo barvo kril, druga, da bo svetloba izrazito vplivala na pigmentne barve, manj na strukturne barve, in tretja, da bo staranje izrazito ob osvetljevanju s kratkovalovno, UV svetlobo.

V prvem delu je bilo pet vrst, in sicer *Argynnis paphia*, *Colias croceus*, *Danaus plexippus*, *Gonepteryx cleopatra* in *Morpho peleides*, izpostavljenih terarijski luči, ki je oddajala svetlobo valovnih dolžin UV A in UV B dela spektra elektromagnetnega valovanja. Ker po treh tednih konstantne izpostavljenosti tej svetlobi sprememb ni bilo, so bila krila naknadno izpostavljena še luči, ki je oddajala svetlobo valovnih dolžin iz UV C dela spektra. Skupno so bila krila izpostavljena UV C svetlobi 42 ur, spremembe pa so bile vidne na krilih *Morpho peleides*, *Argynnis paphia* in *Gonepteryx cleopatra*.

Prva hipoteza, da bo dolgotrajno osvetljevanje s svetlobo spremenilo barvo kril, je bila delno sprejeta, delno pa ovržena. Barva kril se pod vplivom svetlobe sicer je spremenila, vendar je bila zato potrebna svetloba UV C, ki sicer ni prisotna na Zemljini površini, saj jo blokira ozonska plast. Tudi ob osvetljevanju z UV C svetlobo so številne, v glavnem pigmentne barve ostale stabilne, najbolj spremenjene so bile iridescentna modra pri *Morpho peleides*, zelena pri *Argynnis paphia* in oranžna pri *Gonepteryx cleopatra*.

Tem trem barvam je skupno, da so v celoti ali vsaj delno strukturnega nastanka. Modra barva pri *Morpho peleides* je izključno stuktorna, medtem ko je zelena pri *Argynnis paphia* sicer pigmentna, a verjetno mora biti vsaj delno tudi struktorna, glede na variabilne krivulje, ki jih je dalo merjenje s spektrofotometrom (glej Slika 37), ki kažejo na vpliv vpadnega kota svetlobe na meritev barve. Tudi oranžna pri *Gonepteryx cleopatra* je barva, ki je tako pigmentnega (oranžna komponenta) kot strukturnega (UV komponenta) nastanka. Vsem barvam, ki so se najbolj odzvale na izpostavljenost svetlobi je skupno, da so v celoti ali vsaj delno strukturne. Torej je druga hipoteza, da bo svetloba izrazito vplivala na pigmentne barve in manj na strukturne barve, ovržena. Strukturne barve so bolj ali manj propadle, npr. v celoti iridescentna modra pri morfu je bila rahlo poškodovana že po osvetljevanju s terarijsko lučjo, po UV C svetlobi pa je bila popolnoma uničena (Slika 39), medtem ko sta bili delno strukturni zelena pri *Argynnis paphia* in oranžna pri *Gonepteryx cleopatra* sicer spremenjeni, vendar manj intenzivno. Zelena je zbledela kar precej, oranžna manj. Vsekakor so bile pigmente barve obstojne vseskozi, zato je druga hipoteza ovržena.

Tretja hipoteza, da bo staranje izrazito ob osvetljevanju s kratkovalovno, UV svetlobo, je prav tako delno sprejeta in delno ovržena, saj je bilo staranje sicer pri krajših valovnih dolžinah bolj intenzivno, a le za tiste barve, ki so bile za staranje dovzetne, torej strukturne barve (glej Slika 39). Pigmentne barve pa se niso spreminjale skoraj nič, tako pri osvetljevanju z UV A in UV B svetlobo, kot pri osvetljevanju z UV C svetlobo.

Spoznanje, da so sicer tako pigmentne barve kot tudi strukturne barve stabilne pod UV A in UV B svetlobo, ki sta prisotni na Zemlji, pomeni, da se metulji starajo zaradi drugih razlogov,

verjetno mehanskih poškodb kril (npr. odpadle luske, Slika 40), ki nastanejo zaradi leta in boja s plenilci. UV C svetlobe iz naravnih virov na Zemlji ni (uporablja se v medicini in znanosti za sterilizacijo), vendar smo ugotovili, da bi pod kratkovalovno svetlobo strukturne barve verjetno propadle, medtem ko so pigmentne barve stabilne tudi v tem primeru.

Stabilnost pigmentnih barv v metuljevih luskah pod vplivom svetlobe je zanimiva, saj smo iz vsakdanjega življenja vajeni, da se načeloma vse stvari ob izpostavljenosti svetlobi starajo npr. zbledele fasade, zavese, leseno pohištvo... primere najdemo tudi v naravi, na primer krila določenih žuželk, ki nimajo lusk, npr. kačjih pastirjev, se zelo hitro postarajo in zbledijo.

Skozi evlucijski razvoj so metulji razvili luske, ki jim očitno omogočajo uspešno zaščito barv pred svetlobnimi vplivi. Fotostabilnost njihovih barvnih vzorcev je izrednega pomena za njihov uspešen razvoj in preživetje. To znanje bi bilo izjemno uporabno tudi za človeka, če bi iz metuljevih kril izolirali fotostabilne pigmente in na podlagi tega znanja bili sposobni sami izdelovati barve, ki bi bile nedovzetne za bledenje na svetlobi.

8 ZAKLJUČEK

Barvni vzorci na metuljevih krilih so pred vsemi vplivi svetlobe iz naravnih virov dobro zaščiteni. To pomeni, da tudi če metulj prezimi in živi več mesecev, daljši čas izpostavljenosti svetlobi ne bo vplival na barve njegovih kril. Če pride do staranja kril, so razlogi za to verjetno drugi, npr. mehanske poškodbe zaradi boja s plenilci in letenja skozi rastlinje. Dejstvo, da so ti barvni vzorci tako stabilni, je izjemno pomembno za metulja, saj na podlagi teh vzorcev metulji prepoznavajo tako druge vrste metuljev, kot pripadnike svoje vrste. Zaradi barvnih vzorcev so sposobni prepoznati potencialne partnerje za razmnoževanje, hkrati pa lahko lepi vzorci pomenijo tudi prednost z vidika spolne selekcije. Obstojnost barvnih vzorcev lahko za metulja pomeni tudi večjo zaščito pred plenilci, saj na ta način signalizira neužitnost in strupenost. Z vseh teh vidikov je fotostabilnost metuljevih kril izjemnega pomena, kar verjetno tudi pojasni evlucijski razvoj učinkovito zaščitenih barv.

9 ZAHVALA

Rada bi se iskreno zahvalila svojemu mentorju, dr. Gregorju Belušiču, za ves vložen čas in trud, za potrpežljivost, svetovanje, zagnanost in nasploh vso pomoč pri izdelavi raziskovalne naloge.

Zahvaljujem se tudi dr. Andreju Megliču za fotografije, posnete z elektronskim mikroskopom, ter šolski mentorici Metki Škornik in vsem ostalim za spodbudo in podporo.

10 LITERATURA

- Aposematizem*. 2019. [internet]. [citirano 17. 3. 2021]. Dostopno na naslovu: <https://sl.wikipedia.org/wiki/Aposematizem>.
- Arikawa, K. 2017. *The eyes and vision of butterflies*. The Journal of Physiology, **595**, 5457-5464.
- Dell'aglio, D. D., Stevens, M. in Jiggins, C. D. 2016. *Avoidance of an aposematically coloured butterfly by wild birds in a tropical forest*. Ecological entomology, **41**, 627-632.
- Finkbeiner, S. D. in Briscoe, A. D. 2021. *True UV color vision in a female butterfly with two UV opsins*. Journal of Experimental Biology, **224**, jeb242802.
- Ilić, M., Chen P-J., Pirih P., Meglič A., Prevc, J., Yago, M., Belušič, G. in Arikawa, K. (2022). *Simple and complex, sexually dimorphic retinal mosaic of butterflies of fritillary butterflies*. Philosophical Transactions of the Royal Society, v tisku.
- Interferenca*. 2021. [internet]. [citirano 17. 3. 2021]. Dostopno na naslovu: <https://sl.wikipedia.org/wiki/Interferenca>.
- Kemp, D. J. in Rutowski, R. L. 2011. *The Role of Coloration in Mate Choice and Sexual Interactions in Butterflies*. Advances in the study of behavior, **43**, 55-92.
- Kinoshita, M. in Stewart, F. J. 2020. *Retinal organization and visual abilities for flower foraging in swallowtail butterflies*. Current Opinion in Insect Science, **42**, 76-83.
- Metulji*. 2021. [internet]. [citirano 17. 3. 2021]. Dostopno na naslovu: <https://sl.wikipedia.org/wiki/Metulji>.
- Mouchet, S. R. in Vukusic, P. 2018. *Structural Colours in Lepidopteran Scales*. Advances in Insect Physiology, **54**, 1-53.
- Rossato, D. O., Kaminski, L. A., Iserhard, C. A. in Duarte, L. 2018. *More Than Colours: An Eco-Evolutionary Framework for Wing Shape Diversity in Butterflies*. Advances in Insect Physiology, **54**, 55-84.
- Spekter elektromagnetnega valovanja*. 2020. [internet]. [citirano 17. 3. 2021]. Dostopno na naslovu: https://sl.wikipedia.org/wiki/Spekter_elektromagnetnega_valovanja.
- Spektrofotometrija*. 2021. [internet]. [citirano 20. 3. 2021]. Dostopno na naslovu: <https://sl.wikipedia.org/wiki/Spektrofotometrija>.
- Stuart-Fox, D., Ospina-Rozo, L., Ng, L. in Franklin, A. M. 2021. *The Paradox of Iridescent Signals*. Trends in Ecology & Evolution, **36**, 187-195.
- Stušek, P., Škornik, S. in Vodnik, D. 2014. *Zgradba in delovanje organizmov; učbenik za pouk biologije v gimnazijskem in strokovnem izobraževanju*. Ljubljana : DZS.
- Vid*. 2021. [internet]. [citirano 17. 3. 2021]. Dostopno na naslovu: <https://sl.wikipedia.org/wiki/Vid>.
- Vidni spekter*. 2021. [internet]. [citirano 17. 3. 2021]. Dostopno na naslovu: https://sl.wikipedia.org/wiki/Vidni_spekter.

10.1 VIRI SLIK

- Slika 1: *Poenostavljen spekter elektromagnetnega valovanja*. [internet]. [citirano 17. 3. 2021]. Dostopno na naslovu: <https://svetilead.wordpress.com/2013/04/12/svetloba/>.
- Slika 2: *Približki pasov spektralnih barv*. [internet]. [citirano 17. 3. 2021]. Dostopno na naslovu: https://sl.wikipedia.org/wiki/Vidni_spekter.
- Slika 3: *Spektralna občutljivost treh vrst čepnic*. [internet]. [citirano 17. 3. 2021]. Dostopno na naslovu: <https://sl.wikipedia.org/wiki/Vid>.
- Slika 4: Kinoshita, M., in Arikawa, K. *Color and polarization vision in foraging Papilio*. J. Comp. Physiol. A 200, 513–526 (2014). Dostopno na naslovu: <https://doi.org/10.1007/s00359-014-0903-5>.
- Slika 5: Kinoshita, M. in Stewart, Finlay J. 2020. *Retinal organization and visual abilities for flower foraging in swallowtail butterflies*. Current Opinion in Insect Science, **42**: 76-83. Figure 4: (b) Wavelength discrimination.
- Slika 6: *Skica metuljeve luske*. Lastna skica.
- Slika 7: *Konstruktivna in destruktivna interferenca*. [internet]. [citirano 17. 3. 2021]. Dostopno na naslovu: <https://sl.wikipedia.org/wiki/Interferenca>.
- Slika 8: *Pojav interference na periodičnih nanostrukturah*. Lastna skica.
- Slika 9: *Nastanek strukturne obarvanosti*. Lastna skica, prirejena po: <https://opuntiavisual.org/opuntiavisual/2016/9/4/structural-color-when-light-transforms-into-art>.
- Slika 10: *Mehanizem nastanka barve s pigmenti in strukturami*. Lastna skica, prirejena po: https://www.researchgate.net/figure/Diagram-explaining-the-way-reflectance-spectra-are-measured-using-a-spectrophotometer_fig4_50843564.
- Slika 11: Vir: Ilić M., Chen P.-J., Pirih P., Meglič A., Prevc J., Yago M., Belušič G in Arikawa K. (2022). *Simple and complex, sexually dimorphic retinal mosaic of butterflies of fritillary butterflies*. Philosophical Transactions of the Royal Society, v tisku.
- Slika 12: *Samec gospice*. [internet]. [citirano 17. 3. 2021]. Dostopno na naslovu: <https://sl.wikipedia.org/wiki/Gospica>.
- Slika 13: *Samica gospice*. [internet]. [citirano 17. 3. 2021]. Dostopno na naslovu: <https://sl.wikipedia.org/wiki/Gospica>.
- Slika 14: *Samec navadnega senožetnika, zgornja stran kril*. [internet]. [citirano 17. 3. 2021]. Dostopno na naslovu: https://sl.wikipedia.org/wiki/Navadni_senožetnik.
- Slika 15: *Samec navadnega senožetnika, spodnja stran kril*. [internet]. [citirano 17. 3. 2021]. Dostopno na naslovu: https://sl.wikipedia.org/wiki/Navadni_senožetnik.
- Slika 16: *Samec monarh*. [internet]. [citirano 17. 3. 2021]. Dostopno na naslovu: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Monarch_Butterfly_Danaus_plexippus_Male_2664px.jpg.
- Slika 17: *Samica monarha*. [internet]. [citirano 17. 3. 2021]. Dostopno na naslovu: <https://sl.wiki4maps.com/179477-monarch-butterfly-KFNMOI>.
- Slika 18: *Samec kleopatre*. [internet]. [citirano 17. 3. 2021]. Dostopno na naslovu: [https://sl.wikipedia.org/wiki/Kleopatra_\(metulj\)](https://sl.wikipedia.org/wiki/Kleopatra_(metulj)).
- Slika 19: *Samica kleopatre*. [internet]. [citirano 17. 3. 2021]. Dostopno na naslovu: <https://www.aureus-butterflies.de/Gonepteryx-cleopatra-female>.
- Slika 20: *Heliconius erato, zgornja stran kril*. [internet]. [citirano 17. 3. 2021]. Dostopno na naslovu: https://en.wikipedia.org/wiki/Heliconius_erato.

- Slika 21: *Morpho peleides*, zgornja stran kril. [internet]. [citirano 17. 3. 2021]. Dostopno na naslovu: https://en.wikipedia.org/wiki/Morpho_peleides.
- Slika 22: *Morpho peleides*, spodnja stran kril. [internet]. [citirano 17. 3. 2021]. Dostopno na naslovu: https://en.wikipedia.org/wiki/Morpho_peleides.
- Slika 23: *Admiral*, zgornja stran kril. [internet]. [citirano 17. 3. 2021]. Dostopno na naslovu: [https://sl.wikipedia.org/wiki/Admiral_\(metulj\)#/media/Slika:Vanessa_atalanta_2_Luc_Viatour.jpg](https://sl.wikipedia.org/wiki/Admiral_(metulj)#/media/Slika:Vanessa_atalanta_2_Luc_Viatour.jpg).
- Slika 24: *Shema aparata za merjenje*. Lastna skica.
- Slika 25: *Princip delovanja spektrofotometra*. Lastna skica, prirejeno po: <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Spectrometer.svg>.
- Slika 26: *Relativna iradianca uporabljenih luči (terarijske in UV C) v različnih delih elektromagnetnega spektra*. Lasten vir, graf narisal izr. prof. dr. Gregor Belušič.
- Slika 27: *Zgornja stran kril izbranih vrst na milimeterskem papirju*. Lastna fotografija.
- Slika 28: *Spodnja stran kril izbranih vrst na milimeterskem papirju*. Lastna fotografija.
- Slika 29: *Krila, pritrjena na stiropor, pripravljena na izpostavitve terarijski luči*. Lastna fotografija.
- Slika 30: *Krila pod izpostavljenostjo terarijski luči*. Lastna fotografija.
- Slika 31: *Admiral (Vanessa atalanta)*. Lastna fotografija.
- Slika 32: *Sprednja krila poštarja (Heliconius erato)*. Lastna fotografija.
- Slika 33: *Krila izpostavljena UV C luči*. Lastna fotografija.
- Slika 34: *Vzorci kril, slikani po 8-urni izpostavljenosti UV C svetlobi*. Lastna fotografija.
- Slika 35: *Vzorci kril, slikani po 42-urni izpostavljenosti UV C svetlobi*. Lastna fotografija.
- Slika 36: *Relativna reflektanca kril metuljev D. plexippus, V. atalanta in G. cleopatra v odvisnosti od časa izpostavljenosti svetlobi*. Lasten vir, grafe je zrisal izr. prof. dr. Gregor Belušič.
- Slika 37: *Relativna reflektanca kril metuljev A. paphia, C. croceus in H. erato v odvisnosti od časa izpostavljenosti svetlobi*. Lasten vir, grafe je zrisal izr. prof. dr. Gregor Belušič.
- Slika 38: *Relativna reflektanca kril morfa (Morpho peleides) v odvisnosti od časa izpostavljenosti svetlobi*. Lasten vir, grafe je zrisal izr. prof. dr. Gregor Belušič.
- Slika 39: *Modre luske na krilih morfa (Morpho peleides)*. Z vrstičnim elektronskim mikroskopom slikal dr. Andrej Meglič na Oddelku za biologijo na biotehniški fakulteti Univerze v Ljubljani.
- Slika 40: *Oranžne luske na krilih gospice (Argynnis paphia)*. Z vrstičnim elektronskim mikroskopom slikal dr. Andrej Meglič na Oddelku za biologijo na biotehniški fakulteti Univerze v Ljubljani.
- Slika 41: *Zelene luske na krilih gospice (Argynnis paphia)*. Z vrstičnim elektronskim mikroskopom slikal dr. Andrej Meglič na Oddelku za biologijo na biotehniški fakulteti Univerze v Ljubljani.
- Slika 42: *Oranžne luske na krilih kleopatre (Gonepteryx cleopatra)*. Z vrstičnim elektronskim mikroskopom slikal dr. Andrej Meglič na Oddelku za biologijo na biotehniški fakulteti Univerze v Ljubljani.