

I.

Kleisner K, Pecháček P, Brejcha J (2014) Evoluce a zdroje proměnlivosti sémantických orgánů In: Dadejík O, Kaplický M, Jaroš F (eds) *Krása a zvíře: Studie o vztahu estetických a etických hodnot zvířat*. Dokořán, Praha, 103–160.

# Evoluce a zdroje proměnlivosti sémantických orgánů

Karel Kleisner, Jindřich Brejcha, Pavel Pecháček

Mnozí se dnes tváří, jako by příroda už neměla žádné velké tajemství. Ale totéž se říkalo již ve století předcházejícím a jinak tomu nebylo ani ve století devatenáctém. Na následujících stránkách se pokusíme upozornit, že jedno z největších tajemství živé přírody máme vlastně neustále na očích.

V této kapitole nastíníme základy sémantické morfologie usilující o výklad vnějšího vzhledu organismů. V centru sémantické morfologie se nachází koncepce sémantického orgánu, jež se opírá o dva inspirační zdroje pramenící z myšlenkového podloží kontinentální biologie, a sice z fenomenologické zoologie Adolfa Portmanna a teorie *umweltu* (*Umweltlehre*) Jakoba von Uexkülla. Adolf Portmann považoval vzhled organismů za zcela centrální aspekt jejich existence a klíčový zdroj informací vedoucích k pochopení organického celku jakožto živé bytosti.<sup>1</sup> Exponované povrchy organismů (vlastní jevy) podle něj představují zcela nový svébytný typ orgánu, jež přinesl svým nositelům nebývalý evoluční potenciál.<sup>2</sup> Evoluční reinterpretace Uexküllovy koncepce žitého světa organismů (*Umwelt*) s sebou nese značný potenciál pro holistické uchopení organismů, včetně jejich subjektivní sféry, nevyjímaje ani zpětnovazebné interakce s prostředím a mezi organismy navzájem.<sup>3</sup> Exponované povrchy organismů, jež nabývají určitého významu v rámci *umweltu* nějaké jiné živé bytosti, obecně nazýváme pojmem sémantický orgán.

Koncepce sémantických orgánů se samozřejmě neomezuje na dva zmíněné myšlenkové prameny a přímo či nepřímo využívá teoretické a empirické poznatky širokého oborového pole současné biologie od evolučně vývojové

---

<sup>1</sup> Portmann, A. *Einführung in die vergleichende Morphologie der Wirbeltiere*. Basel: B. Schwabe, 1948; Portmann, A. *Neue Wege der Biologie*. München: R. Piper, 1960; Portmann, A., Czech, H. *Animal Forms and Patterns: A Study of the Appearance of Animals*. New York: Schocken Books, 1967; Portmann, A., Carter, R. B. *Essays in Philosophical Zoology by Adolf Portmann: The Living Form and the Seeing Eye*. Lewiston: E. Mellen Press, 1990.

<sup>2</sup> Portmann, Carter, *Essays in Philosophical Zoology by Adolf Portmann: The Living Form and the Seeing Eye*, viz výše.

<sup>3</sup> Uexküll, J. v. *Umwelt und Innenwelt der Tiere*. Berlin: J. Springer, 1921.

biologie přes evoluční psychologii, behaviorální ekologii až po teoretickou morfologii apod. Uexküllova teorie umweltu v poslední době budí zájem i některých biologů hlavního proudu, neboť si uvědomují, že funkčnost epigamních vzorů, výstražných signálů, ale i jiných projevů organismů je významně spoluurčována percepční a kognitivní sférou organismů.<sup>4</sup> Díky současnému arzenálu mnohorozměrných statistických metod, např. geometrické morfometriky, dochází k restauraci klasických přístupů poznávání živých organismů, jako je morfologie, která byla během 20. století degradována na deskriptivní nástroj jiných biologických disciplín. V obecném slova smyslu koncepce sémantických orgánů integruje v jeden celek oblast morfologie a percepce.<sup>5</sup>

V následujícím textu se budeme držet zejména organismocentrické perspektivy. Důvodem této pozice je především heuristická zdrženlivost a poměrně vysoká reliabilita vysvětlení jevů vycházejících z této úrovně biologické hierarchie, jež nejlépe odpovídá naší bezprostřední žité zkušenosti. Neznamená to ovšem, že tato z pragmatických důvodů preferovaná rovina organizace je automaticky považována za jedinou relevantní úroveň, ze které mají být vedené veškeré snahy o teoretické uchopení života a jeho projevů. Nejedná se tedy o inverzi dozrívajícího genetického redukcionismu osmdesátých a devadesátých let. Výhody a pokročilost celé řady molekulárně genetických přístupů vycházejících z představy genetické úrovně jakožto nejzákladnější příčiny biologických jevů jsou evidentní. Metodologické přednosti nejsou ovšem dostatečným předpokladem, jenž by genetickou úroveň automaticky pasoval na ústřední platformu evolučního dění. Pod náporem současných poznatků biologie 21. století je čas se proti teoreticky naivním snahám vysvětlit život z jediné úrovně biologické organizace důsledně ohradit.

### **Teoretická východiska evoluce sémantických orgánů, jednotka selekce a postavení organismu v rámci biologické hierarchie**

Předtím než se pustíme do samotné tematizace sémantických orgánů, je potřeba pro aktuální účely této kapitoly a pro nastavení jejího čtecího rámce

---

<sup>4</sup> Chittka, L., Brockmann, A. Perception Space – The Final Frontier. *PLoS Biology*. Roč. 3, 2005, s. e137; Ryan, M. J. The Brain as a Source of Selection on the Social Niche: Examples from the Psychophysics of Mate Choice in Tungara Frogs. *Integrative and Comparative Biology*. Roč. 51, 2011, s. 756–770; Prum, R. O. Aesthetic Evolution by Mate Choice: Darwin's Really Dangerous Idea. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. Roč. 367, 2012, s. 2253–2265; Ryan, M. J., Cummings, M. E. Perceptual Biases and Mate Choice. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*. Roč. 44, 2013, s. 437–459.

<sup>5</sup> Rozuměj percepce v širším významu smyslového vnímání a kognitivní interpretace znaku.

vyjasnit několik základních pojmů, které se bezprostředně týkají kauzální podstaty evolučního procesu. Jakkoli to někomu může přijít samozřejmé až zbytečné, skutečností je, že v této zcela bazální oblasti nepanuje všeobecná shoda. Jmenovitě je nutné upřesnit, jaké jsou vůbec předpoklady evoluce založené na principu přirozeného výběru a co je vlastně jednotkou selekce.

V minulém století biologii opanovala představa, že geny jsou základními a výlučnými jednotkami přirozeného výběru. Hlavními architekty tohoto směru biologického myšlení označovaného jako „genetický selekcionismus“ jsou George Christopher Williams a Richard Dawkins.<sup>6</sup> Ústředním argumentem exkluzivity genu jakožto jednotky selekce je jeho (téměř) přesná replikace. Těla pohlavně se rozmnožujících organismů jak známo podléhají zkáze a jejich konfigurace (ať už fenotyp nebo genotyp) není plně přenositelná do další generace, jakkoli výhodná z hlediska selekce mohla být. Pouze geny tedy splňují podmínku transgenerační integrity, a měly by tak být považovány za fundamentální jednotku selekce. Stephen Jay Gould kriticky upozorňuje, že vlastnost replikace a transgenerační perzistence není dostačujícím kritériem, abychom jakoukoli entitu mohli označit za individuum, jež je zároveň jednotkou přirozeného výběru. Zastánci genetického selekcionismu se tak podle Goulda dopouštějí chyby v logickém uvažování, když při pokusu definovat jednotku selekce zaměňují nezbytné podmínky, jež musí jednotka selekce splňovat, za dostačující (*the confusion of necessary with sufficient conditions*).<sup>7</sup> Nestačí tedy, aby jednotky selekce pouze přetrvávaly dostatečně dlouho a přenášely se do dalších generací, což se pochopitelně děje v případě genů. Jednotky selekce nutně musí coby koherentní celky vstupovat do přímých interakcí s prostředím (což teprve vede k diferencní replikaci). Evoluce založená na replikátorech je principiálně možná, ovšem evoluce využívající mechanismu přirozeného výběru nutně předpokládá interakci. Jenže samotné geny jak známo do přímých interakcí s prostředím nevstupují, děje se tak pouze zprostředkovaně skrze organická těla. Geny nemohou vstupovat do přímých interakcí s prostředím už jen proto, že interakce mezi geny (během ontogeneze a morfogeneze) nejsou aditivní, nýbrž nelineární – Gould mluví o emergentních<sup>8</sup> vlastnostech organismů. Emergentní vlastnosti jakýchkoli evolučních individuí (tedy i organismů) nutně vyvstávají jako důsledek interakce částí,

---

6 Williams, G. *Adaptation and Natural Selection*. Princeton: Princeton University Press, 1966; Dawkins, R. *The Selfish Gene*. Oxford: Oxford University Press, 2006.

7 Gould, S. J. *The Structure of Evolutionary Theory*. Cambridge: Harvard University Press, 2002, s. 619.

8 Emergentní vlastnosti jsou takové znaky organismů, jež nevysvětlíme aditivní součinností částí, z kterých sestávají, nebo příčin, které je zakládají.

kteřé tato individua konstituují.<sup>9</sup> Dostáváme se k otázce „kdo má koho“: mají geny svůj organismus, nebo naopak organismus má své geny?

Někde mezi Gouldem a genocentristy stojí David Hull, podle něhož nelze jednoznačně usuzovat na nějakou jednotku přirozeného výběru, neboť ten sestává ze dvou komponent: replikace a interakce.<sup>10</sup> Primární a zpravidla výlučnou jednotkou replikace jsou geny, zatímco interakce je doménou vícera úrovní organizace, geny počínaje a populacemi jednotlivých druhů konče. Selektce je pak výsledkem souhry těchto dvou procesuálních složek. David Hull po vzoru Dawkinsovy myšlenky replikátoru definuje interaktor obecně jako jakoukoli soudržnou entitu, která přímo (nezprostředkovaně) interaguje s prostředím, a tak zapřičiňuje diferenční výskyt replikátorů. Gould posléze vychází z Hulla, když klade důraz na interakci coby kauzální faktor selektce. Interaktory, nikoli replikátory, jsou dle Goulda skutečnými kauzálními agens. Replikátory samozřejmě také hrají svou podstatnou evoluční úlohu, ale ta spočívá spíše ve „vedení záznamů o průběhu selektce“ – v jakémisi „evolučním účetnictví“ (*bookkeeping*). Tento rozvrh pak Gouldovi umožní postulovat hierarchickou teorii selektce za předpokladu, že interakce je kauzálním zdrojem přirozeného výběru a interaktory na jednotlivých úrovních organizace představují legitimní evoluční individua.<sup>11</sup>

Evoluce bezpochyby probíhá simultánně na mnoha úrovních organizace. Otázkou však je, jestli k evoluci na sub- a supraorganismálních úrovních dochází přirozeným výběrem, jenž je pouze nepřímým důsledkem interakce organismů, anebo je přímo zakládán interakcí příslušných supraorganismálních nebo suborganismálních entit. Evoluci na jiných než organismálních úrovních lze totiž ve valné většině případů vysvětlit jako výsledek interakce mezi jednotlivými organismy, které celkem neproblematicky splňují všechna kritéria evoluční individuality.<sup>12</sup>

Pokud selektce skutečně působí na různých úrovních biologické hierarchie, potom buněčné linie, druhy, klady apod. musí vykazovat řadu znaků, jejichž produktem je *fitness* specifická dané úrovni, jež nemůže být redukována na *fitness* jiné úrovně, v klasickém darwinovském rozvrhu pak na úroveň organismálních individuí.<sup>13</sup> Výsledek Gouldova tažení na hierarchickou expanzi

<sup>9</sup> Gould, S. J., Lloyd, E. A. Individuality and Adaptation Across Levels of Selection: How Shall We Name and Generalize the Unit of Darwinism? *Proceedings of the National Academy of Sciences*. Roč. 96, 1999, s. 11904–11909.

<sup>10</sup> Hull, D. L. Individuality and Selection. *Annual Review of Ecology and Systematics*. Roč. 11, 1980, s. 311–332.

<sup>11</sup> Gould, *The Structure of Evolutionary Theory*, viz výše, s. 619.

<sup>12</sup> Ayala, F. J. The Structure of Evolutionary Theory: On Stephen Jay Gould's Monumental Masterpiece. *Theology and Science*. Roč. 3, 2005, s. 97–117.

<sup>13</sup> Erwin, D. H. One Very Long Argument. *Biology and Philosophy*. Roč. 19, 2004, s. 17–28.

selekce na sub- a supraorganismální úrovně tak zůstává předmětem diskuze. Cílem tohoto krátkého uvedení není vyřešit otázku možnosti hierarchické expanze teorie selekce nebo problematiku evoluční individuality. Chceme jen poukázat na zdánlivě samozřejmou skutečnost, že nejméně problematickým reprezentantem evolučního individua je nakonec jak z teoretických, tak z empirických důvodů organismus.

V jedné věci se Gould a Dawkins shodují. Oba v posledku zdůrazňují, že naše lidská perspektiva vnímání je zkreslující v důsledku našeho postavení jakožto organismů v rámci biologické hierarchie. To je bezpochyby pravda. Jejich problém ovšem spočívá v tom, že se spokojí s tímto tvrzením, aniž by se dále zabývali otázkou, do jaké míry je toto zkreslení omezující a jestli je lze racionálními prostředky vůbec uspokojivě překonat. Gould i Dawkins naše omezení prostě použijí jako argument pro své teoretické úvahy. A tak jsme jednou omezení pochopit, že i jiné úrovně organizace jsou vlastně také reálná evoluční individua, tak jako organismální jedinci. Jindy si zase musíme uvědomit z „logiky“ vyplývající nutnost, že jsme ve skutečnosti sofistikovanými obaly nepohnutých replikátorů, které si skrze nás vyřizují své evoluční účty. Jaká je tedy pravděpodobnost, že podobné vize nejsou jen dalšími představami organismů omezených svým vlastním měřítkem?

Definicí obecného konceptu interaktoru a zdůrazněním jeho nezbytné úlohy pro existenci přirozeného výběru David Hull oslabil hegemonii replikátoru coby jediné a ultimátní instance evolučního procesu. Gould na Hulla v jistém smyslu navazuje. Genetickým replikátorům ubírá úlohu aktivních evolučních agens a jejich úlohu vidí v zanechávání záznamu v důsledku třídění. Naproti tomu evoluční individuum podle něj musí být zároveň interaktor. Z tohoto vývoje lze učinit dva závěry: (1) geny pozbyly svou ústřední úlohu a nadále nesplňují definici evolučního individua a nutně nemohou být jednotkou přirozeného výběru; (2) extrapolace evoluční individuality a selekce na jiné sub- a supraorganismální úrovně biologické hierarchie je problematická jak definičně, tak z hlediska empirické evidence.

Organismus je úrovní velmi specifickou, neboť na rozdíl od vyšších úrovní hierarchie obsahuje části, jimž shora vnucuje funkcionalitu v rámci organizovaného celku. Není tedy možné, aby jednotlivé části organismu (např. orgány nebo buněčné linie) podléhaly kompetici, nebo aspoň ne do té míry, jakou nacházíme v rámci individuí tvořících populace. Silná konkurence uvnitř organismu by vedla k jeho rychlé smrti a potažmo i k neexistenci této pro mnohé základní úrovně darwinovských individuí. Čím hlouběji v rámci jednotlivých úrovní hierarchie sestupujeme, tím slabší jsou omezení vyplývající z funkcionální totality organismu. Na nižších suborganismálních úrovních, typicky v případě genů, mohou proliferační a selekční procesy probíhat

snadněji, protože mutace a proliferace genetických elementů se nemusí nutně projevat ve fenotypu, čímž unikne „pozornosti“ systémů pro zachování funkcionální integrity organismu.<sup>14</sup> Z důvodu vysoké funkční provázanosti a integrace organického celku se selekce zvláště intenzivně uplatňuje právě na organismální úrovni (kompetice mezi organismy) spíše než na úrovni částí organismů anebo naopak na úrovni skupin organismů. Samotná funkční integrita je v jistém smyslu i důsledkem působení přirozeného výběru mezi organickými individui, neboť dokonaleji organizované funkční jednotky mají selekční výhodu. Tato pozitivní zpětná vazba mezi funkční integrací a přirozeným výběrem dala vzniknout klasickým, tzv. paradigmatickým<sup>15</sup> neboli unitárním typům organismů<sup>16</sup>, jejichž příkladem jsou třeba obratlovci. Narušená zpětnovazebná dynamika mezi funkční integrací a selekcí tak může potenciálně vést k evoluční nestabilitě méně integrovaných tranzitivních úrovní individuality. Tím by se mohla potenciálně vysvětlit relativní vzácnost přechodných úrovní individuality, jako jsou kolonie sociálního hmyzu, jež v některých svých aspektech připomínají paradigmatické organismy.<sup>17</sup>

Organismy se liší ještě v jedné podstatné vlastnosti, kterou populace či druhy nemají. Jsou to vysoce integrované entity s maximální v přírodě pozorovanou mírou sebe-vztažnosti, která zakládá možnost prožívání světa. V jejich evoluci se tedy mohou uplatňovat mechanismy, které jsou na jiných rovinách nemyslitelné, například pohlavní výběr, Baldwinův efekt nebo mechanismus sémiotické koopce a selekce.<sup>18</sup> Všude tam, kde narážíme na interpretační aktivitu (např. vkus samic) a autonomii živých subjektů, je nutné biologické procesy myslet z organismální perspektivy (což je i perspektiva volně žijících buněk). Evoluční procesy je nakonec možné dělit na ty, které jsou ovlivňovány subjekt-specifickou percepcí organismů, a na ty ostatní, kde aktivita subjektu nehraje zásadní roli.<sup>19</sup>

---

<sup>14</sup> Gould, Lloyd, Individuality and Adaptation across Levels of Selection: How Shall We Name and Generalize the Unit of Darwinism?, viz výše.

<sup>15</sup> Wilson, J. *Biological Individuality: The Identity and Persistence of Living Entities*. Cambridge: Cambridge University Press, 1999.

<sup>16</sup> Santelices, B. How Many Kinds of Individual Are There? *Trends in Ecology & Evolution*. Roč. 14, 1999, s. 152–155.

<sup>17</sup> Pepper, J. W., Herron, M. D. Does Biology Need an Organism Concept? *Biological Reviews*. Roč. 83, 2008, s. 621–627.

<sup>18</sup> Maran, T., Kleisner, K. Towards an Evolutionary Biosemiotics: Semiotic Selection and Semiotic Co-option. *Biosemiotics*. Roč. 3, 2010, s. 189–200; Kleisner, K. Perceive, Co-opt, Modify, and Live! Organism as a Centre of Experience. *Biosemiotics*. Roč. 4, 2011, s. 223–241.

<sup>19</sup> Maran, T. John Maynard Smith's Typology of Animal Signals: A View from Semiotics. *Sign Systems Studies*. Roč. 37, 2009, s. 477–497; Corning, P. A. Evolution 'on Purpose': How Behaviour has Shaped the Evolutionary Process. *Biological Journal of the Linnean Society*. Roč. 112, 2013, s. 242–260.

V následujícím textu se soustředíme na interakci mezi organismy. Evolučním důsledkem meziorganismální interakce byla evoluce komplexních sofistikovanych povrchů, jež zastávají celou řadu klíčových úloh včetně komunikace, a podtrhují tak funkční jednotu organického celku. Jakkoli meziorganismální komunikace nabývá celé řady smyslových modalit (olfaktorické, akustické, hmatové, behaviorální), v této kapitole se soustředíme převážně na její vizuální stránku. Nejprve se zaměříme na utváření a biologický význam exponovaných povrchů obratlovců, nastíníme mechanismy koevoluce zrakového vnímání a zbarvení, abychom se v posledku dostali až k lidským smyslům nepřístupnému ultrafialovému světu bezobratlých.

### Stavební kameny exponovaných povrchů obratlovců

Povrchy těl obratlovců (Vertebrata) jsou pokryté vícevrstevnou kůží, která tvoří hlavní bariéru mezi útroby živočichů a vnějším prostředím. Kůže je původem z ektodermy, ze kterého vznikají nejrůznější deriváty, jako jsou oči a zuby (které jsou však tvořené více typy buněk různého embryonálního původu) nebo rohy. Patří sem také šupiny, chlupy či peří, tedy deriváty epidermis (pokožky) sloužící přímo k pokryvu tělního povrchu. Jednou z důležitých vlastností tělního pokryvu u obratlovců je podobně jako u bezobratlých jeho schopnost pohlcovat a odrážet světelné záření – tak vzniká jeho barva. Tato vlastnost může být u některých skupin velmi redukována; dochází k tomu často u tvorů (nebo jejich vývojových stadií), kteří se světlem nepřichází do styku, např. jeskynní ryby, macarátí (Proteidae), surýni (Sirenidae) nebo hlubokomořští žraloci a ryby. Zvláštní vztah ke světlu mají buněčné produkty krystaliny, které vytváří čočku komorového oka obratlovců, a které se naopak starají o to, aby světlo procházelo dokonale a specificky soustředěně do prostoru dutiny vyplněné sklivcem a dopadalo na sítnici. U ryb (Osteichthyes) a obojživelníků (Amphibia) je barevnost vlastností i jejich nejranějších vývojových stadií (už ve stavu jednobuněčnosti).<sup>20</sup> Barevný může být jak samotný holý povrch, tak jeho deriváty.

Zbarvení může být produkováno složením extracelulárních tekutin svrchní tkáně.<sup>21</sup> Další příčinou zbarvení může být uspořádání polymerových vláken, která tvoří kůži. Mezi ně patří například keratiny, které jsou produktem

<sup>20</sup> Bagnara, J. T. The Amphibian Egg as a Pigment Cell. *Yale Journal of Biology and Medicine*. Roč. 57, 1984, s. 335.

<sup>21</sup> Tato možnost je hypotetická a v literatuře se nám nepodařilo najít dobře zdokumentovaný případ takového zbarvení. Nicméně například prokrvení je zbarvení pomocí tekutiny, která je extracelulární. Krev ale sama obsahuje buňky. Zbarvení pomocí prokrvení můžeme pozorovat u lidí při náhlém zčervenání v obličeji nebo třeba u laloků krocanů. Ani krví způsobené zbarvení však není v literatuře příliš dobře dokumentované.



buněk keratinocytů,<sup>22</sup> či extracelulární proteiny kolageny produkované buňkami fibroblasty.<sup>23</sup> Výsledná barva vzniká odrazem dopadajícího světla od uspořádaných svazků vláken. Strukturální zbarvení zprostředkované kolageny můžeme najít především u ptáků (*Aves*), na peřím nepokryté holé kůži hlavy. U ptáků vzniklo takové zbarvení nezávisle u mnoha skupin.<sup>24</sup> Stejný typ zbarvení nalézáme také na šourcích a obličejích různých savců (např. mandril *Mandrillus sphinx*, kočkodan *Chlorocebus aethiops pygerythrus*, vačice *Marmosa robinsoni*).<sup>25</sup> Keratinem se plní buňky pokožky, utváří se některé šupiny a jejich povrchy, struktura chlupů i vlasů a struktura peří. Například černé vzory na zádech zmije *Bitis gabonica* jsou výsledkem uspořádaných nanostruktur na povrchu šupin, jež vytváří jakési nanočerné komory, které pohltí veškerou světelnou energii.<sup>26</sup> Často se také můžeme setkat s opalizací, která je způsobena lomem světla na mikroskopických strukturách na povrchu různorodých šupin či holých povrchů. Modré zbarvení peří tučňáků *Eudyptula albosignata*<sup>27</sup> nebo stříbrné zbarvení anhingy americké (*Anhinga anhinga*) je dáno strukturou, povrchem nebo uspořádáním vlášení pírek.<sup>28</sup>

Buňky, které mají optické vlastnosti, označujeme jako chromatofory a u obratlovců jsou speciálním případem buněk neurální lišty – pigmentových buněk. Pigmentové buňky mohou být přítomny v dermis (škára) i přímo epidermis (pokožka), kterou od dermis dělí bazální membrána, a právě pro pigmentové buňky je typické, že jako jedny z mála buněčných typů mohou bazální membránou procházet.

Barva tělního povrchu poikilothermních obratlovců (ryby, obojživelníci, šupinatí plazi – Lepidosauria a bazální Archosauria – želvy – Testudines

---

22 Galvin, S., Loomis, C., Manabe, M., Dhouailly, D., Sun, T.-T. The Major Pathways of Keratinocyte Differentiation as Defined by Keratin Expression: An Overview. *Advances in Dermatology*. Roč. 4, 1989, s. 277–300.

23 Van der Rest, M., Garrone, R. Collagen Family of Proteins. *The FASEB Journal*. Roč. 5, 1991, s. 2814–2823.

24 Prum, R. O., Torres, R. Structural Colouration of Avian Skin: Convergent Evolution of Coherently Scattering Dermal Collagen Arrays. *The Journal of Experimental Biology*. Roč. 206, 2003, s. 2409–2429.

25 Prum, R. O., Torres, R. Structural Colouration of Mammalian Skin: Convergent Evolution of Coherently Scattering Dermal Collagen Arrays. *The Journal of Experimental Biology*. Roč. 207, 2004, s. 2157–2172.

26 Spinner, M., Kovalev, A., Gorb, S. N., Westhof, G. Snake Velvet Black: Hierarchical Micro- and Nanostructure Enhances Dark Colouration in *Bitis Rhinoceros*. *Scientific Reports*. Roč. 3, 2013, s. 1846.

27 D'Alba, L., Saranathan, V., Clarke, J. A., Vinther, J. A., Prum, R. O., Shawkey, M. D. Colour-producing  $\beta$ -keratin Nanofibres in Blue Pinguin (*Eudyptula minor*) Feathers. *Biological Letters*. Roč. 7, 2011, s. 543–546.

28 Shawkey, M. D., Maia, R., D'Alba, L. Proximate Bases of Silver Color in Anhinga (*Anhinga anhinga*) Feathers. *Journal of Morphology*. Roč. 272, 2011, s. 1399–1407.

a krokodýli – Crocodilia), tak jak ji přijímá naše oko, je často výsledkem souhry až tří typů buněk s různými optickými vlastnostmi, se základním horizontálním uspořádáním v dermis (od povrchu směrem dovnitř těla): xantoforů (ve vnitrobuněčných organelách zvaných guanosomy či pterinosomy obsahují v tuku rozpuštěná pigmentová barviva), iridoforů (obsahují krystalické pelety) a melanoforů (obsahují barviva melaniny v organelách melanosomech). Tyto tři typy buněk mohou být uspořádány do specializované pohárkovité struktury, tzv. dermální chromatoforové jednotky, která je známa u ryb<sup>29</sup> a žab<sup>30</sup> a hypoteticky může být přítomna také u chameleonů (Chamaeleoninae), anolisů (Polychrotinae) a gekonů (Gekkonidae). Ale ne vždy jsou uspořádány v této jednotce, v takovém případě tvoří v dermis pouze souvislou trojvrstvu, a to po celém povrchu těla (např. hadi – Serpentes<sup>31</sup> či scinkové – Scincomorpha<sup>32</sup>). Melanofory v dermální chromatoforové jednotce zasahují svými výběžky nad vrchní dvě vrstvy pigmentových buněk, a mohou tak přemístěním melanosomů způsobit náhlé tmavnutí.<sup>33</sup> Změna barvy může být také vyvolána přesunem či přeměnou celých barvotvorných buněk.<sup>34</sup> Poměr síly vrstev jednotlivých typů buněk, tloušťka a počet krystalických pelet či typ barviva rozhodují o výsledné barvě kůže.<sup>35</sup> Existují však i modifikace tohoto základního uspořádání, například sloučením funkce xantoforu a iridoforu do jedné buňky,<sup>36</sup> vznikají tak tzv. mozaikovitě chromatofory.

---

29 Goda, M., Ohata, M., Ikoma, H., Fujiyoshi, Y., Sugimoto, M., Fujii, R. Integumental Reddish-violet Coloration Owing to Novel Dichromatic Chromatophores in the Teleost Fish, *Pseudochromis diadema*. *Pigment Cell & Melanoma Research*. Roč. 24, 2011, s. 614–617.

30 Bagnara, J. T., Taylor, J. D., Hadley, M. E. The Dermal Chromatophore Unit. *The Journal of Cell Biology*. Roč. 38, 1968, s. 67–79.

31 Gosner, K. L. Histological Notes on the Green Coloration of Arboreal Pit Vipers: Genus *Bothrops*. *Journal of Herpetology*. Roč. 23, 1989, s. 318–320.

32 Kuriyama, T., Miyaji, K., Sugimoto, M., Hasegawa, M. Ultrastructure of the Dermal Chromatophores in a Lizard (Scincidae: *Plestiodon latiscutatus*) with Conspicuous Body and Tail Coloration. *Zoological Science*. Roč. 23, 2006, s. 793–797.

33 Goda, M., Fujii, R. Coloration and Chromatophores of the Domino Damsel, *Dascyllus trimaculatus*. *Zoological Science*. Roč. 18, 2001, s. 165–174.

34 Nielsen, H. I. Ultrastructural Changes in the Dermal Chromatophore Unit of *Hyla arborea* during Color Change. *Cell Tissue Research*. Roč. 194, 1978, s. 405–418.

35 Kuriyama, Miyaji, Sugimoto, Hasegawa, Ultrastructure of the Dermal Chromatophores in a Lizard (Scincidae: *Plestiodon latiscutatus*) with Conspicuous Body and Tail Coloration, viz výše.

36 Goda, Ohata, Ikoma, Fujiyoshi, Sugimoto, Fujii, Integumental Reddish-violet Coloration Owing to Novel Dichromatic Chromatophores in the Teleost Fish, *Pseudochromis Diadema*, viz výše; Goda, M., Fujii, R. The Blue Coloration of the Common Surgeonfish, *Paracanthurus hepatus* – II. Color Revelation and Color Changes. *Zoological Science*. Roč. 15, 1998, s. 323–333.

Haterie novozélandská (*Sphenodon punctatus*) má melanofory v pokožce i ve škáře. Epidermální melanofory tvoří tmavé zbarvení malých ploch (jako jsou proužky či tečky), ale u větších ploch se na tmavém zbarvení podílejí i melanofory dermální. Ve škáře haterie jsou také dobře diferencované xantofory a iridofory, nikdy však netvoří funkční dermální chromatoforové jednotky,<sup>37</sup> a haterie tak není schopná náhlé barvoměny.

U želv se po histologické stránce zbarvení povrchu přímo věnoval pouze Alibardi.<sup>38</sup> Melanocyty se u želv vyskytují v epidermis i v dermis. Tmavá místa na povrchu těla želv mohou být trojího původu, epidermálního a dermálního zároveň, pouze epidermálního nebo pouze dermálního. Xantofory byly v kůži želv nalezeny pouze zřídka. Pterinosomy (orgány xantoforů) byly přítomny i v buňkách obsahujících melanosomy, a tyto buňky můžeme tedy považovat za příklad mozaikovitých chromatoforů. Xantofory se vyskytovaly častěji u želv *Apalone spinifera* a *Emydura macquarii* než u *Chrysemys picta*. Během svého výzkumu Alibardi překvapivě nezaznamenal v kůži přítomnost iridoforů. U kožnatky čínské (*Pelodiscus sinensis*) iridofory pozoroval Gopalakrishnakone,<sup>39</sup> většinou v těsné blízkosti melanoforů. Iridofory v cytoplazmě buněk kožnatky obsahovaly dobře utvořené krystalické pelety obdélníkového tvaru s pravidelným uspořádáním. Autor bohužel nspecifikoval, kde přesně iridofory pozoroval, avšak poznamenal, že byly daleko častější než xantofory. Gopalakrishnakone zveřejnil fotografie z elektronového mikroskopu, kde jsou iridofory mezi kosterním svalem a cévou. Melanofory Gopalakrishnakone pozoroval na rozličných místech v těle, jako jsou vnitřní orgány a jejich blanité úpony, kolem nervů a cév, v blízkosti kosterních svalů a dokonce v kostní dřeni. Na základě reakcí melanoforů na různé hormony konstatoval jejich společný původ s dermálními melanofory. Melanofory v útrobach želv zřejmě plní ochranné nebo tepelněregulační funkce.<sup>40</sup> Xantofory pak Gopalakrishnakone pozoroval pouze v kůži. Mezi želvami nalézáme druhy jako například *Terrapene carolina mexicana*, které disponují modravým zbarvením kůže (viz obrazovou tabuli 1). Právě modré zbarvení je často způsobené přítomností iridoforů a teprve výzkum dalších druhů přispěje k odhalení možných způsobů zbarvení želv.

<sup>37</sup> Alibardi, L. Histology, Ultrastructure, and Pigmentation in the Horny Scales of Growing Crocodylians. *Acta Zoologica*. Roč. 92, 2011, s. 187–200.

<sup>38</sup> Alibardi, L. Observations on the Ultrastructure and Distribution of Chromatophores in the Skin of Chelonians. *Acta Zoologica*. Roč. 94, 2013, s. 222–232.

<sup>39</sup> Gopalakrishnakone, P. The Structure of the Pigment Cells in the Turtle *Trionyx sinensis*. *Archivum histologicum japonicum*. Roč. 49, 1986, s. 421–435.

<sup>40</sup> Bagnara ex Gopalakrishnakone P. The Structure of the Pigment Cells in the Turtle *Trionyx sinensis*, viz výše.

U krokodýlů je zbarvení dáno přítomností chromatoforů jak v dermis, tak v epidermis. Nejtmavěji zbarvené oblasti tělního povrchu jsou způsobeny pigmentací keratinocytů v epidermis. Melanofory krokodýlů v dermis jsou rozptýlené nebo více koncentrované a podporují již přítomné tmavé skvrny v epidermis. Xantofory a iridofory u nich nalézáme v dermis, avšak není zde patrné vzájemné horizontální uspořádání jako u lepidosaurů a nejsou tak hojné jako u obojživelníků a ryb. Pelety iridoforů u krokodýlů tvoří dobře definované obdélníkovité krystalické pelety jako u jiných poikilothermních obratlovců, nýbrž neformované orgány nevykazující pravidelnost.<sup>41</sup>

U homeothermních obratlovců (ptáků – apikální Archosauria a savců – Synapsida) je zbarvení dáno spíše než uspořádáním pigmentových buněk proměnou struktury a hojností pigmentu v pigmentových buňkách a na nich napojených epidermálních derivátech.<sup>42</sup> Zbarvení peří je výsledkem přítomnosti pigmentových buněk na bázi vznikajícího pera v epidermis. Pigmentové buňky pomocí svých panožek distribuují melanosomy do keratinocytů, jež dávají vzniknout peru. Formování a distribuce pigmentu je po plném vývoji pera definitivní a už se do dalšího přepeření nemění.<sup>43</sup> Do pera se během růstu dostávají i další barviva. Výsledné zbarvení je však ovlivněno i strukturálními vlastnostmi peří a mechanismy, které stojí za výslednou barvou povrchu ptáků, jsou zatím zahaleny tajemstvím, podobně jako originální funkce peří.<sup>44</sup> Vždyť základní přehled o vývoji a evoluci peří jsme získali teprve v posledním desetiletí.<sup>45</sup>

U savců je zbarvení určováno pouze melanofory situovanými v epidermis či ve vlasových cibulkách (folikulech).<sup>46</sup> Melanofory a keratinocyty v epidermis fungují ve vzájemné úzké souhře a vytvářejí tzv. epidermální melaninovou

---

41 Alibardi, Histology, Ultrastructure, and Pigmentation in the Horny Scales of Growing Crocodylians, viz výše.

42 Kelsh, R. N., Harris, M. L., Colanesi, S., Erickson, C. A. Stripes and Belly-spots – A Review of Pigment Cell Morphogenesis in Vertebrates. *Seminars in Cell & Developmental Biology*. Roč. 20, 2009, s. 90–104.

43 Strong, R. M. The Development of Color in the Definitive Feather. *Science*. Roč. 15, 1902, s. 527.

44 Prum, R. O., Williamson, S. Reaction-diffusion Models of Within-feather Pigmentation Patterning. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*. Roč. 269, 2002, s. 781–792.

45 Prum, R. O., Brush, A. H. The Evolutionary Origin and Diversification of Feathers. *Quarterly Review of Biology*. Roč. 77, 2002, s. 261–295.

46 Stewart, E., Ajao, M. S., Ihunwo, A. O. Histology and Ultrastructure of Transitional Changes in Skin Morphology in Juvenile and Adult Four-striped Mouse (*Rhabdomys pumilio*). *The Scientific World Journal*. Roč. 2013, s. 1–11.

jednotku, ve které mají melanofory za úkol zásobovat pomocí melanosomů okolní keratinocyty a ty jim naopak poskytují růstové faktory.<sup>47</sup>

Na rozdíl od savců či ptáků, u nichž jsou z pigmentových buněk přítomny pouze melanofory, se u ostatních obratlovců objevují další dva typy chromatoforů. Bagnara et al.<sup>48</sup> navrhli model společného původu všech tří typů pigmentových buněk. Ten byl založen na srovnávání vzniku vnitrobuněčných váčků chromatoforů, přičemž normálně se pigmentové buňky jednoznačně liší strukturou i obsahem váčků podle jednotlivých typů, avšak u tzv. mozaikových chromatoforů nacházíme morfologické i biochemické znaky společné s více druhy váčků. To vedlo autory k hypotéze společného původu pigmentových buněk a váčků z „primordiálního vesikulu“. Mozaikové chromatofory byly nalezeny například v duhovce holubů,<sup>49</sup> v tapetum lucidum trnuchy atlantské (*Dasyatis sabina*),<sup>50</sup> v kůži rosničky kaňonové (*Hyla arenicolor*)<sup>51</sup> či severoamerické užovky *Thamnophis proximus*<sup>52</sup>.

Se zvětšující se dostupností molekulárních technik a nástupem EvoDevo (evolučně vývojové biologie) se otevřely nové možnosti testovat společný původ různých typů pigmentových buněk. Ukazuje se, že v těle existují dvě hlavní dráhy migrace buněk neurální lišty – laterální („povrchová“ – buňky migrují do boků těla mezi somity a ektodermem) a mediální („vnitřní“ – migrace probíhá směrem k břišní straně živočicha mezi somitem a neurální trubicí). Na rozdíl od melanoforů, které jsou schopny migrovat oběma cestami, migrují xantofory pouze laterální a iridofory pouze mediální cestou.<sup>53</sup> Migrační osudy buněk se zdají být určené již v premigratorním stadiu – těsně po nebo ještě před delaminací od neurální lišty.

---

47 Quevedo, W. C. Jr. Epidermal Melanin Units: Melanocyte-keratinocyte Interactions. *American Zoologist*. Roč. 12, 1972, s. 35–41.

48 Bagnara, J. T., Matsumoto, J., Ferris, W., Frost, S. K., Turner, W. A. Jr., Tchen, T. T., Taylor, J. D. Common Origin of Pigment Cells. *Science*. Roč. 203, 1979, s. 410–415.

49 Tamtéž.

50 Arnott, H. J., Best, A. C. G., Nicol, J. A. C. Occurrence of Melanosomes and of Crystal Sacs within the Same Cell in the Tapetum Lucidum of the Stingree. *Journal of Cell Biology*. Roč. 46, 1970, s. 426–427.

51 Taylor, J. D. The Presence of Reflecting Platelets in Integumental Melanophores of the Frog, *Hyla arenicolor*. *Journal of Ultrastructure Research*. Roč. 35, 1971, s. 532–540.

52 Bagnara, Matsumoto, Ferris, Frost, Turner, Tchen, Taylor, Common Origin of Pigment Cells, viz výše.

53 Kelsh, Harris, Colanesi, Erickson, Stripes and Belly-spots – A Review of Pigment Cell Morphogenesis in Vertebrates, viz výše.

Smyslovým orgánem pro přijímání barevných signálů je oko. Právě oči jsou prvním místem zpracování a filtrace vizuálních signálů a až následně je signál zpracováván nervovou soustavou. Nilsson<sup>54</sup> ve své úvaze nad evolučním původem očí a vizuálně řízeným chováním zavádí pojem „*sensory task*“ (smyslový účel), který definuje jako systematickou behaviorální či fyziologickou odpověď na konkrétní přijatý podnět. Dále poznamenává: „Smyslové soustavy mohou zlepšit biologickou fitness pouze prostřednictvím odpovědí, které spouštějí... Smyslové a výkonné orgány mají tedy význam pouze ve vzájemné kombinaci a evoluční vývoj smyslů je úzce spjat s vývojem pohybu a chování.“<sup>55</sup> Systém vizuální percepce a optické signalizace u živočichů si lze také představit na příkladu dvou rádiových zařízení (přijímač a vysílač), která mají za úkol spolu komunikovat. Aby tato komunikace byla možná, musí být naladěna na stejné „frekvenci“ a musí existovat „osoba“, která z jednoho zařízení zprávu vysílá, a na druhém konci „osoba“, která zprávu přijímá a interpretuje. Pouze tak mají obě pomyslná rádia ve světě smysl a pouze tehdy dojde k naplnění jejich základního účelu.

Recentní studie nám nabízí pozoruhodný náhled na spojení evoluce očí a barevných vzorů na tělech organismů. U vyhynulé mušky *Eohelea petrunkevitchi*, která byla nalezena v baltském jantaru, se zachovala na křídle struktura, která svým tvarem i povrchem dokonale připomíná složené oko členovců a na první pohled je od něj nerozlišitelná.<sup>56</sup> U motýlů rodu *Heliconius* ukázalo mapování genetické exprese, že na výstavbě červeného vzoru na křídlech se podílí významný regulátor výstavby oka bezobratlých, gen *optix*.<sup>57</sup> Také u obratlovců existuje spojitost mezi regulací vývoje oka a vývojem zbarvení povrchu těla. Důležitým společným regulačním faktorem pro vývoj očí a zbarvení je v tomto případě gen *mitf* (*microphthalmia-associated transcription*

<sup>54</sup> Nilsson, D.-E. The Evolution of Eyes and Visually Guided Behaviour. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. Roč. 364, 2009, s. 2833–2847.

<sup>55</sup> Tamtéž.

<sup>56</sup> Dinwiddie, A., Rachootin, S. Patterning of a Compound Eye on an Extinct Dipteran Wing. *Biology Letters*. Roč. 7, 2011, s. 281–284.

<sup>57</sup> Reed, R. D., Papa, R., Martin, A., Hines, H. M., Counterman, B. A., Pardo-Diaz, C., Jiggins, C. D., Chamberlain, N. L., Kronforst, M. R., Chen, R., Halder, G., Nijhout, H. F., McMillan, W. O. Optix Drives the Repeated Convergent Evolution of Butterfly Wing Pattern Mimicry. *Science*. Roč. 333, 2011, s. 1137–1140; Hines, H. M., Papa, R., Ruiz, M., Papanicolaou, A., Wang, C., Nijhout, H. F., McMillan, W. O., Reed, R. D. Transcriptome Analysis Reveals Novel Patterning and Pigmentation Genes Underlying Heliconius Butterfly Wing Pattern Variation. *BMC Genomics*. Roč. 13, 2012, s. 288; Martin, A., McCulloch, K. J., Patel, N. H., Briscoe, A. D., Gilbert, L. E., Reed, R. D. Multiple recent co-options of Optix associated with novel traits in adaptive butterfly wing radiations. *EvoDevo*. Roč. 4, 2014, s. 7.

factor).<sup>58</sup> V oku obratlovců nacházíme dva typy chromatoforů. Prvními jsou uveální pigmentové buňky (které mají shodný embryonální původ jako tělní pigmentové buňky – melanofory), jejichž funkcí je zejména zajišťovat, aby světlo do oka procházelo pouze skrz zornici, ale nacházíme je i v podpůrné vrstvě choroidu). Druhým typem jsou pigmentové buňky retinálního pigmentového epitelu (RPE)<sup>59</sup> a pro tento text je důležité uvědomit si zejména jejich nepostradatelnou úlohu při přeměně 11-cis-retinalu na all-trans-retinal (viz poznámku pod čarou). Na rozdíl od tělních pigmentových buněk, které vznikají z neurální lišty, jsou pigmentové buňky RPE původem z nervové trubice. Při ontogenezi oka je oblast optického vřáčku zprvu definována překrývající se expresí genů *pax6*, *pax2* a právě *mitf*. Později ve vývoji jsou tyto geny exprimovány specificky v jednotlivých vývojových modulech oka – *pax6* v sítnici, *pax2* v oční stopce a *mitf* v RPE.<sup>60</sup> Mutace v genu *mitf* může vést k mikroftalmii (syndrom malého oka) spojené s abnormální hyperproliferací RPE a hypoproliferací sítnice. Dalšími průvodními jevy této mutace jsou neuzavření optické šterbiny, zvrásnění sítnice a může dojít i k produkci tmavého pigmentu v buňkách původně určených k formování sítnice či k vzniku

- <sup>58</sup> Planque, N., Raposo, G., Leconte, L., Anezo, O., Martin, P., Saule, S. Microphthalmia Transcription Factor Induces Both Retinal Pigmented Epithelium and Neural Crest Melanocytes from Neuroretina Cells. *Journal of Biological Chemistry*. Roč. 279, 2004, s. 41911–41917.
- <sup>59</sup> Buňky RPE mají několik základních funkcí – 1) při fotorepci u obratlovců na fotosenzorických proteinech, opsinech, navázaný 11-cis-retinal přeměňuje na all-trans-retinal, to způsobí konformační změnu opsinů a spustí fototransdukční kaskádu, all-trans-retinal je pak v buňkách RPE převeden zpět na funkční 11-cis-retinal. Srov. von Lintig, J., Kiser, P. D., Golczak, M., Palczewski, K. The Biochemical and Structural Basis for Trans-to-cis Isomerization of Retinoids in the Chemistry of Vision. *Trends in Biochemical Sciences*. Roč. 35, 2010, s. 400–410. 2) Spolu s Bruchovou membránou kontrolují tok iontů, živin a metabolitů mezi sítnicí a choroidem, 3) fagocytují staré fotoreceptorické buňky. Srov. Kevany, B. M., Palczewski, K. Phagocytosis of retinal rod and cone photoreceptors. *Physiology (Bethesda)*. Roč. 25, 2010, s. 8–15. 4) Vstřebáváním energie pomáhají fotoreceptorickým buňkám zvládat její nadbytek. Srov. Sarna, T. Properties and Function of the Ocular Melanin: A Photobiophysical View. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. Roč. 12, 1992, s. 215–258. 5) Produkují růstové a cytotoxické látky regulující neadaptivní a adaptivní složky imunitního systému v oku. Srov. Sugita S., Horie, S., Nakamura, O., Futagami, Y., Takase, H., Keino, H., Aburatani, H., Katunuma, N., Ishidoh, K., Yamamoto, Y., Mochizuki, M. Retinal Pigment Epithelium-derived CTLA-2alpha Induces TGFbeta-producing T Regulatory Cells. *Journal of Immunology*. Roč. 181, 2008, s. 7525–7536. Sugita, S., Usui, Y., Horie, S., Futagami, Y., Aburatani, H., Okazaki, T., Honjo, T., Takeuchi, M., Mochizuki, M. T-cell Suppression by Programmed Cell Death 1 Ligand 1 on Retinal Pigment Epithelium During Inflammatory Conditions. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. Roč. 50, 2009, s. 2862–2870.
- <sup>60</sup> Bäumer, N., Marquardt, T., Stoykova, A., Spieler, D., Treichel, D., Ashery-Padan, R., Gruss, P. Retinal Pigmented Epithelium Determination Requires the Redundant Activities of Pax2 and Pax6. *Development*. Roč. 130, 2003, s. 2903–2915.

druhé sítnice na dorzální straně RPE. Na rozdíl od buněk RPE se u melanoforů stejná mutace v *mitf* projevuje zánikem či hypoproliferačí pigmentových buněk.<sup>61</sup> Pro melanofory (tělní pigmentové buňky) *mitf* představuje základní a univerzální signalizační rozhraní zprostředkovávající nejen buněčnou proliferaci, diferenciaci, ale je i faktorem, který určuje přežívání pigmentových buněk a zprostředkovává vnitrobuněčné signály okolním pigmentovým buňkám. Také syntéza důležitých enzymů a strukturálních proteinů v melanoforech je závislá na *mitf*, jelikož ten se může vázat do oblastí DNA spouštějících přepis oblasti, kde jsou tyto molekuly kódovány.<sup>62</sup>

Pterinosomy (organely xantoforů obsahující v tuku rozpuštěné karoteny nebo pteriny) jsou podobně jako melanosomy významnou složkou zrakového aparátu a kromě toho, že jsou součástí filtračního mechanismu fotosenzorických buněk v podobě olejových kapének,<sup>63</sup> jsou karoteny v nich rozpuštěné nepostradatelnou složkou výše zmíněného řetězce reakcí, při kterých vzniká u obratlovců i bezobratlých z all-trans-retinalu 11-cis-retinal (u *Drosophily* je účast v zrakovém aparátu zřejmě jedinou významnou funkcí karotenů v těle).<sup>64</sup> Poznání vztahů mezi genetickými sítěmi jednotlivých typů pigmentových buněk je stále v začátcích, avšak jednotlivé buňky spolu sdílí mnohé regulační mechanismy včetně důležité role *mitf*.<sup>65</sup>

Gen *mitf* vytváří v organismu různorodé izoformy na základě různých promotorů, které jsou selektivně aktivovány v melanoforech, makrofázích, osteoklastech, srdečních svalech či RPE.<sup>66</sup> Pozorování ukazují, že role *mitf* ve stimulaci a udržování melanocytů a antiproliferační role v RPE je na variantě alel nezávislá.<sup>67</sup> Exprese *mitf* byla pozorována i u pigmentovaných buněk

---

61 Bharti, K., Miller, S. S., Arnheiter, H. The New Paradigm: Retinal Pigment Epithelium Cells Generated from Embryonic or Induced Pluripotent Stem Cells. *Pigment Cell and Melanoma Research*. Roč. 24, 2010, s. 21–34.

62 Vachtenheim, J., Borovanský, J. "Transcription Physiology" of Pigment Formation in Melanocytes: Central Role of MITF. *Experimental Dermatology*. Roč. 19, 2010, s. 617–627.

63 Kirschfeld, K. Carotenoid Pigments: Their Possible Role in Protecting Eyes and Photoreceptor Cells. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. Roč. 216, 1982, s. 71–85.

64 Von Lintig, Kiser, Golczak, Paleczewski, The Biochemical and Structural Basis for Trans-to-cis Isomerization of Retinoids in the Chemistry of Vision, viz výše.

65 Kelsh, Harris, Colanesi, Erickson, Stripes and Belly-spots – A Review of Pigment Cell Morphogenesis in Vertebrates, viz výše; Hingdon, Ch. W., Mitra, R. D., Johnson, S. L. Gene Expression Analysis of Zebrafish Melanocytes, Iridophores, and Retinal Pigmented Epithelium Reveals Indicators of Biological Function and Developmental Origin. *PLoS ONE*. Roč. 8, 2013, s. e67801.

66 Vachtenheim, Borovanský, "Transcription Physiology" of Pigment Formation in Melanocytes: Central Role of MITF, viz výše.

67 Bharti, Miller, Arnheiter, The New Paradigm: Retinal Pigment Epithelium Cells Generated from Embryonic or Induced Pluripotent Stem Cells, viz výše.



oka a ve vyvíjející se čočce žahavců (konkrétně u čtyřhranky trojitě, *Tripedalia cystophora*), tedy u sesterské skupiny všech bilaterálií (bilaterália zahrnují například členovce, měkkýše a obratlovce).<sup>68</sup> Dostupná data ukazují, že oči žahavců, členovců, měkkýšů a obratlovců nejsou produktem konvergentní evoluce (tzn. vzniklé nezávisle na sobě u více rozdílných specifických předků), ale evoluce paralelní se sdílenou historií (pravděpodobně od společného předka) vývojových mechanismů a buněčných typů, tzv. hlubinné homologie (*deep homologies*) ustavené brzy v evoluci živočišné říše.<sup>69</sup> Melanofory obratlovců navíc na svém povrchu exprimují vlastní typ fotosenzorického proteinu melanopsinu, jehož aminokyselinová sekvence se nejvíce blíží opsinům hlavonožců či hmyzu (melanopsin je vytvářen především na melanoforech, avšak i v hypothalamu, v buňkách duhovky a v sítnici).<sup>70</sup>

Oba typy struktur (oko a pigmentová složka sémantického orgánu) i jejich molekulárně genetické „balíčky“ jsou evolučně odvozené od společného buněčného předka, který byl citlivý na světlo a pigmentovaný,<sup>71</sup> a v průběhu času se v různých evolučních liniích genetické sítě modifikovaly, diverzifikovaly či přijaly nové moduly.

### *Signalizace kvality pomocí exponovaných povrchů a koevoluce s kognitivním aparátem*

Některé molekuly, které hrají důležitou roli při utváření zbarvení povrchu zvířat, jsou určující i pro další vlastnosti organismu. Mutace v genech kódující tvorbu těchto látek vedou ke změně různých dalších vlastností, které ovlivňují. Takovým projevům mutací, při nichž jeden lokus (úsek DNA) ovlivňuje více znaků, říkáme pleiotropie. Pleiotropní účinky spojené se syntézou pigmentových barviv mají u obratlovců zejména receptory vázající proteinové hormony melanokortiny a jejich antagonistu, protein agouti. Receptory melanokortinu a jejich interakce s proteiny agouti určují, zda se v melanocytech

<sup>68</sup> Kozmik, Z., Ruzickova, J., Jonasova, K., Matsumoto, Y., Vopalensky, P., Kozmikova, I., Strnad, H., Kawamura, S., Piatigorsky, J., Paces, V., Vlcek, C. Assembly of the Cnidarian Camera-type Eye from Vertebrate-like Components. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. Roč. 105, 2008, s. 8989–8993.

<sup>69</sup> Shubin, N., Tabin, C., Carroll, S. Deep Homology and the Origins of the Evolutionary Novelty. *Nature*. Roč. 457, 2009, s. 818–823.

<sup>70</sup> Provenico, I., Jiang, G., De Grip, W. J., Hayes, W. P., Rollag, M. D. Melanopsin: An Opsin in Melanophores, Brain, Eye. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. Roč. 95, 1998, s. 340–345.

<sup>71</sup> Arnheiter, H. Evolutionary Biology – Eyes Viewed from the Skin. *Nature*. Roč. 391, 1998, s. 632–633; Vopalensky, P., Kozmik, Z. Eye Evolution: Common Use and Independent Recruitment of Genetic Components. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. Roč. 364, 2009, s. 2819–2832.

bude syntetizovat velmi tmavý eumelanin, nebo žlutočervený feomelanin, a mutace v lokusech kódujících tyto proteiny vedou ke změnám zbarvení obratlovců. Poznatky spojené s melanokortinovými receptory a agouti proteiny shrnul Anne-Lyse Ducrestová et al.<sup>72</sup> a poukázali na jejich význam v pohlavní aktivitě, agresivitě, reakcích na stresové podmínky, výdeji energie, růstu či spánkové aktivitě, ale zaznamenali i jejich vliv na projevy, jako je zívání, protahování se, „grooming“, průměrná srdeční aktivita či nervová regenerace, a ukázali také jasnou korelaci jejich změn s variabilitou ve zbarvení. Podobně Patricia J. Wittkoppová a Patricia Beldadeová<sup>73</sup> shrnul pleiotropní účinky mutací v genech kódujících důležité proteiny kaskád pro tvorbu pigmentů na imunitní charakteristiky, vlastnosti kutikuly, rezistenci vůči vysychání, nervovou aktivitu, životnost, krmení se, sociální chování a partnerské preference u hmyzu. Melanofory mají také fagocytující schopnost a jejich funkce v těle může být v některých případech podobná funkci některých buněk imunitního systému. Melaniny dokážou pohlcovat energii tak, že se jejich dlouhé řetězce rozvlíní (přeměna na energii kinetickou) a postupně ji přemění na teplo. Například melanosomy<sup>74</sup> vnitřního ucha chrání před nadměrnou kinetickou energií zvuků.<sup>75</sup> Právě podle variability v utváření zbarvení povrchu těla a pleiotropních účinků genů, které se na něm podílí, bylo možné vystopovat některé důležité evoluční skoky, jako je například vznik pravé endotermie.<sup>76</sup> Jak vyplývá z výše uvedeného, zbarvení organismu je přímo spojené s důležitými životními charakteristikami a může poskytovat zprávu o svém nositeli pro jeho okolí – tedy vysílat signály.

V současné době rozeznáváme dva typy zpráv pro okolí. První z nich označujeme jako signály, ty mají přímou návaznost na fyziologickou odpověď a organismus je zřejmě vyhodnocuje rychleji a daleko důrazněji. Druhým typem jsou tzv. vodítka (*cues*), která signály buď doplňují, zjemňují či působí spolu v souhrně s více „vodítky“. Pro zjednodušení však na následujících řádcích budeme používat pouze pojem signál.

Signál může nést sdělení varovné nebo hrát úlohu při kooperaci. Signály uplatňující se v období rozmnožování umožňují živočichům rozpoznávat

---

72 Ducrest, A.-L., Keller, L., Roulin, A. Pleiotropy in the Melanocortin System, Coloration and Behavioural Syndromes. *Trends in Ecology and Evolution*. Roč. 23, 2008, s. 502–510.

73 Wittkopp, P. J., Beldade, P. Development and Evolution of Insect Pigmentation: Genetic Mechanisms and the Potential Consequences of Pleiotropy. *Seminars in Cell & Developmental Biology*. Roč. 20, 2009, s. 64–71.

74 V RPE umožňují tyčinkám a čípkům vyrovnávat se s dopadajícím světlem.

75 Ústní sdělení J. Borovanského, 2013.

76 Li, Q., Clarke, J. A., Gao, K.-Q., Zhou, C.-F., Meng, Q., Li, D., D’Alba, L., Shawkey, M. D. Melanosome Evolution Indicates a Key Physiological Shift within Feathered Dinosaurs. *Nature*. Roč. 507, 2014, s. 350–353.

příslušníky vlastního druhu a v případě výběru ze strany jednoho z pohlaví se i rozhodnout mezi dvěma jedinci daného pohlaví. Pokud si jsou rozpoznávané objekty podobné, rozhodování obvykle trvá déle, na druhou stranu rychlý výběr může snižovat kvalitu volby. Jako řešení se nabízí signalizace vysokých kvalit jedince, která mimo jiné zkracuje čas nezbytný pro výběr partnera.<sup>77</sup> Mnoho živočichů využívá vícesložkovou signalizaci pro kvalitnější vyhodnocení příjemcem, takové signály jsou pak ve své kombinaci mnohem účinnější (z hlediska rychlosti reakce, rozlišovacích schopností či zapamatování si vjemu při setkání se signálem), než kdyby působily každý zvlášť.<sup>78</sup>

Signály se neuplatňují pouze v období rozmnožování, ale i v průběhu celého roku, při tvorbě společenských hierarchií. Tak se při volbě partnera nemusí vždy jednat o výběr konkrétního typu signálu, ale spíše o upřednostnění příslušníka s vyšším postavením ve skupině.<sup>79</sup> Například zbarvení hrdla a volání samečků rosníček *Hyla arborea*, přestože oba tyto signály mají pozitivní vliv na úspěch při reprodukci, nesignalizují lepší kondici samců, měřenou jako podíl hmotnosti k délce.<sup>80</sup>

U organismů, u kterých dochází k mnohonásobnému oplodnění samice několika samci, může kompetice probíhat také na „skryté“ úrovni (například kompetice spermií, kompatibilita genomů) a k výběru dochází v rovině mimo přímý vliv samice, resp. ta může na základě signálu pouze „předpokládat“ výhodnost volby kvalitnějšího samce pro skrytou kompetici na buněčné či molekulární úrovni.<sup>81</sup>

Barevné skvrny na tělech obratlovců jsou hojně diskutovány ve studiích, které se zabývají signalizací kondice. Skvrny obsahují různá barviva, zejména melaniny, pteriny, porfyriny, flavonoidy a psittacofulviny, které mají v těle zároveň alespoň částečnou antioxidační funkci.<sup>82</sup> Do středu zájmu se

<sup>77</sup> Gomez, D., Théry, M., Gauthier, A.-L., Lengagne, T. Costly Help of Audiovisual Bimodality for Female Mate Choice in Nocturnal Anuran (*Hyla arborea*). *Behavioral Ecology*. Roč. 22, 2011a, s. 889–898.

<sup>78</sup> Rowe, C. Receiver Psychology and the Evolution of Multicomponent Signals. *Animal Behavior*. Roč. 58, 1999, s. 921–931.

<sup>79</sup> Kekäläinen, J., Valkama, H., Huuskonen, H., Taskinen, J. Multiple Sexual Ornamentation Signals Male Quality and Predicts Female Preference in Minnows. *Ethology*. Roč. 116, 2010, s. 895–903.

<sup>80</sup> Gomez, D., Richardson, C., Théry, M., Lengagne, T., Léna, J.-P., Plénet, S., Jolly, P. Multimodal Signals in Male European Treefrog (*Hyla arborea*) and the Influence of Population Isolation of Signal Expression. *Biological Journal of the Linnean Society*. Roč. 103, 2011b, s. 633–647.

<sup>81</sup> V evoluční biologii bývá obecně vysvětlení výběru geneticky kvalitního reprodukčního partnera na základě přítomnosti nebo míry rozvoje jistých fenotypových znaků označováno jako „hypotéza dobrých genů“.

<sup>82</sup> McGraw, K. J. The Antioxidant Function of Many Animal Pigments: Are there Consistent Health Benefits of Sexually Selected Colourants? *Animal Behavior*. Roč. 69, 2010, s. 757–764.

však z hlediska kondiční signalizace dostávají karoteny, které mají na rozdíl od výše zmiňovaných barviv svůj původ v rostlinné potravě a živočichové si je nejsou schopni sami syntetizovat. Dostupnost karotenů přímo ovlivňuje kvalitu žlutého, oranžového nebo červeného zbarvení a signalizace jejich hladiny v těle pomocí barevné skvrny může být předmětem pohlavního výběru.<sup>83</sup> Karoteny mohou v organismu působit jako antioxidanty. Při změně podmínek či kontextu však mohou působit i prooxidačně. Například u lidí při větším tlaku kyslíku v těle ztrácí  $\beta$ -karoten své antioxidační schopnosti a působí prooxidačně, stejně jako při vysokém příjmu karotenů nad fyziologické možnosti.<sup>84</sup> Na nevýhody, které přináší zbarvení zprostředkované karoteny, jejich nebezpečnost pro organismus a současně i na význam přítomnosti těchto látek pro rozličné fyziologické procesy upozorňují mnohé práce.<sup>85</sup> Existuje závislost mezi množstvím testosteronu a kvalitou skvrny, která je tvořena karoteny.<sup>86</sup>

Spojitosť kvality signalizace s hladinou testosteronu je známa také u melaninů. V tomto případě vyvolává testosteron při vyšších koncentracích tmavší zbarvení.<sup>87</sup> Také melaniny jsou pro živé buňky v určitém smyslu velmi nebezpečné a obzvláště pak z nich odvozené chinony jsou značně toxické sloučeniny (velká reaktivita je předurčuje k vychytávání volných radikálů vzniklých oxidativním stresem). Při porušení membrány melanosomu dochází k nevratným poškozením nejen buňky samotné, ale i buněk okolních (záleží na množství poškozených melanosomů a množství pigmentů v nich obsažených).<sup>88</sup>

---

<sup>83</sup> Inouye, C. Y., Hill, G. E., Stradi, R. D., Montgomerie, R. Carotenoid Pigments in Male House Finch Plumage in Relation to Age, Subspecies, and Ornamental Coloration. *The Auk*. Roč. 118, 2001, s. 900–915; Faivre, B., Grégoire, A., Prévault, M., Cézilly, F., Sorci, G. Immune Activation Rapidly Mirrored in a Secondary Sexual Trade. *Science*. Roč. 300, 2003, s. 103; McGraw, K. J. Carotenoids, Immunocompetence, and the Information Content of Sexual Colors: An Experimental Test. *American Naturalist*. Roč. 162, 2003, s. 704–712; Saks, L., McGraw, K., Hřák, P. How Feather Colour Reflects its Carotenoid Content. *Functional Ecology*. Roč. 17, 2003, s. 555–561.

<sup>84</sup> Krinsky, N. I. Carotenoids as Antioxidants. *Nutrition*. Roč. 17, 2001, s. 815–817.

<sup>85</sup> Olson, V. A., Owens, I. P. F. Costly Sexual Signals: Are Carotenoids Rare, Risky or Required. *Trends in Ecology and Evolution*. Roč. 13, 1998, s. 510–514; Vinkler, M., Albrecht, T. Carotenoid Maintenance Handicap and the Physiology of Carotenoid-based Signalisation of Health. *Naturwissenschaften*. Roč. 97, 2010, s. 19–28.

<sup>86</sup> Alonso-Alvarez, C., Pérez-Rodríguez, L., Garcia, J. T., Viñuela, J. Testosterone-mediated Trade-offs in the Old Age: A New Approach to the Immunocompetence Handicap and Carotenoid-based Sexual Signalling. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. Roč. 276, 2009, s. 2093–2101.

<sup>87</sup> McGraw, K. J. An Update on the Honesty of Melanin-based Color Signals in Birds. *Pigment Cell and Melanoma Research*. Roč. 21, 2008, s. 133–138.

<sup>88</sup> Ústní sdělení J. Borovanského, 2013.

Podobné optické vlastnosti jako karoteny mají i pteriny (neboli pteridiny), které jsou endogenní (živočiškové jsou schopni si je sami syntetizovat). Chemickými vlastnostmi v souvislosti s odstraňováním volných radikálů se pak karotenům nejvíce blíží sepiapterin a 7,8-dihydrobiopterin.<sup>89</sup> Samičím leguánků *Scleropus virgatus* se v období rozmnožování objevují oranžové skvrnky obsahující pteriny, které fungují jako signály pro samce a jejichž kvalita pozitivně koreluje s obsahem antioxidantů ve vaječném žloutku, a následně tedy i na fenotypu potomků.<sup>90</sup> Pteriny a karoteny se mohou v ornamentu vyskytovat zároveň, jako například u samečků rybek *Poecilia reticulata*, kde se společně podílí na zbarvení pohlavně dimorfní skvrnky, nebo u anolisů *Norops sagrei*, jejichž samci mají hrdelní laloky zbarvené převážně pomocí červených pterinů, naopak samičí laloky tvoří žluté a červené pteriny na okrajích, ve středu pak karoteny.<sup>91</sup> Při porovnávání dvou druhů *Norops sagrei* a *Norops humilis* se ukázalo, že k výsledným barvám mohou druhy dospět různými kombinacemi karotenů a pterinů.<sup>92</sup> Pro motýly *Colias eurytheme* nastínil Ronald L. Rutowski et al.<sup>93</sup> možnost, že pteriny posilují signál produkovaný strukturální složkou křídelní kresby.

Na přímé selekci na rozpoznávací schopnosti organismu přinášející v závislosti na kvalitě výběru dle signálů protějškem výhodu v rozmnožování sebe sama i svých potomků (která může vést i ke speciaci) je založena Fisherova hypotéza. Ronald Aylmer Fisher napsal: „Považte tedy, co se stane, když u určitých druhů ptáků poskytuje jasně vymezený vzor světlého peří dosti spolehlivý signál o přirozené nadřazenosti. Tendence vybrat si nápadníky, u kterých je znak nejlépe vyvinut, je pak pro ptačí samici výhodný instinkt. Tak se cit pro tento ‚znak‘ stane pevně zakotveným mezi samičími instinkty.“<sup>94</sup> Fisher tak dal vzniknout úvahám založeným na předpokladu, že exprese znaku a existence preference pro tento znak (která je dědičná) jsou spolu pozitivně

<sup>89</sup> Martínez, A., Barbosa, A. Are Pterins Able to Modulate Oxidative Stress? *Theoretical Chemistry Accounts*. Roč. 127, 2010, s. 485–492.

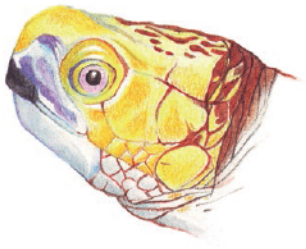
<sup>90</sup> Weiss, S. L., Kennedy, E. A., Safran, R. J., McGraw, K. J. Pterin-based Ornamental Coloration Predicts Yolk Antioxidant Levels in Female Striped Plateau Lizards (*Scleropus virgatus*). *Journal of Animal Ecology*. Roč. 80, 2011, s. 519–527.

<sup>91</sup> Steffen, J. E., McGraw, K. J. How Dewlap Color Reflects its Carotenoid and Pterin Content in Male and Female Brown Anoles (*Norops sagrei*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*. Roč. 154, 2009, s. 334–340.

<sup>92</sup> Steffen, J. E., McGraw, K. J. Contributions of Pterin and Carotenoid Pigments to Dewlap Coloration in Two Anole Species. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*. Roč. 146, 2007, s. 42–46.

<sup>93</sup> Rutowski, R. L., Macedonia, J. M., Morehouse, N., Taylor-Taft, L. Pterin Pigments Amplify Iridescent Ultraviolet Signal in Males of the Orange Sulphur Butterfly, *Colias eurytheme*. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. Roč. 272, 2005, s. 2329–2335.

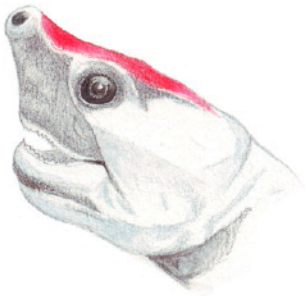
<sup>94</sup> Fisher, R. A. The Evolution of Sexual Preference. *Eugenics Review*. Roč. 7, 1915, s. 184–192.



a) *Terrapene carolina mexicana*



c) *Trachemys dorbigni*



b) *Batagur borneoensis*



d) *Trachemys emolli*

**Obr. 1:** Na tělech obratlovců vznikají barevné vzory na povrchu vrstevnaté kůže díky uspořádání buněk a extracelulárních vláken. Modravé zbarvení zobáku (a) *Terrapene carolina mexicana* by mohlo být dané ztluštěním a uspořádáním keratinu, avšak ve výsledku by zde mohly hrát roli i pigmentové buňky. U samců (b) *Batagur borneoensis* se v období rozmnožování hlava zbarví do zářivě bílé. Zářivě bílou barvu pozorujeme, protože se veškeré viditelné světlo odráží od vrstvy keratinu. Na hlavě jihoamerické (c) *Trachemys dorbigni* lze vidět proužkované vzory, odvozené od předka společného s (d) *Trachemys emolli* ze Střední Ameriky. Středoamerická želva má oproti tomu oddělenou výraznou skvrnu za okem. Červenavé a žluté znaky často slouží k signalizaci kvalit jedince. Autorka ilustrací Lucie Čermáková.

korelované. Takové dědičné spárování by mohlo vést k sebeustanovující rychlé koevoluci mezi znakem a preferencí, avšak mechanismy vzniku a udržení takové koevoluce se mohou značně lišit.<sup>95</sup>

Koevoluce mezi zbarvením a kognitivním aparátem může být také výsledkem tzv. sensorického tahu, jak tomu je například u cichlid rodu *Pundamilia* z afrického Viktoriina jezera, u kterých je evoluce vizuálního systému na molekulární i ekologické úrovni přímo spjata s evolucí samčího zbarvení a samičí preference pro barevné znaky.<sup>96</sup> Podobný jev byl pozorován například u motýlů rodu *Heliconius*, u kterých došlo souběžně spolu s duplikací lokusu pro protein UV rodopsin (UVRh2) i k vývoji jedinečných pigmentů (např. 3-hydroxy-DL-kynurenin), které vytváří bohatou škálu žlutých barev, jež jsou ještě umocňovány odrazem světla v ultrafialovém spektru. Vizuální modely motýlího vnímání barev naznačují, že právě tyto novinky vedly k rozšíření palety barev jejich křídel.<sup>97</sup> U gupek (*Poecilia reticulata*) mají samci pohlavně dimorfni oranžovočervené skvrny na boku těla. Jejich samičky jsou přitahovány oranžovými předměty bez ohledu na spojitost s rozmnožováním. Napříč různými populacemi je to právě silná tendence samic k upřednostňování oranžovočervených předmětů, která vysvětluje nejvíce variability v jejich preferencích pro pestré zbarvení samců. Tato přitažlivost by možná mohla být spouštěcím mechanismem pro koevoluci preference znaku u samic s kvalitou signálu u samců.<sup>98</sup> Hypotéza sensorického tahu se zaměřuje na to, jak se kognitivní systémy přizpůsobují environmentálním podmínkám, a na tomto základě se snaží predikovat, jak se budou komunikační systémy měnit při změnách prostředí. Reprodukční izolace mohou pak vznikat jako vedlejší produkt těchto adaptivních divergencí ve vnímání a s nimi spojeném chování.<sup>99</sup>

---

<sup>95</sup> Andersson, M., Simmons, L. W. Sexual Selection and Mate Choice. *Trends in Ecology & Evolution*. Roč. 21, 2006, s. 296–302.

<sup>96</sup> Seehausen, O., Terai, Y., Magalhaes, I. S., Carleton, K. L., Mrosso, H. D. J., Miyagi, R., van der Sluijs, I., Schneider, M. V., Maan, M. E., Tachida, H., Imai, H., Okada, N. Speciation through Sensory Drive in Cichlid Fish. *Nature*. Roč. 455, 2008, s. 620–626.

<sup>97</sup> Briscoe, A. D., Bybee, S. M., Bernard, G. D., Yuan, F., Sison-Mangus, M. P., Reed, R. D., Warren, A. D., Llorente-Bousquets, J., Chiao, C.-C. Positive Selection of a Duplicated UV-sensitive Visual Pigment Coincides with Wing Pigment Evolution in *Heliconius* Butterflies. *Proceedings of National Academy of Sciences*. Roč. 107, 2010, s. 3628–3633.

<sup>98</sup> Rodd, F. H., Hughes, K. A., Grether, G. F., Baril, C. T. A Possible Non-sexual Origin of Mate Preference: Are Male Guppies Mimicking Fruit? *Proceedings of Royal Society of London B: Biological Sciences*. Roč. 269, 2002, s. 475–481.

<sup>99</sup> Boughman, J. W. How Sensory Drive Promote Speciation. *Trends in Ecology & Evolution*. Roč. 17, 2002, s. 571–577.

## Ultrafialové zbarvení a jeho biologický význam

Při posuzování vzhledu organismů se většinou spoléháme na svůj zrak, avšak málokdy si uvědomíme, že tento náš smysl není ani zdaleka dokonalý a svět může být „barevnější“ či „pestřejší“, než se nám na první pohled zdá. Ze slunce dopadá na zemský povrch záření o různých vlnových délkách a pouze jeho malá část patří mezi tzv. viditelné světlo (400–750 nm). Toto označení vzniklo na základě skutečnosti, že v uvedeném rozsahu vlnových délek se pohybuje citlivost opsínů lidského oka. Existuje však mnoho živočichů, jejichž zrak tyto pomyslné hranice přesahuje, a to v obou směrech. Mluvíme-li o záření o vlnových délkách delších než 750 nm, jedná se o tzv. infračervené (IR) záření (přibližně do 1 mm), k němuž jsou citliví například někteří plazi.<sup>100</sup> Paprskům o kratší vlnové délce, než je spodní hodnota viditelného spektra, říkáme ultrafialové (UV) světlo. Většina takového záření je pohlcena atmosférou, a význam tak pro nás – potažmo pro živou přírodu – má obvykle pouze tzv. UVA záření (320–400 nm). A právě to máme v tomto textu na mysli, když mluvíme o ultrafialovém světle. Citlivost k ultrafialovému záření není mezi živočichy nijak výjimečná – nacházíme ji u různých bezobratlých<sup>101</sup> i obratlovců<sup>102</sup>. A nejen to, mnozí takové světlo využívají k signalizaci, ať už na rovině vnitrodruhové, mezidruhové či na úrovních mnohem vyšších (živočichové × rostliny – ultrafialové kresby na květech některých rostlin slouží jako signály hmyzím opylovačům). Živočichové (nebo rostliny) mohou mít na svém tělním povrchu různé struktury odrážející světlo určitých vlnových délek, například právě těch ultrafialových. V takovém případě mluvíme o tzv. UV reflektanci či UV reflektantních strukturách. Tyto struktury mohou být popřípadě kombinovány i s některými pigmenty, které na rozdíl od nich světlo určitých vlnových délek pohlcují (podrobněji viz níže). Ultrafialová barva je samozřejmě jen další barvou, pro niž platí v komunikaci mezi živočichy

<sup>100</sup> Campbell, A. L., Naik, R. R., Sowards, L., Stone, M. O. Biological Infrared Imaging and Sensing. *Micron*. Roč. 33, 2002, s. 211–225.

<sup>101</sup> DeVoe, R. D. Ultraviolet and Green Receptors in Principal Eyes of Jumping Spiders. *The Journal of General Physiology*. Roč. 66, 1975, s. 193–207; Silberglied, R. E. Communication in the Ultraviolet. *Annual Review of Ecology and Systematics*. Roč. 10, 1979, s. 373–398; Pecháček, P., Stella, D., Kleisner, K. Ultrafialový svět bezobratlých. *Živa*. Roč. 60, 2012, s. 25–28.

<sup>102</sup> Losey, G. S., Cronin, T. W., Goldsmith, T. H., Hyde, D., Marshall, N. J., McFarland, W. N. The UV Visual World of Fishes: A Review. *Journal of Fish Biology*. Roč. 54, 1999, s. 921–943; Fleishman, L. J., Loew, E. R., Whiting, M. J. High Sensitivity to Short Wavelengths in a Lizard and Implications for Understanding the Evolution of Visual Systems in Lizards. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. Roč. 278, 2011, s. 2891–2899; Hart, N. S. The Visual Ecology of Avian Photoreceptors. *Progress in Retinal and Eye Research*. Roč. 20, 2001, s. 675–703; Toveé, M. J. Ultra-violet Photoreceptors in the Animal Kingdom: Their Distribution and Function. *Trends in Ecology & Evolution*. Roč. 10, 1995, s. 455–460.



podobné zákonitosti jako pro kterékoli jiné zbarvení, má však jisté vlastnosti, pro něž si zaslouží zvýšenou pozornost – a tím nemyslíme pouze neviditelnost pro člověka a většinu savců.<sup>103</sup> A právě neobvyklé vlastnosti UV světla v kontextu jejich využití při komunikaci mezi různými organismy se na následujících stránkách pokusíme přiblížit. Je ovšem třeba upozornit, že nesčetné hypotézy týkající se významu ultrafialové signalizace v přírodě jsou opravdu pouhými hypotézami či myšlenkovými konstrukty a na své empirické ověření často teprve čekají.

### *Trocha historie*

Už vzhledem k faktu, že světelné paprsky o vlnové délce nižší než 400 nm jsou pro lidského pozorovatele neviditelné, je historický vývoj zkoumání jejich významu v přírodě velice zajímavý.<sup>104</sup> Pravděpodobně prvním, kdo upozornil na citlivost některých živočichů k ultrafialovému světlu, byl viktoriánský polyhistor sir John Lubbock (1834–1913),<sup>105</sup> který ve své obsáhlé studii o smyslech blanokřídlého hmyzu<sup>106</sup> dokládá na základě vlastních rozsáhlých experimentů citlivost mravenců ke světelným paprskům nacházejícím se až za hranicí fialové části světelného spektra. Později doložil podobnou citlivost také u perlooček rodu *Daphnia*.<sup>107</sup> V tehdejší době však ještě nebylo zcela samozřejmé předpokládat, dokazovat či si vůbec představovat, že tyto „neviditelné“ části spektra by mohly hrát ve zbarvení živočichů stejně důležitou roli jako barvy viditelné.

Prvním, komu se tyto kresby podařilo spatřit, respektive je trvale zachytit a systematicky studovat, byl americký entomolog Frank E. Lutz (1879–1943), který ovšem nezačal svá ultrafialová bádání u živočichů, nýbrž u rostlin. Ve své práci z roku 1924<sup>108</sup> upozorňuje na kresby, které se nacházejí na květech některých rostlin a jsou viditelné pouze v ultrafialovém spektru,

<sup>103</sup> Mezi savci je citlivost k ultrafialovému světlu poměrně vzácná a nalezneme ji pouze u některých menších hlodavců či netopýřů, viz např.: Tovéé, Ultra-violet Photoreceptors in the Animal Kingdom: Their Distribution and Function, viz výše; Winter, Y., López, J., von Helversen, O. Ultraviolet Vision in a Bat. *Nature*. Roč. 425, 2003, s. 612–614.

<sup>104</sup> Pecháček, P. Dobyvatel ultrafialového světa. *Dějiny věd a techniky*. Roč. 45, 2012, s. 182–192.

<sup>105</sup> Blíže o životě a díle Johna Lubbocka viz Pecháček, P. Poslední renesanční muž viktoriánské Anglie, Sir John Lubbock (1834–1913). *Vesmír*. Roč. 92, 296–298, s. 2013.

<sup>106</sup> Lubbock, J. *Ants, Bees, and Wasps. A Record of Observations on the Habits of the Social Hymenoptera*. New York: D. Appleton and Co., 1882.

<sup>107</sup> Lubbock, J. On the Sense of Color among Some of the Lower Animals. *Journal of the Linnean Society of London, Zoology*. Roč. 16, 1882, s. 121–127.

<sup>108</sup> Lutz, F. E. Apparently Non-selective Characters and Combinations of Characters, Including a Study of Ultraviolet in Relation to the Flower-visiting Habits of Insects. *Annals of the New York Academy of Sciences*. Roč. 29, 1924, s. 181–283.

a zmiňuje jejich možný význam jakožto důležitého signálu pro opylovače. V dalších letech experimentálně testoval schopnost některých opylovačů rozpoznávat ultrafialové tvary a kresby.<sup>109</sup> V roce 1933 publikoval hojně citovanou práci „Neviditelné barvy rostlin a motýlů“,<sup>110</sup> v níž přináší první obrázky živočichů, konkrétně motýlů, zachycených v ultrafialovém světle. Snímky pořízené tzv. dírkovou komorou (*pinhole camera*) sice nejsou dokonalé, ale je na nich jasně patrné, že motýli vypadají při zahrnutí UV kreseb jinak, než je tomu ve světle viditelném, tedy tak, jak byli člověkem obvykle vnímáni a studováni. V následujících letech se zkoumání ultrafialových vzorů opět poněkud zpomalilo, ale od druhé poloviny padesátých let, kdy sovětský přírodovědec G. A. Mazochin-Poršnjakov použil klasickou fotografii, aby tyto struktury zachytil opět u motýlů,<sup>111</sup> je tomuto oboru věnována stálá pozornost. Postupně byly ultrafialové kresby objeveny krom motýlů také u dalších bezobratlých, například pavouků<sup>112</sup> či brouků<sup>113</sup>. Jejich přítomnost je poměrně rozšířena rovněž u obratlovců – ryb<sup>114</sup>, plazů<sup>115</sup> či ptáků<sup>116</sup>.

## Ultrafialové světlo jako signál

Zajímavé však není pouze odhalení UV kreseb u jednotlivých druhů či skupin organismů, ale také fakt, že tyto kresby obvykle zastávají významné signalizační funkce, přičemž samotná jejich přítomnost je často rozhodujícím

<sup>109</sup> Lutz, F. E. *Experiments with "Stingless Bees" (Trigona cressoni parastigma) Concerning their Ability to Distinguish Ultraviolet Patterns*. New York: The American Museum of Natural History, 1933; Lutz, F. E. *The "Buckwheat Problem" and the Behavior of the Honey-bee*. New York: American Museum of Natural History, 1934.

<sup>110</sup> Lutz, F. E. "Invisible" Colors of Flowers and Butterflies. *Natural History*. Roč. 33, 1933, s. 565–567.

<sup>111</sup> Mazochin-Porshnyakov, G. A. Reflecting Properties of Butterfly Wings and the Role of Ultra-violet Rays in the Vision of Insects. *Biophysics*. Roč. 2, 1957, s. 285–296.

<sup>112</sup> Tso, I., W. Lin C., and E. C. Yang. Colourful Orb-weaving Spiders, *Nephila pilipes*, through a Bee's Eyes. *Journal of Experimental Biology*. Roč. 207, 2004, s. 2631–2637; Land, M. F., Horwood, J., Lim, M. L. M., Li, D. Optics of the Ultraviolet Reflecting Scales of a Jumping Spider. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. Roč. 274, 2007, s. 1583–1589.

<sup>113</sup> Pope, R. D., Hinton, H. E. A Preliminary Survey of Ultraviolet Reflectance in Beetles. *Biological Journal of the Linnean Society*. Roč. 9, 1977, s. 331–348.

<sup>114</sup> Cummings, M. E., Rosenthal, G. G., Ryan, M. J. A Private Ultraviolet Channel in Visual Communication. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. Roč. 270, 2003, s. 897–904.

<sup>115</sup> Molina-Borja, M., Font, E., Mesa Avila, G. Sex and Population Variation in Ultraviolet Reflectance of Colour Patches in *Gallotia galloti* (Fam. Lacertidae) from Tenerife (Canary Islands). *Journal of Zoology*. Roč. 268, 2006, s. 193–206.

<sup>116</sup> Stevens, M., Cuthill, I. C. Hidden Messages: Are Ultraviolet Signals a Special Channel in Avian Communication? *BioScience*. Roč. 57, 2007, s. 501–507.

faktorem pro iniciaci různých vzorců chování. Jedním z mnoha příkladů mohou být někteří pavouci. U skákavky *Cosmophasis umbratica* existuje mezi samci a samicemi výrazný pohlavní dimorfismus ve zbarvení těla, a to zejména v ultrafialovém spektru.<sup>117</sup> Samci mají na povrchu těla struktury, které poměrně silně reflektují ultrafialové paprsky, kdežto samice a nedospělí jedinci takové vzory zcela postrádají. Samice však naproti tomu mají na makadlech jiné zvláštní struktury, které jsou u samců nepřítomné a které po vystavení ultrafialovému světlu zeleně fluoreskují.<sup>118</sup> Právě tyto vzory jsou klíčovým signálem při ritualizovaných námluvách. Matthew L. M. Lim et al.<sup>119</sup> při manipulaci s ultrafialovým osvětlením zjistili, že pokud byla z prostředí experimentálně odstraněna ultrafialová část světelného spektra, byl samčí nápadník samicí víceméně ignorován a stejně ochabl zájem samce o samici, která bez UV záření postrádala zmíněnou fluorescenci. Tyto kresby tedy u uvedeného druhu iniciují projev dalších behaviorálních vzorců a jsou natolik důležité, že při jejich dysfunkci k pářicímu aktu téměř nedochází.

Podobně je tomu i u motýlů, kteří jsou z hlediska studia UV reflektantních struktur bezpochyby nejlépe prozkoumanou skupinou bezobratlých, nutno však podotknout, že stále ještě nedostatečně. A převážně motýlům se budeme věnovat ve zbylé části této podkapitoly.

Pro motýly jsou UV reflektantní kresby a UV reflektance jako taková mnohdy zásadními sekundárními pohlavními znaky<sup>120</sup> a klíčovými signály při vnitrodruhové komunikaci, pravděpodobně se také uplatňují jako reprodukčně-izolační mechanismy. Tyto vzory jsou ve svém projevu velmi variabilní. Občas v UV reflektují různé menší části křídla (okraje, skvrny, jiné menší plochy či jejich kombinace), jindy reflektuje víceméně celé křídlo a mění se pouze intenzita, u některých druhů zase nacházíme jasně ohraničený tvar, který může, ale také nemusí korespondovat se vzory patrnými ve viditelném spektru (viz obr. 2–5).

Velmi zajímavé jsou spektrální vlastnosti a samotná otázka vzniku ultrafialových kreseb u motýlů, konkrétně zda jsou původu pigmentového, nebo strukturálního. Tradičně se uvádí, že UV reflektance vzniká odrazem určitých

---

<sup>117</sup> Lim, M. L. M., Li, D. Extreme Ultraviolet Sexual Dimorphism in Jumping Spiders (Araneae: Salticidae). *Biological Journal of the Linnean Society*. Roč. 89, 2006, s. 397–406.

<sup>118</sup> Lim, M. L. M., Land, M. F., Li, D. Sex-Specific UV and Fluorescence Signals in Jumping Spiders. *Science*. Roč. 315, 2007, s. 481–481.

<sup>119</sup> Tamtéž.

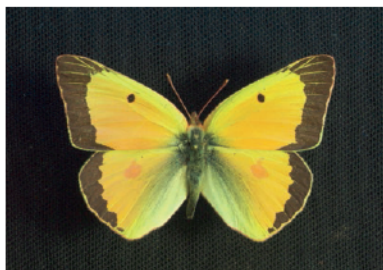
<sup>120</sup> Sekundární pohlavní znaky nejsou na rozdíl od primárních pohlavních znaků součástí rozmnožovací soustavy, jsou to znaky odlišující příslušníky opačného pohlaví stejného druhu.



**Obr. 2a, 2b:** Žlutásek řešetlákový (*Gonepteryx rhamni*) – samec, pohled z dorzální strany (DS) – fotografie ve viditelném (a) a ultrafialovém (b) spektru. U samicí rodu *Gonepteryx* jsou obvykle UV reflektantní různě velké často druhově specifické plochy na předním, popřípadě i zadním křídle (blíže viz text), které neodpovídají žádným strukturám patrným ve viditelné části spektra (VIS). Veškeré fotografie Pavel Pecháček a David Stella.<sup>a</sup>



**Obr. 3a, 3b:** *Colias alexandra* – samec (DS) – fotografie ve viditelném (a) a ultrafialovém (b) spektru. UV reflektantní kresby jsou patrné pouze na menší části zadních křídel.



**Obr. 4a, 4b:** *Colias eurytheme* – samec (DS) – fotografie ve viditelném (a) a ultrafialovém (b) spektru. Na rozdíl od blízkého příbuzného *C. alexandra* reflektuje u samicí tohoto druhu v ultrafialovém světle celá (ve VIS) žlutě zbarvená plocha předního i zadního křídla.

<sup>a</sup> O metodě fotografování viz například Pecháček, Stella, Kleisner, Ultrafialový svět bezobratlých, viz výše, nebo Pecháček, P. Žlutásek řešetlákový a plasticita ultrafialových kreseb motýlů v závislosti na prostředí. *Živa*. Roč. 61, 2013, s. 79–81.

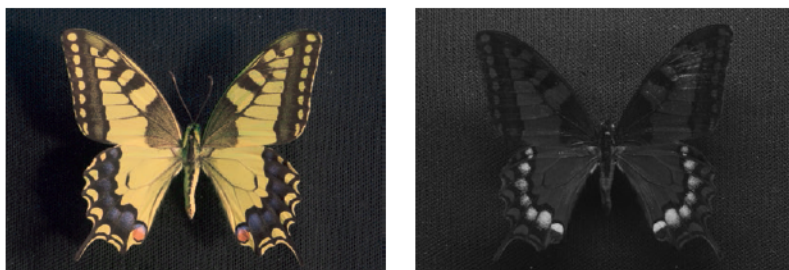
vlnových délek od strukturálních útvarů či lamel,<sup>121</sup> které se nacházejí na vrchní straně křídelní plochy tvořené chitinovými šupinkami. Pod touto vrstvou jsou uloženy pigmentové granule, které jsou zodpovědné za rozptyl dopadajícího světla a jeho absorpci v určitých vlnových délkách. U některých druhů je možné pozorovat zajímavý fenomén: intenzita reflektovaného ultrafialového světla je do značné míry závislá na úhlu, který plocha křídla svírá s okem pozorovatele. Například u žlutáaska *C. eurytheme* je maximální intenzita odraženého UV záření v pozici přibližně 45° (pozice UV+), při dalším natáčení křídla (či oka pozorovatele) intenzita reflektance postupně slábne, až v určitém úhlu zcela zmizí (pozice UV-). Výsledkem je, že křídlo při pohybu jakoby bliká.<sup>122</sup> Podobný efekt je ve větší či menší míře patrný i u dalších žlutásků.<sup>123</sup> Ale křídla různých motýlů, včetně *C. eurytheme*, obsahují také pigmenty z rodiny pterinů, z nichž některé pohlcují právě krátkovlnné záření z ultrafialové části spektra a uplatňují se například na míře UV reflektance, respektive UV absorpce u některých bělásků (bude zmíněno dále), kteří ale zřejmě postrádají speciální mikrostruktury reflektující pouze ultrafialové světlo a princip UV reflektance je u nich odlišný. Zda se pteriny nějakým způsobem uplatňují i u žlutásků s lamelami reflektujícími ultrafialové světlo, se pokusili zjistit Ron Rutowski et al.<sup>124</sup> Zkusili tedy tyto pteriny z křídla odstranit a výsledek byl pozoruhodný. V pozici UV+ sice intenzita reflektance vzrostla, ale vzrostla také v pozici UV-. V zásadě tak do jisté míry zanikl efekt blikajícího křídla, respektive výrazně se snížil kontrast mezi jeho dvěma pozicemi (stříbrný šperk na bílé dečce nevynikne tak jako na černém sametu). A právě tento kontrast může být při různých pohlavních rituálech velmi důležitý. Ultrafialové kresby jsou tedy obvykle strukturálního původu, ale jak je vidět, i pigmenty se na jejich konečné podobě, alespoň u některých skupin, aktivně podílejí.

<sup>121</sup> Ghiradella, H., Aneshansley, D., Eisner, T., Silberglied, R. E., Hinton, H. E. Ultraviolet Reflection of a Male Butterfly: Interference Color Caused by Thin-Layer Elaboration of Wing Scales. *Science*. Roč. 178, 1972, s. 1214–1217.

<sup>122</sup> Rutowski, R. L., Macedonia, J. M., Merry, J. W., Morehouse, N. I., Yturalde, K., Laura, T.-T., Gaalema, D., Kemp, D. J., Papke, R. S. Iridescent Ultraviolet Signal in the Orange Sulphur Butterfly (*Colias eurytheme*): Spatial, Temporal and Spectral Properties. *Biological Journal of the Linnean Society*. Roč. 90, 2007, s. 349–364.

<sup>123</sup> Pirih, P., Wilts, B. D., Stavenga, D. G. Spatial Reflection Patterns of Iridescent Wings of Male Pierid Butterflies: Curved Scales Reflect at a Wider Angle than Flat Scales. *Journal of Comparative Physiology. A, Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*. Roč. 197, 2011, s. 987–997; Wilts, B. D., Pirih, P., Stavenga, D. G. Spectral Reflectance Properties of Iridescent Pierid Butterfly Wings. *Journal of Comparative Physiology. A, Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*. Roč. 197, 2011, s. 693–702.

<sup>124</sup> Rutowski, Macedonia, Morehouse, Taylor-Taft, Pterin Pigments Amplify Iridescent Ultraviolet Signal in Males of the Orange Sulphur Butterfly, *Colias eurytheme*, viz výše.



**Obr. 5a, 5b:** Otakárek fenyklový (*Papilio machaon*) – samec (DS) – fotografie ve viditelném (a) a ultrafialovém (b) spektru. Jak je z fotografie patrné, UV reflektantní jsou u samců tohoto motýla pouze skvrny lemující zadní křídlo, které se VIS jeví jako modrofialové.



**Obr. 6:** Žlutásek řešetlákový (*Gonepteryx rhamni*) – samice (ventrální strana) – v místech, kde se křídla běžně překrývají, chybí UV reflektantní struktury a vzniká tzv. Oudemansův fenomén – ultrafialová kresba kopíruje pouze viditelnou část křídla.

### *Ultrafialové kresby a konfrontace s predátorem*

Co ale mohou takové kresby signalizovat a jaká specifika či výhody mají vzory viditelné pouze v této části spektra ve srovnání s těmi patrnými ve spektru viditelném? Začneme od druhé otázky. Výchozím bodem k tomuto problému by mohli být nejběžnější predátoři motýlů, a sice ptáci. Mnozí ptáci jsou totiž citliví k vlnovým délkám kratším než 400 nm.<sup>125</sup> Podobně jako u dalších živočichů je signalizace v UV spektru pro mnohé ptáky velice významnou složkou komunikace. Ultrafialové kresby se u nich výrazně uplatňují v roli sekundárních pohlavních znaků, ale jejich nositelé dokážou využívat i UV světlo a UV reflektantní struktury jiných organismů, a to například při vyhledávání potravy.<sup>126</sup> Receptory pro UV světlo jsou u ptáků navíc citlivější než

<sup>125</sup> Hart, N. S., Vorobyev, M. Modelling Oil Droplet Absorption Spectra and Spectral Sensitivities of Bird Cone Photoreceptors. *Journal of Comparative Physiology. A, Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*. Roč. 191, 2005, s. 381–392.

<sup>126</sup> Church, S. C., Bennett, A. T. D., Cuthill, I. C., Partridge, J. C. Ultraviolet Cues Affect the Foraging Behaviour of Blue Tits. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B:*

ty pro jiné vlnové délky.<sup>127</sup> Nutno však podotknout, že světlo o krátkých vlnových délkách se ve vzduchu relativně rychleji rozptyluje,<sup>128</sup> a jedinec (například právě motýl) tak nemusí být pro případného predátora na větší vzdálenost patrný, případně splyne s okolím, v němž se nacházejí další povrchy reflektující ultrafialové světlo. Znaky patrné pouze v ultrafialovém světle se tak možná uplatňují především v komunikaci na krátkou vzdálenost (blíže viz níže – příklad okáče jílkového) a výhodou může být, že na delší vzdálenost svého nositele neprozradí.

Nicméně podle některých dokladů se zdá, že na UV kresby motýlů přece jen působí ze strany ptačího predátora silný selekční tlak. Například studie Anne Lyytinenové et al.<sup>129</sup> uvádí, že z téměř devíti set druhů motýlů žijících na území Finska v ultrafialovém světle reflektuje až 75 % nočních (v noci na zemský povrch prakticky žádné UV nedopadá, tedy ani struktury, které jej reflektují, nejsou v noci patrné), oproti pouhým 25 % denních, přičemž u samců je UV reflektance o něco častější než u samic. Názor, že denní motýli s UV kresbami podléhají zvýšené predaci, autoři testovali i experimentálně, přičemž výsledek pokusu byl pozitivní, avšak nebyla zohledněna role zbarvení v dalších vlnových délkách. U nočních motýlů UV vzory nehrály roli. Z uvedeného poměru však lze usuzovat, že tyto ornamenty mohou být ze strany denních predátorů pod značným selekčním tlakem a zachovávají se pouze u druhů, kde plní nepostradatelnou funkci: například pro již zmíněné rozpoznávání sexuálního partnera či jako iniciátor pohlavního rituálu. Výhoda neviditelnosti pro predátora se tedy v případě motýlů příliš neuplatňuje (což však neznamená, že taková přednost neexistuje u dalších živočichů), dokonce tomu může být právě naopak, jak ukazuje následující odstavec.

Jedno z možných uplatnění ultrafialových vzorů na křídle motýla v konfrontaci s ptačím predátorem naznačili ve své práci Martin Olofsson et al.<sup>130</sup> Ti

---

*Biological Sciences*. Roč. 265, 1998, s. 1509–1514; Koivula, M., Viitala, J. Rough-legged Buzzards Use Vole Scent Marks to Assess Hunting Areas. *Journal of Avian Biology*. Roč. 30, 1999, s. 329–332; Siitari, H., Honkavaara, J., Viitala, J. Ultraviolet Reflection of Berries Attracts Foraging Birds. A Laboratory Study with Redwings (*Turdus iliacus*) and Bilberries (*Vaccinium myrtillus*). *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. Roč. 266, 1999, s. 2125–2129.

<sup>127</sup> Vorobyev, M., Osorio, D., Bennett, A. T. D., Marshall, N. J., Cuthill, I. C. Tetrachromacy, Oil Droplets and Bird Plumage Colours. *Journal of Comparative Physiology A: Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*. Roč. 183, 1998, s. 621–633.

<sup>128</sup> Lythgoe, J. N. *The Ecology of Vision*. Oxford: Oxford University Press, 1979.

<sup>129</sup> Lyytinen, A., Lindström, L., Mappes, J. Ultraviolet Reflection and Predation Risk in Diurnal and Nocturnal Lepidoptera. *Behavioral Ecology*. Roč. 15, 2004, s. 982–987.

<sup>130</sup> Olofsson, M., Vallin, A., Jakobsson, S., Wiklund, C. Marginal Eyespots on Butterfly Wings Deflect Bird Attacks Under Low Light Intensities with UV Wavelengths. *PLoS ONE*. Roč. 5, 2010, s. e10798.

na modelovém druhu, okáči jílkovém (*Lopinga achine*), testovali ochrannou funkci tzv. „falešných očí“, které jsou pro okáče typické. Tradičně se předpokládalo, že podobné (oči imitující) vzory slouží k zastrašení predátora, eventuálně k tomu, aby byl jeho útok sveden na jinou část těla než na hlavu, kam je jinak obvykle směřován. Zaútočí-li predátor jen na konec křídla, není toto poškození letální, popřípadě má kořist šanci uniknout.<sup>131</sup> Výsledky některých experimentů však pravdivost této hypotézy příliš nepotvrzovaly.<sup>132</sup> Olofsson et al.<sup>133</sup> zjistili, že určitá část „očí“ na křídlech studovaného motýla reflektuje v ultrafialovém světle, což může upozorovat i predátor. Během experimentování s intenzitou osvětlení autoři zjistili, že za plného světla či při absenci ultrafialových vlnových délek v experimentálním prostředí pták (sýkora) téměř neomylně útočí na hlavu a kořist okamžitě usmrcuje. Ovšem za snížené intenzity osvětlení a při zachování ultrafialové části spektra pták skoro vždy útočil na oční skvrny s UV reflektantním vzorem. Výsledek experimentu odpovídá tomu, že ptáci začínají vyhledávat kořist už za rozbřesku, kdy je intenzita světla opravdu nižší, navíc ještě není taková teplota, aby mohl motýl pohotově odletět a útoku se vyhnout vlastními silami. Alternativní vysvětlení může souviset i s typickým denním režimem tohoto motýla – obě pohlaví se totiž v ranních hodinách zdržují při zemi, samci patrolují a samice se věnuje kladení vajíček – a při této činnosti může být zranitelnější než po zbytek dne.

Výhoda tedy možná není v neviditelnosti ultrafialových vzorů pro predátora, ale právě v jejich značné nápadnosti. Velmi zajímavým se v této otázce jeví případ australského běžníka *Thomisus spectabilis*, který na svou kořist (včelu) číhá na květech různých barev.<sup>134</sup> Tento pavouk intenzivně reflektuje v ultrafialové části spektra, respektive hlavně jeho bílá forma, oproti mnohem méně reflektující žluté. Vzhledem k citlivosti včely k ultrafialovému světlu<sup>135</sup> musí vidět tyto kresby také ona. Tradičně se předpokládalo, že úspěšnost v přilákání a polapení kořisti závisí na co nejpřirozenějším splynutí barvy běžníka s barvou květu (krypsa ve viditelné části spektra). To ovšem platí pouze v případě původní australské včely *Austroplebia australis* (obvykle navštěvuje žluté zbarvené květy, na kterých číhá žluté zbarvený běžník – situace,

---

<sup>131</sup> Stevens, M. The Role of Eyespots as Anti-predator Mechanisms, Principally Demonstrated in the Lepidoptera. *Biological Reviews*. Roč. 80, 2005, s. 573–588.

<sup>132</sup> Lyytinen, A., Brakefield, P. M., Mappes, J. Significance of Butterfly Eyespots as an Anti-predator Device in Ground-based and Aerial Attacks. *Oikos*. Roč. 100, 2003, s. 373–379.

<sup>133</sup> Olofsson, Vallin, Jakobsson, Wiklund, Marginal Eyespots on Butterfly Wings Deflect Bird Attacks Under Low Light Intensities with UV Wavelengths, viz výše.

<sup>134</sup> Heiling, A. M., Herberstein, M. E., Chittka, L. Pollinator Attraction: Crab-spiders Manipulate Flower Signals. *Nature*. Roč. 421, 2003, s. 334.

<sup>135</sup> Osorio, D., Vorobyev, M. A Review of the Evolution of Animal Colour Vision and Visual Communication Signals. *Vision Research*. Roč. 48, 2008, s. 2042–2051.



za které je kontrast ve viditelné i ultrafialové části spektra minimální), která prošla spolu se svým predátorem dlouhou koevolucí.<sup>136</sup> Zcela opačně je tomu u naivní evropské včely medonosné (*Apis mellifera*), která byla do Austrálie zavlečena před více než dvěma sty lety. Ta je naopak lákána k takovému květu, který díky přítomnosti běžníka vykazuje v ultrafialovém světle maximální kontrast – bílý běžník na bílém květu, popřípadě ještě lépe bílý pavouk na květu žlutém.<sup>137</sup> Existují tedy zřejmě selekční tlaky udržující v přírodě obě barvy běžníka na základě lokální četnosti toho kterého typu kořisti (původní vs. zavlečená včela).

### *Ultrafialové kresby motýlů a pohlavní výběr*

Co ultrafialové kresby motýlů signalizují a proč je u mnoha druhů považujeme za klíčový druhotný pohlavní znak? Mnohé napovídá už jen fakt, že v ultrafialovém světle je u motýlů často přítomný zřetelný pohlavní dimorfismus, a to i u takových druhů, u nichž ve viditelném spektru nacházíme pouze drobné odlišnosti. Mezipohlavní rozdíly ve zbarvení jsou navíc pro určité skupiny často specifické. Například pro zástupce rodu *Gonepteryx*<sup>138</sup> je typické, že UV reflektantní kresbu nesou na vrchní straně křídel pouze samci.<sup>139</sup> Samice žlutásků rodu *Gonepteryx*, ale často i samci nesou struktury reflektující ultrafialové světlo na spodní straně křídel.<sup>140</sup> Zde bývá patrný velmi zajímavý jev, a to tzv. Oudemansův fenomén, tedy nepřítomnost UV vzoru v místech, kde dochází k překryvu křídel (viz obr. 6, Pecháček, P. a Stella, D. nepubl.).

<sup>136</sup> Heiling, A. M., Herberstein, M. E. Predator-prey Coevolution: Australian Native Bees Avoid their Spider Predators. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. Roč. 271, 2004, s. 196–198.

<sup>137</sup> Heiling, A. M., Chittka, L., Cheng, K., Herberstein, M. E. Colouration in Crab Spiders: Substrate Choice and Prey Attraction. *Journal of Experimental Biology*. Roč. 208, 2005, s. 1785–1792.

<sup>138</sup> Typickým zástupcem rodu *Gonepteryx* hojným i na území ČR je žlutásek řešetlákový (*Gonepteryx rhamni*), viz obr. 1.

<sup>139</sup> Existují však dvě výjimky. První je *G. farinosa*, jehož samci tuto kresbu na vrchní straně křídel postrádají (zato mají ve srovnání se samci jiných druhů velmi intenzivně reflektující spodní stranu křídel). Druhou výjimkou je ostrovní druh *G. cleobule*, v jehož případě samice nese na horní straně předních křídel UV reflektantní vzor typický pro samce, což může o původu či selekčních tlacích spojených s těmito kresbami mnohé napovědět (ač podobnost samičích kreseb je bližší například se samci druhu *G. rhamni*, a to nejen v ultrafialové části spektra, ale i v té viditelné – a to žluté zbarvení, přičemž u ostatních druhů bývají samice zbarvené spíše bíle; samci *G. cleobule* mají podobně jako jiné druhy z Kanárských ostrovů ultrafialový vzor na předním i zadním křídle a ten navíc zaujímá mnohem větší část křídelní plochy, než je tomu u samice).

<sup>140</sup> Na tomto místě je nutno upozornit, že literatura není v tomto ohledu vždy konzistentní a vycházíme především z vlastnoručně nasbíraných dat.

Tato skutečnost dává tušit, že struktury stojící za vznikem UV reflektance jsou během vývoje v jistém smyslu nákladné. Je nutno podotknout, že typické mezipohlavní rozdíly zmíněného rodu se vůbec nemusejí nacházet u druhů dalších blízce příbuzných rodů, jako jsou *Pieris* či *Colias* (obr. 3, 4), nemluvě o motýlech z dalších čeledí.

Co ale může kresba signalizovat a má ultrafialová struktura nějakou výhodu před zbarveními v pro nás viditelném spektru? O úloze zraku při komunikaci mezi denními motýly se toho stále ještě ví poměrně málo.<sup>141</sup> Vizualní signály u motýlů zřejmě hrají primární roli při rozpoznávání na delší vzdálenost, tedy například v situaci, kdy samec hledá vhodnou samici k páření. Na krátkou vzdálenost přebírají otěže samčí feromony, ale i zde mohou hrát nezastupitelnou roli pohyb, barva křídla či kombinace obou.<sup>142</sup> Často je však těžké rozhodnout, který prvek je vlastně v mezipohlavní signalizaci tím primárním faktorem.

Průkopnickou studií, která se snažila nějakým způsobem uchopit význam zbarvení při výběru partnera, byl rozsáhlý behaviorální experiment provedený na dvou zástupcích severoamerických žlutásků rodu *Colias* – *C. eurytheme* a *C. philodice*.<sup>143</sup> Samci obou druhů se liší ve zbarvení viditelném (oranžová vs. žlutá plocha křídla) i ultrafialovém (UV kresba je přítomna pouze u *C. eurytheme*). Mnohé pokusy dospěly k závěru, že pro samice druhu s UV reflektujícími samci je takové zbarvení důležité pro přijetí nebo odmítnutí partnera, kdežto pro samice, jejichž samci ultrafialové kresby postrádají, nehrají vizuální stimuly významnější roli. Výsledky však nejsou zcela přesvědčivé, protože autorům se nepodařilo kompletně vyřadit ze hry samčí feromony.

Za jeden z možných dokladů, jak se zbarvení uplatňuje při rozpoznávání partnera, nám může posloužit hojně studovaný bělásek řepový (*Pieris rapae*), který je v několika poddruzích rozšířen v celé palearktické oblasti. Co se ultrafialového zbarvení týče, vykazují samice tohoto motýla jasně patrný longitudinální (západo-východní) gradient – samice britského poddruhu mají křídla zcela UV absorpční (v ultrafialovém světle nereflktují), ale postupem na východ se u nich jistá míra UV reflektance začíná objevovat a pokračuje

---

<sup>141</sup> Silberglied, R. E. Visual Communication and Sexual Selection among Butterflies. In: Vane-Wright, R. I., Ackery, P. R. (eds.). *The Biology of Butterflies*. London: Academic Press, 1984, s. 207–223; Kemp, D. J., Rutowski, R. L. The Role of Coloration in Mate Choice and Sexual Interactions in Butterflies. *Advances in the Study of Behavior*. Roč. 43, 2011, s. 55–92.

<sup>142</sup> Vane-Wright, R. I., Boppre, M. Visual and Chemical Signalling in Butterflies: Functional and Phylogenetic Perspectives. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. Roč. 340, 1993, s. 197–205.

<sup>143</sup> Silberglied, R. E., Taylor, O. R.. Ultraviolet Reflection and Its Behavioral Role in Courtship of Sulfur Butterflies *Colias Eurytheme* and *Colias Philodice* (Lepidoptera, Pieridae). *Behavioral Ecology and Sociobiology*. Roč. 3, 1978, s. 203–243.

až k maximu, které nacházíme u samic japonských.<sup>144</sup> U japonského poddruhu je ultrafialové zbarvení samic velmi důležitým znakem pro samce, když se pokouší rozeznat pohlaví potenciální partner. U britského poddruhu slouží jako znak zamezující zbytečným pokusům o páření mezi samci tzv. „flutter response“ (existuje i u japonského poddruhu, ale podle Obara se jedná spíše o rudiment), což je intenzivní mávání křídel, jímž samec signalizuje jinému samci svou pohlavní příslušnost.<sup>145</sup> Otázkou je, který ze znaků byl původní. Podle poslední molekulární studie se zdá, že *Pieris rapae* pochází původně z evropského kontinentu a postupně se rozšiřoval do Asie.<sup>146</sup> Situace se tedy jeví tak, že původním signálem pro rozpoznání mezi pohlavími byl zmíněný „flutter response“. Později mohlo dojít v samičím křídle k ubývání pigmentů zodpovědných za pohlcování ultrafialového záření. Křídlo, které svým strukturálním povrchem přirozeně reflektovalo část UV záření, bylo pro samce nápadnější a rozpoznání samice od samce bylo úspěšnější. To se ukázalo jako velmi výhodný znak a už nebylo cesty zpět – z možnosti se stala nutnost. Na otázku, proč došlo k ubývání pigmentů, by mohla poskytnout zajímavý náhled níže probíraná práce,<sup>147</sup> která se zabývá souvislostí UV reflektantních struktur s kvalitou prostředí u modráška jehlicového, jen s tím rozdílem, že u běláška stojí za variabilitou v intenzitě UV reflektance pigmenty zvané pteriny (u modráška jsou to rostlinné polyfenoly), které pohlcují světlo ultrafialových délek. Pteriny jsou považovány za velmi bohaté na dusíkaté látky,<sup>148</sup> a na jejich množství by se tak mohl negativně projevit dejme tomu nedostatek dusíkatých živin v prostředí, například během rozšiřování běláška v méně úrodných oblastech.

Jak už jsme uvedli výše, pozoruhodný příklad toho, jak může být míra exprese ultrafialového zbarvení ovlivněna prostředím a vlastně i jak se vnější faktory mohou projevit v pohlavním výběru, je znám u modráška jehlicového (*Polyommatus icarus*). Intenzita, s jakou určité části spodní strany křídel

<sup>144</sup> Obara, Y., Ozawa, G., Fukano, Y. Geographic Variation in Ultraviolet Reflectance of the Wings of the Female Cabbage Butterfly, *Pieris rapae*. *Zoological Science*. Roč. 25, 2008, s. 1106–1110.

<sup>145</sup> Obara, Y., Majerus, M. E. N. Initial Mate Recognition in the British Cabbage Butterfly, *Pieris rapae rapae*. *Zoological Science*. Roč. 17, 2000, s. 725–730.

<sup>146</sup> Fukano, Y., Satoh, T., Hirota, T., Nishide, Y., Obara Y. Geographic Expansion of the Cabbage Butterfly (*Pieris rapae*) and the Evolution of Highly UV-reflecting Females. *Insect Science*. Roč. 19, 2012, s. 239–246.

<sup>147</sup> Knüttel, H., Fiedler, K. Host-plant-derived Variation in Ultraviolet Wing Patterns Influences Mate Selection by Male Butterflies. *Journal of Experimental Biology*. Roč. 204, 2001, s. 2447–2459.

<sup>148</sup> Morehouse, N. I., Rutowski, R. L. Developmental Responses to Variable Diet Composition in a Butterfly: The Role of Nitrogen, Carbohydrates and Genotype. *Oikos*. Roč. 119, 2010, s. 636–645.

reflektují ultrafialové světlo, souvisí s množstvím flavonoidů (což jsou rostlinné polyfenoly, jež pohlcují ultrafialové záření), které jedinec přijme v potravě ve stadiu housenky.<sup>149</sup> Tyto látky jsou během vývoje ukládány a následně využity během metamorfózy při vzniku křídla. Experimentálně se podařilo prokázat, že skupina samic (housenek) živěných potravou bohatou na flavonoidy měla v dospělosti křídla mnohem méně UV reflektující než samice živící se potravou, která byla na tyto látky chudá. A právě samice, jejichž křídla obsahovala větší množství flavonoidů, a byla tak více UV absorpční, byly samci během pokusů o páření upřednostňovány.<sup>150</sup> V tomto případě se zdá, že míra reflektovaného ultrafialového záření může sloužit jako spolehlivý indikátor kvality juvenilního prostředí potenciálního partnera.

Je nepochybné, že ultrafialové kresby hrají v rozmnožovacích rituálech motýlů důležitou roli, otázkou však zůstává jakou. V první řadě je nutné si uvědomit, že křídlo se do své výsledné podoby vyvíjí již v kukle a dospělec nemůže během života aktivně ovlivňovat již vzniklé kresby ani jejich parametry. To však neznamená, že se během života některé barevné aspekty křídla nemění. Křídlo totiž podléhá různým mechanickým vlivům a v závislosti na tom se mění i některé vlastnosti jeho zbarvení, přičemž ultrafialové kresby se sářím motýla degradují markantněji než barvy jiné, které jsou obvykle pouze pigmentového původu. Stručně řečeno, intenzita UV reflektance křídelního povrchu se snižuje s přibývajícím věkem motýla.<sup>151</sup> To by mohlo být pro samici důležitým rozpoznávacím znakem věku potenciálního partnera, protože podle některých prací je věk samce důležitým kritériem ovlivňujícím životaschopnost potomstva. „Použití“ samci totiž při opakované kopulaci poskytují menší množství ejakulátu než samci čerství.<sup>152</sup> To je velmi důležitý faktor, jelikož ejakulát je hlavní postreprodukční investicí samce do potomků. Samice jej absorbuje a živiny, které obsahuje, využije pro oogenezi.<sup>153</sup> Rutowski

---

<sup>149</sup> Knüttell, H., Fiedler, K. On the Use of Ultraviolet Photography and Ultraviolet Wing Patterns in Butterfly Morphology and Taxonomy. *Journal of the Lepidopterists' Society*. Roč. 54, 2000, s. 137–144.

<sup>150</sup> Knüttell, Fiedler, Host-plant-derived Variation in Ultraviolet Wing Patterns Influences Mate Selection by Male Butterflies, viz výše.

<sup>151</sup> Kemp, D. J. Heightened Phenotypic Variation and Age-based Fading of Ultraviolet Butterfly Wing Coloration. *Evolutionary Ecology Research*. Roč. 8, 2006, s. 515–527; Kemp, D. J., Macedonia, J. M. Structural Ultraviolet Ornamentation in the Butterfly *Hypolimnas bolina* L. (Nymphalidae): Visual, Morphological and Ecological Properties. *Australian Journal of Zoology*. Roč. 54, 2007, s. 235–244.

<sup>152</sup> Rutowski, R. L., Gilchrist, G. W. Copulation in *Colias eurytheme* (Lepidoptera: Pieridae): Patterns and Frequency. *Journal of Zoology*. Roč. 209, 1986, s. 115–124.

<sup>153</sup> Boggs, C. L., Gilbert, L. E. Male Contribution to Egg Production in Butterflies: Evidence for Transfer of Nutrients at Mating. *Science*. Roč. 206, 1979, s. 83–84.

a Gilchrist<sup>154</sup> ukázali, že samec, který již kopuloval, poskytuje v ejakulátu oproti čerstvému jedinci o 40 % méně materiálu. Samice, které kopulovaly s nezkušeným samcem a dostaly více živin, snášely obyčejně více vajíček a žily déle. Navíc je potvrzeno, že „použitý“ samec kopuluje delší dobu, a zvyšuje tak riziko predace.<sup>155</sup> Měl by tedy existovat určitý selekční tlak na schopnost samice rozpoznávat mladší samce a ty také upřednostňovat při kopulaci.

Podle některých prací se zdá, že předložený scénář se u některých druhů opravdu uplatňuje a samice především na základě intenzity ultrafialové kresby upřednostňují pro kopulaci mladší samce.<sup>156</sup> Podporou pro toto tvrzení může být i práce Darrella Kempa (2007),<sup>157</sup> v níž autor experimentálně prokázal větší atraktivitu normálních samců ve srovnání s jedinci, kteří měli nějaký způsobem sníženou hodnotu UV reflektance. Nicméně jediná studie, která se snažila vypátrat, zda existuje nějaká přímá výhoda (větší objem ejakulátu, délka kopulace) korelující s intenzitou samčí ultrafialové kresby, přinesla výsledky spíše negativního charakteru a upozornila na skutečnost, že pohlavní výběr mezi motýly je komplikovaný proces a výběr partnera ani zdaleka není jednostrannou záležitostí.

To ovšem nic nemění na faktu, že samice opravdu často upřednostňují samce s jasnější kresbou. Na mysl se tak neodbytně vkrádá otázka, zda UV reflektantní kresby přece jen nemohou nějakým způsobem sloužit jako indikátory kvality jedince, například ve smyslu některých hypotéz dobrých genů.<sup>158</sup> Ty předpokládají, že přítomnost či míra projevu určitých znaků může signalizovat kvalitu samčích genů, a tím i kvalitu budoucího potomstva. Aby takové druhotné pohlavní znaky mohly tuto funkci plnit, měly by být pro svého nositele nákladné. Pro nákladnost ultrafialových kreseb svědčí, jak již bylo zmíněno, například dobře patrný Oudemansův fenomén (zjištěný u několika druhů žluťásků rodu *Gonepteryx*) v místech, která jsou zakryta druhým křídlem, a nejsou tedy běžně viditelná. Chybí i UV reflektantní struktury (viz obr. 6). Výše také byla řeč o faktu, že se na ultrafialových kresbách některých motýlů výrazně podílejí pigmenty ze skupiny pterinů. I jejich výroba je pro

---

<sup>154</sup> Rutowski, Gilchrist, Copulation in *Colias eurytheme* (Lepidoptera: Pieridae): Patterns and Frequency, viz výše.

<sup>155</sup> Rutowski, R. L., Gilchrist, G. W., Terkanian, B. Female Butterflies Mated with Recently Mated Males Show Reduced Reproductive Output. *Behavioral Ecology and Sociobiology*. Roč. 20, 1987, s. 319–322.

<sup>156</sup> Papke, R., Kemp D., Rutowski, R. Multimodal Signalling: Structural Ultraviolet Reflectance Predicts Male Mating Success Better than Pheromones in the Butterfly *Colias eurytheme* L. (Pieridae). *Animal Behaviour*. Roč. 73, 2007, s. 47–54.

<sup>157</sup> Kemp, D. J., Female Butterflies Prefer Males Bearing Bright Iridescent Ornamentation. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. Roč. 274, 2007, s. 1043–1047.

<sup>158</sup> Flegr, J. *Evoluční biologie*. Praha: Academia, 2005.

organismus zřejmě vcelku náročná,<sup>159</sup> a tlak na kvalitu kresby tak možná spočívá mimo jiné ve vyrovnaném poměru UV reflektantních struktur odrážejících ultrafialové světlo a pterinů, které jej absorbují, aby bylo dosaženo co nejdokonalejšího kontrastu. Nákladnost tvorby strukturálního zbarvení organismů se v posledních letech pomalu dostává do popředí zájmu<sup>160</sup> a je možné v této oblasti očekávat další zajímavé výsledky.

Pokud ultrafialová kresba opravdu nese nějaké informace o kvalitách svého nositele, mohla by se její exprese projevit například v závislosti na kvalitě jeho ontogeneze, ať už v míře projevu sledovaného znaku (v tomto případě intenzity či velikosti ultrafialové kresby) či v symetričnosti vzoru. Obojí může být na jednu stranu projevem kvality genetické informace v tom smyslu, že kvalitní jedinec dokáže vyrovnat různé nepříznivé vlivy prostředí, na stranu druhou se mohou vlivy vnějšího prostředí na ultrafialové kresbě projevovat jiným způsobem, třeba jedincovou schopností vyhledávat kvalitnější stanoviště. Na příkladu žlutáaska *Colias eurytheme* se podařilo dokázat, že pokud je během juvenilního stadia (houseska) či během samotné proměny (kukla) motýl vystaven různým stresovým faktorům (nedostatek potravy, teplotní šoky), výrazně se to projeví na intenzitě UV reflektantní kresby, a to výrazněji než na pigmenty produkovaných kresbách patrných ve viditelné oblasti spektra.<sup>161</sup> Tento výsledek je sice v souladu s předpokladem, že druhotné pohlavní znaky by ve svém projevu měly vykazovat větší závislost na podmínkách prostředí,<sup>162</sup> avšak podporu pro tvrzení, že ultrafialové kresby indukují u zmíněného motýla genetickou kvalitu jedince, se nakonec autorům prokázat nepodařilo.<sup>163</sup>

### *Souhrnem k problematice ultrafialových signálů*

V souvislosti s uvedenou problematikou se k úvaze nabízí ještě několik zajímavých otázek. Jak jsme zmínili výše, k ultrafialovému světlu jsou citliví také

<sup>159</sup> Kemp, Rutowski, The Role of Coloration in Mate Choice and Sexual Interactions in Butterflies, viz výše.

<sup>160</sup> Např. Kemp, D. J., Herberstein M. E., Grether, G. F. Unraveling the True Complexity of Costly Color Signaling. *Behavioral Ecology*. Roč. 23, 2012, s. 233–236.

<sup>161</sup> Kemp, D. J., Rutowski, R. L. Condition Dependence, Quantitative Genetics, and the Potential Signal Content of Iridescent Ultraviolet Butterfly Coloration. *Evolution*. Roč. 61, 2007, s. 168–183.

<sup>162</sup> Cotton, S., Fowler, K., Pomiankowski, A. Condition-dependence of Sexual Ornament Size and Variation in the Stalk-eyed Fly *Cyrtodiopsis dalmanni* (Diptera: Diopsidae). *Evolution*. Roč. 58, 2004, s. 1038–1046.

<sup>163</sup> Blíže o celé problematice viz Kemp, Rutowski, Condition Dependence, Quantitative Genetics, and the Potential Signal Content of Iridescent Ultraviolet Butterfly Coloration, viz výše.

ptáci, tedy hlavní predátoři motýlů. Existuje tudíž možnost, že by ultrafialové kresby byly pro své nositele handicapem a kvalitu samce by podle Zahaviho hypotézy<sup>164</sup> ukazovaly tím, že dokáže přežít i s břemenem velmi intenzivně reflektující kresby. Pro takové vysvětlení ovšem chybí evidence. Další věc, kterou je nutné mít na paměti při studiu ultrafialových kreseb, je otázka, zda jsou tyto kresby opravdu signálem určeným pro samici, nebo slouží pouze k vnitrodruhové komunikaci mezi samci, tedy zda jsou přítomné jednoduše proto, aby se předešlo zbytečným pokusům o páření. Ale této hypotéze dosavadní znalosti příliš neodpovídají.

Nakonec se nám nabízí i jedna zcela odlišná hypotéza, která se zabývá biologickým významem UV reflektantních kreseb a již ve své práci poprvé nastínili Meyer-Rochow a Järvilehto.<sup>165</sup> Podle ní by struktury odrážející ultrafialové světlo nemusely mít nutně signalizační funkci, ale ochrannou coby záštita před dopadajícím ultrafialovým zářením, které může na organismus (či třeba pohlavní buňky) působit degenerativně. Výsledkem by bylo, že v oblastech s vyšší mírou dopadajících ultrafialových paprsků by kresby měly být intenzivnější či větší (ve smyslu jak velkou plochu křídla překrývají). Zjednodušeně platí, že intenzita dopadajícího UV záření se zvyšuje od pólů k rovníku a s rostoucí nadmořskou výškou,<sup>166</sup> což by vedlo k tomu, že blíže k rovníku a ve vyšších nadmořských výškách budou kresby výraznější. Je pravdou, že například u žlutáska řešetlákového ultrafialové kresby takový charakter skutečně vykazují,<sup>167</sup> ale u jemu blízce příbuzného druhu, běláška řepkového, je tomu právě naopak.<sup>168</sup> Z toho prozatím můžeme vyvodit jediné, a sice že na cestě k pochopení významu ultrafialových kreseb v přírodě či jen pouze u motýlů je ještě velké množství otázek, které musíme zodpovědět. Souhrnem se tedy dá pouze říct, že ultrafialové kresby jsou u motýlů zcela jistě velmi důležitým druhotným pohlavním znakem, ale to, jakou funkci při výběru

---

<sup>164</sup> Zahavi, A. Mate Selection – A Selection for a Handicap. *Journal of Theoretical Biology*. Roč. 53, 1975, s. 205–214.

<sup>165</sup> Meyer-Rochow, V. B., Järvilehto, M. Ultraviolet Colours in *Pieris napi* from Northern and Southern Finland: Arctic Females Are the Brightest! *Naturwissenschaften*. Roč. 84, 1997, s. 165–168.

<sup>166</sup> Herman, J. R., Krotkov, N., Celarier, E., Larko, D., Labow, G. Distribution of UV Radiation at the Earth's Surface from TOMS-measured UV-backscattered Radiances. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres*. Roč. 104, 1999, s. 12059–12076.

<sup>167</sup> Pecháček, P. *Vliv environmentálních proměnných na tvar UV-reflektantní kresby u druhu Gonepteryx rhamni*. 2012. Diplomová práce. Univerzita Karlova v Praze. Vedoucí práce: Mgr. Karel Kleisner, Ph.D.; Pecháček, Žlutásek řešetlákový a plasticita ultrafialových kreseb motýlů v závislosti na prostředí, viz výše.

<sup>168</sup> Stella, D. *Covariance between UV-reflectance, Wing Shape, and Environmental Variables in Pieris napi (Lepidoptera: Pieridae)*. Diplomová práce. 2013. Univerzita Karlova v Praze. Vedoucí práce: Mgr. Karel Kleisner, Ph.D.

vlastně mají, jakou informaci nesou a jak se míra jejich exprese projeví na výběru ze strany sexuálního partnera, není doposud zcela jasné. Zmíněné práce sice napovídají, jakým směrem se může další výzkum ubírat, je však nutno pamatovat, že většina experimentů byla provedena jen na několika málo modelových druzích, a to obvykle v nepřirozeném laboratorním prostředí, kde se motýli mohou chovat jinak než ve volné přírodě. Dodejme, že tato podkapitola si nekladla za cíl poskytnout o významu ultrafialové komunikace v přírodě kompletní přehled, ale spíše mozaikou příkladů a úvah přiblížit dosah jedné kategorie sémantických orgánů a poskytnout náhled na problematiku, kterou i pro její neviditelnost často přehlízíme.

### **Sémantické orgány, vlastní jevy a signální teorie**

Z výše uvedeného je patrné, že exponované povrchy organismů a jejich percepci nelze studovat odděleně. Dokonce bychom mohli říct, že tyto dvě dimenze ve skutečnosti tvoří jeden nedělitelný celek. V biologickém myšlení jsou povrchové aspekty organismů tradičně vykládány v kontextu pojmového dualismu formy a funkce. Autority zpravidla vyzdvihovaly buď formální, nebo funkční aspekt a povyšovaly jej na obecný organizující princip všeho živého. Jednou následovala forma funkci, jindy zase naopak. V následujícím textu se pokusíme představit pojem sémantického orgánu, tedy entity, která není definována ani formálními, ani funkčními aspekty, nýbrž významem nabytým skrze akt vnímání.

Než přistoupíme k definici sémantických orgánů, je potřeba stručně představit myšlenková východiska Portmannovy „fenomenologické zoologie“, bez nichž by důvody ke konceptualizaci a legitimaci sémantických orgánů nemusely být zřejmé. Adolf Portmann ve svém díle opakovaně upozorňuje, že vnější neprůhledné exponované povrchy živočichů nejsou jen pouhou bariérou, která odděluje vnitřní tělesné struktury a metabolické pochody od vnějšího prostředí organismu, a plní tak úlohu jakési mechanické a fyziologické ochrany. Vnější exponované povrchy organismů transcendují funkční nezbytnost organického celku. Portmann se domníval, že všechny projevy živého lze rozdělit na jevy vlastní a jevy nevlastní. Vlastní jevy představují veškeré povrchové (ale i vnitřní) aspekty organismu, jež mohou být vnímatelné jinou živou entitou. Sem náleží všechny projevy organismů, jejichž expozice smyslům potenciálního interpreta se děje přirozenou neinvazivní cestou, tedy způsobem, při němž nedochází k narušení funkční integrity organického celku. Smyslům prvoplánově nepřístupné dimenze vnitřního utváření organismu – struktury zajišťující opěrné, fyziologické a energetické funkce – Portmann označuje za jevy nevlastní. Na rozdíl od vlastního jevu



tyto nevlastní projevy nejsou primárně určeny percepci. Vlastní jevy jsou odrazem organického sebe-vztahu, konkrétně sebevyjádřením živé bytosti, externalizací niternosti (*Selbstdarstellung der Innerlichkeit*).<sup>169</sup> Pojem „niternost“ (*Innerlichkeit*) zavedl do biologického myšlení německý embryolog a zakladatel vývojové mechaniky Wilhelm Roux.<sup>170</sup>

Portmann navazoval na tuto tradici kontinentální biologie, a měl tak pro Rouxovy úvahy zdůrazňující inkluzivitu (sebevztaznost) organismů porozumění. Podle Rouxe je potřeba před všechny projevy organismu klást předponu „sebe“, neboť ve skutečnosti pozorujeme sebe-diferenciaci embrya během ontogeneze, sebe-reprodukci adultních stadií apod. Portmannovo pojetí niternosti organismů Rouxovu koncepci v mnohém přesahuje. Niternost představuje neprostorovou (nerozprostraněnou) složku reality, jež nemůže být jednoduše nástrojově uchopena nebo změřena. Tato niterná dimenze organické existence může být zpřístupněna pouze interpretací jejích vlastních projevů (efektů) – její poznávání se děje pouze skrze vnější aspekty organismu. UV reflektantní vzory na křídlech motýlů například vypovídají o významu ultrafialové barvy v životě žlutáaska. V bezprostřední žité zkušenosti člověka, slona nebo muflona však UV světlo žádný význam nenesí. Zkoumání niternosti může být do jisté míry mylně zaměňované s výzkumem psychických obsahů. K psychickým obsahům myslí se v psychologii často přistupováno jako k jakýmkoli jiným fyzikálním objektům, jež jsou předmětem zkoumání karteziánské vědy. Zároveň můžeme těžko mluvit o psychických charakteristikách například korálů, ploštěnců nebo bradatic. Psychické obsahy se týkají mysli. Niternost však není ničím takovým vymezena, není podmíněna přítomností mozku nebo nervové a senzorické soustavy, jakkoli je s těmito strukturami provázána. Spíše než s nějakou tělesnou strukturou je niternost spjata se schopností organismu navazovat a zakládat vztahy se světem. Niternost je horizontem sebe-prožívání, všech aspektů organismální inkluzivity a centrality, možnosti organismu konstituovat specifické vztahy s okolím. Je nutné si uvědomit, že otázka po niternosti je zároveň otázkou po organismu. A to jak z hlediska ontologického, tak kauzálně-analytického. V tomto smyslu Portmann navazuje na Rouxe a rozšiřuje jeho výčet sebevztazností organismu o sebereprezentaci. Vlastní jevy jsou odrazem organického sebe-vztahu, konkrétně sebevyjádřením živé bytosti, externalizací niternosti.<sup>171</sup> Vlastní jevy

<sup>169</sup> Portmann, *Neue Wege der Biologie*, viz výše; Portmann, A. *Die Tiergestalt. Studien über die Bedeutung der tierischen Erscheinung*. Basel: Friedrich Reinhardt, 1960; Portmann, A. *Einführung in die vergleichende Morphologie der Wirbeltiere*. Basel: Schwabe & Co., 1969.

<sup>170</sup> Roux, W. Das Wesen des Lebens. In: Chun, C., Johannsen, W. (eds.). *Die Kultur der Gegenwart. Allgemeine Biologie*. Leipzig: Teubner, 1915, s. 173–187.

<sup>171</sup> Portmann, *Neue Wege der Biologie*, viz výše; Portmann, *Einführung in die vergleichende Morphologie der Wirbeltiere*, viz výše.

jsou pouze potenciálně přístupné smyslovému vnímání jiných organismů, avšak nemusí pro danou skupinu příjemců nutně nést nějaký konkrétní význam. Vlastní jevy nemající žádnou praktickou hodnotu pro přežití organismu Portmann označuje jako jevy neadresné. Pokud vlastní jev pro příjemce nabývá nějakého určitého významu, potom je označován jako adresný. Analýzu neadresných a adresných vlastních jevů Portmann provedl ze zcela zřejmého důvodu, a sice aby poukázal na tehdy ne zcela zřejmý fakt, že přívrženci adaptacionistického programu mohou z principu objasnit původ jedině těch aspektů vzhledu organismů, které spadají do kategorie adresných jevů.

Portmannův pojmový rozvrh na vlastní a nevlastní jevy se opírá o skutečnost, že svébytná existence obou dimenzí vynikne při srovnání vnitřních nebo zakrytých partií organismu s jeho exponovanými povrchy. Vlastní jev tak zakládá a generuje sám organismus ze svých vnitřních příčin tím, že jej exponuje, tedy zpřístupní potenciální percepci. Organismy jsou v tomto ohledu znaky (znakové struktury), které označují samy sebe. Z evoluční perspektivy je adresnost/neadresnost jevu aspektem nutně spjatým až se vznikem organismů schopných potenciálně vnímat a interpretovat exponované povrchy jiných organismů. Adresnost je nutně vlastností vztažnou, protože různé organismy na základě struktury svých smyslových a kognitivních schopností utvářejí specifické vztahy se svým okolím. Řečeno s Uexküllem, jejich percepce je vymezena strukturou jejich umweltu. Co posléze označíme adresným jevem, je spíše spoluutvářeno (jakoby vypreparováváno) právě adresátem samotným. V uexküllovské perspektivě lze adresný vlastní jev nahlížet jako entitu, která vystupuje na základě niternosti nositele v podobě tělesné struktury, jež se posléze stává adresnou, a to nabytím významu v umweltu adresáta. V reálném ekosystému podléhajícím evoluci nebude řada vlastních jevů nutně adresovaná konkrétnímu příjemci nebo skupině příjemců. Jakékoli vlastní jevy (i neadresované) mohou být dříve nebo později „významonosné“ i pro živé entity, kterým nebyly původně adresovány. Tyto navíc nemusí pro všechny zúčastněné organismy nést tentýž význam. Adresný vlastní jev vyvolává předpoklad existence nějakého konkrétního adresáta, a mohl by tak asociovat s pojmem signál tak, jak je užíván v rámci signální teorie.<sup>172</sup> Ne vždy však exponované povrchy organismů nesou jen jeden význam a ne vždy mají svého unikátního adresáta.

S ohledem na výše uvedené skutečnosti zde vlastní jevy, které nabývají významu v rámci umwelt specifické percepce jiného organického interpreta, označujeme jako sémantické orgány:

---

<sup>172</sup> Maynard Smith, J., Harper, D. *Animal Signals*. New York: Oxford University Press, 2003.

„Sémantické orgány (zkr. sémy, angl. sg. Seme)<sup>173;174</sup> jsou takové exponované povrchy, které jsou definovány významem, jenž je jim ukládán v umweltu určitého interpreta. Sémantické orgány mají semi-autonomní charakter, tzn., že jejich významová celistvost není zcela určována ani jejich anatomickou, fyziologickou či genetickou podmíněností, ani jednoznačným přiřazením významu v umweltu adresáta. Sémantický orgán je spíše jakousi hraniční entitou, která vystupuje nejen díky znakové struktuře vnímatelných fyzických základů ornamentu nositele, ale vždy i v interakci se strukturou umweltu daného příjemce.“<sup>175</sup>

Variabilita sémantických orgánů má tři zdroje. První vyplývá z morfogenetického potenciálu daného organismu (*intrinsic causation*). Druhým zdrojem je vliv vnějších podmínek, zejména pak environmentálních faktorů (*extrinsic causation*), které během ontogeneze mohou efektivně ovlivňovat genetické a vývojové mechanismy, tzn. intraorganismální generátory variability. Tyto dva zdroje variability určují výslednou strukturální složku sémantického orgánu, která v Portmannově terminologii odpovídá vlastnímu jevu (*eigentliche Erscheinung*). Třetím zdrojem variability jsou pak dány specifiky percepce těchto exponovaných povrchů v závislosti na charakteru interpreta. Pokud bychom použili příklad oblíbené Neckerovy krychle,<sup>176</sup> strukturální složku by tvořilo jen to, co je objektivně namalované jedním druhem barvy na jinak barevném podkladu, percepční složku pak samotný obraz krychle, který vyvstává ovšem jen díky povaze naší percepce (např. u muflona by krychle nevyvstala, neboť krychle není součástí mufloniho umweltu, neexistuje zde jako koncept). Mentální překlápění jejich dvou konformací potom představuje její percepční variabilitu. Existence sémantického orgánu je tedy nutně závislá na percepci daného typu organismů, stejně jako je existence Neckerovy krychle podmíněná percepcí člověka. Sémantické orgány můžeme chápat jako jednu z úrovní biologické organizace. Vykazují variabilitu, jsou dědičné a jsou do jisté míry diskrétní – mají hranice vymezené možnostmi organismální exprese a percepce.

<sup>173</sup> Kleisner, K., Markoš, A. Semetic Rings: Towards the New Concept of Mimetic Resemblances. *Theory in Biosciences*. Roč. 123, 2005, s. 209–222.

<sup>174</sup> Kleisner, K. Homosemiosis, Mimicry and Superficial Similarity: Notes on the Conceptualization of Independent Emergence of Similarity in Biology. *Theory in Biosciences*. Roč. 127, 2008, s. 15–21.

<sup>175</sup> Kleisner, K. The Semantic Morphology of Adolf Portmann: A Starting Point for the Biosemiotics of Organic Form? *Biosemiotics*. Roč. 1, 2008, s. 207–219.

<sup>176</sup> Necker, L. A. Observations on Some Remarkable Optical Phenomena Seen in Switzerland; and on an Optical Phenomenon which Occurs on Viewing a Figure of a Crystal or Geometrical Solid. *London and Edinburgh Philosophical Magazine and Journal of Science*. Roč. 1, 1832, s. 329–337.

Percepční variabilitu zde záměrně chápeme jakožto integrální složku sémantického orgánu, a nikoli jako vlastnost, která je jednoznačně a výlučně dána vnímajícím subjektem – kognitivními a smyslovými možnostmi interpreta (*receiver's psychology*). Tento rozvrh nám totiž umožňuje se sémantickými orgány nakládat jako s jakýmkoli jinými biologickými objekty, například kvantifikovat a vizualizovat míru strukturální a percepční složky variability sémantických orgánů. Na jedné straně tedy lze zachovat kompatibilitu s klasickou biologií a jejími metodologickými nástroji, na straně druhé zároveň přiznat úlohu participace subjektu na utváření sémantických orgánů. Přisouzením percepční variability jakožto jednoho ze zdrojů variability sémantických orgánů je vědomou rezignací na analýzu subjekt-objektové struktury. Případná tematizace, rozbor a dekonstrukce tohoto vztahu přesahuje intence sémantické morfologie a je úkolem příslušného oboru filozofie.

Praktické zkoumání sémantických orgánů je pak třeba vést z obou rovin jak formální analýzou strukturálních aspektů sémantických orgánů (vlastních jevů) organismů (zbarvení, tvar, behaviorální profil), tak i analýzou smyslových, percepčních a kognitivních parametrů potenciálních adresátů v reakci na stimul reprezentovaný vlastním jevem (strukturální složkou sémantického orgánu). V konkrétním datovém souboru bude záznam o strukturální variabilitě zkoumaného sémantického orgánu vyjádřen například maticí karteziánských souřadnic, jež představují popis tvaru každého objektu v datovém souboru, zatímco perceptuální variabilita sémantického orgánu bude vyjádřena jako matice zaznamenávající např. behaviorální reakci různých typů subjektů vůči struktuře každého objektu v datovém souboru. Dobrou ilustrací role percepce jakožto zdroje variability sémantických orgánů mohou být rozdíly v mezikulturním vnímání lidského obličeje.<sup>177</sup> Lidé mají problém rozpoznávat a pamatovat si obličeje jedinců jiných etnik, například Středoevropanům přijdou příslušníci východoasijských etnik navzájem velmi podobní (ačkoli morfologická variabilita obličejů u obou populací je pravděpodobně srovnatelná). Tento příklad ilustruje, že objektivně vykazatelná morfologická variabilita jednoduše není zárukou percepce této variability.

<sup>177</sup> Meissner, C. A., Brigham, J. C. Thirty Years of Investigating the Own-race Bias in Memory for Faces: A Meta-analytic Review. *Psychology, Public Policy, and Law*. Roč. 7, 2001, s. 3; Michel, C., Caldara R., Rossion, B. Same-race Faces are Perceived More Holistically than Other-race Faces. *Visual Cognition*. Roč. 14, 2006a, s. 55–73; Michel, C., Rossion, B., Han, J., Chung, C.-S., Caldara, R. Holistic Processing is Finely Tuned for Faces of One's Own Race. *Psychological Science*. Roč. 17, 2006, s. 608–615; Mondloch, C. J., Elms, N., Maurer, D., Rhodes, G., Hayward, W. G., Tanaka, J. W., Zhou, G. Processes Underlying the Cross-race Effect: An Investigation of Holistic, Feature, and Relational Processing of Own-Race versus Other-race Faces. *Perception*. Roč. 39, 2010, s. 1065–1085; Hayward, W. G., Crookes, K., Rhodes, G. The Other-race Effect: Holistic Coding Differences and Beyond. *Visual Cognition*. Roč. 21, 2013, s. 1–24.

Reálná sémantická variabilita populace je dána jednak schopností organismů tuto variabilitu morfogeneticky generovat a jednak i citlivostí (vnímavostí) vůči této exponované fenotypové variabilitě.

Exponované vnější povrchy organismů sloužící ke komunikaci jsou často spojované s pojmem signálu a se signální teorií.<sup>178</sup> Je proto nezbytné zde vyjasnit, jak se sémantické orgány vztahují k jednotlivým typům signalizace. Pochopitelně ne vše, čím se živé organismy projevují, může být klasifikováno jako signál. Signály (rozuměj ritualizované signály) se od vodítek (*cues*) liší v několika hlavních aspektech. Signál je svou povahou zpravidla nápadnějším projevem nežli vodítka. Dále vykazuje vyšší míru redundance, neboť může sestávat z několika prvků v rámci jedné nebo i více smyslových modalit. Signál rovněž podléhá značné míře stereotypizace, důsledkem čehož i komplexní signál bude vykazovat minimální míru variability. Autoři oddělují dvě komponenty signálu: strategickou a taktickou. Strategická komponenta nás informuje o selekčních tlacích, které formovaly signál k jeho účelu, a taktická komponenta zas o selekčních tlacích, které vedly k větší efektivitě signálu.

Proč v přírodě pozorujeme tak bohatou škálu signalizace? Kombinace zmíněných dvou složek sice přispívá k odpovědi na tuto otázku, přesto však uspokojivě nevysvětluje, proč se některé signály tolik liší druh od druhu. Signalizace má často repetitivní povahu a často je předeslána upozorněním, jež má jiný charakter než samotný signál.<sup>179</sup> Ač signál často sestává z vícero modalit, a dosahuje tak značné složitosti, je sémiotická svoboda jeho interpretace minimalizována.

Signál je vlastně komplexním sémantickým orgánem, jehož korporální i percepční zdroj variability je významně redukován. Čím je tato redukce fenotypové i percepční variability větší, tím efektivnější je funkčnost signálu. Vodítka je pak jakýkoli sémantický orgán s různou mírou fenotypové variability, zato však oproti pravým signálům vykazuje vysokou míru percepční variability, jež nepodléhá striktním interpretačním omezením (ritualizaci). Rozdíl mezi signálem a vodítkem není z tohoto úhlu pohledu kategorický, signál se od vodítka jednoduše liší jen mírou variability jak na straně percepce, tak na straně fenotypové expozice.

Signální teorie dále vyvolává dojem, jako by mezi geny a samotným aktem signalizace nebylo nic dalšího. Žádné přechodné úrovně organizovanosti nebere v potaz. Organismy a jejich projevy jsou neproblematickým způsobem

<sup>178</sup> Maynard Smith, Harper, *Animal Signals*, viz výše.

<sup>179</sup> Wiley, R. H. *The Evolution of Communication: Information and Manipulation*. In: Halliday T. R., Slater, P. J. B. (eds.). *Communication*. Oxford: Blackwell, 1983, s. 82–113; Johnstone, R. A. *The Evolution of Animal Signals*. In: Krebs J. R., Davies, N. B. (eds.). *Behavioural Ecology*. Oxford: Oxford University Press, 1997, s. 155–178; Maynard Smith, Harper, *Animal Signals*, viz výše, s. 38.

determinovány genetickým pozadím a evoluce signálu a jeho percepce je nakonec důsledkem mutace v lokusu pro daný signál. Samotná ontogeneze a příslušné vývojové procesy podílející se na tvorbě signálu nejsou integrální součástí signální teorie. Ta se však v některých případech opírá o vysoké náklady na produkci signálu během ontogeneze (*developmental costs*); např. míra flukтуаční asymetrie je dána schopností organismu vyrovnat se během svého vývinu s proměnlivými a nestabilními podmínkami prostředí.

Na rozdíl od sémantické morfologie primárním cílem signální teorie není vysvětlit utváření a evoluční proměny vzhledu organismů. Signální teorie spíše ukazuje, jak jsou povrch a jiné, zejména behaviorální projevy organismu zapojeny do mezidruhové a vnitrodruhové komunikace. Ačkoliv se její zájem omezuje pouze na adaptivní znaky, k vysvětlení vnějšího vzhledu organismů signální teorie nedílně přispívá.

### **Teoretické důsledky evoluce sémantických orgánů**

Hledisko spojené s povrchem běžně nabývá spíše negativních souvislostí. Pokud o někom prohlásíme, že je povrchní člověk nebo že má povrchní záliby, nevyjadřujeme se zpravidla lichotivě. Opovrhujeme povrchními názory a úvahami a zároveň obdivujeme hloubku lidského ducha. Vědci od nepaměti žijí v přesvědčení, že to podstatné bývá skryto. Portmannova metafora o Goethovi a divadle dobře ilustruje zájem moderní vědy o mechanismy zákulisní techniky, nikoli o to, co se děje na jevišti.<sup>180</sup> Novověká věda má obecně sklon přeceňovat příčiny nezjevné zákulisní reality a podceňovat úlohu jevové skutečnosti, která se nám dává bezprostředně. V extrémním případě pak nabýváme přesvědčení, že vše, co se děje na scéně, je určováno pohnutkami a intencemi zákulisních činitelů. Důsledkem jsou pak návrhy, že bychom nejdříve měli odhalit vnitřní genetické příbuznosti mezi jednotlivými populacemi taxonů a teprve následně hledat vnější znaky, podle kterých takto uspořádané skupiny budeme rozlišovat. Dnes se ovšem jasněji než kdy jindy ukazuje, že zákulisí je děním na scéně ovlivněno přinejmenším srovnatelně. Navíc diváci nejsou jen další pasivní kulisou v hledišti, nýbrž aktivními účastníky dění na jevišti. Složení divácké komunity se zároveň odvíjí od typu hry a jejího aktuálního ztvárnění. To kvůli divákům, hercům a jejich dramatickým výkonům se mění rekvizity, rozestavení jeviště a vůbec celá zákulisní mašinerie, a nikoli naopak.

Z logiky organizace živé bytosti tedy neplatí, že to, co je exponováno na povrchu, je povahy nutně povrchní. Naopak, povrchové je zde výrazem hloubky nespočetných úrovní organismální hierarchie a komplexity vztahů mezi

---

<sup>180</sup> Portmann, A. *Biologie und Geist*. Göttingen: Ulrich Burgdorf Verlag, 2000.

těmito úrovněmi. Receptorické systémy jsou již od svého prvopočátku pevně svázány s opticky aktivními systémy, jež jsou zodpovědné za zbarvení, jsou vlastně na jejich funkci postaveny. Exponované povrchy jsou tak odpradávná pevně spjaty se smyslovým a interpretačním aparátem organismů a jejich sémanticko-informační obsah je z hlediska biologického významu podobně zásadní jako bezprostředně nepřístupné záznamy uložené v genomu. Povrch na jedné straně uzavírá inkluzivní hierarchii systému, je tedy hranicí funkcionální a strukturální integrity organismu, na straně druhé je pak znakem specificity, autonomie a v neposlední řadě i horizontem komunikace.

Endogenní (intraorganismální) variabilita produkuje fenotypové struktury (znaky). Jejich reálné zastoupení a charakter je jednak spoluurčován podmínkami prostředí organismů a jednak možnostmi umwelt specifické percepcie jedinců téhož druhu nebo zástupců jiných taxonů, jež jsou součástí stejného ekosémiotického konsorcia. Tím se vytváří pole podob a podobností, jež jsou stavebními kameny morfosémantické evoluce. Sémantické orgány přicházejí na svět akvizicí exponovaných povrchů nebo jejich částí v rámci umweltu dané skupiny organismů (sémiotická koopce). Exponované povrchy organismů se pomocí sémiotické koopce částečně emancipují od svých tělesných základů a vystupují jako semiautonomní entity: sémantické orgány. Nabýváním významu v umweltu několika skupin predátorů může daný typ sémantického orgánu (např. oční skvrny – *eyespots*) „osidlovat“ exponované povrchy celé řady organismů, např. těla potenciální kořisti druhů pocházejících i z ne zcela nepřibuzných skupin. Genetické prekurzory, jež vedou k expresi koncentrických morfologických struktur, nacházíme u celé řady obratlovců i bezobratlých. Pokud jsou tyto struktury následně v rámci umweltu daných příjemců zaměněny za oči jiného organismu, může dojít k nastartování selekčního tlaku, jenž posléze vede ke zdokonalení např. výstražného efektu těchto očních skvrn.<sup>181</sup> Nabytím významu v umweltu zvířecích interpretů se sémantické orgány mohou horizontálně šířit a obsazovat exponované povrchy organismů v daném ekosémiotickém konsorciu.

Řada jevů z kategorie mimikry nás upomíná, že v evoluci nemusí jít jen o replikaci a plurifikaci tradičních darwinovských individuí (těl organismů) nebo genů. Tuto skutečnost dobře ilustruje případ, kdy nejedovatý či jinak nechráněný druh napodobuje chráněný model (batesovské mimikry). Imitátor

---

<sup>181</sup> Kleisner, K. Homosemiosis, Mimicry and Superficial Similarity: Notes on the Conceptualization of Independent Emergence of Similarity in Biology, viz výše; Janzen, D. H., Hallwachs, W., Burns, J. M. A Tropical Horde of Counterfeit Predator Eyes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. Roč. 107, 2010, s. 11659–11665; Blut, C., Wilbrandt, J., Fels, D., Gírgel, E., Lunau, K. The ‘Sparkle’ in Fake Eyes – The Protective Effect of Mimic Eyespots in Lepidoptera. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. Roč. 143, 2012, s. 231–244.

napodobováním chráněného modelu získává nespornou reprodukční výhodu, neboť využívá výstražného signálu chráněného modelu a minimalizuje tím pravděpodobnost predace vlastních příslušníků. Klasický neodarwinistický scénář na tomto místě končí. Z pohledu evoluce sémantických orgánů je ale selekční výhoda imitátora kompenzována ztrátou druhově specifických sémantických orgánů.<sup>182</sup> Namísto vlastních specifických charakteristik se napodobující druh podílí na plurifikaci sémantických orgánů svého modelu.

Pokud uznáme formální hodnotu exponovaných povrchů, stačí už jen malý krok, abychom připustili, že důsledkem evoluce života není jen replikace, zmnožování a předávání genetických elementů do dalších a dalších generací. Spíše zde máme co do činění s obecnější představou propagace elementů na mnoha úrovních biologické hierarchie. V kontextu sémantické morfologie má neodarwinistická reprodukčně-tělesná a sémanticko-komunikační dimenze evoluce nakonec společný důsledek, kterým je expozice a plurifikace podob a podobností.

### **Poděkování**

Autoři děkují editorům knihy za příležitost účastnit se tohoto společného díla. Zvláštní díky náleží Filipu Jarošovi za cenné připomínky k našemu textu. Text vznikl za podpory projektů GAUK 764313 (PP) a projektu OP VK Výzkumné centrum pro teorii a dějiny vědy, reg. č. CZ.1.07/2.3.00/20.0138, spolufinancovaného z Evropského sociálního fondu a státního rozpočtu České republiky (KK).

---

<sup>182</sup> Kleisner, K., Markoš, A. Semetic Sings: Towards the New Concept of Mimetic Resemblances, viz výše, s. 35; Kleisner, K., Markoš, A. Mutual Understanding and Misunderstanding in Biological Systems Mediated by Self-representational Meaning of Organisms. *Sign Systems Studies*. Roč. 37, 2009, s. 299–310.



## Bibliografie:

- Alibardi, L. Histology, Ultrastructure, and Pigmentation in the Horny Scales of Growing Crocodylians. *Acta Zoologica*. Roč. 92, 2011, s. 187–200.
- Alibardi, L. Observations on the Ultrastructure and Distribution of Chromatophores in the Skin of Chelonians. *Acta Zoologica*. Roč. 94, 2013, s. 222–232.
- Alonso-Alvarez, C., Pérez-Rodríguez, L., García, J. T., Viñuela, J. Testosterone-mediated Trade-offs in the Old Age: A New Approach to the Immunocompetence Handicap and Carotenoid – Based Sexual Signalling. *Proceedings of the Royal Society B*. Roč. 276, 2009, s. 2093–2101.
- Andersson, M., Simmons, L. W. Sexual Selection and Mate Choice. *Trends in Ecology & Evolution*. Roč. 21, 2006, s. 296–302.
- Arnheiter, H. Evolutionary Biology – Eyes Viewed from the Skin. *Nature*. Roč. 1998, č. 391, s. 632–633.
- Arnott, H. J., Best, A. C. G., Nicol, J. A. C. Occurrence of Melanosomes and of Crystal Sacs within the Same Cell in the Tapetum Lucidum of the Stingree. *Journal of Cell Biology*. Roč. 46, 1970, s. 426–427.
- Ayala, F. J. The Structure of Evolutionary Theory: On Stephen Jay Gould's Monumental Masterpiece. *Theology and Science*. Roč. 3, 2005, s. 97–117.
- Bagnara, J. T. The Amphibian Egg as a Pigment Cell. *Yale Journal of Biology and Medicine*. Roč. 57, 1984, s. 335.
- Bagnara, J. T., Matsumoto, J., Ferris, W., Frost, S. K., Turner, W. A. Jr., Tchen, T. T., Taylor, J. D. Common Origin of Pigment Cells. *Science*. Roč. 203, 1979, s. 410–415.
- Bagnara, J. T., Taylor, J. D., Hadley, M. E. The Dermal Chromatophore Unit. *The Journal of Cell Biology*. Roč. 38, 1968, s. 67–79.
- Bäumer, N., Marquardt, T., Stoykova, A., Spieler, D., Treichel, D., Ashery-Padan, R., Gruss, P. Retinal Pigmented Epithelium Determination Requires the Redundant Activities of Pax2 and Pax6. *Development*. Roč. 130, 2003, s. 2903–2915.
- Bharti, K., Miller, S. S., Arnheiter, H. The New Paradigm: Retinal Pigment Epithelium Cells Generated from Embryonic or Induced Pluripotent Stem Cells. *Pigment Cell and Melanoma Research*. Roč. 24, 2010, s. 21–34.
- Blut, C., Wilbrandt, J., Fels, D., Gírgel, E., Lunau, K. The 'Sparkle' in Fake Eyes – The Protective Effect of Mimic Eyespots in Lepidoptera. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. Roč. 143, 2012, s. 231–244.
- Boggs, C. L., Gilbert, L. E. Male Contribution to Egg Production in Butterflies: Evidence for Transfer of Nutrients at Mating. *Science*. Roč. 206, 1979, s. 83–84.
- Boughman, J. W. How Sensory Drive Promote Speciation. *Trends in Ecology & Evolution*. Roč. 17, 2002, s. 571–577.
- Briscoe, A. D., Bybee, S. M., Bernard, G. D., Yuan, F., Sison-Mangus, M. P., Reed, R. D., Warren, A. D., Llorente-Bousquets, J., Chiao, C.-C. Positive Selection of a Duplicated UV-Sensitive Visual Pigment Coincides with Wing Pigment Evolution in Heliconius Butterflies. *Proceedings of National Academy of Sciences*. Roč. 107, 2010, s. 3628–3633.
- Campbell, A. L., Naik, R. R., Sowards, L., Stone, M. O. Biological Infrared Imaging and Sensing. *Micron*. Roč. 33, 2002, s. 211–225.

- Corning, P. A. Evolution 'On Purpose': How Behaviour has Shaped the Evolutionary Process. *Biological Journal of the Linnean Society*. Roč. 112, 2013, s. 242–260.
- Cotton, S., Fowler, K., Pomiankowski, A. Condition-dependence of Sexual Ornament Size and Variation in the Stalk-eyed Fly *Cyrtodiopsis dalmanni* (Diptera: Diopsidae). *Evolution*. Roč. 58, 2004, s. 1038–1046.
- Cummings, M. E., Rosenthal, G. G., Ryan, M. J. A Private Ultraviolet Channel in Visual Communication. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. Roč. 270, 2003, s. 897–904.
- D'Alba, L., Saranathan, V., Clarke, J. A., Vinther, J. A., Prum, R. O., Shawkey, M. D. Colour-producing  $\beta$ -keratin Nanofibres in Blue Penguin (*Eudyptula minor*) Feathers. *Biological Letters*. Roč. 7, 2011, s. 543–546.
- Dawkins, R. *The Selfish Gene*. Oxford: Oxford University Press, 2006.
- DeVoe, R. D. Ultraviolet and Green Receptors in Principal Eyes of Jumping Spiders. *The Journal of General Physiology*. Roč. 66, 1975, s. 193–207.
- Dinwiddie, A., Rachootin, S. Patterning of a Compound Eye on an Extinct Dipteran Wing. *Biology Letters*. Roč. 7, 2011, s. 281–284.
- Ducrest, A.-L., Keller, L., Roulin, A. Pleiotropy in the Melanocortin System, Coloration and Behavioural Syndromes. *Trends in Ecology and Evolution*. Roč. 23, 2008, s. 502–510.
- Erwin, D. H. One Very Long Argument. *Biology and Philosophy*. Roč. 19, 2004, s. 17–28.
- Faivre, B., Grégoire, A., Prévault, M., Cézilly, F., Sorci, G. Immune Activation Rapidly Mirrored in a Secondary Sexual Trait. *Science*. Roč. 300, 2003, s. 103.
- Fisher, R. A. The Evolution of Sexual Preference. *Eugenics Review*. Roč. 7, 1915, s. 184–192.
- Flegr, J. *Evoluční biologie*. Praha: Academia, 2005.
- Fleishman, L. J., Loew, E. R., Whiting, M. J. High Sensitivity to Short Wavelengths in a Lizard and Implications for Understanding the Evolution of Visual Systems in Lizards. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. Roč. 278, 2011, s. 2891–2899.
- Fukano, Y., Satoh, T., Hirota, T., Nishide, Y., Obara Y. Geographic Expansion of the Cabbage Butterfly (*Pieris rapae*) and the Evolution of Highly UV-reflecting Females. *Insect Science*. Roč. 19, 2012, s. 239–246.
- Galvin, S., Loomis, C., Manabe, M., Dhoulilly, D., Sun, T.-T. The Major Pathways of Keratinocyte Differentiation as Defined by Keratin Expression: An Overview. *Advances in Dermatology*. Roč. 4, 1989, s. 277–300.
- Ghiradella, H., Aneshansley, D., Eisner, T., Silberglied, R. E., Hinton, H. E. Ultraviolet Reflection of a Male Butterfly: Interference Color Caused by Thin-Layer Elaboration of Wing Scales. *Science*. Roč. 178, 1972, s. 1214–1217.
- Goda, M., Fujii, R. The Blue Coloration of the Common Surgeonfish, *Paracanthurus hepatus* – II. Color Revelation and Color Changes. *Zoological Science*. Roč. 15, 1998, s. 323–333.
- Goda, M., Fujii, R. Coloration and Chromatophores of the Domino Damsel, *Dascyllus trimaculatus*. *Zoological Science*. Roč. 18, 2001, s. 165–174.
- Goda, M., Ohata, M., Ikoma, H., Fujiyoshi, Y., Sugimoto, M., Fujii, R. Integumental Reddish-violet Coloration Owing to Novel Dichromatic Chromatophores in the Teleost Fish, *Pseudochromis diadema*. *Pigment Cell & Melanoma Research*. Roč. 24, 2011, s. 614–617.

- Gomez, D., Richardson, C., Théry, M., Lengagne, T., Léna, J.-P., Plénet, S., Jolly, P. Multimodal Signals in Male European Treefrog (*Hyla arborea*) and the Influence of Population Isolation of Signal Expression. *Biological Journal of the Linnean Society*. Roč. 103, 2011, s. 633–647.
- Gomez, D., Théry, M., Gauthier, A.-L., Lengagne, T. Costly Help of Audiovisual Bimodality for Female Mate Choice in Nocturnal Anuran (*Hyla arborea*). *Behavioral Ecology*. Roč. 22, 2011, s. 889–898.
- Gopalakrishnakone, P. The Structure of the Pigment Cells in the Turtle *Trionyx sinensis*. *Archivum Histologicum Japonicum*. Roč. 49, 1986, s. 421–435.
- Gosner, K. L. Histological Notes on the Green Coloration of Arboreal Pit Vipers: Genus *Bothrops*. *Journal of Herpetology*. Roč. 23, 1989, s. 318–320.
- Gould, S. J. *The Structure of Evolutionary Theory*. Cambridge: Harvard University Press, 2002.
- Gould, S. J., Lloyd, E. A. Individuality and Adaptation Across Levels of Selection: How Shall We Name and Generalize the Unit of Darwinism? *Proceedings of the National Academy of Sciences*. Roč. 96, 1999, s. 11904–11909.
- Hart, N. S. The Visual Ecology of Avian Photoreceptors. *Progress in Retinal and Eye Research*. Roč. 20, 2001, s. 675–703.
- Hart, N. S., Vorobyev, M. Modelling Oil Droplet Absorption Spectra and Spectral Sensitivities of Bird Cone Photoreceptors. *Journal of Comparative Physiology. A, Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*. Roč. 191, 2005, s. 381–392.
- Hayward, W. G., Crookes, K., Rhodes, G. The Other-race Effect: Holistic Coding Differences and Beyond. *Visual Cognition*. Roč. 21, 2013, s. 1–24.
- Heiling, A. M., Herberstein, M. E., Chittka, L. Pollinator Attraction: Crab-spiders Manipulate Flower Signals. *Nature*. Roč. 421, 2003, s. 334.
- Heiling, A. M., Herberstein, M. E. Predator-prey Coevolution: Australian Native Bees Avoid their Spider Predators. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. Roč. 271, 2004, s. 196–198.
- Heiling, A. M., Chittka, L., Cheng, K., Herberstein, M. E. Colouration in Crab Spiders: Substrate Choice and Prey Attraction. *Journal of Experimental Biology*. Roč. 208, 2005, s. 1785–1792.
- Herman, J. R., Krotkov, N., Celarier, E., Larko, D., Labow, G. Distribution of UV Radiation at the Earth's Surface from TOMS-measured UV-backscattered Radiances. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres*. Roč. 104, 1999, s. 12059–12076.
- Hines, H. M., Papa, R., Ruiz, M., Papanicolaou, A., Wang, C., Nijhout, H. F., McMillan, W. O., Reed, R. D. Transcriptome Analysis Reveals Novel Patterning and Pigmentation Genes Underlying *Heliconius* Butterfly Wing Pattern Variation. *BMC Genomics*. Roč. 13, 2012, s. 288.
- Hingdon, Ch. W., Mitra, R. D., Johnson, S. L. Gene Expression Analysis of Zebrafish Melanocytes, Iridophores, and Retinal Pigmented Epithelium Reveals Indicators of Biological Function and Developmental Origin. *PLoS ONE*. Roč. 8, 2013, s. e67801.
- Hull, D. L. Individuality and Selection. *Annual Review of Ecology and Systematics*. Roč. 11, 1980, s. 311–332.
- Chittka, L., Brockmann, A. Perception Space – The Final Frontier. *PLoS Biology*. Roč. 3, 2005, s. e137.

- Church, S. C., Bennett, A. T. D., Cuthill, I. C., Partridge, J. C. Ultraviolet Cues Affect the Foraging Behaviour of Blue Tits. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*. Roč. 265, 1998, s. 1509–1514.
- Inouye, C. Y., Hill, G. E., Stradi, R. D., Montgomerie, R. Carotenoid Pigments in Male House Finch Plumage in Relation to Age, Subspecies, and Ornamental Coloration. *The Auk*. Roč. 118, 2001, s. 900–915.
- Janzen, D. H., Hallwachs, W., Burns, J. M. A Tropical Horde of Counterfeit Predator Eyes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. Roč. 107, 2010, s. 11659–11665.
- Johnstone, R. A. The Evolution of Animal Signals. In: Krebs J. R., Davies, N. B. (eds.). *Behavioural Ecology*. Oxford: Oxford University Press, 1997, s. 155–178.
- Kekäläinen, J., Valkama, H., Huuskonen, H., Taskinen, J. Multiple Sexual Ornamentation Signals Male Quality and Predicts Female Preference in Minnows. *Ethology*. Roč. 116, 2010, s. 895–903.
- Kelsh, R. N., Harris, M. L., Colanesi, S., Erickson, C. A. Stripes and Belly-spots – A Review of Pigment Cell Morphogenesis in Vertebrates. *Seminars in Cell & Developmental Biology*. Roč. 20, 2009, s. 90–104.
- Kemp, D. J., Female Butterflies Prefer Males Bearing Bright Iridescent Ornamentation. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. Roč. 274, 2007, s. 1043–1047.
- Kemp, D. J. Heightened Phenotypic Variation and Age-based Fading of Ultraviolet Butterfly Wing Coloration. *Evolutionary Ecology Research*. Roč. 8, 2006, s. 515–527.
- Kemp, D. J., Herberstein M. E., Grether, G. F. Unraveling the True Complexity of Costly Color Signaling. *Behavioral Ecology*. Roč. 23, 2012, s. 233–236.
- Kemp, D. J., Macedonia, J. M. Structural Ultraviolet Ornamentation in the Butterfly *Hypolimnas bolina* L. (Nymphalidae): Visual, Morphological and Ecological Properties. *Australian Journal of Zoology*. Roč. 54, 2007, s. 235–244.
- Kemp, D. J., Rutowski, R. L. Condition Dependence, Quantitative Genetics, and the Potential Signal Content of Iridescent Ultraviolet Butterfly Coloration. *Evolution*. Roč. 61, 2007, s. 168–183.
- Kemp, D. J., Rutowski, R. L. The Role of Coloration in Mate Choice and Sexual Interactions in Butterflies. *Advances in the Study of Behavior*. Roč. 43, 2011, s. 55–92.
- Kevany, B. M., Palczewski, K. Phagocytosis of Retinal Rod and Cone Photoreceptors. *Physiology (Bethesda)*. Roč. 25, 2010, s. 8–15.
- Kirschfeld, K. Carotenoid Pigments: Their Possible Role in Protecting Eyes and Photoreceptor Cells. *Proceedings of the Royal Society B*. Roč. 216, 1982, s. 71–85.
- Kleisner, K. Homosemiosis, Mimicry and Superficial Similarity: Notes on the Conceptualization of Independent Emergence of Similarity in Biology. *Theory in Biosciences*. Roč. 127, 2008, s. 15–21.
- Kleisner, K. Perceive, Co-opt, Modify, and Live! Organism as a Centre of Experience. *Biosemiotics*. Roč. 4, 2011, s. 223–241.
- Kleisner, K. The Semantic Morphology of Adolf Portmann: A Starting Point for the Biosemiotics of Organic Form? *Biosemiotics*. Roč. 1, 2008, s. 207–219.
- Kleisner, K., Markoš, A. Mutual Understanding and Misunderstanding in Biological Systems Mediated by Self-representational Meaning of Organisms. *Sign Systems Studies*. Roč. 37, 2009, s. 299–310.

- Kleisner, K., Markoš, A. Semetic Rings: Towards the New Concept of Mimetic Resemblances. *Theory in Biosciences*. Roč. 123, 2005, s. 209–222.
- Knüttel, H., Fiedler, K. Host-plant-derived Variation in Ultraviolet Wing Patterns Influences Mate Selection by Male Butterflies. *Journal of Experimental Biology*. Roč. 204, 2001, s. 2447–2459.
- Knüttel, H., Fiedler, K. On the Use of Ultraviolet Photography and Ultraviolet Wing Patterns in Butterfly Morphology and Taxonomy. *Journal of the Lepidopterists' Society*. Roč. 54, 2000, s. 137–144.
- Koivula, M., Viitala, J. Rough-legged Buzzards Use Vole Scent Marks to Assess Hunting Areas. *Journal of Avian Biology*. Roč. 30, 1999, s. 329–332.
- Kozmik, Z., Ruzickova, J., Jonasova, K., Matsumoto, Y., Vopalensky, P., Kozmikova, I., Strnad, H., Kawamura, S., Piatigorsky, J., Paces, V., Vlcek, C. Assembly of the Cnidarian Camera-type Eye from Vertebrate-like Components. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. Roč. 105, 2008, s. 8989–8993.
- Krinsky, N. I. Carotenoids as Antioxidants. *Nutrition*. Roč. 17, 2001, s. 815–817.
- Kuriyama, T., Miyaji, K., Sugimoto, M., Hasegawa, M. Ultrastructure of the Dermal Chromatophores in a Lizard (Scincidae: *Plestiodon latiscutatus*) with Conspicuous Body and Tail Coloration. *Zoological Science*. Roč. 23, 2006, s. 793–797.
- Land, M. F., Horwood, J., Lim, M. L. M., Li, D. Optics of the Ultraviolet Reflecting Scales of a Jumping Spider. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. Roč. 274, 2007, s. 1583–1589.
- Li, Q., Clarke, J. A., Gao, K.-Q., Zhou, C.-F., Meng, Q., Li, D., D'Alba, L., Shawkey, M. D. Melanosome Evolution Indicates a Key Physiological Shift within Feathered Dinosaurs. *Nature*. Roč. 507, 2014, s. 350–353.
- Lim, M. L. M., Land, M. F., Li, D. Sex-Specific UV and Fluorescence Signals in Jumping Spiders. *Science*. Roč. 315, 2007, s. 481.
- Lim, M. L. M., Li, D. Extreme Ultraviolet Sexual Dimorphism in Jumping Spiders (Araneae: Salticidae). *Biological Journal of the Linnean Society*. Roč. 89, 2006, s. 397–406.
- Losey, G. S., Cronin, T. W., Goldsmith, T. H., Hyde, D., Marshall, N. J., McFarland, W. N. The UV Visual World of Fishes: A Review. *Journal of Fish Biology*. Roč. 54, 1999, s. 921–943.
- Lubbock, J. *Ants, Bees, and Wasps. A Record of Observations on the Habits of the Social Hymenoptera*. New York: D. Appleton and Co., 1882.
- Lubbock, J. On the Sense of Color among some of the Lower Animals. *Journal of the Linnean Society of London, Zoology*. Roč. 16, 1882, s. 121–127.
- Lutz, F. E. Apparently Non-selective Characters and Combinations of Characters, Including a Study of Ultraviolet in Relation to the Flower-visiting Habits of Insects. *Annals of the New York Academy of Sciences*. Roč. 29, 1924, s. 181–283.
- Lutz, F. E. *The "Buckwheat Problem" and the Behavior of the Honey-bee*. New York: American Museum of Natural History, 1934.
- Lutz, F. E. *Experiments with „Stingless Bees“ (Trigona cressoni parastigma) Concerning their Ability to Distinguish Ultraviolet Patterns*. New York: The American Museum of Natural History, 1933.
- Lutz, F. E. "Invisible" Colors of Flowers and Butterflies. *Natural History*. Roč. 33, 1933, s. 565–567.

- Lythgoe, J. N. *The Ecology of Vision*. Oxford: Oxford University Press, 1979.
- Lyytinen, A., Brakefield, P. M., Mappes, J. Significance of Butterfly Eyespots as an Anti-predator Device in Ground-based and Aerial Attacks. *Oikos*. Roč. 100, 2003, s. 373–379.
- Lyytinen, A., Lindström, L., Mappes, J. Ultraviolet Reflection and Predation Risk in Diurnal and Nocturnal Lepidoptera. *Behavioral Ecology*. Roč. 15, 2004, s. 982–987.
- Maran, T. John Maynard Smith's Typology of Animal Signals: A View from Semiotics. *Sign Systems Studies*. Roč. 37, 2009, s. 477–497.
- Maran, T., Kleisner, K. Towards an Evolutionary Biosemiotics: Semiotic Selection and Semiotic Co-option. *Biosemiotics*. Roč. 3, 2010, s. 189–200.
- Martin, A., McCulloch, K. J., Patel, N. H., Briscoe, A. D., Gilbert, L. E., Reed, R. D. Multiple Recent Co-options of Optix Associated with Novel Traits in Adaptive Butterfly Wing Radiations. *EvoDevo*. Roč. 4, 2014, s. 7.
- Martínez, A., Barbosa, A. Are Pterins Able to Modulate Oxidative Stress? *Theoretical Chemistry Accounts*. Roč. 127, 2010, s. 485–492.
- Maynard Smith, J., Harper, D. *Animal Signals*. New York: Oxford University Press, 2003.
- Mazokhin-Porshnyakov, G. A. Reflecting Properties of Butterfly Wings and the Role of Ultra-violet Rays in the Vision of Insects. *Biophysics*. Roč. 2, 1957, s. 285–296.
- McGraw, K. J. The Antioxidant Function of Many Animal Pigments: Are there Consistent Health Benefits of Sexually Selected Colourants? *Animal Behavior*. Roč. 69, 2010, s. 757–764.
- McGraw, K. J. Carotenoids, Immunocompetence, and the Information Content of Sexual Colors: An Experimental Test. *American Naturalist*. Roč. 162, 2003, s. 704–712.
- McGraw, K. J. An Update on the Honesty of Melanin – Based Color Signals in Birds. *Pigment Cell and Melanoma Research*. Roč. 21, 2008, s. 133–138.
- Meissner, C. A., Brigham, J. C. Thirty Years of Investigating the Own-race Bias in Memory for Faces: A Meta-analytic Review. *Psychology, Public Policy, and Law*. Roč. 7, 2001, s. 3.
- Meyer-Rochow, V. B., Järvillehto, M. Ultraviolet Colours in *Pieris napi* from Northern and Southern Finland: Arctic Females Are the Brightest! *Naturwissenschaften*. Roč. 84, 1997, s. 165–168.
- Michel, C., Caldara, R., Rossion, B. Same-race Faces are Perceived more Holistically than Other-race Faces. *Visual Cognition*. Roč. 14, 2006, s. 55–73.
- Michel, C., Rossion, B., Han, J., Chung, C.-S., Caldara, R. Holistic Processing is Finely Tuned for Faces of One's Own Race. *Psychological Science*. Roč. 17, 2006, s. 608–615.
- Molina-Borja, M., Font, E., Mesa Avila, G. Sex and Population Variation in Ultraviolet Reflectance of Colour Patches in *Gallotia galloti* (Fam. Lacertidae) from Tenerife (Canary Islands). *Journal of Zoology*. Roč. 268, 2006, s. 193–206.
- Mondloch, C. J., Elms, N., Maurer, D., Rhodes, G., Hayward, W. G., Tanaka, J. W., Zhou, G. Processes Underlying the Cross-race Effect: An Investigation of Holistic, Featural, and Relational Processing of Own-race versus Other-race Faces. *Perception*. Roč. 39, 2010, s. 1065–1085.
- Morehouse, N. I., Rutowski, R. L. Developmental Responses to Variable Diet Composition in a Butterfly: The Role of Nitrogen, Carbohydrates and Genotype. *Oikos*. Roč. 119, 2010, s. 636–645.

- Necker, L. A. Observations on Some Remarkable Optical Phænomena Seen in Switzerland; and on an Optical Phænomenon which Occurs on Viewing a Figure of a Crystal or Geometrical Solid. *London and Edinburgh Philosophical Magazine and Journal of Science*. Roč. 1, 1832, s. 329–337.
- Nielsen, H. I. Ultrastructural Changes in the Dermal Chromatophore Unit of *Hyla arborea* during Color Change. *Cell Tissue Research*. Roč. 194, 1978, s. 405–418.
- Nilsson, D.-E. The Evolution of Eyes and Visually Guided Behaviour. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*. Roč. 364, 2009, s. 2833–2847.
- Obara, Y., Majerus, M. E. N. Initial Mate Recognition in the British Cabbage Butterfly, *Pieris rapae rapae*. *Zoological Science*. Roč. 17, 2000, s. 725–730.
- Obara, Y., Ozawa, G., Fukano, Y. Geographic Variation in Ultraviolet Reflectance of the Wings of the Female Cabbage Butterfly, *Pieris rapae*. *Zoological Science*. Roč. 25, 2008, s. 1106–1110.
- Olofsson, M., Vallin, A., Jakobsson, S., Wiklund, C. Marginal Eyespots on Butterfly Wings Deflect Bird Attacks Under Low Light Intensities with UV Wavelengths. *PLoS ONE*. Roč. 5, 2010, s. e10798.
- Olson, V. A., Owens, I. P. F. Costly Sexual Signals: Are Carotenoids Rare, Risky or Required? *Trends in Ecology and Evolution*. Roč. 13, 1998, s. 510–514.
- Osorio, D., Vorobyev, M. A Review of the Evolution of Animal Colour Vision and Visual Communication Signals. *Vision Research*. Roč. 48, 2008, s. 2042–2051.
- Papke, R., Kemp D., Rutowski, R. Multimodal Signalling: Structural Ultraviolet Reflectance Predicts Male Mating Success Better than Pheromones in the Butterfly *Colias eurytheme* L. (Pieridae). *Animal Behaviour*. Roč. 73, 2007, s. 47–54.
- Pecháček, P. Dobyvatelé ultrafialového světa. *Dějiny věd a techniky*. Roč. 45, 2012, s. 182–192.
- Pecháček, P. Poslední renesanční muž viktoriánské Anglie, Sir John Lubbock (1834–1913). *Vesmír*. Roč. 92, 296–298, 2013.
- Pecháček, P. *Vliv environmentálních proměnných na tvar UV-reflektantní kresby u druhu Gonepteryx rhamni*. 2012. Diplomová práce. Univerzita Karlova v Praze. Vedoucí práce: Mgr. Karel Kleisner, Ph.D.
- Pecháček, P. Žluťásek řešetlákový a plasticita ultrafialových kreseb motýlů v závislosti na prostředí. *Živa*. Roč. 61, 2013, s. 79–81.
- Pecháček, P., Stella, D., Kleisner, K. Ultrafialový svět bezobratlých. *Živa*. 60, 2012, 25–28.
- Pepper, J. W., Herron, M. D. Does Biology Need an Organism Concept? *Biological Reviews*. Roč. 83, 2008, s. 621–627.
- Pirih, P., Wilts, B. D., Stavenga, D. G. Spatial Reflection Patterns of Iridescent Wings of Male Pierid Butterflies: Curved Scales Reflect at a Wider Angle than Flat Scales. *Journal of Comparative Physiology. A, Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*. Roč. 197, 2011, s. 987–997.
- Planque, N., Raposo, G., Leconte, L., Anezo, O., Martin, P., Saule, S. Microphthalmia Transcription Factor Induces both Retinal Pigmented Epithelium and Neural Crest Melanocytes from Neuroretina Cells. *Journal of Biological Chemistry*. Roč. 279, 2004, s. 41911–41917.
- Pope, R. D., Hinton, H. E. A Preliminary Survey of Ultraviolet Reflectance in Beetles. *Biological Journal of the Linnean Society*. Roč. 9, 1977, s. 331–348.

- Portmann, A. *Biologie und Geist*. Göttingen: Ulrich Burgdorf Verlag, 2000.
- Portmann, A. *Die Tiergestalt. Studien über die Bedeutung der tierischen Erscheinung*. Basel: Friedrich Reinhardt, 1960.
- Portmann, A. *Einführung in die vergleichende Morphologie der Wirbeltiere*. Basel: Schwabe & Co., 1969.
- Portmann, A. *Neue Wege der Biologie*. München: R. Piper, 1960.
- Portmann, A., Carter, R. B. *Essays in Philosophical Zoology by Adolf Portmann: The Living Form and the Seeing Eye*. Lewiston: E. Mellen Press, 1990.
- Portmann, A., Czeck, H. *Animal Forms and Patterns: A Study of the Appearance of Animals*. New York: Schocken Books, 1967.
- Provenico, I., Jiang, G., De Grip, W. J., Hayes, W. P., Rollag, M. D. Melanopsin: An Opsin in Melanophores, Brain, Eye. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. Roč. 95, 1998, s. 340–345.
- Prum, R. O. Aesthetic Evolution by Mate Choice: Darwin's Really Dangerous Idea. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. Roč. 367, 2012, s. 253–2265.
- Prum, R. O., Brush, A. H. The Evolutionary Origin and Diversification of Feathers. *Quarterly Review of Biology*. Roč. 77, 2002, s. 261–295.
- Prum, R. O., Torres, R. Structural Colouration of Avian Skin: Convergent Evolution of Coherently Scattering Dermal Collagen Arrays. *The Journal of Experimental Biology*. Roč. 206, 2003, s. 2409–2429.
- Prum, R. O., Torres, R. Structural Colouration of Mammalian Skin: Convergent Evolution of Coherently Scattering Dermal Collagen Arrays. *The Journal of Experimental Biology*. Roč. 207, 2004, s. 2157–2172.
- Prum, R. O., Williamson, S. Reaction-diffusion Models of Within-feather Pigmentation Patterning. *Proceedings of the Royal Society of London B*. Roč. 269, 2002, s. 781–792.
- Quevedo, W. C. Jr. Epidermal Melanin Units: Melanocyte-keratinocyte Interactions. *American Zoologist*. Roč. 12, 1972, s. 35–41.
- Reed, R. D., Papa, R., Martin, A., Hines, H. M., Counterman, B. A., Pardo-Diaz, C., Jiggins, C. D., Chamberlain, N. L., Kronforst, M. R., Chen, R., Halder, G., Nijhout, H. F., McMillan, W. O. Optix Drives the Repeated Convergent Evolution of Butterfly Wing Pattern Mimicry. *Science*. Roč. 333, 2011, s. 1137–1140.
- Rodd, F. H., Hughes, K. A., Grether, G. F., Baril, C. T. A Possible Non-sexual Origin of Mate Preference: Are Male Guppies Mimicking Fruit? *Proceedings of Royal Society of London B*. Roč. 269, 2002, s. 475–481.
- Roux, W. Das Wesen des Lebens. In: Chun, C., Johannsen, W. (eds.). *Die Kultur der Gegenwart. Allgemeine Biologie*. Leipzig: Teubner, 1915, s. 173–187.
- Rowe, C. Receiver Psychology and the Evolution of Multicomponent Signals. *Animal Behavior*. Roč. 58, 1999, s. 921–931.
- Rutowski, R. L., Gilchrist, G. W. Copulation in *Colias eurytheme* (Lepidoptera: Pieridae): Patterns and Frequency. *Journal of Zoology*. Roč. 209, 1986, s. 115–124.
- Rutowski, R. L., Gilchrist, G. W., Terkanian, B. Female Butterflies Mated with Recently Mated Males Show Reduced Reproductive Output. *Behavioral Ecology and Sociobiology*. Roč. 20, 1987, s. 319–322.



- Rutowski, R. L., Macedonia, J. M., Merry, J. W., Morehouse, N. I., Yturralde, K., Laura, T.-T., Gaalema, D., Kemp, D. J., Papke, R. S. Iridescent Ultraviolet Signal in the Orange Sulphur Butterfly (*Colias eurytheme*): Spatial, Temporal and Spectral Properties. *Biological Journal of the Linnean Society*. Roč. 90, 2007, s. 349–364.
- Rutowski, R. L., Macedonia, J. M., Morehouse, N., Taylor-Taft, L. Pterin Pigments Amplify Iridescent Ultraviolet Signal in Males of the Orange Sulphur Butterfly, *Colias eurytheme*. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. Roč. 272, 2005, s. 2329–2335.
- Ryan, M. J. The Brain as a Source of Selection on the Social Niche: Examples from the Psychophysics of Mate Choice in Tungara Frogs. *Integrative and Comparative Biology*. Roč. 51, 2011, s. 756–770.
- Ryan, M. J., Cummings, M. E. Perceptual Biases and Mate Choice. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*. Roč. 44, 2013, s. 437–459.
- Saks, L., McGraw, K., Hörak, P. How Feather Colour Reflects its Carotenoid Content. *Functional Ecology*. Roč. 17, 2003, s. 555–561.
- Santelices, B. How Many Kinds of Individual Are There? *Trends in Ecology & Evolution*. Roč. 14, 1999, s. 152–155.
- Sarna, T. Properties and Function of the Ocular Melanin: A Photobiophysical View. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. Roč. 12, 1992, s. 215–258.
- Seehausen, O., Terai, Y., Magalhaes, I. S., Carleton, K. L., Mrosso, H. D. J., Miyagi, R., van der Sluijs, I., Schneider, M. V., Maan, M. E., Tachida, H., Imai, H., Okada, N. Speciation through Sensory Drive in Cichlid Fish. *Nature*. Roč. 455, 2008, s. 620–626.
- Shawkey, M. D., Maia, R., D'Alba, L. Proximate Bases of Silver Color in Anhinga (*Anhinga anhinga*) feathers. *Journal of Morphology*. Roč. 272, 2011, s. 1399–1407.
- Shubin, N., Tabin, C., Carroll, S. Deep Homology and the Origins of the Evolutionary Novelty. *Nature*. Roč. 457, 2009, s. 818–823.
- Siitari, H., Honkavaara, J., Viitala, J. Ultraviolet Reflection of Berries Attracts Foraging Birds. A Laboratory Study with Redwings (*Turdus iliacus*) and Bilberries (*Vaccinium myrtillus*). *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. Roč. 266, 1999, s. 2125–2129.
- Silberglied, R. E. Communication in the Ultraviolet. *Annual Review of Ecology and Systematics*. Roč. 10, 1979, s. 373–398.
- Silberglied, R. E. Visual Communication and Sexual Selection among Butterflies. In: Vane-Wright, R. I., Ackery, P. R. (eds.). *The Biology of Butterflies*. London: Academic Press, 1984, s. 207–223.
- Silberglied, R. E., Taylor, O. R. Ultraviolet Reflection and Its Behavioral Role in Courtship of Sulfur Butterflies *Colias eurytheme* and *Colias philodice* (Lepidoptera, Pieridae). *Behavioral Ecology and Sociobiology*. Roč. 3, 1978, s. 203–243.
- Spinner, M., Kovalev, A., Gorb, S. N., Westhof, G. Snake Velvet Black: Hierarchical Micro- and Nanostructure Enhances Dark Colouration in *Bitis rhinoceros*. *Scientific Reports*. Roč. 3, 2013, s. 1846.
- Steffen, J. E., McGraw, K. J. Contributions of Pterin and Carotenoid Pigments to Dewlap Coloration in Two Anole Species. *Comparative Biochemistry and Physiology, part B*. Roč. 146, 2007, s. 42–46.
- Steffen, J. E., McGraw, K. J. How Dewlap Color Reflects its Carotenoid and Pterin Content in Male and Female Brown Anoles (*Norops sgrei*). *Comparative Biochemistry and Physiology, part B*. Roč. 154, 2009, s. 334–340.

- Stella, D. *Covariance between UV-reflectance, Wing Shape, and Environmental Variables in Pieris napi (Lepidoptera: Pieridae)*. Diplomová práce. 2013. Univerzita Karlova v Praze. Vedoucí práce: Mgr. Karel Kleisner, Ph.D.
- Stevens, M. The Role of Eyespots as Anti-predator Mechanisms, Principally Demonstrated in the Lepidoptera. *Biological Reviews*. Roč. 80, 2005, s. 573–588.
- Stevens, M., Cuthill, I. C. Hidden Messages: Are Ultraviolet Signals a Special Channel in Avian Communication? *BioScience*. Roč. 57, 2007, s. 501–507.
- Stewart, E., Ajao, M. S., Ihunwo, A. O. Histology and Ultrastructure of Transitional Changes in Skin Morphology in Juvenile and Adult Four-striped Mouse (*Rhabdomys pumilio*). *The Scientific World Journal*. Roč. 2013, s. 1–11.
- Strong, R. M. The Development of Color in the Definitive Feather. *Science*. Roč. 15, 1902, 527.
- Sugita S., Horie, S., Nakamura, O., Futagami, Y., Takase, H., Keino, H., Aburatan, H., Katunuma, N., Ishidoh, K., Yamamoto, Y., Mochizuki, M. Retinal Pigment Epithelium-derived CTLA-2alpha Induces TGFbeta-producing T Regulatory Cells. *Journal of Immunology*. Roč. 181, 2008, s. 7525–7536.
- Sugita, S., Usui, Y., Horie, S., Futagami, Y., Aburatani, H., Okazaki, T., Honjo, T., Takeuchi, M., Mochizuki, M. T-cell Suppression by Programmed Cell Death 1 ligand 1 on Retinal Pigment Epithelium during Inflammatory Conditions. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. Roč. 50, 2009, s. 2862–2870.
- Taylor, J. D. The Presence of Reflecting Platelets in Integumental Melanophores of the Frog, *Hyla arenicolor*. *Journal of Ultrastructure Research*. Roč. 35, 1971, s. 532–540.
- Toveé, M. J. Ultra-violet Photoreceptors in the Animal Kingdom: Their Distribution and Function. *Trends in Ecology & Evolution*. Roč. 10, 1995, s. 455–460.
- Tso, I., W. Lin C., and E. C. Yang. Colourful Orb-weaving Spiders, *Nephila pilipes*, through a Bee's Eyes. *Journal of Experimental Biology*. Roč. 207, 2004, s. 2631–2637.
- Uexküll, J. v. *Umwelt und Innenwelt der Tiere*. Berlin: J. Springer, 1921.
- Van der Rest, M., Garrone, R. Collagen Family of Proteins. *The FASEB Journal*. Roč. 5, 1991, s. 2814–2823.
- Vachtenheim, J., Borovanský, J. "Transcription Physiology" of Pigment Formation in Melanocytes: Central Role of MITF. *Experimental Dermatology*. Roč. 19, 2010, s. 617–627.
- Vane-Wright, R. I., Boppre, M. Visual and Chemical Signalling in Butterflies: Functional and Phylogenetic Perspectives. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. Roč. 340, 1993, s. 197–205.
- Vinkler, M., Albrecht, T. Carotenoid Maintenance Handicap and the Physiology of Carotenoid-based Signalisation of Health. *Naturwissenschaften*. Roč. 97, 2010, s. 19–28.
- Von Lintig, J., Kiser, P. D., Golczak, M., Paleczewski, K. The Biochemical and Structural Basis for Trans-to-cis Isomerization of Retinoids in the Chemistry of Vision. *Trends in Biochemical Sciences*. Roč. 35, 2010, s. 400–410.
- Vopalensky, P., Kozmik, Z. Eye Evolution: Common Use and Independent Recruitment of Genetic Components. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*. Roč. 364, 2009, s. 2819–2832.
- Vorobyev, M., Osorio, D., Bennett, A. T. D., Marshall, N. J., Cuthill, I. C. Tetrachromacy, Oil Droplets and Bird Plumage Colours. *Journal of Comparative Physiology A: Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*. Roč. 183, 1998, s. 621–633.

- Weiss, S. L., Kennedy, E. A., Safran, R. J., McGraw, K. J. Pterin-based Ornamental Coloration Predicts Yolk Antioxidant Levels in Female Striped Plateau Lizards (*Scleropus virgatus*). *Journal of Animal Ecology*. Roč. 80, 2011, s. 519–527.
- Wiley, R. H. The Evolution of Communication: Information and Manipulation. In: Halliday T. R., Slater, P. J. B. (eds.). *Communication*. Oxford: Blackwell, 1983, s. 82–113.
- Williams, G. *Adaptation and Natural Selection*. Princeton: Princeton University Press, 1966.
- Wilson, J. *Biological Individuality: The Identity and Persistence of Living Entities*. Cambridge: Cambridge University Press, 1999.
- Wilts, B. D., Pirih, P., Stavenga, D. G. Spectral Reflectance Properties of Iridescent Pierid Butterfly Wings. *Journal of Comparative Physiology. A, Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*. Roč. 197, 2011, s. 693–702.
- Winter, Y., López, J., von Helversen, O. Ultraviolet Vision in a Bat. *Nature*. Roč. 425, 2003, s. 612–614.
- Wittkopp, P. J., Beldade, P. Development and Evolution of Insect Pigmentation: Genetic Mechanisms and the Potential Consequences of Pleiotropy. *Seminars in Cell & Developmental Biology*. Roč. 20, 2009, s. 64–71.
- Zahavi, A. Mate Selection – A Selection for a Handicap. *Journal of Theoretical Biology*. Roč. 3, 1975, s. 205–214.

**II.**

**Pecháček P, Stella D, Keil P, Kleisner K (2014) Environmental effects on the shape variation of male ultraviolet patterns in the Brimstone butterfly (*Gonepteryx rhamni*, Pieridae, Lepidoptera). *Naturwissenschaften* 101:1055–1063.**

# Environmental effects on the shape variation of male ultraviolet patterns in the Brimstone butterfly (*Gonepteryx rhamni*, Pieridae, Lepidoptera)

Pavel Pecháček · David Stella · Petr Keil · Karel Kleisner

Received: 16 May 2014 / Revised: 18 September 2014 / Accepted: 19 September 2014 / Published online: 4 October 2014  
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

**Abstract** The males of the Brimstone butterfly (*Gonepteryx rhamni*) have ultraviolet pattern on the dorsal surfaces of their wings. Using geometric morphometrics, we have analysed correlations between environmental variables (climate, productivity) and shape variability of the ultraviolet pattern and the forewing in 110 male specimens of *G. rhamni* collected in the Palearctic zone. To start with, we subjected the environmental variables to principal component analysis (PCA). The first PCA axis (precipitation, temperature, latitude) significantly correlated with shape variation of the ultraviolet patterns across the Palearctic. Additionally, we have performed two-block partial least squares (PLS) analysis to assess covariation between intraspecific shape variation and the variation of 11 environmental variables. The first PLS axis explained 93 % of variability and represented the effect of precipitation, temperature and latitude. Along this axis, we observed a systematic increase in the relative area of ultraviolet colouration with increasing temperature and precipitation and decreasing latitude. We conclude that the shape variation of ultraviolet patterns on the forewings of male Brimstones is correlated with large-scale environmental factors.

**Keywords** Ultraviolet reflectance · Geographic variation · Evolution · Sexual selection · Geometric morphometrics · UV ornaments

## Introduction

The discovery that some animals perceive ultraviolet radiation goes back to Darwin's contemporary John Lubbock, the 1st Baron Avebury (Lubbock 1882). Sensitivity to ultraviolet light has been observed in many invertebrates (Lutz and Richtmyer 1922; Lutz 1924, 1933b; DeVoe et al. 1969) and later also in vertebrates (Huth and Burkhardt 1972; Wright 1972; Silberglied 1979; Tovee 1995). Around the same time, it was also found that there exists a relationship between ultraviolet patterns in flowers and some of their pollinators (Lutz 1924). Moreover, UV-reflective surfaces with signalling and communicative functions have been found in many clades of invertebrates including butterflies (Lutz 1933a; Mazokhin-Porshnyakov 1957; Nekrutenko 1965a; Silberglied and Taylor 1978; Silberglied 1979, 1984; Eguchi and Meyer-Rochow 1983; Brunton and Majerus 1995; Brunton 1998), spiders (Heiling et al. 2003, 2005) and beetles (Pope and Hinton 1977).

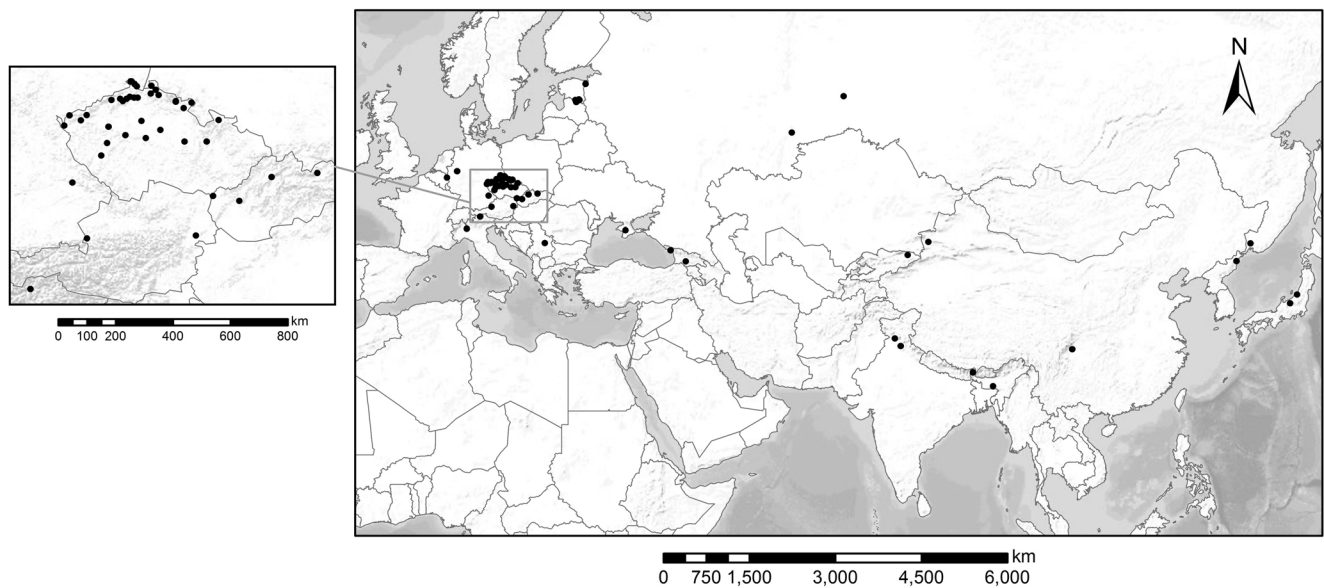
As a model species for our study, we chose the Common Brimstone (*Gonepteryx rhamni*, Linnaeus, 1758), a Palearctic species widely distributed from Western Europe to Eastern Asia (see Fig. 1). The genus *Gonepteryx* has been studied by zoologists since the early days of UV reflectance research (Mazokhin-Porshnyakov 1957). The ultraviolet wing pattern of *G. rhamni* was repeatedly under consideration as a trait of potential taxonomic value (Nekrutenko 1965b, 1968, 1970; Kudrna 1975). Later, the Brimstone became a popular model in studies focussing on the structural basis and physical nature of UV colouration in butterflies (Wijnen et al. 2007; Pirih et al. 2011; Wilts et al. 2011).

Communicated by: Sven Thatje

P. Pecháček · D. Stella · K. Kleisner (✉)  
Department of Philosophy and History of Science, Faculty of Science, Charles University in Prague, Viničná 7, 128 44 Praha 2, Czech Republic  
e-mail: karel.kleisner@natur.cuni.cz

P. Keil  
Department of Ecology and Evolutionary Biology, Yale University, 165 Prospect Street, New Haven, CT 06520, USA

P. Keil  
Center for Theoretical Study, Charles University and the Academy of Sciences of the Czech Republic, Jilská 1, 110 00 Praha 1, Czech Republic



**Fig. 1** Locations (black dots) of the 110 specimens of the Brimstone butterfly (*Gonepteryx rhamni*) from the Palearctic region

Previous studies of butterflies have shown an environmental dependence of different aspects of wing colouration such as the variation in colour across the latitude (Hovanitz 1944), intensity of ultraviolet reflectance (Meyer-Rochow and Järvillehto 1997), degree of melanization (Ellers and Boggs 2002; Karl et al. 2009; Fischer and Karl 2010), and seasonal polyphenism together with variability in the expression of size and composition of the eyespots (Brakefield 1987; Brakefield and French 1999; Beldade and Brakefield 2002; Brakefield et al. 2007; De Jong et al. 2010). The ultraviolet colouration in butterflies may also be influenced by temperature and the quality of food ingested during development (Kemp et al. 2006; Kemp and Rutowski 2007; Kemp 2008b). These studies, however, focussed mainly on the intensity and hue of the UV pattern without taking into account the shape and relative size of ultraviolet patches on butterfly wings.

Although a role of the size of UV patterns in sexual selection has not yet been demonstrated in the Brimstone butterfly, it has been shown that females of butterfly *Bicyclus anynana* select males on the basis of the size and brightness of the ultraviolet-reflecting pupils of dorsal eyespots (Robertson and Monteiro 2005). Moreover, the absence or presence of ultraviolet wing pattern may serve as isolating mechanism in New Zealand lycaenid butterflies (Meyer-Rochow 1991). The importance of UV signals during mate choice was directly evidenced in *Eurema* and *Colias* species (Papke et al. 2007; Kemp 2008a). Based on an analogy with related pierid butterflies, we suppose that male dorsal UV patterns in *G. rhamni* may play a role in sexual selection and that this may influence the observed variation of this trait in the natural populations of the Brimstone.

Selection pressures acting upon the formation of animal patterns are not necessarily limited to sexual selection.

Morphology can also be influenced by environmental selection, as demonstrated by classical examples such as the geographic patterns of body size (Bergmann 1847) and the length of extremities in ectotherms (Allen 1877). Recent studies of animal surfaces brought further evidence pertaining to geographic patterns of plumage colours in hummingbirds (Schmitz-Ornés 2006), the elytral patterns in carabid beetles (Kleisner et al. 2012) and colour patterns in bumblebees (Williams 2007). The variation of some traits, however, cannot be fully explained by an adaptive evolutionary hypothesis (Gould and Lewontin 1979; Kleisner et al. 2012). Although particular traits may later be co-opted for various functions such as sexual signalling, their variation cannot be sufficiently explained by these new selection pressures alone (Gould and Vrba 1982; Kleisner 2008, 2011; Maran and Kleisner 2010).

Our main goal was to find possible associations between the shape of UV patterns in *G. rhamni* and broad-scale environmental conditions (climate, productivity). We demonstrate that environmental conditions indeed correlate with the relative size and shape of the patterns and conclude with a discussion of possible evolutionary and ecological causes of these correlations.

## Material and methods

### Specimens

We have used a set of 110 individual male specimens: 59 observations were made in the Czech Republic and 51 observations come from the Palearctic outside the Czech Republic. Photographs of all specimens were deposited in the

entomological collections of the Natural History Museum of the University of Tartu (Estonia) and the National Museum in Prague (Czech Republic). We have recorded the geographic coordinates describing where each specimen was caught (Fig. 1).

#### Acquisition of photographs in the ultraviolet spectra (UV-A)

We have used a FujiFilm IS Pro digital camera which, thanks to its broad sensitivity to 330–900-nm spectrum, is suitable for UV photography (Pike 2011). The camera was equipped with an uncoated UV-transmitting lens. We used photographic filters B+W 403 and B+W BG 53. Ultraviolet band-pass filter B+W 403 (transmission range 290–410 nm with peak at 355 nm) filtered out the visible spectrum (400–700 nm) and the B+W BG 38 filter (transmission range 290–750 nm with peak at 500 nm) blocked the IR light ( $\lambda > 700$  nm). To illuminate the photographed objects, we have used a UVP MRL-58 Multiple-Ray Lamp (8 W, 230 V-50 Hz, 0.16 A) equipped with mercury fluorescent lamp 8 W F8T5 long-wave 365 nm. All objects were illuminated under the angle of 45° and photographed in a standardized position (dorsal view). Based on our previous experience with the model species, the shape and size of ultraviolet pattern of *G. rhamni* remain the same even after a considerable change of the angle, which was also shown by Pirih et al. (2011). For all specimens, we used the following setting of the FujiFilm IS Pro camera: ISO 400, shutter time 15' and aperture of 3.5. All images were standardized using 18 % grey card, Kodak colour separation guide and a 15-cm length scale.

#### Environmental and geographic correlates

As potential correlates of the UV patterns, we chose longitude, latitude and altitude. These broad-scale variables describe the spatial position of each specimen; we obtained them from locality labels on the pinned specimens. Then, we used these coordinates to assign (in ArcGIS 10.0; ESRI Inc.) to each specimen the mean annual temperature and precipitation, mean temperature in the warmest and coldest month, mean precipitation in the wettest and driest month, net primary productivity (NPP) and normalized difference vegetation index (NDVI) of the locality of the specimen. We have used these variables as predictors as they were previously demonstrated to affect insect distributions (Hawkins and Porter 2003; Battisti et al. 2005), development (Dixon et al. 2009), body size (Chown and Gaston 2010) and insect personality (Tremmel and Müller 2013). The data on temperature, precipitation and altitude came from 10 arc-min WorldClim layers (Hijmans et al. 2005). Our NPP layer came from the Postdam Institute for Climate Impact Research (Cramer et al. 1999): It represents an averaged (over 1961–1990) net production of

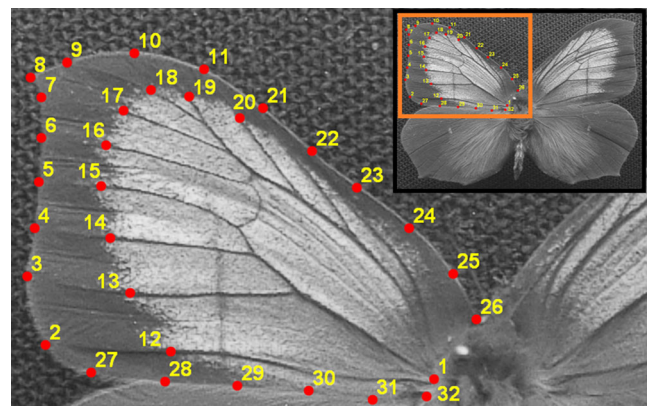
organic compounds from atmospheric CO<sub>2</sub>. NDVI represents the amount of green vegetation cover and was downloaded from NASA Goddard DAAC. To mitigate the effect of potential geo-referencing errors, we used climatic data of a relatively coarse resolution (note that finer, 2.5 and 5 arc-min, data were also available). We made this decision in order to minimize the risk of assigning an inappropriate (spatially mismatched) climate to the specimens.

To avoid co-linearity between predictors, we performed principal component analysis (PCA) on all climatic and geographic variables, centred to zero mean and standardized to variance of 1 (package 'stats' in R software; R Development Core Team 2012). We used only the first two axes of this PCA for further analyses.

#### Landmark definitions and procrustes analysis

Ultraviolet digital photographs of the left forewing of each of the 110 male specimens of *G. rhamni* were analysed using geometric morphometrics. At each forewing, we placed 32 landmarks (including 12 semi-landmarks) using tpsDig2 software ver. 2.14 (Rohlf 2009a). Landmarks are corresponding points which can be placed on the forewing of each specimen in the set, while semi-landmarks denote curves and outlines of the forewing where proper landmarks cannot be defined (for definitions of landmark and semi-landmark locations on the butterfly forewing, see Fig. 2).

All configurations of landmarks and semi-landmarks were superimposed by a generalized Procrustes analysis (GPA) performed in tpsRelw ver. 1.49 (Rohlf 2008). This



**Fig. 2** A definition of landmarks on the left forewing. Points 1–20 represent homologous anatomical landmarks found in all analysed subjects: landmark 1, wing base (the connection of anal and cubital vein); landmark 8, wing apex. The other landmarks are located at vein endings at the edge of the wing and the edge of the UV-reflecting pattern: landmarks 2 and 12, first anal vein; landmarks 3 and 13, cubitus 3; landmarks 4 and 14, cubitus 2; landmarks 5 and 15, cubitus 1; landmarks 6 and 16, media 2; landmarks 7 and 17, media 1; landmarks 9 and 18, radius 4; landmarks 10 and 19, radius 3; landmarks 11 and 20, radius 2. Points 21–32 represent semi-landmarks which serve to denote curves

procedure standardizes the size of objects and optimizes their rotation and translation until the coordinates of corresponding landmarks align as closely as possible. To reduce the dimensionality of Procrustes residuals, we carried out a principal component analysis (PCA) in tpsRelw, ver. 1.49. The scores on the 10 PC axes carrying information about the wing shape were then saved and used for further analyses.

#### Correlations between environment and shape

To estimate the relationship between wing morphology and environmental (and geographic) variables, we have used two complementary analytical methods.

First, we applied the Permutational Multivariate Analysis of Variance using Distance Matrices (Adonis) function in the Vegan package in R (Oksanen et al. 2011) with Euclidean distance measure. We fitted a multivariate multiple regression model using Adonis, where the responses were the 10 shape PC axes which explain 90 % of shape variability of forewing and the predictors were the first two environmental PC axes. To control for shape variation due to allometry, we added wing size (computed as centroid size for each landmark configuration) as a covariate in the model. Shape changes associated with explanatory variables were visualized by thin-plate spline deformation grids available in tpsRegr, ver. 1.36 (Rohlf 2009b).

Second, we applied the two-block partial least squares (2B-PLS) method (Rohlf and Corti 2000) in order to explore covariation between the shape variables representing wing morphology and 11 environmental/geographic variables (unlike in the previous analysis, we used the original environmental/geographic variables, not PCs). Landmark configurations were transformed into partial warp scores (Rohlf et al. 1996) and analysed in tpsPLS software, ver. 1.18 (Rohlf 2006). In particular, the 2B-PLS created a pair of new variables which were linear combinations of variables within both of the original data sets (blocks). These new variables were produced so as to maximize covariation between the two original sets of variables (Rohlf and Corti 2000). Thin-plate splines were used to display the results in form of deformation grids of observed variation along the first PLS axis. These visualizations were made in tpsPLS 1.18 software (Rohlf 2006).

#### Geographic and environmental bias in specimen locations

There is a bias in the geographic distribution of our specimens (Fig. 1), since about half of them (59 out of 110) come from the small area of the Czech Republic, which contrasts with the rest coming from all over the Palaearctic. Such bias is commonly found in many large-scale data sets extracted from museum collections (Diniz-Filho et al. 2010). To assess whether the geographic bias affects our shape-environment correlations, we reran the 2B-PLS analysis using only

specimens from outside the Czech Republic and compared them with results obtained from the complete data set.

## Results

The principal component analysis of 11 environmental and geographical variables resulted in two interpretable PCA axes (Fig. 3). The first PC axis explained 46 % and the second 16 % of all variability. The first PC axis accounted mainly for the mean annual temperature, mean annual precipitation, mean precipitation in the wettest month, and latitudinal and longitudinal variation. The second axis represented variation in the NDVI and the mean precipitation in the driest month. Relative loadings of geographic and environmental variables for the first and second PC axes are presented in Table 1.

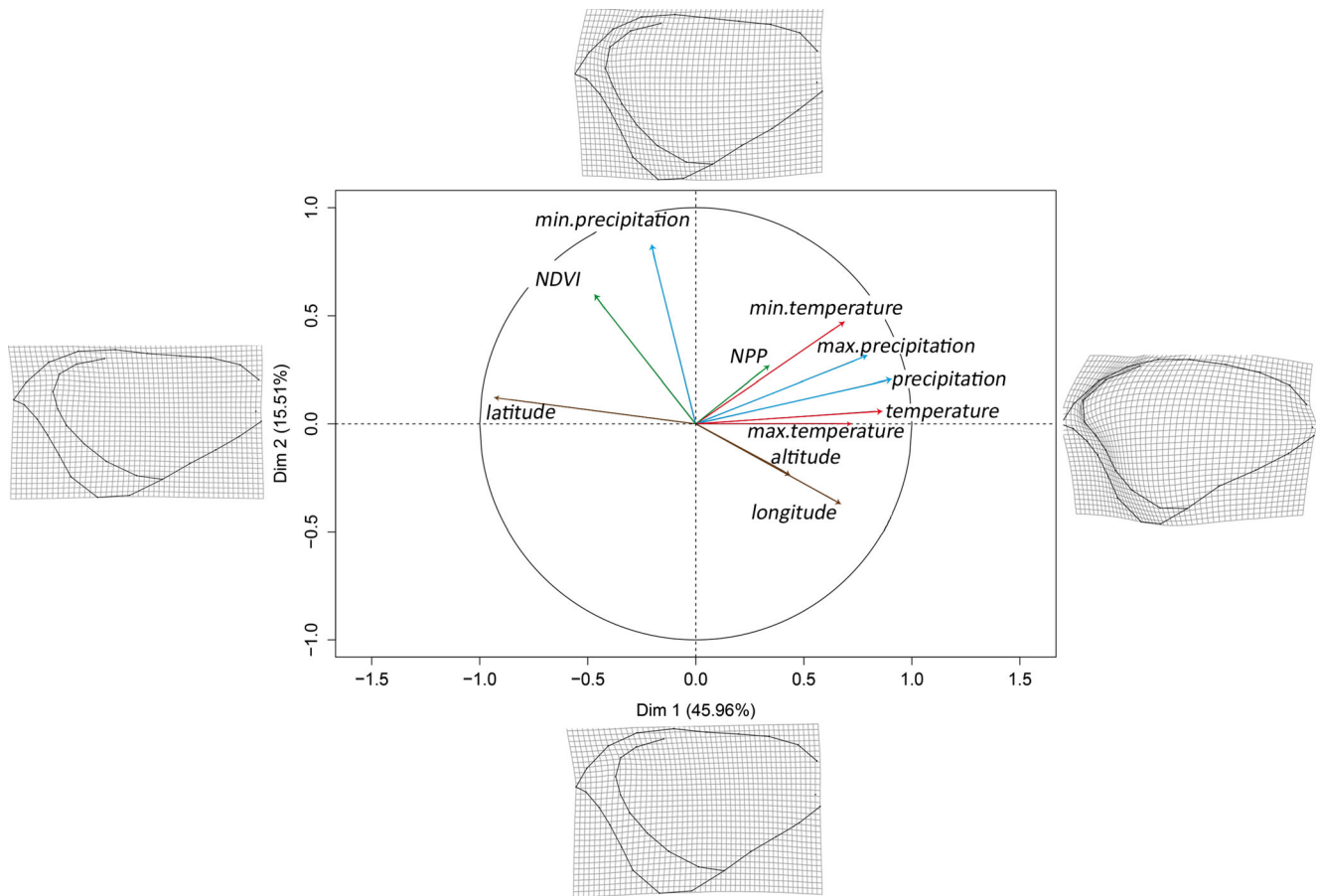
Multivariate multiple regressions ('Adonis' function in 'vegan' R package) of shape data on the two PCs extracted from the predictors (with wing centroid size as a covariate) showed that the first environmental PC axis significantly affects the shape space of the forewing ( $F_{1,106}=15.49$ ,  $p=0.0001$ ,  $R^2=0.12$ ). The effect of the second PC axis was significant but it explained only a small part of variance ( $F_{1,106}=3.48$ ,  $p=0.02$ ,  $R^2=0.027$ ). The effect of the centroid size was also significant ( $F_{1,106}=3.05$ ,  $p=0.029$ ,  $R^2=0.023$ ).

All  $p$  values were based on 9,999 permutations. Specimens inhabiting environments with higher precipitation and temperature tend to have larger UV patches which cover most of the forewing surface.

The two-block partial least squares (2B-PLS) analysis (Rohlf and Corti 2000) focussed on covariation between the shape variables and the ecological variables. The first PLS axis accounted for 93 % of squared covariance (permutation test for 9,999 iterations,  $p=0.0003$ ), while the second PLS axis accounted only for approximately 3 % and was not statistically significant ( $p=0.999$ ). Correlations between variables and shape vectors were 0.57 ( $p=0.0001$ ) for the first PLS axis and 0.46 ( $p=0.0031$ ) for the second PLS axis. We have observed shape differences linked to the first PLS axis (Fig. 4): The association was principally with precipitation, temperature and latitude. Shape variation along the first PLS axis revealed constriction/dilation along the anterior-posterior axis of the wing. With an increase in temperature and precipitation and a decrease in latitude, the relative size of the ultraviolet pattern markedly increases at the expense of the UV non-reflective wing area (Fig. 4).

To examine the potential confounding effect of the remaining environmental bias, we reran the 2B-PLS analysis only on specimens from outside the Czech Republic. The relationship between shape and ecological variables remained clearly significant,  $p<0.001$  (permutation test for 9999 iterations); the first PLS axis accounted for 94 % of squared covariance. The correlation between variables and shape vectors was 0.65 ( $p<0.001$ ).





**Fig. 3** Principal component analysis of environmental and topographical variables (standardized, centred). The first and second axes explain 46 and 15.5 % of variability in environmental data respectively. The first principal component accounts mainly for annual mean temperature and precipitation, mean temperature in the warmest month (*max.temperature*), and the latitudinal effect (*latitude*), while the second axis can be interpreted as a joined effect of the normalized difference

vegetation index (*NDVI*) and the mean precipitation in the driest month (*min.precipitation*). *NPP* net primary production. Thin-plate spline visualizations are not part of the environmental principle component analysis. They were added manually (based on the regressions of the shape data to environmental principle components) to illustrate how the wing shape changes across a range of environmental conditions

**Table 1** Relative loadings of geographic and environmental variables for first (PC1) and second (PC2) principal component

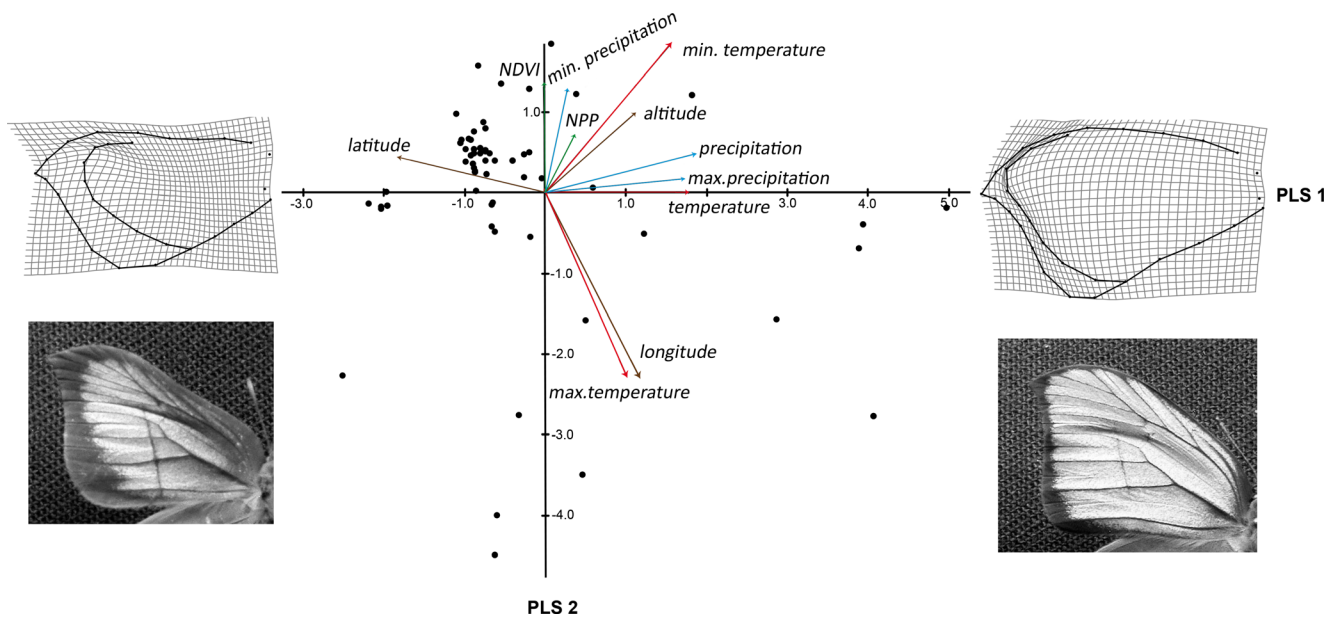
Ecological variable	PC1	PC2
Latitude	0.409	-0.092
Longitude	-0.296	0.282
Temperature	-0.408	-0.159
Precipitation	-0.352	-0.241
Altitude	-0.188	0.174
NDVI	0.210	-0.459
NPP	-0.151	-0.208
Precipitation minimum	0.093	-0.641
Precipitation maximum	-0.386	-0.046
Temperature minimum	-0.306	-0.362
Temperature maximum	-0.319	-0.001

*NPP* net primary production, *NDVI* normalized difference vegetation index

**Discussion**

We have demonstrated that the shape variability of ultraviolet patterns and the overall shape of the forewing correlate with the environmental conditions in which the specimens were collected, which may suggest a causal link between the environment and the observed variability. The area covered by the UV patterns on the wings decreases towards cooler and drier locations in higher latitudes, while specimens inhabiting warmer and more humid environment tend to have broader wings with UV patterns covering most of the forewing surface.

The wing area covered by the UV pattern covaries with forewing dimensions, and both are affected by the environment. The shape variation of the UV pattern and the shape variation of the whole forewing are not, however, isomorphic (see the deformation grids in Fig. 4), meaning that the area of



**Fig. 4** Two-block partial least squares plot for projections of *Gonepteryx rhamni* specimens onto ordination vectors. Deformation grids on both extremes of the  $x$ -axis show changes in shape associated with the first axis. Vectors designate estimates of standardized scores for the mean annual temperature, mean temperature in the warmest (*max.temperature*)

and the coldest month (*min.temperature*), mean annual precipitation, mean precipitation in the wettest (*max.precipitation*) and driest month (*min.precipitation*), altitude, net primary production (*NPP*), normalized difference vegetation index (*NDVI*), latitude and longitude

the wing covered by a UV pattern increases at a higher rate towards lower latitudes and especially towards higher temperatures and amounts of precipitation than the UV non-reflective wing area. This suggests that the UV pattern is more environment dependent than the overall forewing shape and that in addition to the hypothesized sexual selection (Silberglied and Taylor 1978; Silberglied 1984; Brunton and Majerus 1995; Kemp 2006; Kemp and Rutowski 2007, 2011), the environmental selection, too, may contribute to the variation of the UV patterns. The role of sexual selection in formation of the UV pattern in *G. rhamni*, however, has not been explicitly evidenced yet.

Temperature, which has the highest correlation with the first PLS axis, seems to be an especially significant environmental factor. In ectotherms, thermoregulatory costs of maintaining the main body temperature are rather high. It has been shown, for instance, that temperature—but not the energy supply—crucially affects the expression of sexually selected UV colouration in male European green lizards (Bajer et al. 2012). Ambient temperature during larval and early pupal development affects the metabolic rate of developing butterflies (Stevens 2004), which may further affect the expression of ultraviolet patterns (Kemp et al. 2006; Kemp and Rutowski 2007; Kemp 2008b; Prudic et al. 2011). Moreover, cold treatment of pupae in *Aglaia urticae* led to a non-expression of UV spots on the wings of the adults (Anonymous 1910). It is thus possible that other ecological variables associated with the shape of UV patterns, such as precipitation and latitude, may affect the UV patterns indirectly.

The role of ecology and nutrition of larvae in the formation of wing scale morphology responsible for the reflectance and potential signalling was thoroughly studied in *Pieris* butterflies. It was shown that differences in the density of pterin granules deposited within the nanostructure of scales are responsible for sexual dichromatism of many pierid species (Morehouse et al. 2007). Although different dietary regimes influence the development and phenotype of *Pieris rapae*, the effect seems to be restricted to larvae (Morehouse and Rutowski 2010). Feeding experiments using other butterfly species have shown that composition of larval food (both the plant species and the plant parts) significantly affects the variation in UV patterns in the European Common Blue butterfly, *Polyommatus icarus* (Knüttell and Fiedler 2000). In *Colias eurytheme* and *Eurema hecabe*, the quality of larval food resources also affects some properties of the ultraviolet patterns, such as brightness (Kemp et al. 2006; Kemp and Rutowski 2007; Kemp 2008b).

Another explanation is that the male UV pattern of *G. rhamni* indicates a whole range of mate qualities (Kemp and Rutowski 2011) including the accessibility of larval resources, the ability to acquire and assimilate these resources, thermal stability of pupal development, developmental stability and resistance to environmental perturbations, or the effectiveness of morphogenetic mechanisms responsible for the partitioning of developmental resources to UV signalling structures (Kemp 2006, 2008b; Kemp et al. 2006; Kemp and Rutowski 2007). It seems that southern specimens have access to relatively richer resources compared to the northern

specimens. The costly UV pattern could be an indicator of male's ability to assimilate and utilize these resources and can be subject to female sexual selection. Subsequently, the trade-off between the availability of environmental resources and the ability to assimilate these resources may be responsible for the latitudinal variation in the UV patterns.

Alternatively, the UV patches could be a protective adaptation against high UV exposure at high altitudes and low latitudes (Herman et al. 1999). If that were the case, UV-reflective patterns would cover larger wing areas in specimens from lower latitudes and higher altitudes (as in the case of *G. rhamnii*), while in fact the opposite occurs in *Pieris napi* whose northernmost females possess brighter UV reflectivity than their southern sisters (Meyer-Rochow and Järvilehto 1997). Although our results may be seen as partially supporting this conjecture, there is a serious problem. In particular, one would need to find a good reason why such protection against the high levels of UV occurs only in males (as is the case of *G. rhamnii*). Another possibility is that the dorsal UV patterns in males are primarily sexual patterns which were only later co-opted for a protective function. Females thus lack the adaptation simply because they have no dorsal pattern which could be used for such secondary protective function.

In order to disentangle the complex links between the development, environmental conditions, and the variation in the UV pattern, one would have to carry out breeding experiments with controlled exposure of the developing larvae to varying environmental factors. We also note that despite our efforts to account for it, our results could be affected by the uneven spread of our specimens in the environmental space and future research might benefit from a more systematic stratified random sampling. Further research could also investigate whether the comparatively smaller size of UV patterns in colder and drier environments is in any way compensated, for example, by higher intensity (or brightness) of UV reflectance. For the moment being, we tentatively conclude that the shape variation of UV patterns in male Brimstone butterflies may be due to a combination of both sexual and environmental selection.

**Acknowledgments** We wish to thank Jaan Luig and Pavel Chvojka for their help with providing the butterflies and David Hořák, Victor Benno Meyer-Rochow, Nathan Morehouse and two anonymous referees for their useful comments. This research was supported by the Czech Grant Agency project GACR P505/11/1459. PK was supported by EU FP7 People Programme (Marie Curie Actions; REA agreement no. 302868; project WORLDDIVERSITY). PP and DS were supported by the Charles University Grant Agency project GAUK 764313.

## References

- Allen JA (1877) The influence of physical conditions in the genesis of species. *Radic Rev* 1:108–140
- Anonymous (1910) Schmetterlinge. In: Meyers Grosses Konversations-Lexikon (6th edition, vol. 21). Bibliographisches Institut, Leipzig and Wien, pp 803–807
- Bajer K, Molnar O, Torok J, Herczeg G (2012) Temperature, but not available energy, affects the expression of a sexually selected ultraviolet (UV) colour trait in male European green lizards. *PLoS One* 7: e34359. doi:10.1371/journal.pone.0034359
- Battisti A, Stastny M, Netherer S, Robinet C, Schopf A, Roques A, Larsson S (2005) Expansion of geographic range in the pine processionary moth caused by increased winter temperatures. *Ecol Appl* 15:2084–2096
- Beldade P, Brakefield PM (2002) The genetics and evo-devo of butterfly wing patterns. *Nat Rev Genet* 3:442–452. doi:10.1038/nrg818
- Bergmann C (1847) Über die Verhältnisse der Wärmeökonomie der Thiere zu ihrer Grösse. *Göttinger Stud* 3:595–708
- Brakefield PM (1987) Tropical dry and wet season polyphenism in the butterfly *Melanitis leda* (Satyriinae): phenotypic plasticity and climatic correlates. *Biol J Linn Soc* 31:175–191. doi:10.1111/j.1095-8312.1987.tb01988.x
- Brakefield PM, French V (1999) Butterfly wings: the evolution of development of colour patterns. *BioEssays* 21:391–401. doi:10.1002/(sici)1521-1878(199905)21:5<391::aid-bies6>3.0.co;2-q
- Brakefield P, Pijpe J, Zwaan B (2007) Developmental plasticity and acclimation both contribute to adaptive responses to alternating seasons of plenty and of stress in *Bicyclus* butterflies. *J Biosci* 32: 465–475. doi:10.1007/s12038-007-0046-8
- Brunton CFA (1998) The evolution of ultraviolet patterns in European *Colias* butterflies (Lepidoptera, Pieridae): a phylogeny using mitochondrial DNA. *Heredity* 80:611–616. doi:10.1046/j.1365-2540.1998.00336.x
- Brunton CFA, Majerus MEN (1995) Ultraviolet colors in butterflies— intraspecific or inter-specific communication. *Proc R Soc B Biol Sci* 260:199–204. doi:10.1098/rspb.1995.0080
- Chown SL, Gaston KJ (2010) Body size variation in insects: a macroecological perspective. *Biol Rev* 85:139–169
- Cramer W et al (1999) Comparing global models of terrestrial net primary productivity (NPP): overview and key results. *Glob Chang Biol* 5:1–15. doi:10.1046/j.1365-2486.1999.00009.x
- De Jong MA, Kesbeke FMNH, Brakefield PM, Zwaan BJ (2010) Geographic variation in thermal plasticity of life history and wing pattern in *Bicyclus anynana*. *Clim Res* 43:91–102. doi:10.3354/cr00881
- DeVoe RD, Small RJ, Zvargulis JE (1969) Spectral sensitivities of wolf spider eyes. *J Gen Physiol* 54:1–32. doi:10.1085/jgp.54.1.1
- Diniz-Filho JAF, De Marco JP, Hawkins BA (2010) Defying the curse of ignorance: perspectives in insect macroecology and conservation biogeography. *Insect Conserv Divers* 3:172–179. doi:10.1111/j.1752-4598.2010.00091.x
- Dixon AFG, Honěk A, Keil P, Kotela MAA, Šizling AL, Jarošík V (2009) Relationship between the minimum and maximum temperature thresholds for development in insects. *Funct Ecol* 23:257–264. doi:10.1111/j.1365-2435.2008.01489.x
- Eguchi E, Meyer-Rochow VB (1983) Ultraviolet photography of forty-three species of lepidoptera representing ten families. *Annot Zool Jpn* 56:10–18
- Ellers J, Boggs CL (2002) The evolution of wing color in *Colias* butterflies: heritability, sex linkage, and population divergence. *Evolution* 56:836–840
- Fischer K, Karl I (2010) Exploring plastic and genetic responses to temperature variation using copper butterflies. *Clim Res* 43:17–30. doi:10.3354/cr00892
- Giese AC (1946) Comparative sensitivity of sperm and eggs to ultraviolet radiations. *Biol Bull* 91:81–87
- Gould SJ, Lewontin RC (1979) The spandrels of San Marco and the Panglossian paradigm: a critique of the adaptationist programme. *Proc R Soc B Biol Sci* 205:581–598. doi:10.1098/rspb.1979.0086

- Gould SJ, Vrba ES (1982) Exaptation; a missing term in the science of form. *Paleobiology* 8:4–15
- Hawkins BA, Porter EE (2003) Water–energy balance and the geographic pattern of species richness of western Palearctic butterflies. *Ecol Entomol* 28:678–686. doi:10.1111/j.1365-2311.2003.00551.x
- Heiling AM, Herberstein ME, Chittka L (2003) Pollinator attraction: crab-spiders manipulate flower signals. *Nature* 421:334. doi:10.1038/421334a
- Heiling AM, Chittka L, Cheng K, Herberstein ME (2005) Colouration in crab spiders: substrate choice and prey attraction. *J Exp Biol* 208:1785–1792. doi:10.1242/jeb.01585
- Herman JR, Krotkov N, Celarier E, Larko D, Labow G (1999) Distribution of UV radiation at the Earth's surface from TOMS-measured UV-backscattered radiances. *J Geophys Res Atmos* 104:12059–12076. doi:10.1029/1999jd900062
- Hijmans RJ, Cameron SE, Parra JL, Jones PG, Jarvis A (2005) Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *Int J Climatol* 25:1965–1978. doi:10.1002/joc.1276
- Hovanitz W (1944) The Ecological significance of the color phases of *Colias chrysotheme* in North America. *Ecology* 25:45–60
- Huth HH, Burkhardt D (1972) Der spektrale Sehbereich eines Violettöhr-Kolibris. *Die Naturwissenschaften* 59:650
- Karl I, Geister TL, Fischer K (2009) Intraspecific variation in wing and pupal melanization in copper butterflies (Lepidoptera: Lycaenidae). *Biol J Linn Soc* 98:301–312. doi:10.1111/j.1095-8312.2009.01284.x
- Kemp DJ (2006) Heightened phenotypic variation and age-based fading of ultraviolet butterfly wing coloration. *Evol Ecol Res* 8:515–527
- Kemp DJ (2008a) Female mating biases for bright ultraviolet iridescence in the butterfly *Eurema hecabe* (Pieridae). *Behav Ecol* 19:1–8. doi:10.1093/beheco/arm094
- Kemp DJ (2008b) Resource-mediated condition dependence in sexually dichromatic butterfly wing coloration. *Evolution* 62:2346–2358. doi:10.1111/j.1558-5646.2008.00461.x
- Kemp DJ, Rutowski RL (2007) Condition dependence, quantitative genetics, and the potential signal content of iridescent ultraviolet butterfly coloration. *Evolution* 61:168–183. doi:10.1111/j.1558-5646.2007.00014.x
- Kemp DJ, Rutowski RL (2011) The role of coloration in mate choice and sexual interactions in butterflies. In: Brockmann HJ, Roper T, Naguib M, Wynne-Edwards K, Barnard C, Mitani J (eds) *Advances in the study of behavior*, vol 43. Elsevier, Amsterdam, pp 55–92. doi:10.1016/B978-0-12-380896-7.00002-2
- Kemp DJ, Vukusic P, Rutowski RL (2006) Stress-mediated covariance between nano-structural architecture and ultraviolet butterfly coloration. *Funct Ecol* 20:282–289. doi:10.1111/j.1365-2435.2006.01100.x
- Kleisner K (2008) Homosemiosis, mimicry and superficial similarity: notes on the conceptualization of independent emergence of similarity in biology. *Theory Biosci* 127:15–21. doi:10.1007/s12064-007-0019-3
- Kleisner K (2011) Perceive, Co-opt, modify, and live! Organism as a centre of experience. *Biosemitotics* 4:223–241
- Kleisner K, Keil P, Jaroš F (2012) Biogeography of elytral ornaments in Palearctic genus *Carabus*: disentangling the effects of space, evolution and environment at a continental scale. *Evol Ecol* 26:1025–1040. doi:10.1007/s10682-011-9537-z
- Knuttell H, Fiedler K (2000) On the use of ultraviolet photography and ultraviolet wing patterns in butterfly morphology and taxonomy. *J Lepidopterol Soc* 54:137–144
- Kudrna O (1975) A revision of the genus *Gonepteryx* Leach (Lep., Pieridae). *Entomol Gaz* 26:3–37
- Lubbock J (1882) *Ants, bees, and wasps. A record of observations on the habits of the social Hymenoptera*. D. Appleton and Co., New York
- Lutz FE (1924) Apparently non-selective characters and combinations of characters, including a study of ultraviolet in relation to the flower-visiting habits of insects. *Ann N Y Acad Sci* 29:181–283
- Lutz FE (1933a) Experiments with “stingless bees” (*Trigona cressoni parastigma*) concerning their ability to distinguish ultraviolet patterns. *Am Mus Novit* 641:1–26
- Lutz FE (1933b) Invisible colors of flowers and butterflies. *Nat Hist* 33:565–567
- Lutz FE, Richtmyer FK (1922) The reaction of *Drosophila* to ultraviolet. *Science* 55:519–519
- Maran T, Kleisner K (2010) Towards an evolutionary biosemiotics: semiotic selection and semiotic co-option. *Biosemitotics* 3:189–200
- Mazokhin-Porshnyakov GA (1957) Reflecting properties of butterfly wings and the role of ultra-violet rays in the vision of insects. *Biophysics* 2:285–296
- Meyer-Rochow VB (1991) Differences in ultraviolet wing patterns in the New Zealand lycaenid butterflies *Lycaena salustius*, *L. rauparaha*, and *L. feredayi* as a likely isolating mechanism. *J R Soc N Z* 21:169–177. doi:10.1080/03036758.1991.10431405
- Meyer-Rochow VB, Järvillehto M (1997) Ultraviolet colours in *Pieris napi* from northern and southern Finland: arctic females are the brightest! *Naturwissenschaften* 84:165–168. doi:10.1007/s001140050373
- Morehouse NI, Rutowski RL (2010) Developmental responses to variable diet composition in the cabbage white butterfly, *Pieris rapae*: the role of nitrogen, carbohydrates and genotype. *Oikos* 119:636–645. doi:10.1111/j.1600-0706.2009.17866.x
- Morehouse NI, Vukusic P, Rutowski R (2007) Pterin pigment granules are responsible for both broadband light scattering and wavelength selective absorption in the wing scales of pierid butterflies. *Proc R Soc B Biol Sci* 274:359–366
- Nekrutenko YP (1965a) Gynandromorphic effect and the optical nature of hidden wing-pattern in *Gonepteryx rhamni* L. (Lepidoptera, Pieridae). *Nature* 205:417–418
- Nekrutenko YP (1965b) Three cases of gynandromorphism in *Gonepteryx*. *J Res Lepidoptera* 4:103–108
- Nekrutenko YP (1968) Phylogeny and geographical distribution of the genus *Gonepteryx* (Lepidoptera, Pieridae): An attempt of study in historical zoogeography. *Naukova dumka*, Kiev
- Nekrutenko YP (1970) A new subspecies of *Gonepteryx rhamni* from Tian-shan Mountains, U.S.S.R. *J Lepid Soc* 34:218–220
- Oksanen J et al. (2011) *vegan*: Community ecology package. R package version 2.0–2
- Papke R, Kemp D, Rutowski R (2007) Multimodal signalling: structural ultraviolet reflectance predicts male mating success better than pheromones in the butterfly *Colias eurytheme* L. (Pieridae). *Anim Behav* 73:47–54. doi:10.1016/j.anbehav.2006.07.004
- Pike T (2011) Using digital cameras to investigate animal colouration: estimating sensor sensitivity functions. *Behav Ecol Sociobiol* 65:849–858. doi:10.1007/s00265-010-1097-7
- Pirih P, Wilts BD, Stavenga DG (2011) Spatial reflection patterns of iridescent wings of male pierid butterflies: curved scales reflect at a wider angle than flat scales. *J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol* 197:987–997. doi:10.1007/s00359-011-0661-6
- Pope RD, Hinton HE (1977) A preliminary survey of ultraviolet reflectance in beetles. *Biol J Linn Soc* 9:331–348. doi:10.1111/j.1095-8312.1977.tb00275.x
- Prudic KL, Jeon C, Cao H, Monteiro A (2011) Developmental plasticity in sexual roles of butterfly species drives mutual sexual ornamentation. *Science* 331:73–75. doi:10.1126/science.1197114
- R Development Core Team (2012) *R: a language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna
- Robertson KA, Monteiro A (2005) Female *Bicyclus anynana* butterflies choose males on the basis of their dorsal UV-reflective eyespot pupils. *Proc R Soc B Biol Sci* 272:1541–1546. doi:10.1098/rspb.2005.3142
- Rohlf JF (2006) *TpsPLS* (version 1.18). Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook, New York

- Rohlf JF (2008) tpsRelw version 1.46. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook, Stony Brook
- Rohlf JF (2009a) TpsDig2 (version 2.14). New York: Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook
- Rohlf JF (2009b) TpsRegr (version 1.36). New York: Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook
- Rohlf FJ, Corti M (2000) Use of two-block partial least-squares to study covariation in shape. *Syst Biol* 49:740–753. doi:10.1080/106351500750049806
- Rohlf FJ, Loy A, Corti M (1996) Morphometric analysis of old world talpidae (Mammalia, Insectivora) using partial-warp scores. *Syst Biol* 45:344–362. doi:10.1093/sysbio/45.3.344
- Schmitz-Ornès A (2006) Using colour spectral data in studies of geographic variation and taxonomy of birds: examples with two hummingbird genera, *Anthracothorax* and *Eulampis*. *J Ornithol* 147: 495–503. doi:10.1007/s10336-006-0053-9
- Silberglied RE (1979) Communication in the ultraviolet. *Annu Rev Ecol Syst* 10:373–398. doi:10.1146/annurev.es.10.110179.002105
- Silberglied RE (1984) Visual communication and sexual selection among butterflies. In: Vane-Wright RI, Ackery PR (eds) *The biology of butterflies*. Academic, London, pp 207–223
- Silberglied RE, Taylor OR (1978) Ultraviolet reflection and its behavioral role in courtship of sulfur butterflies *Colias eurytheme* and *Colias philodice* (Lepidoptera, Pieridae). *Behav Ecol Sociobiol* 3:203–243. doi:10.1007/Bf00296311
- Stevens DJ (2004) Pupal development temperature alters adult phenotype in the speckled wood butterfly, *Pararge aegeria*. *J Therm Biol* 29: 205–210. doi:10.1016/j.jtherbio.2004.02.005
- Tovee MJ (1995) Ultra-violet photoreceptors in the animal kingdom: their distribution and function. *Trends Ecol Evol* 10:455–460. doi: 10.1016/S0169-5347(00)89179-x
- Tremmel M, Müller C (2013) Insect personality depends on environmental conditions. *Behav Ecol* 24:386–392
- Wijnen B, Leertouwer HL, Stavenga DG (2007) Colors and pterin pigmentation of pierid butterfly wings. *J Insect Physiol* 53:1206–1217. doi:10.1016/j.jinsphys.2007.06.016
- Williams P (2007) The distribution of bumblebee colour patterns worldwide: possible significance for thermoregulation, crypsis, and warning mimicry. *Biol J Linn Soc* 92:97–118. doi:10.1111/j.1095-8312.2007.00878.x
- Wilts BD, Pirih P, Stavenga DG (2011) Spectral reflectance properties of iridescent pierid butterfly wings. *J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol* 197:693–702. doi:10.1007/s00359-011-0632-y
- Wright AA (1972) The influence of ultraviolet radiation on the pigeon's color discrimination. *J Exp Anal Behav* 17:325–337. doi:10.1901/jeab.1972.17-325

III.

Stella D, Pecháček P, Meyer-Rochow VB, Kleisner K (2018) UV reflectance is associated with environmental conditions in Palaearctic *Pieris napi* (Lepidoptera: Pieridae). *Insect Science* 25:508–518.

## ORIGINAL ARTICLE

UV reflectance is associated with environmental conditions in Palaearctic *Pieris napi* (Lepidoptera: Pieridae)David Stella<sup>1</sup>, Pavel Pecháček<sup>1</sup>, Victor Benno Meyer-Rochow<sup>2,3</sup> and Karel Kleisner<sup>1</sup><sup>1</sup>Faculty of Science, Department of Philosophy and History of Science, Charles University, Prague, Czech Republic; <sup>2</sup>Department of Biology, Research Institute of Luminescent Organisms, Tokyo, Japan and <sup>3</sup>Department of Genetics and Physiology, Oulu University, Oulu, Finland

**Abstract** The subject of our investigation was the visual features of wing color with special focus on the UV reflectance in the green-veined white butterfly (*Pieris napi*). Previous studies had concluded that UV reflectance on dorsal wing surfaces is found only in the female *P. napi*. Based on UV sensitive photography, we analyzed a correlation between 12 geographic and environmental factors and UV reflectance patterns on 3 patches on the forewings of 407 *P. napi* specimens from the Palaearctic region. Results had shown that females significantly differ from males: they exhibit a 25% higher UV reflectance. To investigate whether and how UV reflectance levels on the forewings and hindwings of both sexes are influenced by the environment, we performed a principal component analysis (PCA) with several environmental variables. For several variables (in particular, latitude and longitude, mean annual temperature and precipitation, and temperature annual range and altitude), the generalized linear model (GLM) model revealed a significant correlation in both sexes. This suggests a link between UV reflectance levels and the environment and distribution of *P. napi*. We found that stronger UV reflectance is associated with generally more hostile environments and concluded that large-scale environmental factors influence the UV reflectance on the forewings of both male and female green-veined white butterflies.

**Key words** geographical variation; green-veined white; Palaearctic; UV photography; UV reflectance

## Introduction

Darwin (1871) encouraged zoologists and ecologists of his era to study animal coloration (Poulton, 1890; Beddard, 1892). Ever since then, issues related to coloration have been investigated in a wide range of evolutionary, taxonomic, ecological, and ethological contexts (Cott, 1940). Although generally less well researched than other forms of visual phenomenon, UV reflectance (Lutz, 1924; DeVoe *et al.*, 1969; Huth & Burkhardt, 1972) has

been documented especially in numerous species of butterflies from Europe (Meyer-Rochow & Järvillehto, 1997; Pecháček *et al.*, 2014), Asia (Eguchi & Meyer-Rochow, 1983), New Zealand (Meyer-Rochow, 1991), and North America (Silberglied & Taylor, 1973).

An essential part of the biological role of UV reflection is its sensory detection. Most insects, including butterflies, sense UV-A with their photoreceptors (Briscoe & Chittka, 2001). This ability helps them in intraspecific communication (Silberglied, 1984; Rutowski, 1991; Meyer-Rochow & Järvillehto, 1997; Kemp & Rutowski, 2011) and sexual recognition (Kemp *et al.*, 2005; Morehouse *et al.*, 2007), and can assist them in locating nectar-bearing flowers and open spaces (Mazokhin-Porshniakov, 1957; Shkurikhin & Oslina, 2015).

Correspondence: David Stella, Faculty of Science, Department of Philosophy and History of Science, Charles University, Viničná 7, 128 44 Prague 2, Czech Republic. Tel: +420 603 421 814; Email: David.Stella@natur.cuni.cz

For our study, we chose the green-veined white butterfly (*Pieris napi*, Linnaeus 1758, Lepidoptera: Pieridae). Due to its wide distribution from Western Europe throughout the entire Palaearctic region to Eastern Asia and Japan (Eitschberger, 1984), it is an excellent subject for studying relations between ecological variables and UV reflectance. Previous studies had shown that *P. napi* is a polymorphic species whose morphology and life history change with altitude and latitude (Espeland *et al.*, 2007; Välimäki & Kaitala, 2007; Shkurikhin & Oslina, 2015). This trend, however, varies both within and between the sexes (Rutowski *et al.*, 1981; Tuomaala *et al.*, 2012). Furthermore, in comparison with other butterfly species such as *Colias eurytheme* (Silberglied *et al.*, 1978), the age of *P. napi* individuals has little effect on their UV reflectance (Meyer-Rochow & Järvillehto, 1997). In the multivoltine *P. napi*, females follow various heritable strategies associated with mating tactics, which range from strict monandry (i.e., females mate only once) to a high degree of polyandry (Meyer-Rochow, 1999; Wedell *et al.*, 2002; Välimäki & Kaitala, 2006; Kivelä & Välimäki, 2008).

Another important aspect of the life history of *P. napi* is related to its mating behavior. Males actively search for females (Obara, 1970; Fukano *et al.*, 2012), but since they are subsequently unable to enforce copulation, females decide whether to copulate with a male (Silberglied *et al.*, 1978; Kaitala & Wiklund, 1994). This important feature of *P. napi* life history is addressed in the discussion.

Color polymorphism in butterflies has been extensively studied along geographic and environmental gradients, such as variation across latitude (Hovanitz, 1944), longitude (Obara *et al.*, 2008a), altitude (Tuomaala *et al.*, 2012), level of ultraviolet radiation (Meyer-Rochow & Järvillehto, 1997), temperature, and/or photoperiod (Hazel & West, 1983). Furthermore, ultraviolet coloration of butterflies may also be influenced by the quality of food ingested during their larval development (Knüttel & Fiedler, 2001; Kemp, 2006; Rutowski *et al.*, 2007). Almost all existing studies, however, deal with specimens from a relatively small region: large regions such as the entire Palaearctic have rarely been investigated. Most studies, moreover, measure UV reflectance using conventional spectrophotometry, whereas in our investigation, we measured and visualized UV reflectance using digital photography.

In our study, we search for associations between the level of UV reflectance and ecological variables (geographic and environmental) on a large geographical scale. Further, based on hypotheses proposed in earlier works

(Rutowski, 1981; Tuomaala *et al.*, 2012), we test for differences in UV reflectance between males and females *P. napi*. We demonstrate that environmental conditions correlate with the amount of UV reflectance of *P. napi* wings and discuss the possible evolutionary and ecological implications of these results.

## Materials and methods

### Variables

Our analysis included a total of 12 geographic and environmental variables: latitude (specimen museum label), longitude (specimen museum label), altitude (Google Earth 1.6.2015), mean annual temperature, mean annual precipitation, isothermality, temperature seasonality, precipitation seasonality, temperature annual range (Hijmans *et al.*, 2005), mean annual Net Primary Production (NPP) (Running *et al.*, 2004; Zhao *et al.*, 2005; Zhao & Running, 2010), Normalized Difference Vegetation Index (NDVI) (Holben, 1986; Eklundh, 1995; Huete *et al.* 2002), and Actual Evapotranspiration (AET) (Mu *et al.*, 2011). Since no data on the UV irradiation in the particular localities where our specimens were collected were available, we used latitude as a proxy for the missing UV irradiation GIS layer (cf., UV levels at different latitudes; Munakata *et al.*, 2006). These variables can be divided in 2 groups: geographical and environmental. The geographical group includes latitude, longitude, and altitude. Annual precipitation and mean annual temperature are considered major, the remaining variables minor environmental variables. These 2 groups of variables were used as independent variables since they influence insect development, distribution, and body size. All variables were resolved at 30 arcsec (approximately 1 km at the equator). The spatial position of each specimen was subsequently used to extract values of the variables listed above (ESRI, 2011).

To avoid co-linearity, we performed principal component analysis (PCA) on all environmental and geographical variables. PCA was centered to zero mean and standardized to a variance of one. Only 2 PCA axes were used for further analysis.

### Acquisition of photographs in the ultraviolet (UV-A)

Reports often fail to include precise and detailed descriptions of how images they work with were obtained (Stevens *et al.*, 2007). We decided to include the details of the entire process. All specimens were photographed using a digital camera (for details, see below). The advantages of a photographic method (digital or celluloid



film photography) are substantial: it is a nondestructive method of recording UV reflectance, which enables the recording of UV reflectance of the whole wing area with a potential spatial pattern of UV reflectance (Knüttel & Fiedler, 2000). The main difference of a traditional film photography in the acquisition of UV patterns is related to image standardization, which is hard to obtain due to the developing and processing of the film material. The spectrophotometric method, on the other hand, unlike photography requires the use of a part of a butterfly wing, making it impossible to obtain and visualize UV reflectance across an entire specimen (Brunton & Majerus, 1995; Obara & Majerus, 2000).

We used a FujiFilm IS Pro digital camera suitable for UV photography due to its broad sensitivity spectrum, which spans from 330 to 900 nm. The camera was equipped with uncoated UV transmitting nondistorting lenses. We used 2 photographic filters: B+W 403 and B+W BG 38. The black filter B+W 403 prevented light in the visible spectrum, that is, 400–700 nm, from passing through the lens. This filter, however, does not stop infrared light (IR), which is a stronger component than the UV in both daylight and artificial light. The second filter B+W BG 38 was then used to filter out the IR light ( $\lambda > 700$  nm).

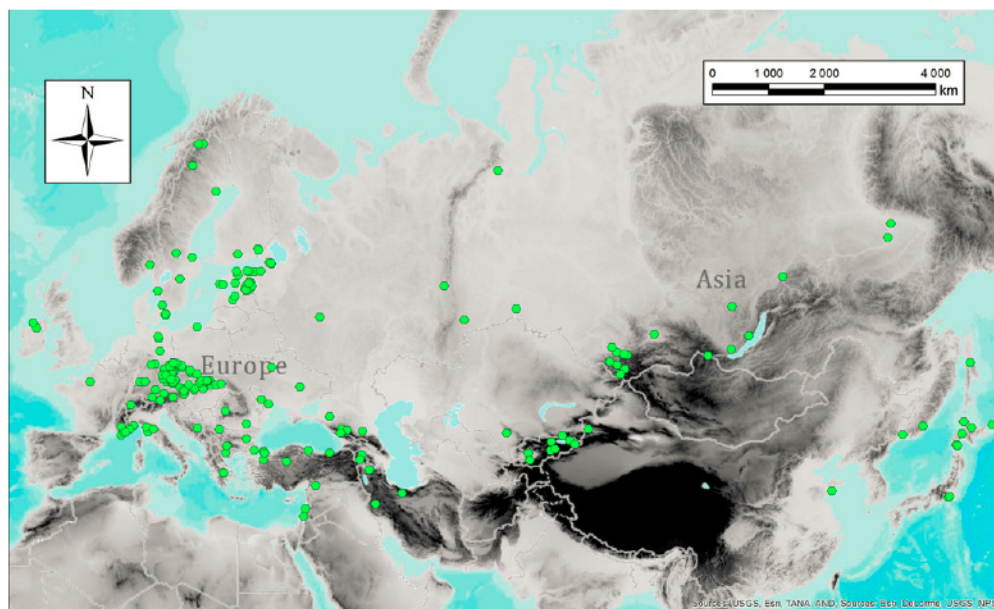
To illuminate the objects, which were to be photographed, we used the artificial light source UVP MRL-58 multiple-Ray-Lamp (8-watt, 230V-50Hz, 0.16A) equipped with a mercury fluorescent lamp 8w F8T5 long-

wave 365 nm or 8w F8T5BLB 352 nm. All objects were illuminated under the same angle (45°) and photographed in a standardized position from a dorsal view (Fig. 5). To follow the same method for all specimens, several standardized procedures were implemented. The Fuji-Film IS Pro digital camera was set to ISO 400, shutter time 15 min, and maximum aperture value. All objects were standardized using an 18% gray card, Kodak color separation guide, and a 15 cm length scale. All images were developed in Photoshop Lightroom 3.4.1. And finally, no exposure or chromatic changes were applied (i.e., output settings were not optimized for each image).

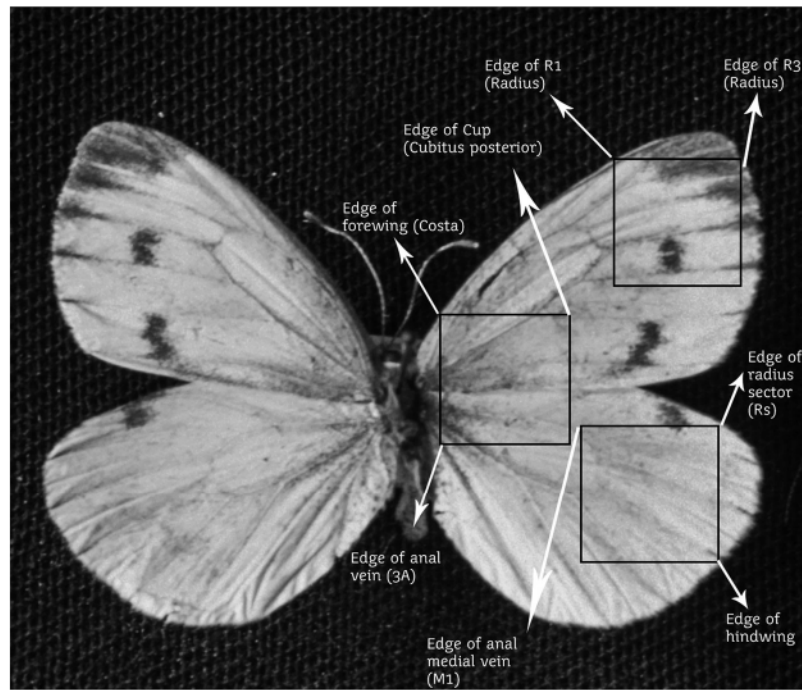
Specimens were examined from 4 collections: Natural History Museum in Tartu, the personal collection of Prof. Stanislav Komárek (Prague), Natural History Museum in Prague, and Natural History Museum in Vienna. A total of 407 specimens (155 males/252 females) of *P. napi* were acquired. Information about the location and date of collection was recorded from tags to obtain accurate information about spatial position. See Table S1 and Figure 1.

#### Measurement of UV reflectance from images

The 3 patches our analysis focused on were defined by morphologically corresponding (homologous) elements on the dorsal side of the butterfly wing. These were wing



**Fig. 1** Locations of the 407 specimens of the green-veined white (*Pieris napi*) from the Palearctic region. All data are available in Table S1.



**Fig. 2** Patches of measured UV reflectance on butterfly wing delimited by morphologically homologous elements.

veins, specifically Radius (R1 and R3), Cubitus posterior veins and edge of forewing (Costa) on the forewing and Radius (Rs), Medial (M1), Anal (3A) veins on the hindwing (see Fig. 2). The average perimeter was 650 pixels, that is, the XY length was 150 pixels. Calibrated UV images of the patches were analyzed using software Image-J ver. 1.46 (Abràmoff et al., 2004). The following values were calculated for the chosen patches: (a) an area (sum of pixels), (b) the mean (the average gray value being the sum of the gray values of all pixels divided by the number of pixels), and for RGB images each pixel converted to grayscale using the formula  $\text{gray} = \text{red} + \text{green} + \text{blue}$ , (c) standard deviation (i.e., standard deviation of the gray values), (d) modal gray value, (e) minimum and maximum values within the selection, (f) the perimeter (i.e., length of outside boundary of the selection), and (g) the median (i.e., the median value of the selected pixels). The means were used for further analyses of UV reflectance.

### Statistical analysis

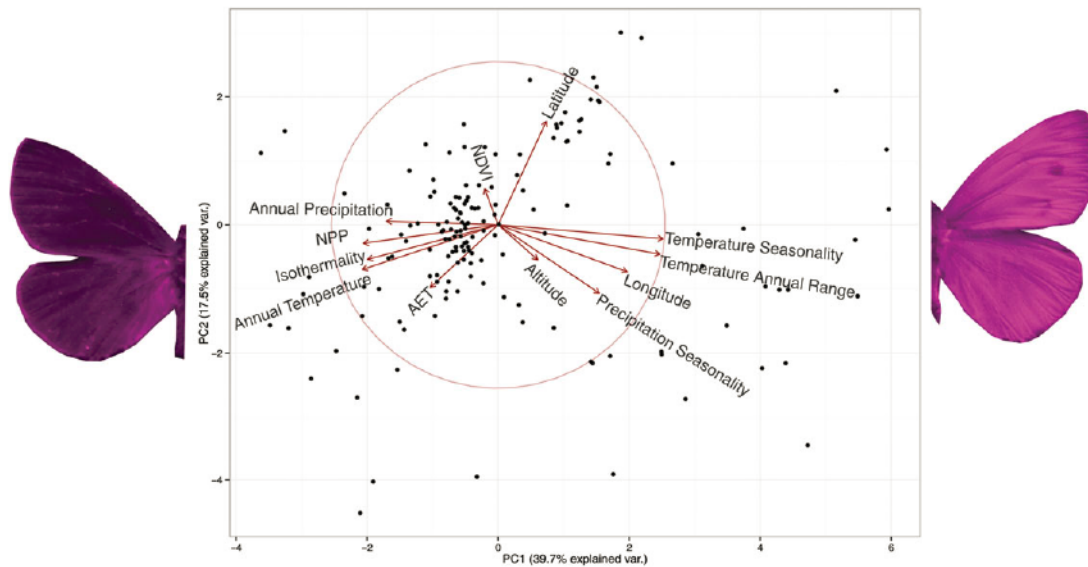
To investigate the influence of the environment on the UV reflectance, we employed 2 statistical techniques: First we used linear modeling (*lm* function in R) based on the idea that UV reflectance depends on the main en-

vironmental factors, that is, annual precipitation, annual temperature, and on latitude. Previous studies had shown that these variables are the main correlates of UV reflectance (Obara *et al.*, 2008a,b). The dependent variable was set to UV reflectance and independent ones were set to the 2 main environmental variables and latitude. We used the function *Calc.relimp (lmg metrics)* in R to measure the relative importance metrics for this linear model (Grömping, 2007). Furthermore, we employed a generalized linear model (*glm*) to investigate the relationship between UV reflectance and the first 2 PCs on all environmental and geographical variables. All statistics were calculated in R software ver. 3.2.3 (R Development Core Team, 2015) using packages “stat” and “ggplot2.” All effect sizes were reported as adjusted  $R^2$ .

## Results

### Sexual dichromatism

We analyzed differences in UV reflectance between males and females using a method of digital photography expressed as an RGB signal of an image. The results of Shapiro–Wilk confirmed nonnormally distributed data (males:  $N = 155$ ,  $W = 0.962$ ,  $P < 0.001$ ; females:  $N = 252$ ,  $W = 0.954$ ,  $P < 0.001$ ), which prompted us to use



**Fig. 3** PCA of geographical and environmental variables of female specimens for UV reflectance. The first axis explains 39.7% and the second axis 17.5% of all variability. Red vector stands for geographical and environmental variables.

a nonparametric method of analysis. The nonparametric Mann–Whitney U test revealed significant differences ( $P < 0.001$ ) in UV reflectance signals between males and females, whereby females exhibited a 25% greater reflectance than the males (Fig. 5).

#### *The effect of variables on UV reflectance*

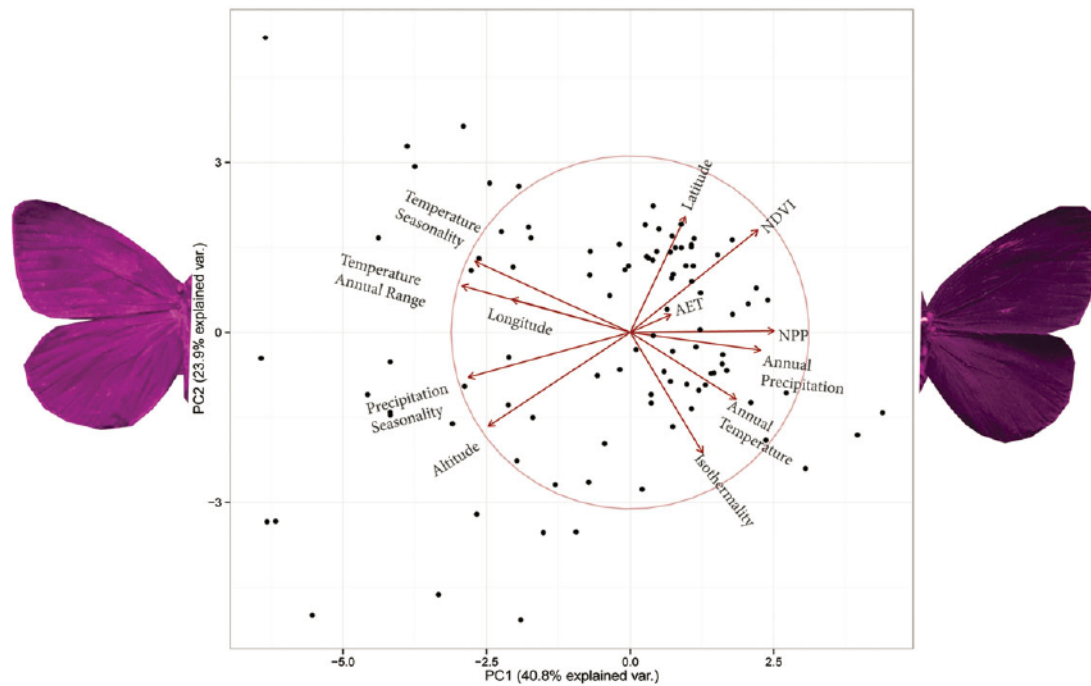
We tested whether the time elapsed since the specimen was caught had any effect on UV reflectance, but did not find any significant correlation between the date of collection and UV reflectance ( $N = 322$ ,  $t = 1.453$ ,  $P = 0.147$ ). Since the date of capture was not indicated in all specimens, we analyzed only the 322 specimens for which the data were available.

#### *Females*

For females, UV reflectance was statistically significantly associated with latitude ( $t_{(3,247)} = 3.24$ ,  $P < 0.001$ ,  $R^2 = 0.076$ ) and mean annual temperature ( $t_{(3,247)} = -2.351$ ,  $P = 0.016$ ,  $R^2 = 0.058$ ). Mean annual precipitation ( $t_{(3,247)} = -1.730$ ,  $P = 0.085$ ,  $R^2 = 0.017$ ) does not significantly correlate with UV reflectance. The proportion of variance explained by this model was 15%. Females are on average brighter in UV in northern areas with lower mean annual temperature.

The principal component analysis of the 12 geographic and environmental variables resulted in 2 PCA axes for female specimens (Fig. 3). The first PCA axis explained 39.7% and the second 17.5% of all variability. The first axis represents mainly variations in temperature seasonality, annual temperature range, annual mean precipitation, annual mean temperature, Net Primary Production (NPP), and isothermality. This axis, therefore, represents mainly *environmental* variables. The second axis accounts for latitude, altitude, and Actual Evapotranspiration (AET). This axis represents mainly *geographic* variables.

Further, we used GLM to test the relationship between UV reflectance (dependent variable) and both environmental PCs. Variation in UV reflectance turned out to significantly correlate with ecological factors associated with PC1 ( $t_{(1,249)} = 4.325$ ,  $P = <0.001$ ) as well as with those associated with PC2 ( $t_{(1,249)} = -4.415$ ,  $P = <0.001$ ). The GLM model explained 12.6% of overall variability. Female butterflies possess lower levels of UV reflectance in south-westerly regions of the Palaearctic and in localities with lower altitude. Moreover, a high level of temperature seasonality (variability of temperature during the year) and annual temperature range (range of temperature between the warmest and the coldest month of the year) is associated with higher levels of UV reflectance. We also found that the rate of precipitation, NPP, isothermality, annual temperature, and AET negatively correlate with the level of UV reflectance.



**Fig. 4** Biplot showing first 2 principal components for male specimens. The first component axis explains 40.8% and the second axis 23.9% of all variability from the dataset. Red vectors stand for geographical and environmental variables.

### Males

In males, UV reflectance was significantly correlated with latitude ( $t_{(3,151)} = 2.862$ ,  $P < 0.01$ ,  $R^2 = 0.072$ ), annual temperature ( $t_{(3,151)} = -1.942$ ,  $P = 0.05$ ,  $R^2 = 0.035$ ), and mean annual precipitation ( $t_{(3,151)} = 3.024$ ,  $P < 0.01$ ,  $R^2 = 0.047$ ). The model explained 15.4% of variance. Northern areas characterized by low temperature and low rates of precipitation are inhabited by butterflies with a higher level of UV reflectance.

When we ran PCA on male data, the first axis accounted for 40.8% and the second axis for 19% of all variation (Fig. 4). The first axis stands for temperature seasonality, temperature annual range, precipitation seasonality, NPP, precipitation annual mean, and temperature annual mean. The second PC axis represents latitude, NDVI, and isothermality.

GLM revealed no statistically significant relationship between UV reflectance and the first PCA axis ( $t_{(1,153)} = -1.539$ ,  $P = 0.126$ ). The second PCA axis, on the other hand, did significantly predict a variation in UV reflectance ( $t_{(1,153)} = -3.724$ ,  $P < 0.001$ ). *P. napi* with stronger UV reflectance inhabit northern areas and lower altitudes. *P. napi* butterflies generally show stronger UV reflectance in areas with high values of NDVI and low values of isothermality. This model explains 9.5% of overall variability.

### Discussion

Our results confirmed that there are significant differences in UV reflectance between the males and the females of *Pieris napi* and showed that UV reflectance in this species is also correlated with geographic and environmental variables. This latter result might suggest a causal link between the environment and observed variation in UV reflectance.

#### Sexual dimorphism in UV reflectance

UV reflectance in female *P. napi* was 25% more intense than that in male individuals. Previous studies had revealed that in 2 related *Pieris* species, sexual dimorphism in ultraviolet reflectance is employed in the recognition of sex of an individual in preference to chemical signals or wing patterns in the visible (VIS) spectrum (Rutowski, 1981; Obara *et al.*, 2008a). As shown by Makino *et al.* (1952) and Petersen and Luxton (1982), females prefer males with a higher degree of reflectance in the VIS spectrum (i.e., whiter specimens). The relatively low variation in the of UV reflectance in male *P. napi* could therefore be the result of a consistent female preference for white males. These males thus possess high fitness due to sexual selection



**Fig. 5** The photograph demonstrates difference in UV reflectance between male (above) and female (beneath) specimen of *Pieris napi*.

even if their dorsal wing surface is constrained from evolving the dark color, which is a thermoregulatory adaptation for heat absorption (Tuomaala *et al.*, 2012; Shanks *et al.*, 2015).

A greater degree of “whiteness” can be explained by higher amounts of pterins, which decrease the level of diffuse UV reflectance and, at the same time, increase the reflectance in mid- to long-wavelength radiation in the VIS spectrum (Watt & Bowden, 1966; Morehouse *et al.*, 2007; Wijnen *et al.*, 2007). Males had been under sexual selective pressure from females (Turner, 1978), which is probably why the variation of UV reflectance in males is relatively low in comparison with the females.

The sex-specific photoreceptors discovered in *P. rapae crucivora*, whose sexual wing dichromatism is similar to that of *P. napi*, offer an alternative explanation. Males of this species possess a double-peaked sensitivity maximum in the violet region of the spectrum (around 425 nm), which differs strongly from what is found in

females (Arikawa *et al.*, 2005). The sex-specific pigmentation of the males (pterins) has presumably evolved to improve a spectral discrimination of colors of conspecifics at around 400 nm, where wing reflectance between sexes abruptly changes (Obara & Majerus, 2000; Arikawa *et al.*, 2005; Stavenga & Arikawa, 2011).

#### *UV reflectance and environmental conditions*

Female *P. napi* generally exhibit a less intense UV reflectance in western and southern regions of the Palearctic. We found that a high level of temperature seasonality and annual temperature range is associated with a more intense UV reflectance. Furthermore, the rate of precipitation, NPP, isothermality, annual temperature, and the AET negatively correlate with UV reflectance. Generally speaking, localities characterized by extreme values of a number of variables (such as high temperature seasonality and low temperatures) favor female *P. napi* butterflies with stronger UV reflectance. Males with stronger UV reflectance occur in areas with high values of NDVI and low values of isothermality. Similarly as in females, variables associated with a higher UV reflectance in males generally indicate that they live in an environment less suitable for breeding (especially in the peripheral populations of *P. napi*).

Based on these results, we suggest 2 possible but not necessarily exclusive explanations: First, higher levels of UV reflectance of butterfly wings, which help facilitate mate recognition, may be a way of compensating for low levels of environmental UV radiation in northern areas and lower altitude. At higher latitudes, the sun is lower in the horizon so the UV rays travel a greater distance through UV-absorbing layers of the atmosphere (Meyer-Rochow & Järvillehto 1997, Madronich *et al.*, 1998). We also suggest that in females, UV reflectance is negatively correlated with environmental UV irradiation.

Second, the more unfit for breeding environment (northern localities, low annual temperature, high levels of temperature variability during the year, etc.), the smaller the numbers of butterflies (Shreeve, 1981). Under these conditions, an encounter of 2 butterflies is thus less likely. As reported for *Pieris rapae crucivora* and *Pieris protodice*, the initial and final mate recognition by the male is based entirely on visual cues. The female UV pattern is therefore an essential factor (Obara, 1970; Rutowski, 1981) of mate recognition. Assuming that sensitivity to UV radiation in the eyes of the males is constant in all localities, high levels of UV reflectance observed in females that inhabit a hostile

environment may thus be an adaptation to facilitate mate recognition (Meyer-Rochow & Järvillehto 1997).

Obara (2008a,b) suggests that a higher temperature and a long day photoperiod predict a higher level of UV reflectance on the butterfly wing. Although Obara's conclusions are based on the study of a different species (*P. rapae*), we are of the opinion that our model species is subjected to similar environmental pressures as *P. rapae* and our conclusions therefore contradict Obara (Obara *et al.*, 2008a). In our dataset, the negative correlation between temperature and levels of wing UV reflectance is statistically highly significant. It has been suggested that pterin granules in the wing scale, which are responsible for UV absorption, are the most nitrogen-rich pigments known (Morehouse *et al.*, 2007). Specimens surviving in low-nitrogen environments would thus find the synthesis and deposition of these compounds more difficult than individuals living in more favorable conditions (Giraldo & Stavenga, 2007; Kemp & Rutowski, 2011). One could thus expect that butterflies in habitats less suitable for breeding have lower levels of pterins and the level of UV reflectance in these specimens is higher (Morehouse & Rutowski, 2010a,b).

Moreover, the deposition of pterins in wing scales and UV coloration could be indicative of the quality (health status) of an individual. Males capable of obtaining sufficient amounts of nitrogen from plants have strongly UV-absorbing wing patterns. Such males, which appear whitest to the female butterfly eye, could therefore be favored by females. A similar scenario is known in *Polyommatus icarus*, where the ultraviolet wing pattern is determined by the amount of flavonoids in the diet (Knüttel & Fiedler, 2001).

Numerous earlier studies have shown that seasonal generations of various insect species can differ in color, body size, behavior, and fertility (Shapiro, 1977; Stjernholm & Karlsson, 2008). The subject of our study, *P. napi*, is a multivoltine species (i.e., a species, which produces more than one generation during a year). This characteristic, however, depends to a large extent on environmental conditions. In other words, in hostile environmental conditions only 1 or 2 generations may be present, while warmer and more fertile localities may produce up to 4 generations a year (Cizek *et al.*, 2006). Phenotypic expressions differ between the generations. For example, spring specimens of *P. napi* can be easily distinguished from the second generation by a higher level of melanism in their wing pattern in the VIS spectrum (Shkurikhin & Oslina, 2015). We therefore suggest that environmental conditions are the primary factor, which determines both wing UV reflectance and the number of generations.

For further research, it would be interesting to measure the reflectance in the VIS spectrum (or at least to obtain standardized photographs in the VIS spectrum and thus measure the level of melanization) and correlate it with UV reflectance. Tuomaala *et al.* (2012) carried out such a research on a regional scale and demonstrated a negative correlation between the UV and VIS reflectance in females of *P. napi*. Her study (reported in the abovementioned paper) was based on specimens from across the Palaearctic region. If we consider smaller scale analyses, such as analyses by geographical regions, they too could provide valuable results. Such studies could focus on just 1 or 2 species, which would exclude potential differences in life histories and behaviors.

## Conclusions

We have investigated the effects of environmental conditions on the level of UV reflectance in *P. napi*. Museum specimens proved to be a suitable source for quantitative analyses of butterfly wing patterns, since their UV patterns are stable. Males and females differ significantly in the level of UV reflectance. Environmental conditions significantly affect UV reflectance on the forewings of both sexes. In particular, less suitable conditions predict stronger UV reflectance. Two possible explanations were suggested: one based on pterin deposition, the other based on the notion of adaptation, which facilitates mate location. And while intraspecific communication cannot be based only on UV patterns, our finding of different levels of UV reflectance in the 2 sexes suggests that UV wing patterns could play a role in communication within the genus *Pieris*.

## Acknowledgments

We wish to thank Jaan Luig, Pavel Chvojka, Stanislav Komárek, Gaal Sabine, Uwe Filter, and Blanca Huertas for providing butterfly specimens. This research was supported by the Charles University Grant project GAUK 764313.

## Authors' contributions

DS collected museum data, designed the study, analyzed data and drafted the manuscript. PP helped with collecting of the data and participated in data analysis. VBMR helped draft the manuscript. KK conceived of the study, designed the study, coordinated the study and helped

draft the manuscript. All authors gave final approval for publication.

## Disclosure

The authors declare no conflict of interest.

## References

- Abramoff, M.D., Magalhães, P.J. and Ram, S.J. (2004) Image processing with ImageJ. *Biophotonics International*, 11, 36–42.
- Arikawa, K., Wakakuwa, M., Qiu, X., Kurasawa, M. and Stavenga, D.G. (2005) Sexual dimorphism of short-wavelength photoreceptors in the small white butterfly, *Pieris rapae crucivora*. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 25, 5935–5942.
- Beddard, F.E. (1892) *Animal Coloration: An Account of the Principal Facts and Theories Relating to the Colours and Markings of Animals*. S. Sonnenschein, New York.
- Briscoe, A.D. and Chittka, L. (2001) The evolution of color vision in insects. *Annual Review of Entomology*, 46, 471–510.
- Brunton, C. and Majerus, M.N. (1995) Ultraviolet colours in butterflies: intra- or inter-specific communication? *Proceedings of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences*, 260, 199–204.
- Cizek, L., Fric, Z. and Konvicka, M. (2006) Host plant defences and voltinism in European butterflies. *Ecological Entomology*, 31, 337–344.
- Cott, H.B. (1940) *Adaptive Coloration in Animals*. Methuen, London.
- Darwin, C. (1871) *The Descent of Man*. John Murray, London.
- DeVoe, R.D., Small, R.J. and Zvargulis, J.E. (1969) Spectral sensitivities of wolf spider eyes. *The Journal of General Physiology*, 54, 1–32.
- Eguchi, E. and Meyer-Rochow, V.B. (1983) Trophospongium-like structures in an insect eye: response of retinula cells of *Papilio xuthus* (Lepidoptera) to irradiation with ultraviolet light. *Cell and Tissue Research*, 231, 519–526.
- Eitschberger, U. (1984) Systematische Untersuchungen am *Pieris napi-bryoniae* Komplex (s.l.) (Lepidoptera, Pieridae). *Herbipoliana*, 1, 1–504.
- Eklundh, L. (1995) Noise estimation in NOAA AVHRR maximum-value composite NDVI images. *Remote Sensing*, 16, 2955–2962.
- Espeland, M., Aagaard, K., Balstad, T. and Hindar, K. (2007) Ecomorphological and genetic divergence between lowland and montane forms of the *Pieris napi* species complex (Pieridae, Lepidoptera). *Biological Journal of the Linnean Society*, 92, 727–745.
- ESRI (2011) *ArcGIS Desktop: Release 10.1*, 1st edn, Redlands, California.
- Fukano, Y., Satoh, T., Hirota, T., Nishide, Y. and Obara, Y. (2012) Geographic expansion of the cabbage butterfly (*Pieris rapae*) and the evolution of highly UV-reflecting females. *Insect Science*, 19, 239–246.
- Giraldo, M. and Stavenga, D. (2007) Sexual dichroism and pigment localization in the wing scales of *Pieris rapae* butterflies. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 274, 97–102.
- Google Earth (2015) Version Earth 7.1.5.1557. Available: <http://www.google.cz/intl/cs/earth/>.
- Grömping, U. (2007) Estimators of relative importance in linear regression based on variance decomposition. *The American Statistician*, 61, 139–147.
- Hazel, W.N. and West, D.A. (1983) The effect of larval photoperiod on pupal colour and diapause in swallowtail butterflies. *Ecological Entomology*, 8, 37–42.
- Hijmans, R.J., Cameron, S.E., Parra, J.L., Jones, P.G. and Jarvis, A. (2005) Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology*, 25, 1965–1978.
- Holben, B.N. (1986) Characteristics of maximum-value composite images from temporal AVHRR data. *International Journal of Remote Sensing*, 7, 1417–1434.
- Hovanitz, W. (1944) The ecological significance of the color phases of *Colias chrysotheme* in North America. *Ecology*, 25, 45–60.
- Huete, A., Didan, K., Miura, T., Rodriguez, E., Gao, X. and Ferreira, L. (2002) Overview of the radiometric and biophysical performance of the MODIS vegetation indices. *Remote Sensing of Environment*, 83, 195–213.
- Huth, H. and Burkhardt, D. (1972) Der spektrale sehbereich eines violettöhr-kolibris. *Naturwissenschaften*, 59, 650–650.
- Kaitala, A. and Wiklund, C. (1994) Female mate choice and mating costs in the polyandrous butterfly *Pieris napi* (Lepidoptera: Pieridae). *Journal of Insect Behavior*, 8, 355–363.
- Kemp, D.J. (2006) Heightened phenotypic variation and age-based fading of ultraviolet butterfly wing coloration. *Evolutionary Ecology Research*, 8, 515–527.
- Kemp, D.J. and 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.
- Kemp, D.J., Rutowski, R.L. and Mendoza, M. (2005) Colour pattern evolution in butterflies: a phylogenetic analysis of structural ultraviolet and melanic markings in North American sulphurs. *Evolutionary Ecology Research*, 7, 133–141.

- Kivelä, S.M. and Välimäki, P. (2008) Competition between larvae in a butterfly *Pieris napi* and maintenance of different life-history strategies. *Journal of Animal Ecology*, 77, 529–539.
- Knüttel, H. and Fiedler, K. (2000) On the use of ultraviolet photography and ultraviolet wing patterns in butterfly morphology and taxonomy. *Journal of the Lepidopterists' Society*, 54, 137–144.
- Knüttel, H. and Fiedler, K. (2001) Host-plant-derived variation in ultraviolet wing patterns influences mate selection by male butterflies. *The Journal of Experimental Biology*, 204, 2447–2459.
- Lutz, F.E. (1924) Apparently non-selective characters and combinations of characters, including a study of ultraviolet in relation to the flower-visiting habits of insects. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 29, 181–283.
- Madronich, S., McKenzie, R.L., Björn, L.O. and Caldwell, M.M. (1998) Changes in biologically active ultraviolet radiation reaching the Earth's surface. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 46, 5–19.
- Makino, K., Satoh, K., Koike, M. and Ueno, N. (1952) Sex in *Pieris rapae* L. and the pteridin content of their wings. *Nature*, 170, 32–55.
- Mazokhin-Porshniakov, G. (1957) Reflecting properties of butterfly wings and role of ultra-violet rays in the vision of insects. *Biophysics*, 2, 352–362.
- Meyer-Rochow, V.B. (1991) Differences in ultraviolet wing patterns in the New Zealand lycaenid butterflies *Lycaena salustius*, *L. rauparaha*, and *L. feredayi* as a likely isolating mechanism. *Journal of the Royal Society of New Zealand*, 21, 169–177.
- Meyer-Rochow, V.B. (1999) Compound eye: circadian rhythmicity, illumination, and obscurity. *Atlas of Arthropod Sensory Receptors—Dynamic Morphology in Relation to Function* (eds. E. Eguchi & Y. Tominaga), pp. 97–124. Springer Verlag, Tokyo.
- Meyer-Rochow, V. and Järvillehto, M. (1997) Ultraviolet colours in *Pieris napi* from northern and southern Finland: Arctic females are the brightest! *Naturwissenschaften*, 84, 165–168.
- Morehouse, N.I. and Rutowski, R.L. (2010a) Developmental responses to variable diet composition in a butterfly: the role of nitrogen, carbohydrates and genotype. *Oikos*, 119, 636–645.
- Morehouse, N.I. and Rutowski, R.L. (2010b) In the eyes of the beholders: female choice and avian predation risk associated with an exaggerated male butterfly color. *The American Naturalist*, 176, 768–784.
- Morehouse, N.I., Vukusic, P. and Rutowski, R. (2007) Pterin pigment granules are responsible for both broadband light scattering and wavelength selective absorption in the wing scales of pierid butterflies. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 274, 359–366.
- Mu, Q., Zhao, M. and Running, S.W. (2011) Improvements to a MODIS global terrestrial evapotranspiration algorithm. *Remote Sensing of Environment*, 115, 1781–1800.
- Munakata, N., Cornain, S., Kanoko, M., Mulyadi, K., Lestari, S., Wirohadidjojo, W., Bolseé, D., Kazadzis, S., Meyer-Rochow, V. and Schuch, N. et al. Schuch N, Casiccia C, Kaneko M, Liu C-M, Jimbow K, Saida T, Nishigori C, Ogata K, IONafuku K, Hieda K, and Ichihashi M (2006) Biological monitoring of solar UV radiation at 17 sites in Asia, Europe and South America from 1999 to 2004. *Photochemistry and Photobiology*, 82, 689–694.
- Obara, Y. (1970) Studies on the mating behavior of the white cabbage butterfly, *Pieris rapae crucivora* Boisduval. *Zeitschrift für vergleichende Physiologie*, 69, 99–116.
- Obara, Y. and Majerus, M.N. (2000) Initial mate recognition in the British cabbage butterfly, *Pieris rapae rapae*. *Zoological Science*, 17, 725–730.
- Obara, Y., Ozawa, G. and Fukano, Y. (2008a) Geographic variation in ultraviolet reflectance of the wings of the female cabbage butterfly, *Pieris rapae*. *Zoological Science*, 25, 1106–1110.
- Obara, Y., Koshitaka, H. and Arikawa, K. (2008b) Better mate in the shade: enhancement of male mating behaviour in the cabbage butterfly, *Pieris rapae crucivora*, in a UV-rich environment. *The Journal of Experimental Biology*, 211, 3698–3702.
- Pecháček, P., Stella, D., Keil, P. and Kleisner, K. (2014) Environmental effects on the shape variation of male ultraviolet patterns in the Brimstone butterfly (*Gonepteryx rhamni*, Pieridae, Lepidoptera). *Naturwissenschaften*, 101, 1055–1063.
- Petersen, H. and Luxton, M. (1982) A comparative-analysis of soil fauna populations and their role in decomposition processes. *Oikos*, 39, 287–388.
- Poulton, E.B. (1890) *The Colours of Animals: Their Meaning and Use, Especially Considered in the Case of Insects*. D. Appleton, New York.
- R Development Core Team (2015) *R: A Language and Environment for Statistical Computing*, 3.2.3 edn, R Foundation for Statistical Computing, Vienna.
- Running, S.W., Nemani, R.R., Heinsch, F.A., Zhao, M., Reeves, M. and Hashimoto, H. (2004) A continuous satellite-derived measure of global terrestrial primary production. *Bioscience*, 54, 547–560.
- Rutowski, R.L. (1991) The evolution of male mate-locating behavior in butterflies. *American Naturalist*, 138, 1121–1139.
- Rutowski, R.L. (1981) Sexual discrimination using visual cues in the checkered white butterfly (*Pieris protodice*). *Zeitschrift für Tierpsychologie*, 55, 325–334.
- Rutowski, R.L., Long, C.E., Marshall, L.D. and Vetter, R.S. (1981) Courtship solicitation by *Colias* females



- (Lepidoptera: Pieridae). *American Midland Naturalist*, 105, 334–340.
- Rutowski, R.L., Macedonia, J.M., Kemp, D.J. and Taylor-Taft, L. (2007) Diversity in structural ultraviolet coloration among female sulphur butterflies (Coliadinae, Pieridae). *Arthropod Structure & Development*, 36, 280–290.
- Shanks, K., Senthilarasu, S. and Mallick, T.K. (2015) White butterflies as solar photovoltaic concentrators. *Scientific Reports*, 5. Available: <http://www.nature.com/articles/srep12267>.
- Shapiro, A.M. (1977) Phenotypic induction in *Pieris napi* L.: role of temperature and photoperiod in a coastal California population. *Ecological Entomology*, 2, 217–224.
- Shkurikhin, A. and Oslina, T. (2015) Seasonal phenotypic plasticity of the polyvoltine white butterfly *Pieris napi* L. (Lepidoptera: Pieridae) in the southern Urals. *Russian Journal of Ecology*, 46, 96–102.
- Shreeve, T.G. (1981) Flight patterns of butterfly species in woodlands. *Oecologia*, 51, 289–293.
- Silberglied, R.E., Taylor, J. and Orley, R. (1978) Ultraviolet reflection and its behavioral role in the courtship of the sulfur butterflies *Colias eurytheme* and *C. philodice* (Lepidoptera, Pieridae). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 3, 203–243.
- Silberglied, R.E. (1984) Visual communication and sexual selection among butterflies, *The biology of butterflies. Symposium of the Royal Entomological Society of London Number 11.*, eds. R.I. Vane-Wright & P.R. Ackery, Academic Press, London, pp. 207–223.
- Silberglied, R. and Taylor, O. (1973) Ultraviolet differences between the sulphur butterflies, *Colias eurytheme* and *C. philodice*, and a possible isolating mechanism. *Nature*, 241, 406–408.
- Stavenga, D.G. and Arikawa, K. (2011) Photoreceptor spectral sensitivities of the small white butterfly *Pieris rapae crucivora* interpreted with optical modeling. *Journal of Comparative Physiology A*, 197, 373–385.
- Stevens, M., Parraga, C.A., Cuthill, I.C., Partridge, J.C. and Troscianko, T.S. (2007) Using digital photography to study animal coloration. *Biological Journal of the Linnean Society*, 90, 211–237.
- Stjernholm, F. and Karlsson, B. (2008) Flight muscle breakdown in the green-veined white butterfly, *Pieris napi* (Lepidoptera: Pieridae). *European Journal of Entomology*, 105, 87–91.
- Tuomaala, M., Kaitala, A. and Rutowski, R.L. (2012) Females show greater changes in wing colour with latitude than males in the green-veined white butterfly, *Pieris napi* (Lepidoptera: Pieridae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 107, 899–909.
- Turner, J.R.G. (1978) Why male butterflies are non-mimetic: natural selection, sexual selection, group selection, modification and sieving. *Biological Journal of the Linnean Society*, 10, 385–432.
- Välimäki, P. and Kaitala, A. (2007) Life history tradeoffs in relation to the degree of polyandry and developmental pathway in *Pieris napi* (Lepidoptera, Pieridae). *Oikos*, 116, 1569–1580.
- Välimäki, P. and Kaitala, A. (2006) Does a lack of mating opportunities explain monandry in the green-veined white butterfly (*Pieris napi*)? *Oikos*, 115, 110–116.
- Watt, W.B. and Bowden, S.R. (1966) Chemical phenotypes of pteridine colour forms in *Pieris* butterflies. *Nature*, 210, 304–306.
- Wedell, N., Wiklund, C. and Cook, P.A. (2002) Monandry and polyandry as alternative lifestyles in a butterfly. *Behavioral Ecology*, 13, 450–455.
- Wijnen, B., Leertouwer, H. and Stavenga, D. (2007) Colors and pterin pigmentation of pierid butterfly wings. *Journal of Insect Physiology*, 53, 1206–1217.
- Zhao, M., Heinsch, F.A., Nemani, R.R. and Running, S.W. (2005) Improvements of the MODIS terrestrial gross and net primary production global data set. *Remote Sensing of Environment*, 95, 164–176.
- Zhao, M. and Running, S.W. (2010) Drought-induced reduction in global terrestrial net primary production from 2000 through 2009. *Science*, 329, 940–943.

Manuscript received July 14, 2016

Final version received October 17, 2016

Accepted November 22, 2016

### Supporting Information

Additional Supporting Information may be found in the online version of this article at the publisher's web-site:

**Table S1.** Specimens with all variables.

IV.

Stella D, Faltýnek Fric Z, Rindoš M, Kleisner K, Pecháček P (2018a) Distribution of Ultraviolet Ornaments in *Colias* Butterflies (Lepidoptera: Pieridae). *Environmental Entomology* 47:1344–1354.

## Distribution of Ultraviolet Ornaments in *Colias* Butterflies (Lepidoptera: Pieridae)

David Stella,<sup>1,4</sup> Zdeněk Faltýnek Fric,<sup>2</sup> Michal Rindoš,<sup>2,3</sup> Karel Kleisner,<sup>1</sup> and Pavel Pecháček<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Philosophy and History of Science, Faculty of Science, Charles University in Prague, Viničná 7, CZ-128 44 Praha 2, Czech Republic, <sup>2</sup>Biology Centre of the Czech Academy of Sciences, Institute of Entomology, Branišovská 31, CZ-370 05 České Budějovice, Czech Republic, <sup>3</sup>University of South Bohemia, Faculty of Science, Branišovská 31, CZ-370 05 České Budějovice, Czech Republic, and <sup>4</sup>Corresponding author, e-mail: [david.stella@natur.cuni.cz](mailto:david.stella@natur.cuni.cz)

Subject Editor: Andy Michel

Received 4 April 2018; Editorial decision 5 July 2018

### Abstract

Ultraviolet patterns in butterflies have been recognized and studied for many years. They are frequently involved in both intraspecific and interspecific interactions. Only a handful of studies, however, have investigated possible links between ultraviolet (UV) reflectance and ecological properties in some genera of the Lepidoptera as a whole. This study examines the impact of habitat and distribution on UV reflectance patterns on the wings of 106 species and subspecies of *Colias* butterflies. Based on standardized digital photographs, we performed a multivariate analysis of relations between UV reflectance, preferred habitat (alpine, arctic, dry grasslands, humid, forest, and ubiquitous), and distribution area (Afrotropical, Nearctic, Neotropical, European, Caucaso–Anatolian, boreal Eurasian, Central Asian mountains, northern China and Japan, and northern Oriental region). UV patterns occur more frequently in the male (60 taxa) than in female (25 taxa) *Coliads*. This difference in presence of UV patterns is used for differentiating between the males and females of a given species or subspecies. Further possible explanations of this phenomenon are also discussed. This study also shows that particular configurations of UV patterns are significantly associated with particular distribution areas. This relation is relatively strong but overall trends remain unclear. Based on the results of this study, it can be concluded that there exists a significant difference in the configuration of UV reflectance between the sexes, and that the configuration of UV reflectance significantly interacts with the geographical distribution of *Colias* species and subspecies.

**Key words:** Lepidoptera, UV reflectance, *Colias* butterflies, distribution, habitat

Ultraviolet (UV) patterns have been extensively studied since the 1930s (Lutz 1924, Lutz 1933). Various groups of butterflies have received different amount of attention, probably due to the presence or absence of conspicuous coloration in their species. UV patterns are known to exist in at least ten families of Lepidoptera (Meyer-Rochow 1991, Lytinen et al. 2004, Obara et al. 2008a) and not only diurnal, but even nocturnal species of Lepidoptera exhibit wing patterns perceptible only in the UV part of the spectrum (Allyn and Downey 1977, Silberglied 1979, Brunton and Majerus 1995, Meyer-Rochow and Järvillehto 1997). In some species, UV patterns serve as a protection against predators (Lytinen et al. 2004, Olofsson et al. 2010). It is also possible that they function as part of reproductive isolation mechanisms between sympatric species (Silberglied and Taylor 1973, Meyer-Rochow 1991, Imafuku 2008), and they seem to be involved in sexual interactions (Silberglied 1984, Stella et al. 2018). Diurnal butterflies in particular tend to exhibit sexual dichromatism that is often more pronounced in the UV range

(Brunton and Majerus 1995). As important as the ability to produce UV patterns, however, it is the butterflies' ability to perceive UV radiation. Similarly to numerous other organisms, butterflies are capable of distinguishing colors (Arikawa et al. 2005, Stavenga and Arikawa 2006), and many species have UV-sensitive photoreceptors (Briscoe and Chittka 2001, Osorio and Vorobyev 2008). All in all, UV sensitivity plays an important role in butterflies' lives (Kemp and Rutowski 2011).

UV patterns on butterfly wings are formed by two distinct mechanisms. They can be determined by the presence of pigments (pigment coloration), which enhance the scattering of incident light in longer wavelengths and cause selective absorption of particular wavelengths (Wijnen et al. 2007, Wilts et al. 2011). This is typical of, for instance, the pierid butterflies (Morehouse et al. 2007). The second way in which UV patterns are formed is by special microscopic structures on wing surfaces that reflect the light of a small part of the spectrum (structural coloration). Patterns formed by structural

coloration tend to be more conspicuous and 'purer' in terms of colors than pigment-based coloration (Kemp and Rutowski 2011). The resulting color of a pattern is, however, often the result of combination of both of these mechanisms (Rutowski et al. 2005).

Structural UV coloration is found in various butterfly taxa (Ghiradella et al. 1972, Kemp and Macedonia 2006, Wijnen et al. 2007, Rutowski et al. 2007b, Wilts et al. 2011), but its best description was produced for the genus *Colias* Fabricius, 1807. In *Colias* butterflies, UV patterns seem to serve a number of functions. In some cases, they seem to help individuals to recognize suitable potential sexual partners, thus preventing interspecific breeding (Silberglied et al. 1978). They also indicate the age and condition of their bearers (Kemp 2006). Kemp (2007) had demonstrated that UV pattern is sensitive to food quality and transient heat/cold shocks during metamorphosis. Moreover, UV patterns vary in relation to environmental conditions and can therefore signal some properties of the environment where the individual had developed. Temperature, rate of precipitation, and possibly also the level of UV radiation are the most important factors that influence the quality and presence of UV pattern, especially in Pieridae (Meyer-Rochow and Järvillehto 1997, Obara et al. 2008b, Pecháček et al. 2014). In the Coliads, the quality of the pattern also influences the females' choice of sexual partners (Papke et al. 2007). So far, most studies that dealt with the properties and importance of UV ornaments in the Coliads focused on the North American *Colias eurytheme* Boisduval, 1852 (Pieridae:Lepidoptera) (Silberglied et al. 1978, Papke et al. 2007, Rutowski et al. 2007b).

Two studies then surveyed the distribution of UV patterns in another 12 (Brunton 1998) and 26 (Kemp et al. 2005) European and American species of the genus. These studies aimed at ascertaining whether UV patterns indeed play a role in sexual selection. This research was based on a theoretical assumption that secondary sexual traits are subject to rapid evolution, i.e., that they evolve faster than traits that play no role in sexual selection (Iwasa and Pomiankowski 1995). Secondary sexual traits also frequently display a polyphyletic distribution within a taxon (Brunton 1998, Kemp et al. 2005). Both of the abovementioned studies had concluded that UV-reflective patterns in the Coliads exhibit both a pronounced polyphyletic distribution and a variability that are higher than that found in traits not subjected to sexual selection. Furthermore, UV patterns also serve as an important taxonomic trait; this has already been shown in *Colias alexandra* Edwards, 1863 (Pieridae:Lepidoptera) and related species (Nekrutenko 1965, Nekrutenko 1968, Ferris 1972, Knüttel 1973, Knüttel and Fiedler 2000).

Variation in the UV patterns of Coliatid butterflies may be influenced by two kinds of selection regimes. The first kind of selection amounts to a claim that the emergence of UV patterns is constrained by environmental suitability (Obara et al. 2008a, Pecháček et al. 2014, Stella et al. 2018). In environments with high productivity, butterflies may be able to generate a UV pattern more easily so that occurrences of UV patches in less productive environments will be lower. The second kind of selection that should be considered is sexual selection, including the ability of UV signaling in open and high-latitude environments. We may thus expect the presence of species with highly developed UV patches in high productivity and/or environments characterized by high exposure to UV radiation.

Although UV ornaments do seem to play an important role in the lives of the Coliads, relatively few species have been investigated from this perspective. Moreover, existing comparative studies focus only on the males of some European and North American species, with females being completely neglected (Brunton 1998, Kemp et al. 2005). The aim of the present study was to carry out a

comprehensive investigation of UV patterns within the genus *Colias*, with its entire geographical range and both sexes being taken into consideration. Apart from unique photographic data, this study also offers a thorough overview of the presence of UV patterns in *Colias* butterflies in relation to properties of the environment and ecological aspects of studied taxa. It is hoped that this overview could serve as a helpful instrument for other researchers looking for a suitable model species for their studies.

## Materials and Methods

### Genus *Colias*

The genus *Colias* contains 84 species and almost 120 subspecies (Grieshuber 2014), which inhabit almost all parts of the world. The only regions where Coliads are not found are Australian region and Southeast Asia. Most *Colias* species inhabit the Palearctic region: 20 species live in North America, another 5 species are present in South America all the way to Tierra del Fuego, and 2 species are known from the Afrotropics (Verhulst 2000, Grieshuber 2014). No comprehensive molecular phylogeny of the genus *Colias* has been proposed as yet. Only partial phylogenetic trees are available (Brunton 1998, Pollock et al. 1998, Wheat and Watt 2008, Laiho and Stahls 2013), which is also why the specific taxonomic structure of the genus varies between publications and many taxa are treated either as species or as subspecies (Verhulst 2000, Grieshuber 2014). It is thus likely that in future, we will witness some changes to the taxonomy of the genus.

The various species and subspecies of *Colias* butterflies are adapted to different habitats (alpine rocky slopes, wetlands, forest, cultivated habitats, or steppes). Generally speaking, they can be divided into mountain species, lowland species, and species inhabiting medium elevations. Most Coliads feed on plants belonging to the pea family (Fabaceae), with only a handful exceptions, such as *Colias bebrüi* Edwards, 1866 (Pieridae:Lepidoptera), *Colias gigantea* Verity, 1911 (Pieridae:Lepidoptera), *Colias interior* Scudder, 1862 (Pieridae:Lepidoptera), *Colias palaeno* Linnaeus, 1761 (Pieridae:Lepidoptera), *Colias pelidne* Boisduval & Le Conte, 1830 (Pieridae:Lepidoptera), and *Colias scudderi* Reakirt, 1865 (Pieridae:Lepidoptera) (Grieshuber 2014). Their host plants range from dwarf shrubs, such as *Vaccinium*, all the way to willows (Layberry et al. 1998). Lowland species, such as *Colias croceus* Geoffroy, 1785 (Pieridae:Lepidoptera), *Colias erate* Esper, 1805 (Pieridae:Lepidoptera), *C. eurytheme*, and *Colias byale* Linnaeus, 1758 (Pieridae:Lepidoptera), usually have a wide range of distribution and tend to be polyvoltine (Tolman and Lewington 1997, Grieshuber 2014). In the mountains and in northern latitudes, Coliads (such as *Colias heos* Herbst, 1792 (Pieridae:Lepidoptera), *Colias christina* Edwards, 1863 (Pieridae:Lepidoptera), and *Colias nastes* Boisduval, 1832 (Pieridae:Lepidoptera)) usually feed on vetches, such as *Astragalus* sp. and *Hedysarium*. Several species of mainly New World Coliads (e.g., *Colias lesbia* Fabricius, 1775 (Pieridae:Lepidoptera) and *Colias philodice* Godart, 1819 (Pieridae:Lepidoptera)) are due to their effect on alfalfa fields viewed as agricultural pests (Tabashnik 1980, Serra et al. 2013).

### Specimens

Photographs of all specimens were acquired from entomological collections of the Natural History Museum in London (BMNH, United Kingdom), Natural History Museum in Vienna (NHMW, Austria), Moravian Museum in Brno (MMBC, Czech Republic), and the National Museum in Prague (NMPC, Czech Republic). We have

recorded information from the label of each specimen (such as place and date of collection) and in some cases reidentified the individuals. In total, we had at our disposal 106 taxa of *Colias* butterflies.

### Photography Acquisition and UV Patches Recognition

We have used a FujiFilm IS Pro digital camera, which was well-suited for UV photography thanks to its broad sensitivity to the 330–900 nm (Pecháček et al. 2014). The camera is equipped with uncoated, UV-transmitting lenses. We used photographic filters B+W 403 and B+W BG 53. The black filter B+W 403 blocked the visible spectrum (400–700 nm), whereas the B+W BG 38 filter blocked the IR light ( $\lambda > 700$  nm). To illuminate the photographed objects, we used a UVP MRL-58 multiple-Ray-Lamp (8-watt, 230 V–50 Hz, 0.16 A) equipped with a mercury fluorescent lamp 8w F8T5 with peak emission at 365 nm. All objects were illuminated at a 45° angle and photographed in a standardized position (dorsal view). For all specimens, we used the following setting of the FujiFilm IS Pro camera: ISO 400, shutter time 15', and aperture of 22. All images were standardized using an 18% gray card, Kodak color separation guide, and a 15-cm photographic measuring tape.

A rotation of sample wings by 5° towards the chip plane would have resulted in a distinct decrease in the level of UV reflectance ( $\pm 365$  nm). Accurate position of the sample was thus of crucial importance. This also indicates that UV patterns on the wings of *Colias* butterflies have a prominent directional component which cannot be appreciated within the spectrum visible to human eye (Kemp and Macedonia 2006, Rutowski et al. 2007a, Wilts et al. 2011).

The two patches we focused on in order to reveal the configuration of UV pattern in our analysis were defined by morphologically corresponding (homologous) elements on the dorsal side of the butterfly wing. These were wing veins, specifically radius and cubitus posterior veins on the forewing (FW) and radius and medial veins on the hindwing (HW). The average perimeter was 650 pixels, that is, the XY length was 150 pixels. Calibrated UV images of the patches were analyzed using software Image-J ver. 1.46 (Abràmoff et al. 2004). The means of grayscale values were then used for further analyses of UV intensity (for more details, see Stella et al. (2018). Patches with a grayscale value of  $< 180$  were rated as nonreflective, whereas patches with a value of  $\geq 180$  were evaluated as UV reflective wings.

### Statistical Analyses

We have distinguished two positions of a UV-reflecting pattern, on a FW and on a HW. The presence or absence of these patterns differs also between the sexes. This results in four different UV pattern configurations: FW for males/females and HW for males/females. We have traced a relation between the presence of these four UV pattern states (response variables) and the distribution and habitat of a species in question (explanatory variables). Based on the actual distribution of *Colias* species, we defined nine distribution areas (Grieshuber 2014): Afrotropical, Nearctic, Neotropical, European, Caucaso-Anatolian (including also the high Balkan Mountains), boreal Eurasian, Central Asian mountains, northern China and Japan, and a northern Oriental region excluding the alpine zone. With respect to habitats, we distinguished between alpine, arctic, dry grasslands, humid, forest, and ubiquitous species. Based on accessible information (Pena and Ugarte 1996, Tuzov et al. 1997, Layberry et al. 1998, Verhulst 2000, Grieshuber et al. 2012, Grieshuber 2014) as well as

own experience, we have also included information about voltinism (uni- or polyvoltine). For details, see Supplementary Table S1.

We have analyzed the effect of distribution and habitat on the presence or absence of the four configurations of UV pattern using multivariate Canonical Correspondence analysis (CCA) implemented in the program Canoco 5, version 5.10 (Smilauer and Leps 2014). We have tested the significance of measured effects using Monte Carlo permutation test with 999 iterations.

### Results

Out of the 106 taxa representing 54 species of *Colias* (Grieshuber 2014) we followed, we found a UV reflectance pattern in 62 taxa. The pattern is found significantly more frequently in males (60 taxa) than in females (25 taxa). In over one half of *Colias* taxa, UV pattern is present only in males. Moreover, even where a UV pattern is found in the females is not as bright as in the males of the same taxon (Fig. 1).

The patterns of UV on females are highly nested in the male UV patterns. If females have a UV pattern on their FWs, then UV pattern is almost always present on the FWs of the males of that taxon (92%, missing in *Colias dimera f. meridensis* Neuburger, 1905 (Pieridae:Lepidoptera) and *Colias christophi* Grum-Grshimailo, 1885 (Pieridae:Lepidoptera)). If females have a UV pattern on HWs, then UV pattern is present always on both FWs and HWs in the males of that species. The presence of UV patterns on FWs and HWs is closely correlated, but there are some exceptions. Ninety-six per cent of males that have a UV pattern on FWs also have a UV pattern on HWs, and 93% of taxa that have a UV pattern on HWs also have a UV pattern on FWs. When females have UV pattern on HWs, they always have also UV pattern on FWs, but when they have a UV pattern on FWs, UV pattern is present on HWs only in 68% of taxa.

It has also turned out that there exist certain regional tendencies. In particular, within a given region, the various species and subspecies of *Colias* butterflies tend to share the same configuration of UV pattern on their wings, and this holds even in cases where in other regions, these taxa display a different UV pattern configuration (Fig. 2). Moreover, in different regions, the proportion of *Colias* species and subspecies that possess particular UV pattern configurations distinctly varies. Coliads inhabiting the Afrotropical region and northern Oriental region show a highly consistent frequency of UV patterning within each sex (Africa 50%, northern Orient 60% in both sexes), whereas a highly erratic ratio in the configuration of UV pattern displays was found, for example, in taxa in South America and Caucaso-Anatolian region.

Regional distribution on its own predicted the presence of the four configurations of UV pattern extremely well: the model explained 26.7% of data variability ( $F = 1.6$ ,  $P = 0.016$  on the first axis;  $F = 2.0$ ,  $P = 0.16$  on all axes). The first axis divided the plot by sexes (Fig. 3). Taxa originating from northern China and North America have a UV pattern on their FW, but only in males. The second axis divided areas with a high proportion of UV on hind wings on males and FWs of females (especially Europe).

The effect of habitat was not significant ( $F = 1.2$ ,  $P = 0.086$ ) on the first axis, but some trends could be observed. The other axes did not significantly explain the pattern ( $F = 1.4$ ,  $P = 0.132$ ), and they jointly account for 24.65% of data variability. The first axis again divided the sexes (Fig. 4). For example, we found that a higher frequency of UV patterns in females was associated with polyvoltine or alpine species, whereas in females of univoltine, arctic, and forest species, a lower frequency of UV patterns was found. The situation

	Male		Female			Male		Female	
<i>C. alexandra</i> ; Oregon; NHM			N/A	N/A	<i>C. alfajariensis</i> /ssp <i>. paracalida</i> ; Central Bohemia; PRG				
<i>C. alpherakii</i> ; Kazachstan; NHM					<i>C. thisoa</i> / <i>aalides</i> ; xxx; PRG			N/A	N/A
<i>C. arida</i> ; Koukonor- China; NHM					<i>C. aurora</i> ; Pokrovka/Amu- r - Siberia; NHM				
<i>C. aurorina</i> ; xxx; PRG					<i>C. aurorina</i> /ssp. <i>heldreichi</i> ; <i>Taygetana</i> - <i>Greek</i> ; PRG				
<i>C. aurorina</i> /ssp. <i>libanotica</i> ; Iran; PRG					<i>C. aurorina</i> /ssp. <i>taurica</i> ; China- Tian Shan; PRG			N/A	N/A
<i>C. aurorina</i> /ssp. <i>transaspica</i> ; Jablonowska- Poland; PRG					<i>C. alfajariensis</i> <i>/ubercalida</i> ; St. Martin- France; WIN				
<i>C. alfajariensis</i> / <i>calida</i> ; Garda- Italia; WIN					<i>C. wanda</i> / <i>baeckeri</i> ; xxx; PRG	N/A	N/A		
<i>C. caucasica</i> / <i>balcanica</i> ; Vucija bara- Herzegovina; PRG					<i>C. wiskotti</i> // <i>f.</i> <i>aurantiaca</i> ; Gyantse-Tibet; NHM				
<i>C. caucasica</i> ; Borshe- Caucasus; PRG			N/A	N/A	<i>C. cocandica</i> /ssp <i>. cocandica</i> ; Fort Narine- Iran; NHM				
<i>C. croceus</i> ; Wien- Austria; WIN					<i>C. croceus</i> / <i>f.</i> <i>myrmidonides</i> ; Lienz- Austria; WIN				
<i>C. croceus</i> / <i>f.</i> <i>chrysothemef</i> <i>ormis</i> ; Wien- Austria; WIN					<i>C. dimera</i> / <i>f.</i> <i>meridensis</i> ; Merida- Venezuela; WIN				
<i>C. dimera</i> ; Imbura- Equador; NHM					<i>C. diva</i> ; Fergana- Uzbekistan; PRG				

Fig. 1. A list of 106 taxa of *Colias* butterflies. Each taxon is presented in 4 photographs: 1. Male in a VIS light; 2. Male in UV light; 3. Female in VIS light; 4. Female in UV light.

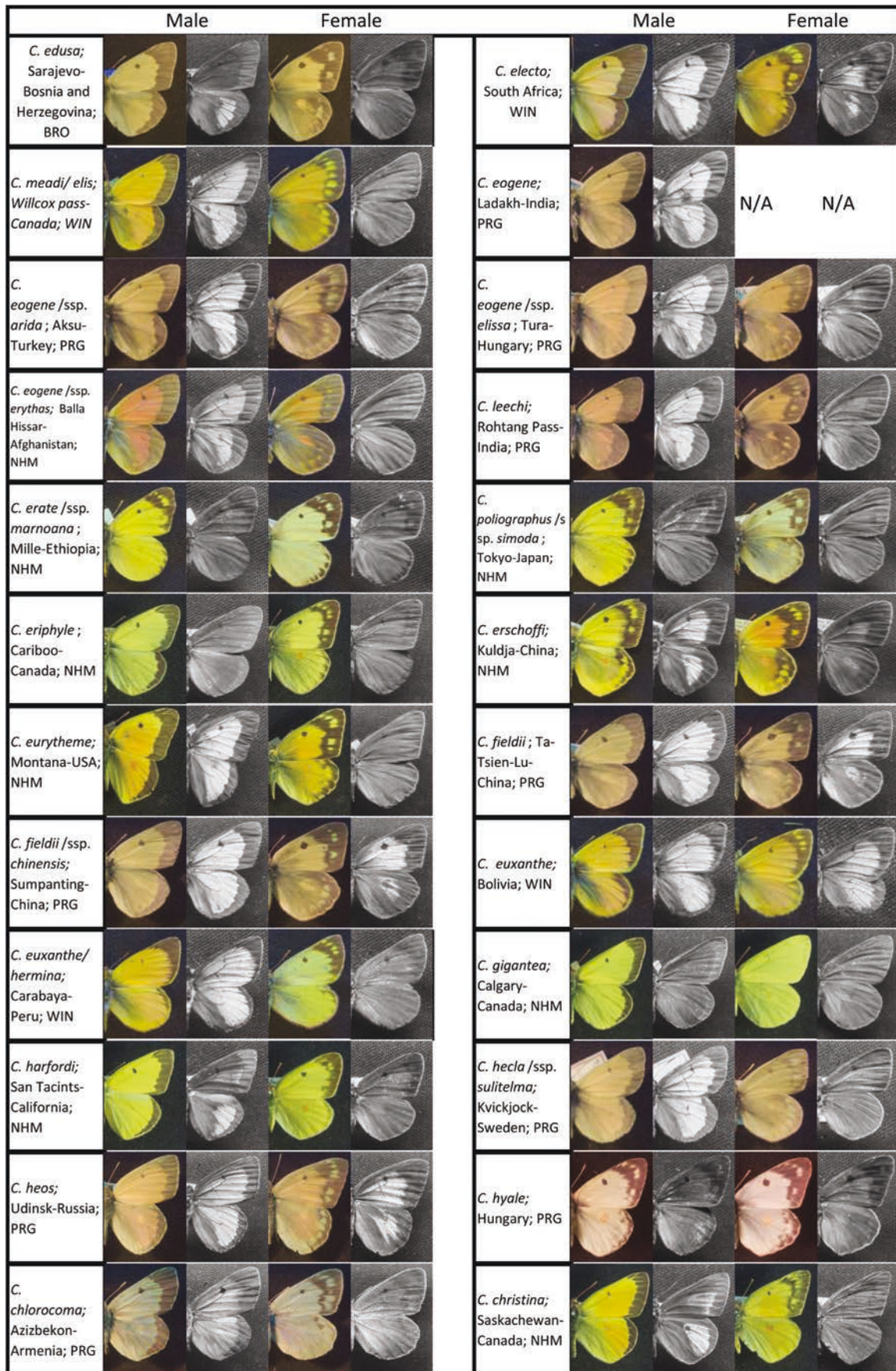


Fig. 1. Continued

	Male		Female			Male		Female	
<i>C. christina</i> / <i>ssp. astraea</i> ; Alberta- Canada; NHM					<i>C. christophi</i> ; Turkestan- Kazachstan; NHM				
<i>C. occidentalis/c</i> <i>hrysomelas</i> ; Colorado-USA; WIN					<i>C. chrysotheme</i> ; Losowaja- Russia; PRG				
<i>C. potenti</i> ; Hawaii; NHM	N/A	N/A			<i>C. interior</i> ; Canada; WIN			N/A	N/A
<i>C. ladakensis</i> ; Gya Ladakh; NHM					<i>C. lesbia</i> ; Cochabamba- Bolivia; WIN				
<i>C. lesbia/</i> <i>pyrrothea</i> ; Montevideo- Brazil; WIN					<i>C. lesbia/</i> <i>andina</i> ; La Paz- Bolivia; WIN				
<i>C. marcopolo</i> ; Kho-i-Baba- Afghanistan; NHM					<i>C. meadi</i> ; Colorado-USA; WIN				
<i>C. montium</i> ; Kuku Nor- China; PRG					<i>C. myrmidone</i> ; Czech Republic; PRG				
<i>C. nastes</i> ; Frobisher Bay- Canada; NHM					<i>C. nastes /ssp.</i> <i>werdandi</i> ; Lapland- Finland; PRG				
<i>C. nebulosa/</i> <i>karoensis</i> ; Gyantse-Tibet; WIN			N/A	N/A	<i>C. nilagiriensis</i> ; Nilgris-India; NHM				
<i>C. nina</i> ; Gyantse-Tibet; NHM					<i>C. occidentalis</i> ; Vancouver- Canada; NHM				
<i>C. palaeno /</i> <i>ssp. aias</i> ; Nagano-Japan; NHM					<i>C. palaeno /ssp.</i> <i>arctica</i> ; Irkutsk-Russia; NHM				
<i>C. palaeno /ssp.</i> <i>europomene</i> ; Lanslebourg- Austria; NHM					<i>C. palaeno /ssp.</i> <i>chipewa</i> <i>(helen)</i> ; Manitoba- Canada; NHM				

Fig. 1. Continued



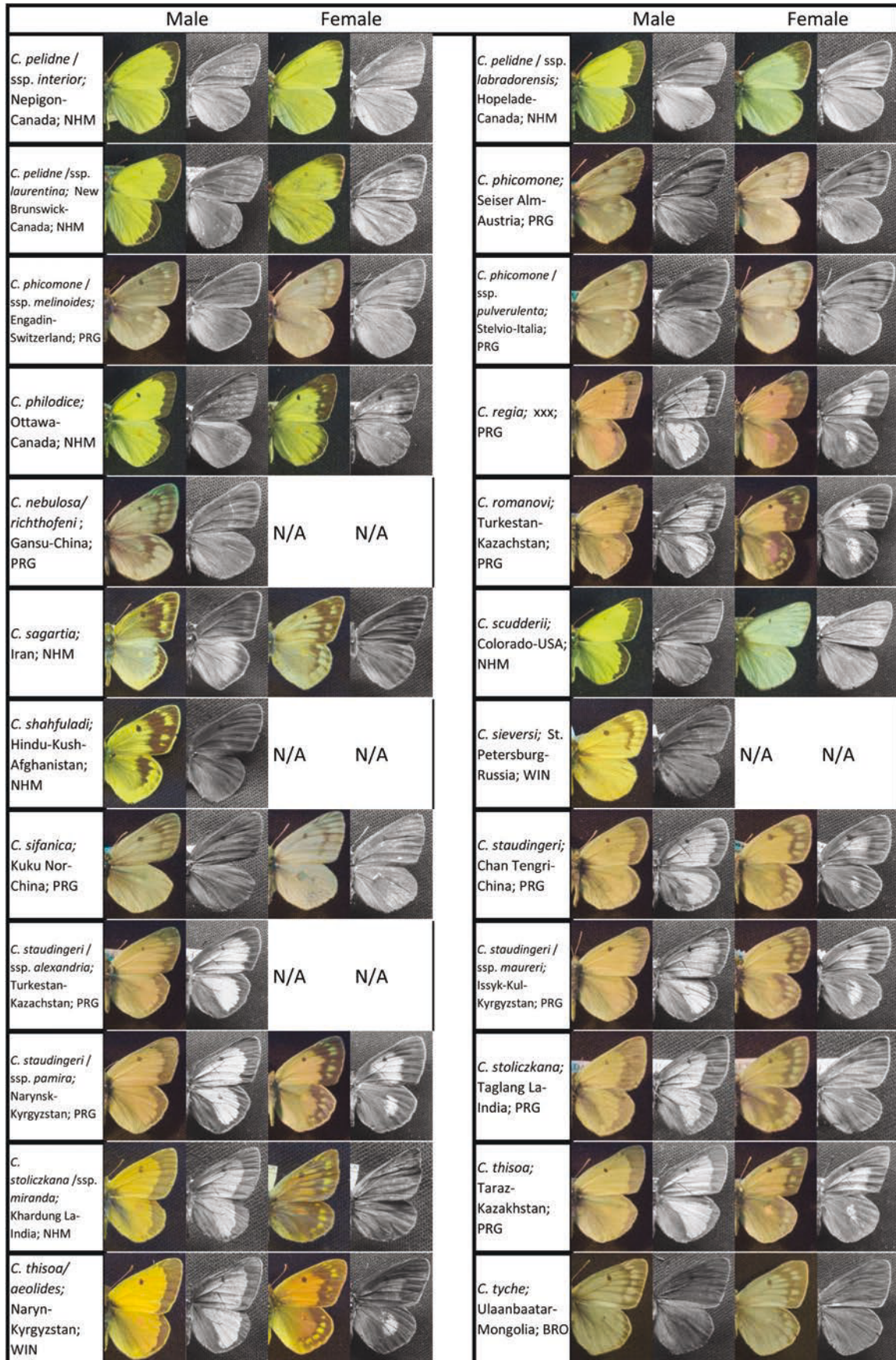


Fig. 1. Continued

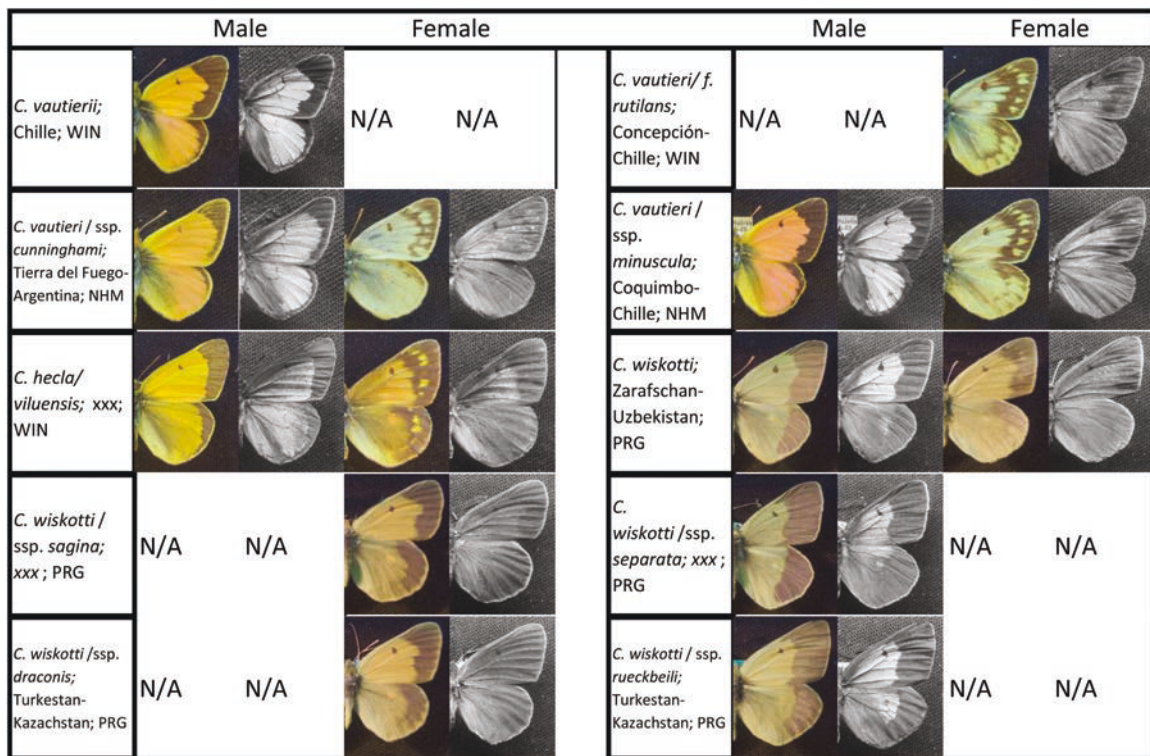


Fig. 1. Continued

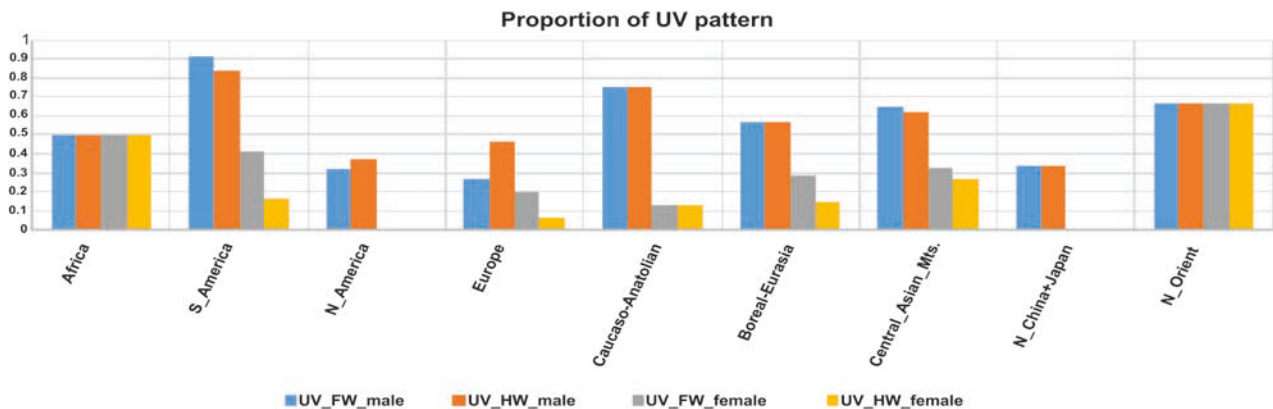


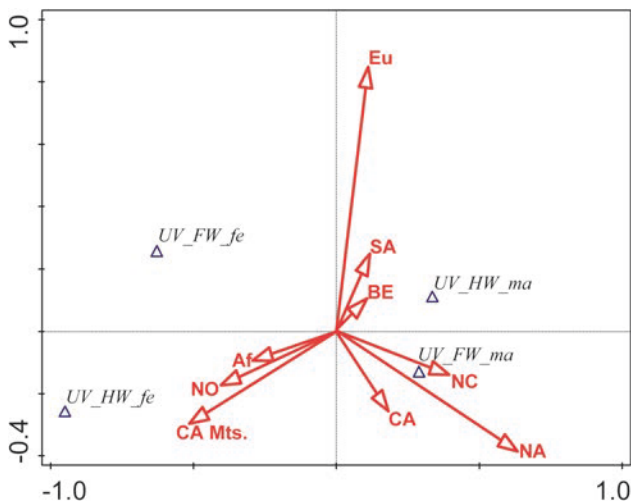
Fig. 2. The proportion of *Colias* taxa with a UV pattern within a particular region. UV = presence of the UV pattern in a taxon; FW/HW = forewing/hindwing.

is different in males, where a higher frequency of UV pattern was found in forest or arctic species. A higher frequency of UV pattern on hind wings was present in both sexes of ubiquitous species. Inclusion of distribution data in the habitat model as covariables did not improve the explanatory power of the model ( $F = 1.1, P = 0.129$  on the first axis;  $F = 1.4, P = 0.185$  on all axes).

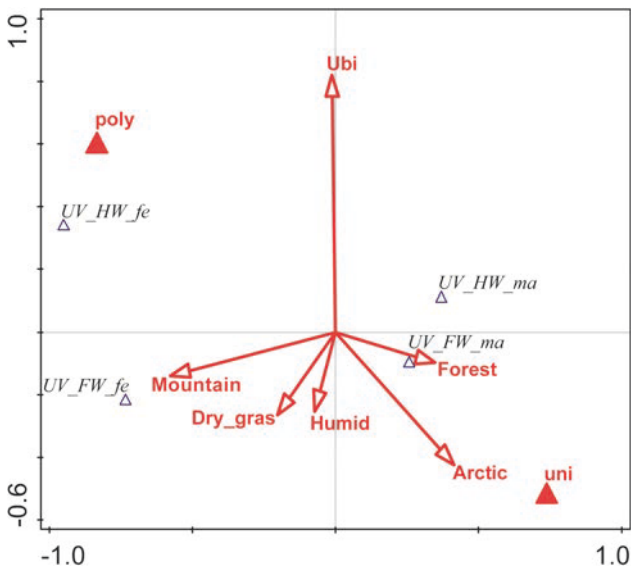
### Discussion

We have shown that over half of studied taxa (62%) of *Coliads* exhibit some UV reflectance pattern. UV patterning is present predominantly in males, but in some species also in females (60/25 taxa). This observation, namely, that UV patterns are found more frequently in males than in females, led many researchers to conclude that this patterning is the product of intra- and/or inter-sexual interactions (Silberglied and Taylor 1973, Rutowski 1985, Kemp et al.

2005). In species where males do display a UV pattern, females often also express this trait in either a full or partial form. The presence of UV pattern in both sexes remains poorly understood: of the proposed explanations, neither the antiharassment hypothesis nor the male mate choice hypothesis is broadly accepted (Kraaijeveld et al. 2007, Rutowski and Kemp 2017). A prior study had suggested that a specific UV-reflecting patch on female wings serves as a sex recognition signal (Rutowski and Kemp 2017). This could help explain the relatively high proportion of UV-reflecting females in our study. If this hypothesis is correct, a UV pattern functions as a signal that helps the males distinguish a female from a male (functional role), making it a crucial part of each individual taxon's system of visual communication. Properties of the pattern, such as its brightness or hue (as the main properties of a color), are then taxon-specific, and this role is further assisted by the fact that butterflies are capable of very fine color discrimination across both the UV and visible parts of the spectrum (Silberglied et al. 1978).



**Fig. 3.** A biplot diagram summarizing the effect of the region of distribution on the configuration of UV pattern. The first axis separates males (right) from females (left). The second axis separates UV patterns on FW and HW, opposite in males and females. *Eu* = Europe; *SA* = South America; *BE* = Boreal Eurasian; *NC* = northern China and Japan; *NA* = North America; *Ca* = Caucaso-Anatolian; *CA Mts.* = Central Asian mountains; *NO* = Neotropic; *Af* = Afrotropical; a blue triangle refers to centroid of treatments.



**Fig. 4.** Biplot diagram from the CCA with habitat variables, status of voltinism, and configurations of UV patches. The first axis separates males (right) and females (left) and also UV patterns on FW (bottom) from HW (top). *Ubi* = ubiquitous species; *Dry grass* = dry grasslands species; *poly* = polyvoltine species; *uni* = univoltine species. Other abbreviations as in Fig. 3.

On the other hand, behavioral experiments have revealed that females preferentially mate with males with a higher level of UV reflectance, i.e., with brighter patterns (Rutowski 1981, Kemp 2007a, Kemp 2007b). It has been suggested that there is strong selection for this trait. The rate of occurrence expressed among individuals that carry the same gene is therefore high in males, whereas in females it is either a result of genetic correlation between the sexes with no benefit to the females (Lande 1987, Andersson 1994), or just a rudimentary expression of the male UV pattern with no functional role (Swierk and Langkilde 2013). This seems supported by the fact that polymorphism with respect to UV patterning is common in

females, whereas in males, the pattern remains relatively uniform within a taxon (Brunton and Majerus 1995). Moreover, this study confirmed that with respect to UV patterns, there is a great deal of interspecies variation among the *Coliad* taxa. A previous study had suggested that UV patterns may serve as part of a reproductive isolation between two sympatric taxa (Silberglied and Taylor 1973, Silberglied et al. 1978), and although this hypothesis was based only on North American species of the *Coliad*s, our study suggest that it may apply to other *Coliad*s species as well, i.e., that it could be the case even with respect to other species with sympatric distribution. For this reason, it would be beneficial to compare the appearance of ultraviolet patterns in all other sympatric species and subspecies of *Coliad*s butterflies. These hypotheses would need to be confirmed by some robust in situ experiments. Several studies had worked with color manipulation models, but in many cases, this setup does not enable the testing of a specific hypothesis (Rutowski and Kemp 2017). Moreover, some *Coliad*s species cannot adapt to cage environments, which makes the implementation of such experiments rather challenging (Grieshuber 2014).

We have observed a relation between presence of a UV pattern in a species and its geographical distribution, but only a weak relation between UV patterning and habitat. Although the relation presence of UV patterning and geographic regions is quite pronounced, it is hard to interpret, and no clear trends emerge. A factor that contributes to this difficulty is that the configuration of UV pattern is most probably polyphyletic within the studied taxa, and therefore consistent with the hypothesis that UV pattern is subject to a relatively fast sexual selection (Mazokhin-Porshniakov 1957, Iwasa and Pomiankowski 1995, Brunton 1998, Kemp et al. 2005). One species in a closely related pair thus may possess a UV pattern, whereas in its sister species it has disappeared (e.g., *Coliad crocea/C. erate*) (Brunton 1998).

We must therefore conclude that in the *Coliad*s butterflies, UV patterning has no clear and obvious intra- or inter-specific role within the ecosystem. In this respect, the *Coliad*s are quite unlike, for instance, some moths (Zapletalová et al. 2016). Brunton et al. (1998) show that UV patterns may have strong phylogenetic signal, but a comprehensive phylogenetic study of the genus *Coliad*s is still not available, probably because the most frequently used mitochondrial marker, namely, the Cytochrome Oxidase Subunit I, displays a low or no differentiation between species of the genus (Kramp et al. 2016). Although previous studies have revealed that UV reflectance is associated with some large-scale variables, such as temperature or precipitation, these analyses tended to focus on just one species (Meyer-Rochow and Järvielto 1997, Pecháček et al. 2014, Stella et al. 2018). This was not the case in our study, since we targeted ecological properties relevant to 106 taxa of the *Coliad*s butterflies. Different species tend to have different life histories, which makes it difficult to associate UV reflectance in the *Coliad*s with some general ecological variables. It must be concluded that more comprehensive conceptual framework is still needed if UV pattern configuration in the *Coliad*s butterflies is to be explained. Such a framework would most likely significantly contribute to a more thorough understanding of the genetic and ecological background of UV patterns in the *Coliad*s butterflies.

Generally speaking, UV patterns play a crucial role in butterflies' life history. Although many studies focus on particular species, this study mapped UV patterns in most *Coliad*s species and subspecies, while taking into account both sexes and the entire geographical range of the taxa under consideration. The configuration of UV patterns, captured in the unique photographic data presented here, is related to the ecological context of *Coliad*s taxa.

## Supplementary Data

Supplementary data are available at *Environmental Entomology* online.

## Acknowledgments

This research was supported by the Charles University Grant project GAUK 964216. The work would be impossible without the support of the large collections of Blanca Huertas from the Natural History Museum in London, Sabine Gaal-Haszler from the Natural History Museum in Vienna, Petr Baňář from the Moravian Museum in Brno, and January Šumpich and Pavel Chvojka from the National Museum in Prague. Payam Zehzad for a help with checking of species identifications.

## Conflict of interest statement

The authors declare no conflict of interest.

## References Cited

- Abràmoff, M. D., P. J. Magalhães, and S. J. Ram. 2004. Image processing with ImageJ. *Biophoton Int.* 11: 36–42.
- Allyn, A. C., and J. C. Downey. 1977. Observations on male U-V reflectance and scale ultrastructure in *Phoebis* (Pieridae). *Allyn Mus. Entomol.* 42: 1–20.
- Andersson, M. B. 1994. *Sexual selection*. Princeton University Press, Princeton, USA.
- Arikawa, K., M. Wakakuwa, X. Qiu, M. Kurasawa, and D. G. Stavenga. 2005. Sexual dimorphism of short-wavelength photoreceptors in the small white butterfly, *Pieris rapae crucivora*. *J. Neurosci.* 25: 5935–5942.
- Briscoe, A. D., and L. Chittka. 2001. The evolution of color vision in insects. *Annu. Rev. Entomol.* 46: 471–510.
- Brunton, C. 1998. The evolution of ultraviolet patterns in European *Colias* butterflies (Lepidoptera, Pieridae): a phylogeny using mitochondrial DNA. *Heredity* 80: 611–616.
- Brunton, C., and M. N. Majerus. 1995. Ultraviolet colours in butterflies: intra- or inter-specific communication? *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 260: 199–204.
- Ferris, C. D. 1972. Ultraviolet photography as an adjunct to taxonomy. *Lepidopterists Soc. J.* 26: 210–215.
- Ferris, C. D. 1973. A revision of the *Colias alexandra* complex (Pieridae) aided by ultraviolet reflectance photography with designation of a new subspecies. *J. Lepidopterists' Soc.* 27: 57–73.
- Ghiradella, H., D. Aneshansley, T. Eisner, R. E. Silberglied, and H. E. Hinton. 1972. Ultraviolet reflection of a male butterfly: interference color caused by thin-layer elaboration of wing scales. *Science*. 178: 1214–1217.
- Grieshuber, J. 2014. *Guide to the butterflies of the palaearctic region. Pieridae part II. Subfamily Coliadinae. Omnes Artes, Tribe Coliadini. Milano.*
- Grieshuber, J., B. Worthy, and G. Lamas. 2012. The genus *Colias fabricius*, 1807: January Haugum's Annotated catalogue of the Old world *Colias* (Lepidoptera, Pieridae). Tshkolovets Publications, Pardubice, Czech Republic.
- Imafuku, M. 2008. Variation in UV light reflected from the wings of *Favonius* and *Quercusia* butterflies. *Entomol. Sci.* 11: 75–80.
- Iwasa, Y., and A. Pomiankowski. 1995. Continual change in mate preferences. *Nature*. 377: 420–422.
- Kemp, D. J. 2006. Heightened phenotypic variation and age-based fading of ultraviolet butterfly wing coloration. *Evol. Ecol. Res.* 8: 515–527.
- Kemp, D. J. 2007a. Female mating biases for bright ultraviolet iridescence in the butterfly *Eurema hecabe* (Pieridae). *Behav. Ecol.* 19: 1–8.
- Kemp, D. J. 2007b. Female butterflies prefer males bearing bright iridescent ornamentation. *Proc. Biol. Sci.* 274: 1043–1047.
- Kemp, D. J., and J. M. Macedonia. 2006. Structural ultraviolet ornamentation in the butterfly *Hypolimnas bolina* L. (Nymphalidae): visual, morphological and ecological properties. *Aust. J. Zool.* 54: 235–244.
- Kemp, D. J., and R. L. Rutowski. 2007. Condition dependence, quantitative genetics, and the potential signal content of iridescent ultraviolet butterfly coloration. *Evolution*. 61: 168–183.
- Kemp, D. J., and R. L. Rutowski. 2011. The role of coloration in mate choice and sexual interactions in butterflies. *Adv. Study Behav.* 43: 55–92.
- Kemp, D. J., R. L. Rutowski, and M. Mendoza. 2005. Colour pattern evolution in butterflies: a phylogenetic analysis of structural ultraviolet and melanin markings in North American sulphurs. *Evol. Ecol. Res.* 7: 133–141.
- Knüttel, H., and K. Fiedler. 2000. On the use of ultraviolet photography and ultraviolet wing patterns in butterfly morphology and taxonomy. *J. Lepidopterists' Soc.* 54: 137–144.
- Kramp, K., O. Cizek, P. M. Madeira, A. A. Ramos, M. Konvicka, R. Castilho, and T. Schmitt. 2016. Genetic implications of phylogeographical patterns in the conservation of the boreal wetland butterfly *Colias palaeno* (Pieridae). *Biol. J. Linn. Soc.* 119: 1068–1081.
- Kraaijeveld, K., F. J. L. Kraaijeveld-Smit, and J. Komdeur. 2007. The evolution of mutual ornamentation. *Anim. Behav.* 74: 657–677.
- Laiho, J., and G. Stahls. 2013. DNA barcodes identify Central Asian *Colias* butterflies (Lepidoptera, Pieridae). *Zookeys*. 365: 175–196.
- Lande, R. 1987. Genetic correlations between the sexes in the evolution of sexual dimorphism and mating preferences, pp. 83–94. *In* J. W. Bradbury and M. B. Andersson (eds.), *Sexual selection: testing the alternatives*. Wiley, Chichester, UK.
- Layberry, R. A., P. W. Hall, and J. D. Lafontaine. 1998. *The butterflies of Canada*. University of Toronto Press, Toronto, Canada.
- Lutz, F. E. 1924. Apparently non-selective characters and combinations of characters, including a study of ultraviolet in relation to the flower-visiting habits of insects. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 29: 181–283.
- Lutz, F. E. 1933. Experiments with “stingless bees” (*Trigona cressoni parastigma*) concerning their ability to distinguish ultraviolet patterns. *Am. Mus. Novit.* 641: 1–26.
- Lytyinen, A., L. Lindström, and J. Mappes. 2004. Ultraviolet reflection and predation risk in diurnal and nocturnal Lepidoptera. *Behav. Ecol.* 15: 982–987.
- Mazokhin-Porshniakov, G. 1957. Reflecting properties of butterfly wings and role of ultra-violet rays in the vision of insects. *Biophysics* 2: 352–362.
- Meyer-Rochow, V. B. 1991. Differences in ultraviolet wing patterns in the New Zealand lycaenid butterflies *Lycaena salustius*, *L. rauparaha*, and *L. feredayi* as a likely isolating mechanism. *J. R. Soc. N. Z.* 21: 169–177.
- Meyer-Rochow, V. B., and M. Järvillehto. 1997. Ultraviolet colours in *Pieris napi* from northern and southern Finland: arctic females are the brightest! *Naturwissenschaften* 84: 165–168.
- Morehouse, N. I., P. Vukusic, and R. Rutowski. 2007. Pterin pigment granules are responsible for both broadband light scattering and wavelength selective absorption in the wing scales of pierid butterflies. *Proc. Biol. Sci.* 274: 359–366.
- Nekrutenko, Y. P. 1965. ‘Gynandromorphic Effect’ and the optical nature of hidden wing-pattern in *Gonepteryx rhamni* L. (Lepidoptera, Pieridae). *Nature* 205: 417.
- Nekrutenko, Y. P. 1968. Phylogeny and geographical distribution of the genus *Gonepteryx* (Lepidoptera, Pieridae): an attempt of study in historical zoogeography. *Naukova dumka, Kiev.*
- Obara, Y., H. Koshitaka, and K. Arikawa. 2008. Better mate in the shade: enhancement of male mating behaviour in the cabbage butterfly, *Pieris rapae crucivora*, in a UV-rich environment. *J. Exp. Biol.* 211: 3698–3702.
- Obara, Y., G. Ozawa, and Y. Fukano. 2008. Geographic variation in ultraviolet reflectance of the wings of the female cabbage butterfly, *Pieris rapae*. *Zool. Sci.* 25: 1106–1110.
- Olofsson M, Vallin A, Jakobsson S, and Wiklund C. 2010. Marginal eyespots on butterfly wings deflect bird attacks under low light intensities with UV wavelengths. *PLoS ONE*. 5: e10798. doi:10.1371/journal.pone.0010798
- Osorio, D., and M. Vorobyev. 2008. A review of the evolution of animal colour vision and visual communication signals. *Vision Res.* 48: 2042–2051.
- Papke, R. S., D. J. Kemp, and R. L. Rutowski. 2007. Multimodal signalling: structural ultraviolet reflectance predicts male mating success better than pheromones in the butterfly *Colias eurytheme* L. (Pieridae). *Anim. Behav.* 73: 47–54.

- Pecháček, P., D. Stella, P. Keil, and K. Kleisner. 2014. Environmental effects on the shape variation of male ultraviolet patterns in the Brimstone butterfly (*Gonepteryx rhamni*, Pieridae, Lepidoptera). *Naturwissenschaften* 101: 1055–1063.
- Pena, L. E., and A. J. Ugarte. 1996. The butterflies of Chile – Las Mariposas de Chile. Editorial Universitaria, Chile.
- Pollock, D. D., W. B. Watt, V. K. Rashbrook, and E. V. Iyengar. 1998. Molecular phylogeny for *Colias* butterflies and their relatives (Lepidoptera: Pieridae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 91: 524–531.
- Rutowski, R. L. 1981. Sexual discrimination using visual cues in the checkered white butterfly (*Pieris protodice*). *Z. Tierpsychol.* 55: 325–334.
- Rutowski, R. L. 1985. Evidence for mate choice in a sulphur butterfly (*Colias eurytheme*). *Z. Tierpsychol.* 70: 103–114.
- Rutowski, R. L., and D. J. Kemp. 2017. Female iridescent colour ornamentation in a butterfly that displays mutual ornamentation: is it a sexual signal? *Anim. Behav.* 126: 301–307.
- Rutowski, R. L., J. M. Macedonia, N. Morehouse, and L. Taylor-Taft. 2005. Pterin pigments amplify iridescent ultraviolet signal in males of the orange sulphur butterfly, *Colias eurytheme*. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 272: 2329–2335.
- Rutowski, R. L., J. M. Macedonia, J. W. Merry, N. I. Morehouse, K. Yturralde, L. Taylor-Taft, D. Gaalema, D. J. Kemp, and R. S. Papke. 2007a. Iridescent ultraviolet signal in the orange sulphur butterfly (*Colias eurytheme*): spatial, temporal and spectral properties. *Biol. J. Linn. Soc.* 90: 349–364.
- Rutowski, R. L., J. M. Macedonia, D. J. Kemp, and L. Taylor-Taft. 2007b. Diversity in structural ultraviolet coloration among female sulphur butterflies (Coliadae, Pieridae). *Arthropod Struct. Dev.* 36: 280–290.
- Serra, G. V., N. C. Porta, S. Avalos, and V. Mazzuferi. 2013. Fixed-precision sequential sampling plans for estimating alfalfa caterpillar, *Colias lesbia*, egg density in alfalfa, *Medicago sativa*, fields in Córdoba, Argentina. *J. Insect Sci.* 13: 41.
- Silberglied, R. E. 1979. Communication in the ultraviolet. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 10: 373–398.
- Silberglied, R. E. 1984. Visual communication and sexual selection among butterflies, pp. 207–223. *In* R. I. Vane-Wright and P. R. Ackery (eds.), *The biology of butterflies*. Symposium of the Royal Entomological Society of London Number 11. Academic Press, London.
- Silberglied, R. E., and O. R. Taylor. 1973. Ultraviolet differences between the Sulphur Butterflies, *Colias eurytheme* and *C. philodice*, and a possible isolating mechanism. *Nature* 241: 406–408.
- Silberglied, R. E., J. Taylor, and R. Orley. 1978. Ultraviolet reflection and its behavioral role in the courtship of the sulfur butterflies *Colias eurytheme* and *C. philodice* (Lepidoptera, Pieridae). *Behav. Ecol. Sociobiol.* 3: 203–243.
- Šmilauer, P., and J. Lepš. 2014. *Multivariate analysis of ecological data using CANOCO 5*. Second Edition. Cambridge University Press, Cambridge, 374 pp.
- Stavenga, D. G., and K. Arikawa. 2006. Evolution of color and vision of butterflies. *Arthropod Struct. Dev.* 35: 307–318.
- Stella, D., P. Pecháček, V. B. Meyer-Rochow, and K. Kleisner. 2018. UV reflectance is associated with environmental conditions in Palaearctic *Pieris napi* (Lepidoptera: Pieridae). *Insect Sci.* 25: 508–518.
- Swierk, L., and T. Langkilde. 2013. Bearded ladies: females suffer fitness consequences when bearing male traits. *Biol. Lett.* 9: 1–4.
- Tabashnik, B. E. 1980. Population structure of pierid butterflies: III. Pest populations of *Colias philodice* eriphyle. *Oecologia* 47: 175–183.
- Tolman, T., and R. Lewington. 1997. *Collins field guide butterflies Britain and Europe*. Harper Collins, London.
- Tuzov, V., P. Bogdanov, A. Devyatkin, L. Kaabak, V. Korolev, V. Murzin, G. Samodurov, and E. Tarasov. 1997. *A guide to the butterflies of Russia and adjacent territories (Lepidoptera, Rhopalocera)*. Vol. 1: Hesperidae, Papilionidae, Pieridae, Satyridae. Pensoft: Sofia. p. 480.
- Verhulst, J. T. 2000. *Les Colias Du globe: Texte*. Antiquariat Geock & Evers, Keltorn, Germany.
- Wheat, C. W., and W. B. Watt. 2008. A mitochondrial-DNA-based phylogeny for some evolutionary-genetic model species of *Colias* butterflies (Lepidoptera, Pieridae). *Mol. Phylogenet. Evol.* 47: 893–902.
- Wijnen, B., H. L. Leertouwer, and D. G. Stavenga. 2007. Colors and pterin pigmentation of pierid butterfly wings. *J. Insect Physiol.* 53: 1206–1217.
- Wilts, B. D., P. Pirih, and D. G. Stavenga. 2011. Spectral reflectance properties of iridescent pierid butterfly wings. *J. Comp. Physiol. A. Neuroethol. Sens. Neural. Behav. Physiol.* 197: 693–702.
- Zapletalová, L., M. Zapletal, and M. Konvička. 2016. Habitat impact on ultraviolet reflectance in moths. *Environ. Entomol.* 45: 1300–1305.

V.

Pecháček P, Stella D, Kleisner K (2019) A morphometric analysis of environmental dependences between ultraviolet patches and wing venation patterns in *Gonepteryx* butterflies (Lepidoptera, Pieridae). *Evolutionary Ecology* 33:89–110.



# A morphometric analysis of environmental dependences between ultraviolet patches and wing venation patterns in *Gonepteryx* butterflies (Lepidoptera, Pieridae)

Pavel Pecháček<sup>1</sup> · David Stella<sup>1</sup> · Karel Kleisner<sup>1</sup>

Received: 28 September 2018 / Accepted: 9 January 2019 / Published online: 11 January 2019  
© Springer Nature Switzerland AG 2019

## Abstract

It has been suggested that structural ultraviolet (UV) patches on the wings of butterflies play a role in sexual selection. UV patches may be condition-dependent signals of mate quality. In the current study, we investigated associations between the morphological properties of two male wing patterns (one signalling and one non-signalling trait) and between these patterns and various environmental variables in seven species of the genus *Gonepteryx* (*G. rhamni*, *G. nepalensis*, *G. maxima*, *G. amintha*, *G. aspasia*, *G. nipponica* and *G. cleopatra*). We collected UV photographs of a total of 320 male specimens and analysed them using geometric morphometrics. Our results show that the shape of UV patches (a signalling trait) is more asymmetric than the wing venation (a non-signalling trait). In both examined traits, however, relationship between the environment and fluctuating asymmetry is significant only in a minority of species. Our results thus do not support the hypothesis that fluctuating asymmetry is a reliable indicator of an individual's quality, in other words, that UV patches are condition-dependent trait. Examination of correlations between the two investigated shapes and the environment yielded similar results, and while the shape of UV patterns tended to be more strongly associated with the environment than the venation patterns, the correlation reached a level of significance only in a minority of cases. Due to the ambiguity of our findings, we cannot corroborate the hypothesis that UV patches act as biological signals of male quality in *Gonepteryx* butterflies, which is the case in various other related butterfly species. Finally, we found that UV patches discriminate among various *Gonepteryx* species better than the venation patterns do, which indicates that UV patches play a role in species recognition. It also suggests that UV patterns could be a useful taxonomic trait.

**Keywords** *Gonepteryx* · Lepidoptera · Sexual selection · Geometric morphometrics · UV reflectance

---

✉ Pavel Pecháček  
pavel.pechacek@natur.cuni.cz

<sup>1</sup> Department of Philosophy and History of Science, Faculty of Science, Charles University, Viničná 7, 128 44 Prague, Czech Republic

## Introduction

Butterflies are among the most colourful animal taxa, which is also why they are the subject of many studies on animal colouration (Poulton 1890; Shawkey et al. 2009; Hiyama et al. 2012; Dalrymple et al. 2015). Butterflies often display conspicuous sexual dichromatism (Eguchi and Meyer-Rochow 1983; Allen et al. 2011; Oliver and Monteiro 2011) noticeable especially in the ultraviolet (UV) part of the electromagnetic spectrum. Sensitivity to UV light is widespread among various vertebrate and invertebrate taxa (Silberglied 1979; Tovée 1995; Losey et al. 1999; Briscoe and Chittka 2001; Hunt et al. 2001; Osorio and Vorobyev 2008; Fleishman et al. 2011; Painting et al. 2016) and butterflies are no exception (Bernard and Remington 1991; Stavenga and Arikawa 2006; Bybee et al. 2012; Chen et al. 2016). UV signals are involved in both intra- and intersexual communication (Kemp and Rutowski 2011) and often play a crucial role in identifying a potential mate of the same species (Silberglied and Taylor 1973; Obara et al. 2010). In some instances, UV patterns also have a protective or mimetic function (Remington 1973; Olofsson et al. 2010; Zapletalová et al. 2016).

It has been suggested for several species of the genus *Pieris* (Tuomaala et al. 2012) that ultraviolet patches are function as indicators of mate quality. Wing scales of these butterflies contain special pigments, usually from the pterin family, which are responsible for the scattering of light and selective absorption of specific wavelengths (Morehouse et al. 2007; Wijnen et al. 2007). Pterins are rich in nitrogen. As such, they are sensitive to the availability of nitrogen in the environment and consequently indicate the individual's ability to acquire nitrogen-rich nutrition during its larval stage (Morehouse and Rutowski 2010). An alternative way of producing colour is by optically active nanostructures on the wing surface which reflect the light of particular wavelengths (Stavenga et al. 2006; Kemp et al. 2012). This form of colour production, which often results in iridescent and highly limited-view UV reflection, is found in members of the Coliadinae subfamily (Ghiradella et al. 1972; Rutowski et al. 2007; Pirihi et al. 2011) as well as in other groups of diurnal butterflies (Kemp and Macedonia 2006; Imafuku 2008). It is frequently the case that UV colouration is achieved by a combination of pigmentary and structural mechanisms (Rutowski et al. 2005; Stavenga 2014). The production of structural UV colours may be costly to its bearer and pattern's properties, such as the size of such patches or levels of UV reflectance, may signal the bearer's quality (Kemp and Rutowski 2007; Kemp 2008b). Structural UV colours can provide information about an individual's age (Kemp 2006a; Kemp and Macedonia 2006), which may have various evolutionary-ecological consequences, for instance for the size of nutritious ejaculate provided by the male (Rutowski et al. 1987; Kemp and Rutowski 2011; Meslin et al. 2017). Due to the precision required of wing scale nanostructures if they are to produce constructive interference effectively (Mouchet and Vukusic 2018), structural colours are, during an individual's development, influenced by external stress factors more than the pigment-based colours are (Kemp and Rutowski 2007). Nutrition may also influence structural colouration through its effects on wing scale architecture (Kemp et al. 2006; Kemp 2008b).

One possible approach to studying the effect of the environment on UV ornament expression is by searching for covariation between the properties of these ornaments (shape, amount of reflected light) and selected geographical and environmental variables. Previous research had shown that if the degree of UV reflectance in a butterfly species depends on the presence of UV-absorptive pigments, higher-quality individuals—i.e. those capable of using the environmental resources more effectively or simply those that live in areas

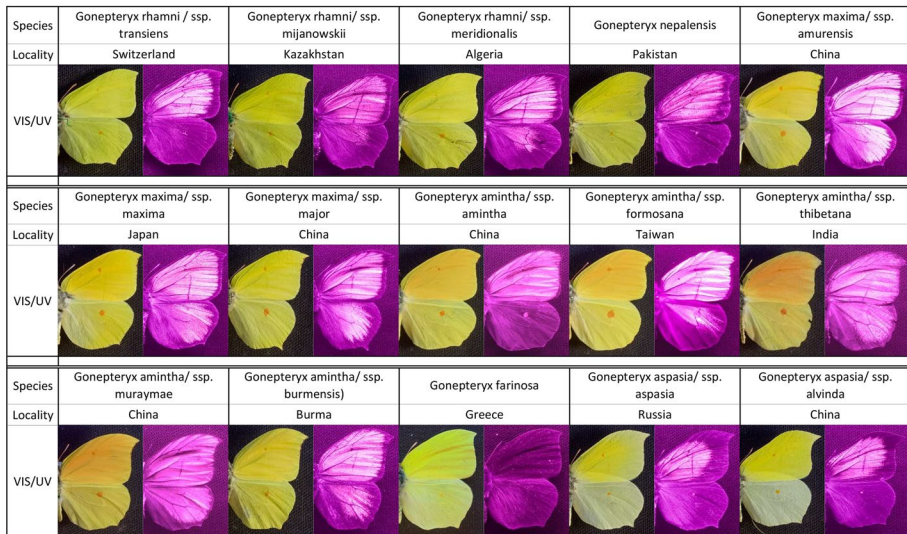


richer in nutrients—should have wings with a lower degree of UV reflectance because their wings contain more UV-absorptive pigments. For instance in green-veined whites (*Pieris napi*), individuals that inhabit harsher environments reflect more UV light than those from warmer areas, which are more suitable for breeding. Furthermore, the wings of males are less UV-reflective than the wings of females (Meyer-Rochow and Järvillehto 1997; Tuomaala et al. 2012; Stella et al. 2018b). This trend, however, seems to be reversed in species with structural UV colouration. In male common brimstones (*Gonepteryx rhamni*), the relative size of structural UV wing patches positively correlates with habitat temperature and humidity (Pecháček et al. 2014). Structurally produced male UV patches could indicate a range of mate-quality predictors including access to larval resources, developmental stability, and resistance to environmental perturbations (Kemp and Rutowski 2007; Kemp 2008b). These findings support the hypothesis that UV-reflective patches are condition-dependent and could serve as indicators of an individual's quality.

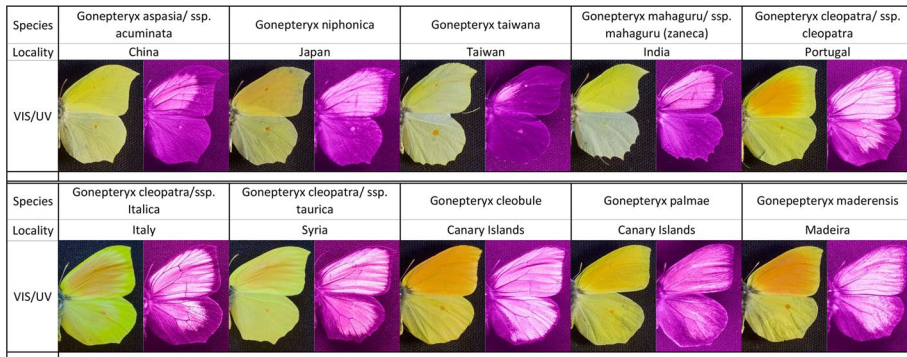
Fluctuating asymmetry (FA) is a widely used measure for studying phenotypic response to environmental stress in many animal taxa, including butterflies (Tsubaki and Matsumoto 1998; Windig and Nylin 1999; Gibbs and Breuker 2006; Breuker et al. 2010) and it has been suggested that it is an indicator of an individual's quality (Leamy and Klingenberg 2005). Fluctuating asymmetry takes the form of small, random deviations from bilateral symmetry, which arise as a consequence of imprecisions in the development of individual organisms (Palmer and Strobeck 2003; Klingenberg 2015). Earlier studies revealed that sexually selected signals of quality show a greater variation in fluctuating asymmetry than non-signalling traits (Møller and Pomiankowski 1993; Sheehan and Tibbetts 2011). This phenomenon has several possible explanations: first of all, increased fluctuating asymmetry in sexually selected traits could be due to the fact that the production of these signals is costly and stressful for the organism (Møller and Pomiankowski 1993) and/or secondly, these signals of quality are more influenced by environmental stress (Polak and Starmer 2005). Fluctuating asymmetry has been measured in studies of a wide variety of organisms, from plants to humans (Graham et al. 2010; Beasley et al. 2013; Graham and Özener 2016; Kleisner et al. 2017). The link between fluctuating asymmetry and UV reflectance has not yet been studied in butterflies, but there is some evidence from birds. For example, Galván (2011) found a negative correlation between the ultraviolet-blue reflectance of the crown patch and fluctuating asymmetry of feathers in blue tits (*Cyanistes caeruleus*).

Iwasa and Pomiankowski (1995) have shown that Fisherian runaway process of sexual selection is unstable and leads to a continuous change of sexual traits, which is also why it can be supposed that secondary sexual characteristics ought to be more variable than non-sexual traits. Moreover, due to the need for effective differentiation between potential mating partners belonging to one's own species and individuals of a related species, sexually selected traits in closely related species should have a different appearance. *Gonepteryx* butterflies look very similar in the visible spectrum but when observed in the UV spectrum, differences between the various species are quite striking (see Fig. 1). One can thus assume that UV patterns are subjected to sexual selection for better mate recognition and this mechanism is responsible for the phenotypic differentiation of particular species within the UV spectrum. A similar situation can be found among the closely related *Colias* species, where sexually selected traits can have a very different appearance in allied species, whereas nonsexual traits are much more similar (Brunton 1998; Kemp et al. 2005). It can therefore be supposed that UV-reflective characteristics should be relatively stable within a species but quite distinct among closely related species, especially among species that live sympatrically. In such cases, UV-reflective patches may function as a mechanism of reproductive isolation.

(a)



(b)



**Fig. 1** Dorsal wing surfaces of *Gonepteryx* males in visible (left images) and ultraviolet (right images) light. Pictures are provided for all species of this genus, with the exception of *G. chinensis*, *G. chitralensis*, and *G. eversii*, which should, however, strongly resemble the *G. cleobule* in both parts of the spectrum. The subspecies included are not meant to be representative of the entire *Gonepteryx* genus. Their function is merely to demonstrate the diversity of UV-reflecting patches on fore- and hindwings of this genus

This hypothesis was tested on representatives of the butterfly subfamily Coliadinae, specifically on the *Colias* and *Gonepteryx* genera (Brunton and Majerus 1995). The study revealed a highly significant intraspecific variability in the levels of UV reflectance intensity. Brunton and Majerus (1995) assumed that the UV patterns of coliadinid butterflies play a role on an intraspecific level by mediating sex recognition. Nevertheless, spectrophotometric measurements are necessarily limited because they do not deliver any information about possible variations in the shape of UV patches. The presence or absence, shape and size of UV patches may play an equally important role during courtship (Rutowski 1977; Silberglied and Taylor 1978; Kemp 2007, 2008a). It has also been shown that UV signals prevent interspecific crossbreeding in *Colias* butterflies

(Silberglied and Taylor 1973, 1978), and similar phenomena have been reported in several lycaenid butterflies (Meyer-Rochow 1991; Lukhtanov et al. 2005; Imafuku 2008). In some coliadinid butterflies, even females have UV patches on their wing surfaces, but their function in courtship is unclear (Rutowski and Kemp 2017; Stella et al. 2018a).

In this study, we focus on investigating possible associations between the morphological properties of male UV patches and several ecological (both environmental and geographical) variables in seven species of genus *Gonepteryx* butterflies. We expect UV patches, which are hypothetically signals of quality, to be condition-dependent, i.e. more influenced by environmental conditions than non-signalling traits (Badyaev 2004; Cotton et al. 2004). Specifically, we hypothesise that (1) UV patches, which are a signalling trait, should show higher levels of fluctuating asymmetry than wing venation, which is a non-signalling trait; (2) UV patches of butterflies living in more hostile environments should show higher levels of fluctuating asymmetry; (3) variation in the shape of UV patches should be more influenced by environmental conditions (such as altitude, mean annual temperature, and mean annual precipitation) than the shape variation of wing venation. And finally, (4) we compare interspecific morphological differences in two selected configurations of wing shapes to examine UV patch stability within a taxon and their possible role in mate recognition. If a UV patch is indeed a sexually selected trait, it should differentiate between the taxa better than a trait that is not subject to sexual selection, in our case a wing venation pattern.

## Materials and methods

### Genus *Gonepteryx*

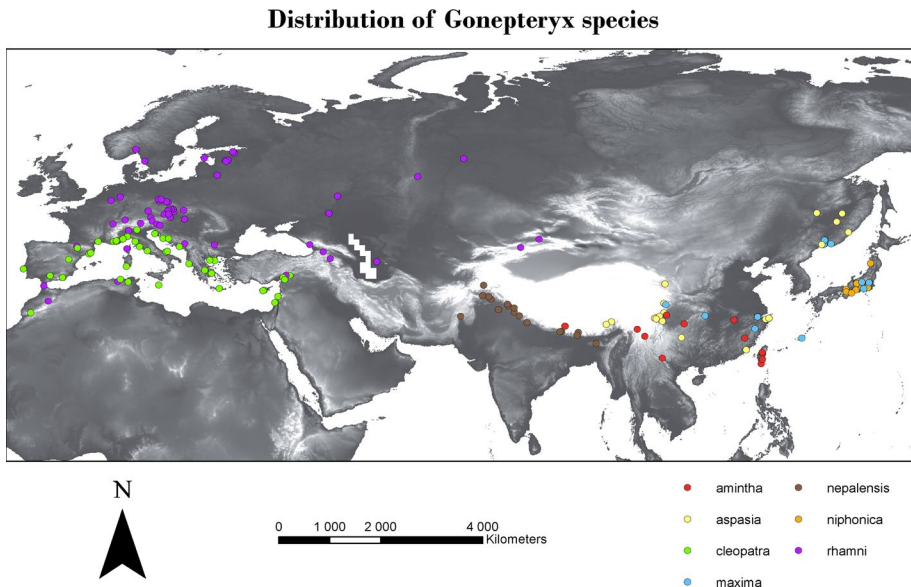
Species belonging to the genus *Gonepteryx*, commonly known as brimstones, are found throughout almost the entire Palaearctic, from the British Isles to Japan. In the past, this genus has undergone two major revisions (Nekrutenko 1968; Kudrna 1975). While Nekrutenko (1968) placed emphasis especially on the ultraviolet patches of particular species and subspecies as a diagnostic trait, Kudrna (1975) focused on analysing some traditional taxonomic characters such as the morphology of male genitalia. Bozano et al. (2016) have recently proposed the first molecular-based phylogeny of the genus, which changed the taxonomic status of some traditional subspecies to a species level. There are now 15 recognised species within the genus *Gonepteryx* (*G. rhamnii*, *G. nepalensis*, *G. chinensis*, *G. maxima*, *G. amintha*, *G. farinosa*, *G. chitralensis*, *G. nipponica*, *G. aspasia*, *G. mahaguru*, *G. taiwana*, *G. cleopatra*, *G. maderensis*, *G. palmae*, and *G. cleobule*) and over 30 subspecies, but the taxonomic status of some brimstones remains unclear (Kudrna 1975; Bozano et al. 2016). A vast majority of *Gonepteryx* males have iridescent ultraviolet patches on the dorsal surfaces of the wings, especially on the forewings. The presence and size of UV patches does, however, vary among *Gonepteryx* species and for instance some species and subspecies have UV patches on their hindwings as well (Fig. 1). In females, UV patches are mostly absent, the only exception being the females of *G. cleobule* from the Canary Islands, which have UV patches on their forewings, albeit much smaller than those present in conspecific males. UV patches of *Gonepteryx* butterflies have also been viewed as a possible diagnostic trait of a taxonomic value (Mazokhin-Porshnyakov 1957; Nekrutenko 1964, 1968, 1972; Matsuno 1988; Brunton and Majerus 1995; Brunton et al. 1996; Pecháček et al. 2014; Bozano et al. 2016).

## Specimens

We photographed of 522 males of all *Gonepteryx* species. Photographs of the specimens were taken in the entomological collections of the Natural History Museum in London (Great Britain), Natural History Museum in Vienna (Austria), Natural History Museum of the University of Tartu (Estonia), Moravian Museum in Brno, and the National Museum in Prague (both Czech Republic). We recorded the geographic coordinates where each specimen was captured (Fig. 2). All damaged butterflies were removed from the dataset to avoid inaccurate application of shape variables (landmarks and semi-landmarks). In the next step, we discarded specimens with missing, misspelled, or untraceable localities, which is a common problem with older museum specimens. For morphometric analysis, we avoided using species with less than 15 specimens or species with UV reflecting patches which are either too small or missing (*G. taiwana* and *G. farinosa*). After removing unsuitable specimens, our dataset included 320 individual male specimens of seven species (*G. rhamnii*—75 observations, *G. nepalensis*—26, *G. maxima*—18, *G. amintha*—64, *G. aspasia*—49, *G. nipponica*—16 and *G. cleopatra*—72).

## Photographing in UV wavelength range

We used a FujiFilm IS Pro digital camera suitable for UV photography thanks to its broad sensitivity spectrum, which spans from 330 to 900 nm. The camera was equipped with an uncoated UV-transmitting lens (Helios 44-2 58 mm f/2 lens). We used photographic filters B+W 403 and B+W BG 53. The black filter B+V 403 blocks the visible spectrum (400–700 nm), while the B+W BG 38 filter blocks the IR light ( $\lambda > 700$  nm). As a result, only UV light ( $\lambda < 400$  nm) is transmitted through the lens. To illuminate the photographed



**Fig. 2** Distribution of specimens of seven *Gonepteryx* species from the Palearctic region used in the shape analysis

objects, we used a UVP MRL-58 multiple-Ray-Lamp (8-watt, 230 V-50 Hz, 0.16A) equipped with a mercury fluorescent lamp 8w F8T5 long-wave 365 nm. All objects were illuminated *at a 45 degree angle* and photographed in a standardised position, in this case dorsal view which is most appropriate way to photograph iridescent UV patches, at least in the *Gonepteryx* genus (Pirih et al. 2011; Pecháček et al. 2014). For all specimens, we used the following setting of the FujiFilm IS Pro camera: ISO 400, shutter time 15', aperture of 3.5. All images were standardised using 18% grey card, Kodak colour separation guide, and a 15 cm length scale.

## Environmental and geographical variables

We used longitude and latitude obtained from the specimen labels as potential geographical correlates of UV ornamentation. Then we used these coordinates to assign (in ArcGIS 10.0; ESRI Inc.) to each specimen seven environmental variables: altitude, mean annual temperature, mean annual precipitation, isothermality, temperature seasonality, precipitation seasonality, and temperature annual range (Hijmans et al. 2005). These variables were chosen because it has been demonstrated that they have an impact on insect development, size, and colouration (Dixon et al. 2009; Fischer and Karl 2010; Chown and Gaston 2010; Pecháček et al. 2014; Stella et al. 2018b). All variables were resolved at 30 arcsec (approximately 1 km at the equator).

To avoid co-linearity between environmental and geographical variables, we performed a Principal Components Analysis [PCA, centred, standardised; package 'stats' in R software, version 3.2.3 (R Development Core Team R 2015)] on all climatic and geographic variables and used the first principal component (PC1) axe, which explained 40.92% of all environmental variability, for further analyses. For relative loadings of geographic and environmental variables for first principal component, see Table 1.

**Table 1** Relative loadings of nine geographic and environmental variables for the first (PC1) principal component and the percent of variability explained by PC1

	All	<i>rharni</i>	<i>nepalensis</i>	<i>maxima</i>	<i>amintha</i>	<i>aspasia</i>	<i>niphonica</i>	<i>cleopatra</i>
Latitude	0.448	-0.294	0.422	-0.428	0.382	-0.408	-0.273	0.476
Longitude	-0.166	-0.383	-0.359	-0.237	-0.377	-0.428	-0.100	-0.344
Altitude	-0.255	0.176	-0.058	0.196	0.309	0.356	-0.461	-0.310
Isothermality	-0.409	0.394	-0.321	0.307	-0.180	0.384	0.105	-0.133
Precipitation annual mean	-0.290	0.335	-0.382	0.334	-0.409	0.024	-0.031	0.247
Precipitation seasonality	-0.310	-0.090	-0.290	-0.221	0.143	0.113	-0.091	-0.427
Temperature annual mean	-0.242	0.193	0.011	0.317	-0.376	0.115	0.508	-0.134
Temperature annual range	0.356	-0.426	0.410	-0.430	0.394	-0.398	-0.424	-0.387
Temperature seasonality	0.416	-0.491	0.433	-0.427	0.314	-0.437	-0.496	-0.362
Var. explained by PC1 (%)	40.92	41.99	55.03	57.1	57.43	54.55	38.98	35.46

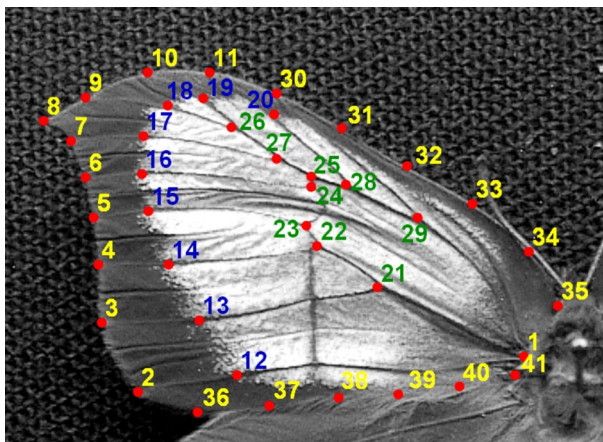
## Landmark definitions and Procrustes analysis

Ultraviolet digital photographs of the left and right forewing of each of the 320 male specimens of the *Gonepteryx* genus were analysed using geometric morphometrics. On each forewing, we placed 41 landmarks, including 12 semi-landmarks (see Fig. 3), using tps-Dig2 software ver. 2.17 (Rohlf 2013a). Landmarks are homologous points which can be placed on the forewing of each specimen in the set, whereas semi-landmarks denote the curves and outlines of the forewing where fixed landmarks cannot be defined. We defined two spatial regions on the wing: the first landmark configuration is labelled ‘Venation’ and defined by the outline of the wing (1–11, 30–41) and vein bifurcation points (21–29). The second landmark configuration, which we call ‘UV patch’, was in this case defined as the outline of the wing supplemented by the shape of the ultraviolet patch, i.e. the UV-reflective part of the wing (12–20). Each specimen was landmarked twice (by the same person) to estimate measurement errors stemming from random inaccuracy of manual landmark application.

All configurations of landmarks and semi-landmarks were superimposed by a generalised Procrustes analysis (GPA) performed in tpsRelw ver. 1.53 (Rohlf 2013b). This procedure standardises the size of the objects and optimises their rotation and translation so that distances between the corresponding landmarks are minimised.

## Fluctuating asymmetry (FA)

Fluctuating asymmetry was computed by Procrustes ANOVA implemented in MorphoJ, version 1.05f (Klingenberg 2011). Measurement of fluctuating asymmetry using geometric morphometrics provides a more sensitive and comprehensive approach than either linear or meristic methods (Beasley et al. 2013; Klingenberg 2015). Shape coordinates on the left



**Fig. 3** Locations of landmarks on the left forewing. Points 1–31 represent homologous anatomical landmarks found in all analysed subjects. Points 30–41 represent semi-landmarks which denote curves. Yellow numbers mark the shape of the wing, blue numbers show the shape of the UV patch, and green numbers indicate bifurcation of the veins. Landmark 1 is placed at the wing base (the connection of anal and cubital vein), landmark 8 on the wing apex. Landmarks 2–20 are located at vein endings at the edge of the wing and the edge of the UV-reflecting patch. Landmarks 21–29 represent the bifurcation points of the veins

**Table 2** Procrustes ANOVA for *UV patch* (defined by the outline of the wing and UV patch shape) [landmarks 1–11, 30–41 + 12–20; see Fig. 3]

Effect	SS	MS	df	F	<i>p</i> value
Individual	10.13149943	0.0005293364	19,140	30.52	<.0001
Side	0.21996082	0.0036660137	60	211.35	<.0001
Ind * side	0.3319895	0.0000173453	19,140	2.64	<.0001
Error 1	0.25250793	0.0000065757	38,400		

Columns indicate procrustes sums of squares (SS), procrustes mean squares (MS), degrees of freedom (df), Goodall's F statistic (F), and the associated *p* value. The effect of interaction between individuals and sides represents a fluctuating asymmetry

**Table 3** Procrustes ANOVA for *Venation* (shape pattern defined by the outline of the wing and vein bifurcation points) [lm 1–11, 30–41 + 21–29]

Effect	SS	MS	df	F	<i>p</i> value
Individual	3.35482045	0.000175278	19140	12.27	<.0001
Side	0.30864103	0.0051440172	60	359.98	<.0001
Ind * side	0.27350254	0.0000142896	19,140	2.65	<.0001
Error 1	0.20708975	0.000005393	38,400		

and the right wing (wing on one side was reflected to its mirror image along the axis of symmetry in order to align the corresponding landmarks on both sides) were then used as independent variables (Klingenberg and McIntyre 1998; Mardia 2005).

In the ANOVA design, the main effect of 'individuals' is a variation among individuals corrected for any effect of asymmetry, while the main effect of sides corresponds to the average difference between the left and right side of the wing (directional symmetry). Fluctuating asymmetry was quantified as interaction between the main effects of 'individuals' and 'sides'. Measurement error was computed from variations between replicate measurements (Klingenberg et al. 2002). In the current study, Procrustes ANOVA revealed a significant effect of directional (sides) and fluctuating asymmetry (interaction of sides × individuals) for the wings of *Gonepteryx* individuals. These results are displayed in Tables 2 and 3. Values of fluctuating asymmetry, where higher values indicate higher wing fluctuating asymmetry, were then used for a further analysis.

### Correlations between environmental and geographical variables, fluctuating asymmetry, and shape of the signalling and non-signalling trait

To test whether the levels of fluctuating asymmetry of the signalling trait (*UV patch*) and the non-signalling trait (*Venation*) statistically differ, we performed the Wilcoxon Rank Sum Test (in R 'stats' package) for all 320 specimens. We used this nonparametric test because the scores of fluctuating asymmetry were not normally distributed. To quantify a correlation between fluctuating asymmetry and the environment represented by the PC1, we performed Linear Mixed-Effects Models [function 'lmer' within R package 'lme4' (Bates et al. 2015)]. Centroid size (CS) of the wing was added to the model to control for the trait size effect on fluctuating asymmetry.

To estimate the relationship between wing morphology, represented by the left forewing, and environmental (and geographic) variables, we used Phylogenetic regression

for Procrustes shape variables with permutation procedures (function ‘procD.pgls’) implemented in the ‘geomorph’ package in R (Adams and Otárola-Castillo 2013). To control for shape variation due to allometry, we added wing size (computed as the centroid size for each landmark configuration) as a covariate in the model. To control for variation due to the presence of multiple species in the dataset, we used a phylogenetic tree of genus *Gonepteryx* based on Bozano et al. (2016) and our own unpublished data. To analyze all species separately, we used Procrustes ANOVA with permutation procedures (function ‘procD.lm’ within R package ‘geomorph’). All  $p$  values were based on 9999 permutations. We generated 1000 bootstrap replicates of estimated R-squared values in the case of a model with *UV shape* and *Venation*, respectively, as a response variable. Subsequently, we evaluated the overlap of corresponding confidence intervals of estimated R-squared values with a two-tailed  $t$  test, which corresponded to the significance test of difference between the observed R-squared values for the explanatory variables of *UV patch* and *Venation*.

### Canonical variate analysis

We used a canonical variate analysis (CVA) to compare two previously defined shapes (*Venation* and *UV patch*) in the seven selected species. We performed a regression of shape on size and the residuals were used to carry out the CVA in order to control for the trait size effect (Klingenberg 2016). To evaluate the effect of UV ornaments, we compared the results of CVA computed using the two different sets of morphometric variables, namely *UV patch* and *Venation*. The analysis was performed in MorphoJ, version 1.05f (Klingenberg 2011).

## Results

### Fluctuating asymmetry

Wilcoxon Rank Sum Test was used to compare the values of fluctuating asymmetry in the two sets of shape measurements (*UV patch* and *Venation*). These two measurements were significantly different ( $N=320$ ,  $W=61,586$ ,  $p<0.001$ ). The shape of the wing area with UV patterns turned out to be more asymmetric (FA mean=0.031) than the shape defined by the wing margin and venation (FA mean=0.028).

Further, we used all 320 males to test the relationship between the fluctuating asymmetry of *UV patch/Venation* and the environment (PC1). We found a significant relationship between size (represented by the centroid size of the left forewing) and both *Venation* and *UV patch* (*UV patch*:  $\beta = -0.119$ ,  $SE = 0.047$ ,  $t = -2.503$ ,  $p = 0.013$ ; *Venation*:  $\beta = -0.131$ ,  $SE = 0.045$ ,  $t = -2.905$ ,  $p = 0.004$ ). The relationship between the environment and shapes (FA) was significant for the *UV patch*, whereas for *Venation* it approached significance (*UV patch*:  $\beta = 0.031$ ,  $SE = 0.012$ ,  $t = 2.595$ ,  $p = 0.011$ ; *Venation*:  $\beta = 0.022$ ,  $SE = 0.012$ ,  $t = 1.862$ ,  $p = 0.065$ ). We analysed all species separately in the same manner and the effects of the environment on fluctuating asymmetry were significant only in a minority of cases, in particular in *G. maxima* for both shapes and in *G. nepalensis* and *G. nipponica* for *Venation* only (see Table 4).



**Table 4** Fluctuating asymmetry (FA)

Species	PC1— <i>UV patch</i>				PC1— <i>Venation</i>			
	$\beta$	<i>SE</i>	t	<i>p</i>	$\beta$	<i>SE</i>	t	<i>p</i>
All species	0.031	0.012	2.595	0.011*	0.022	0.012	1.862	0.065
<i>rhamnii</i>	−0.020	0.018	−1.082	0.283	−0.005	0.015	−0.300	0.765
<i>nepalensis</i>	0.028	0.024	1.197	0.244	0.058	0.028	2.082	0.049*
<i>maxima</i>	−0.161	0.055	−2.918	0.011*	−0.117	0.051	−2.291	0.046*
<i>amintha</i>	0.003	0.024	0.107	0.917	−0.004	0.023	−0.195	0.849
<i>aspasia</i>	−0.015	0.015	−0.970	0.337	−0.026	0.016	−1.672	0.122
<i>niphonica</i>	−0.033	0.035	−0.953	0.358	−0.087	0.031	−2.794	0.015*
<i>cleopatra</i>	−0.001	0.020	−0.076	0.940	0.002	0.018	0.130	0.897

This table demonstrates relationships between the FA scores of the two measured traits, namely *UV patch* (the outline of the wing and shape of the UV patch) [landmarks 1–11, 30–41 + 12–20; see Fig. 3] and *Venation* (the outline of the wing and vein bifurcation points) [lm 1–11, 30–41 + 21–29], and the environment (represented by PC1). The species were first analysed together (controlled for species identity) and then separately. Controls for trait size effect on fluctuating asymmetry were performed in all cases

\* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$ ; \*\*\* $p < 0.001$

## Relationship between the shape and the environment

Using a dataset of all 320 males, we investigated the relationship between the two defined shapes (*Venation* and *UV patch*) and environment. Environment was represented by the first principal axis (PC1). The environment (PC1) significantly influenced the shape of the *UV patch* ( $F = 33.852$ ,  $p < 0.001$ ,  $R^2 = 0.082$ ). Statistically significant was also the environment's effect on the wing size ( $F = 64.306$ ,  $p < 0.001$ ,  $R^2 = 0.155$ ). Relationships between *Venation* and PC1, and size: PC1 ( $F = 7.458$ ,  $p = 0.022$ ,  $R^2 = 0.02$ ), size ( $F = 46.058$ ,  $p \leq 0.001$ ,  $R^2 = 0.124$ ).

Further, we ran a separate analysis to test for the effect of the environment on shape for all species separately (Table 5). The effect of the environment on both *Venation* and *UV patch* was significant in *G. amintha* and *G. cleopatra*, whereby variation explained by the environment was significantly higher in the *UV patch* than in *Venation*. *Gonepteryx rhamnii* and *G. aspasia* also displayed a non-random relationship between both shapes and the environment but the difference between *Venation* and *UV patch* with respect to variation explained by the environment was not significant. In general, the explained variance was higher for the *UV patch* in all cases, with the most distinct effect found in *G. aspasia* (see Table 5 for a comparison of environmental effects in both *Venation* and *UV patch*).

## Shape differences between species

We found that *UV patch* and *Venation* shape patterns in the seven *Gonepteryx* species were significantly different. Procrustes distances represent the value of shape differentiation between the compared groups (species), whereby—as shown in the Table 6 where higher values indicate a greater morphological distance between species—*UV patch* is a better discriminating character than *Venation* in a vast majority of cases (with the exception of

**Table 5** Relationship between the shape of two measured traits (*UV patch/Venation*) and the environment represented by the first principal axis (PC1) (controlled for size)

Species	PC1— <i>UV patch</i>			PC1— <i>Venation</i>			R <sup>2</sup> comp.
	F	<i>p</i>	R <sup>2</sup>	F	<i>p</i>	R <sup>2</sup>	<i>p</i>
All species	33.852	<0.001***	0.082	7.458	0.022*	0.020	<0.001***
<i>rhamni</i>	2.647	0.036*	0.032	1.928	0.036*	0.023	0.265
<i>nepalensis</i>	1.115	0.320	0.045	0.697	0.841	0.028	0.039*
<i>maxima</i>	0.716	0.669	0.041	0.627	0.796	0.035	0.478
<i>amintha</i>	6.993	<0.001***	0.099	4.701	<0.001***	0.067	<0.001***
<i>aspasia</i>	21.555	<0.001***	0.281	3.418	<0.001***	0.061	0.341
<i>niphonica</i>	1.814	0.115	0.101	0.835	0.639	0.055	<0.001***
<i>cleopatra</i>	2.101	0.027*	0.029	1.974	0.023*	0.027	0.001**

R<sup>2</sup> comp., the significance of statistical comparison between the  $R_{UV\ patch}^2$  and  $R_{Venation}^2$

\**p* < 0.05; \*\**p* < 0.01; \*\*\**p* < 0.001

*niphonica/nepalensis* and *cleopatra/maxima*). This finding suggests a strong taxon stability of UV patches. Figure 4a, b show the scatter plots of PC1 and PC2 for the two defined shapes for all 320 males. Specimens are more densely clustered within species along the first PC axis and differences between the species are more prominent. It is evident that *UV patch* discriminates between the species better than *Venation* does.

## Discussion

We found that the shape of the *UV patch*, defined by the outline of the wing and by the margins of the ultraviolet ornament, is more asymmetric than the shape marked as *Venation*, defined by the outline of the wing and vein bifurcation points. This result indicates that the production of sexually selected UV patches may be costlier to the butterfly than the development of a non-signalling trait (Møller and Pomiankowski 1993). On the other hand, we revealed a statistically significant relationship between the environmental variables and fluctuating asymmetry only in a minority of observations (both in all species together and in *G. maxima* for *UV patch* and *G. nepalensis*, *G. maxima*, and *G. niphonica* in the case of *Venation*), and even in those cases, no distinct trend emerged. We therefore conclude that our results do not corroborate the hypothesis that fluctuating asymmetry is a reliable indicator of an individual's quality or a general indicator of environmental stress (Bjorksten and Pomiankowski 2000; Bjorksten et al. 2000; Lens et al. 2002; Talloen et al. 2004).

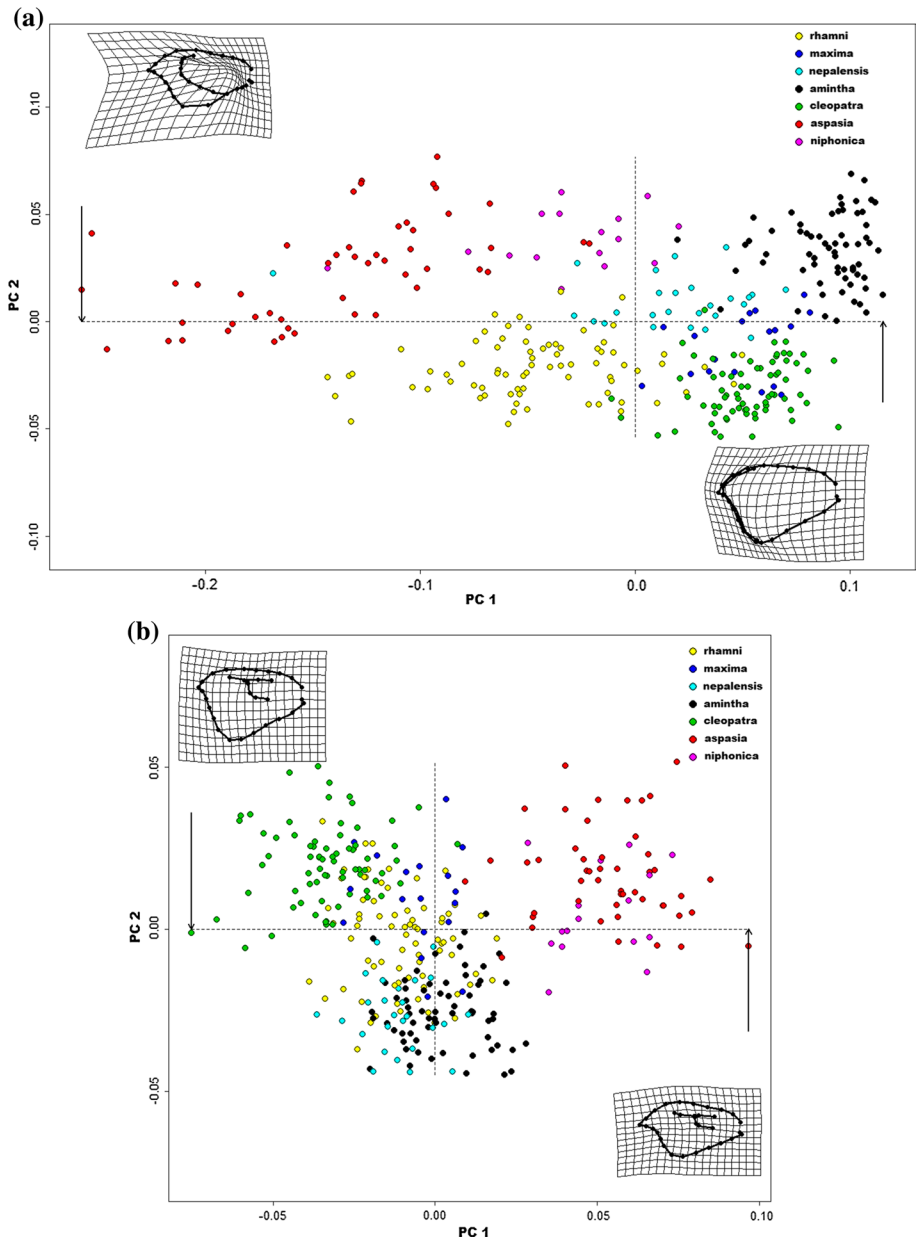
Furthermore, we showed that overall shape variation (for all 320 specimens) of UV patches is dependent on environmental conditions. This relationship is stronger than that between the environment and wing venation. UV patches thus seem to be more condition-dependent, i.e. more influenced by the environment, than the non-signalling trait (*Venation*).

When the species were analysed separately, the amount of variance in the shape of the *UV patch* explained by environmental factors was again higher than in the case of *Venation*, and this was especially apparent in *G. aspasia*. This trend was not, however, significant in all of the studied species. In comparison to our previous study of *G. rhamni* (Pecháček et al. 2014), results of our current work revealed a significant but not

**Table 6** Procrustes distances between groups for the two defined shape patterns: *UV patch* and *Venation* (higher values indicate a greater morphological distance)

	<i>rhamni</i>		<i>nepalensis</i>		<i>maxima</i>		<i>amintha</i>		<i>aspasia</i>		<i>niphonica</i>	
	<i>UV patch</i>	<i>Venation</i>	<i>UV patch</i>	<i>Venation</i>	<i>UV patch</i>	<i>Venation</i>	<i>UV patch</i>	<i>Venation</i>	<i>UV patch</i>	<i>Venation</i>	<i>UV patch</i>	<i>Venation</i>
<i>nepalensis</i>	0.0686 (0.0341)	0.0345										
<i>maxima</i>	0.0924 (0.0582)	0.0342	0.059 (0.0157)	0.0433								
<i>amintha</i>	0.1353 (0.0908)	0.0445	0.0765 (0.049)	0.0275	0.0626 (0.0143)	0.0483						
<i>aspasia</i>	0.1018 (0.0321)	0.0697	0.1493 (0.0714)	0.0779	0.1786 (0.1126)	0.066	0.2091 (0.1424)	0.0667				
<i>niphonica</i>	0.0666 (0.0004)	0.0662	0.0714 (-0.0001)	0.0715	0.0986 (0.0312)	0.0674	0.1166 (0.0552)	0.0614	0.0977 (0.0728)	0.0249		
<i>cleopattra</i>	0.0967 (0.0562)	0.0405	0.0688 (0.0171)	0.0517	0.0399 (-0.0043)	0.0442	0.0728 (0.0139)	0.0589	0.1845 (0.0968)	0.0877	0.107 (0.0204)	0.0866

The number in parentheses represents a difference between *UV patch* Procrustes distances and *Venation* Procrustes distances. A positive number means the Procrustes distance between the *UV patches* of two species is greater than the distance between the same species measured by the *venation* pattern. Positive numbers in parentheses thus indicate that *UV patch* discriminates between two species better than *Venation* does. The higher number, the better discrimination  
*p* value was <0.001 for all observations



**Fig. 4** The plots show shape differences between the seven analysed species along the first two principal component axes (PC1 and PC2) according to the UV patches (a) and the venation pattern (b)

strong condition dependency of UV patches in this species. This difference in results might arise from a decrease in the range of variation within specimens of *G. rhamni* caused by a new taxonomy of the genus *Gonepteryx*, according to which *G. nepalensis* is a separate species (Bozano et al. 2016). Formerly, *G. nepalensis* was regarded as a

subspecies of *G. rhamni* and it was as such that it was included in the abovementioned study of Pecháček et al. (2014).

Canonical variate analysis revealed that *UV patch* discriminates among species better than *Venation* does. This outcome supports the hypothesis that UV signals, being a possible secondary sexual characteristic, are more variable than non-sexual traits even in closely related species (Iwasa and Pomiankowski 1995). In the context of UV colouration, this hypothesis was investigated—with similar results—already in the *Colias* butterflies (Brunton 1998; Kemp et al. 2005), which are relatively closely related to the genus *Gonepteryx* (Wahlberg et al. 2014). Furthermore, we have shown that the analysed species statistically differ in the shape of UV patches on their forewing. This finding supports the classical claim of the Ukrainian entomologist Yuri Nekrutenko, who viewed UV patches as an important taxonomic characteristic within the genus *Gonepteryx* (Nekrutenko 1968). Usefulness of UV traits for taxonomy has been discussed also for other genera (Ferris 1972; Knuttell and Fiedler 2000). Furthermore, in the case of *Gonepteryx* butterflies, dorsal UV patches on both fore- and hindwings appears to be more variable than their colouration in the visible spectrum. For instance, males of *Gonepteryx farinosa* and *G. taiwana* have either none or very small UV patches on their wings. In many localities, *G. farinosa* is sympatric with *G. rhamni* so that absence of UV colouration in *G. farinosa* may have evolved as an adaptation that facilitates mate recognition. Similarly, *G. taiwana* is sympatric with *G. amintha formosana* in Taiwan. This fact suggests that different UV patterns may play a role in discriminating among possible mates (Fordyce et al. 2002). Mate recognition based on the absence or presence of UV signals has been hypothesised for *Colias* butterflies (Silberglied and Taylor 1973, 1978) and to a certain extent also for *Pieris rapae* (Obara et al. 2008; Fukano et al. 2012). Further support for the mate recognition function of UV patches may be found in the fact that very different UV patches can be found on the hindwings of all *amintha* subspecies (forewings are nearly completely covered by iridescent UV patch in all subspecies): no pattern (just a UV spot) in *G. amintha amintha*, larger UV patches in the *G. amintha formosana*, and UV patches covering almost the entire area of the hindwings in *G. amintha thibetana* and *G. amintha murayamae* (syn. *G. amintha yunnanensis*). Note, however, that *thibetana* and *murayamae* occur very far from each other (they are allopatric). Their identical UV appearance therefore cannot lead to any problems in mate recognition because they are not present in the same locality (Bozano et al. 2016). Both subspecies, however, may use the hindwing pattern to distinguish themselves from the *G. amintha amintha*, which has a much larger area of distribution and in parts of its distribution area is sympatric with one or the other subspecies.

All in all, our comparison of morphological properties (shape and fluctuating asymmetry) of the two chosen wing patterns (*UV patch* and *Venation*) indicates a tendency towards a larger condition-dependency in UV patches, which are hypothetical signalling traits, than in the non-signalling venation pattern. Statistically, however, the tendency was significant only in a minority of cases.

With exception of *G. aspasia*, the amount of shape variation explained by the environment was rather small in all the analyses. This outcome could be partly due to the fact that we controlled for the effect of wing size, which explained more than 1/4 of the variation in the *UV patch* and approximately 5 percent in *Venation*. By controlling for wing size, we eliminated a significant amount of variance, which left only a small part of variance to be accounted for by environmental effects. Without controlled experiments, however, we cannot estimate the proportion of size variation that may be due to environmental conditions and genetic background. By controlling for size, we may have thus dismissed some part of

variation that is, to some extent, due to the environment. In this study, we were unable to differentiate between different sources of allometry (Klingenberg 2016).

Another limitation of our study may be due to selection of a non-signalling trait, i.e., wing venation. One always ought to be cautious when comparing different classes of traits, in this case structural and colour traits (Sheehan and Tibbetts 2011). It is for instance possible that the size and shape of the butterflies' wings are also influenced by sexual selection (Wickman 1992). Nevertheless, we used a functionally and developmentally constrained venation pattern, not the wing shape per se as a non-signalling trait.

Alternatively, the lower responsiveness of *Venation* (and thus the higher response of *UV patch*) to environmental fluctuations may be due to the greater evolutionary burden of the venation pattern (Schoch 2010). Venation underlies the functional and developmental structures of the wing and its variation during evolution may be therefore restricted (Shimmi et al. 2014).

For reasons discussed above, we cannot conclude that UV patterns in the seven studied brimstones are biological signals of mate quality in the same way in which it has been shown for UV colouration in other related species of butterflies (Kemp 2006b; Papke et al. 2007; Kemp and Rutowski 2011). Still, we have shown that there are significant interspecific differences in the shape of forewing UV patterns in the genus *Gonepteryx* and this indicates that UV patches may play a role in mate recognition.

Considering the connection between the UV reflective patterns and sexual selection, we need to ask in which stage of courtship could these patterns be actually significant. Like many other butterflies (Silberglied 1984), brimstone males actively search for females and, at least in *G. rhamni*, mating takes place soon after the females emerge from hibernation (Wiklund et al. 1996). The males emerge a few weeks earlier and start patrolling for mates. If a male brimstone finds a suitable female sitting somewhere, he circles around her and tries to convince her to copulate (Glaeser et al. 2017). If the female had already coupled with another male, she displays a distinctive mate-refusal posture (Wiklund et al. 1996; Friberg et al. 2008). If she has not, the male can be accepted. Then there follows a relatively complicated courtship flight, where the couple often flies high into the air. This ritual can be repeated several times. Using controlled manipulation of the level of UV reflectance or the shape size of the UV patches, as previously done in *Eureme hecabe* (Rutowski and Kemp 2017) and in *Hypolimnas bolina* (Kemp 2007), it could be investigated whether ultraviolet patterns indeed play a role in sexual selection of brimstones. Furthermore, using a similar set-up, we should be able to learn in which courtship phase these patches are relevant. If UV colouration is important during the initial contact with the female, a male with altered or removed UV patches should be rejected or ignored not only by females that have already mated but also by virgin females, such as in *Colias* butterflies (Silberglied and Taylor 1978) or jumping spiders (Lim et al. 2007). In potential experiments, however, one ought to take into account the role of pheromones in butterfly courtships (Vane-Wright and Boppré 1993). In *G. rhamni*, for instance, pheromones probably do play a role in rejecting the male (Scott 1972).

In context of our results, which suggests that there is a relationship between the environment and a UV pattern expression at least in some of the investigated species, it can be hypothesised that species living in areas where there is more shadow or dense, strongly UV-absorptive vegetation (Silberglied 1979), should have larger UV patterns or that these patterns should cover both fore- and hindwings to fulfil their signalling function. This hypothesis is linked to a proposal by Meyer-Rochow and Järvillehto (1997) who claim that the wings of *Pieris rapae* individuals from northern regions reflect the UV light more strongly because the percentage of UV irradiation on Earth's surface

decreases from equator towards the poles (Herman et al. 1999). Extrapolating from this proposal, however, we should expect butterflies from arid or alpine areas to have larger UV patterns as well because in such areas, there is less grass with a low UV albedo, and sand or other materials with a relatively high UV albedo prevail (Chadyšiene and Girždys 2008), with the consequence that as the UV albedo increases, contrast between UV iridescent wings and the background declines. Against a highly UV-absorptive background (e.g. grass), even smaller patterns should thus be large enough to fulfil a signalling function. On the other hand, if the UV pattern size positively depends on availability of accessible nutrients, the patches should be smaller in arid regions. It would be thus a good idea to focus on those attributes of UV reflective patterns which may depend on the type of habitat in which a species, subspecies, or population commonly occur.

Potentially significant but utterly neglected is the fact that UV reflectance appears not only in brimstone males but also in the females. It is usually stated that the wings of females are, with the exception of occasional UV spots, fully UV absorptive. That is true, but only for the dorsal side of the wings. Females of many brimstone species have a distinct UV iridescent pattern on the ventral side of their wings: UV light is reflected by the entire surface except for the area where the wings overlap (own unpublished data): in this way, the so-called Oudemans' phenomenon (i.e. the pattern covers only the exposed parts of overlapping morphological structures) comes into play (Oudemans 1903; Komárek 2003). It is therefore possible that female UV reflectance on ventral sides of their wings plays a role in the courtship of brimstone butterflies. Earlier studies suggest that female UV colouration may be used by males to find a female or to recognise that she is a suitable mating partner, as is the case of *Pieris rapae cruccivora* (Obara 1970; Obara and Majerus 2000).

The fact that in females, the ventral side of the wings often features a UV pattern has interesting ecological implications for brimstones. It is generally assumed that their leaf-like wing shape serves as a camouflage, that it allows the owner to blend in with the vegetation, thus protecting the specimen from a predator (Brakefield et al. 1992). This camouflage is supplemented by the colouring of the underside of their pale yellow-green wings. This is the case especially in females and it is apparent at least to human observers (when sitting on vegetation, these butterflies often close their wings). On the other hand, however, such females should be quite distinctive to birds, which are usually sensitive to UV light (Hart and Vorobyev 2005; Ödeen and Håstad 2013). We also should ask whether, given that males have a UV iridescent upper wing side, UV reflectance could play a role in visual communication with predators. Since brimstones hibernate as adults, they are among the first butterflies to emerge in spring (Wiklund et al. 1996). At that time, they are highly conspicuous and although they are edible, birds do not usually prey on them. Their colouration is thought to be aposematic, because it is reminiscent of colouration of some unpalatable pierids (Endler 1981; Rothschild 1981). We can also hypothesise that UV iridescent surfaces can be used to startle predators, as is the case of large and conspicuous eyespots of some other butterflies (Stevens 2005). Nonetheless, when attacked by a bird, butterflies stiffen and pretend to be dead (thanatosis) instead of actively defending themselves (Rothschild 1981).

Although our study suggests that UV patterns are involved in the sexual selection of *Gonepteryx* butterflies and comparisons with other butterflies make this suggestion very likely, further thorough manipulative and behavioural mating experiments are needed to confirm these conclusions. Such studies might confirm the abovementioned hypotheses, although long-lived brimstones are likely to make this process somewhat more difficult than the more traditional model species would.

**Acknowledgements** The authors would like to thank Blanca Huertas, Sabine Gaal-Haszler, Pavel Chvojka, Jan Šumpich, Petr Baňář, and Jaan Luig for providing butterfly collections, Zdeněk Faltýnek Fric for his help with preparing a phylogenetic tree used in the analyses, and Anna Pilátová for English proofreading. We would also like to thank T. White and two anonymous reviewers for making constructive comments to an earlier version of this manuscript. This research was supported by the Charles University Grant project GAUK 964216.

## Compliance with ethical standards

**Conflict of interest** The authors declare no conflicts of interest.

## References

- Adams DC, Otárola-Castillo E (2013) Geomorph: an R package for the collection and analysis of geometric morphometric shape data. *Methods Ecol Evol* 4:393–399
- Allen CE, Zwaan BJ, Brakefield PM (2011) Evolution of sexual dimorphism in the Lepidoptera. *Annu Rev Entomol* 56:445–464
- Badyaev A (2004) Integration and modularity in the evolution of sexual ornaments. In: Pigliucci M, Preston K (eds) *Phenotypic integration: studying the ecology and evolution of complex phenotypes*. Oxford University Press, Oxford, pp 50–79
- Bates D, Mächler M, Bolker B, Walker S (2015) Fitting linear mixed-effects models using lme4. *J Stat Softw* 67:1–48
- Beasley DAE, Bonisoli-Alquati A, Mousseau TA (2013) The use of fluctuating asymmetry as a measure of environmentally induced developmental instability: a meta-analysis. *Ecol Indic* 30:218–226
- Bernard GD, Remington CL (1991) Color vision in *Lycaena* butterflies: spectral tuning of receptor arrays in relation to behavioral ecology. *Proc Natl Acad Sci USA* 88:2783–2787
- Bjorksten D, Pomiankowski F (2000) Fluctuating asymmetry of sexual and nonsexual traits in stalk-eyed flies: a poor indicator of developmental stress and genetic quality. *J Evol Biol* 13:89–97
- Bjorksten TA, Fowler K, Pomiankowski A (2000) What does sexual trait FA tell us about stress? *Trends Ecol Evol* 15:163–166
- Bozano GC, Coutsis JG, Herman P, Allegrucci G, Cesaroni D, Sbordoni V (2016) Pieridae Part 3 (Guide to the butterflies of the Palearctic region). Omnes Artes, Milano
- Brakefield PM, Shreeve TG, Thomas JA (1992) Avoidance, concealment and defence. In: Dennis RLH (ed) *The ecology of butterflies in Britain*. Oxford University Press, Oxford, pp 93–119
- Breuker CJ, Gibbs M, Van Dongen S, Merckx T, Van Dyck H (2010) The use of geometric morphometrics in studying butterfly wings in an evolutionary ecological context. In: Elewa AMT (ed) *Morphometrics for nonmorphometricians*. Springer, Berlin, pp 271–287
- Briscoe AD, Chittka L (2001) The evolution of color vision in insects. *Annu Rev Entomol* 46:471–510
- Brunton CFA (1998) The evolution of ultraviolet patterns in European *Colias* butterflies (Lepidoptera, Pieridae): a phylogeny using mitochondrial DNA. *Heredity* 80:611–616
- Brunton CFA, Majerus MEN (1995) Ultraviolet colors in butterflies—intraspecific or inter-specific communication. *Proc R Soc Lond B* 260:199–204
- Brunton CFA, Russel PJC, Majerus MEN (1996) Variation in ultraviolet wing patterns of brimstone butterflies (*Gonepteryx*: Pieridae) from Madeira and the Canary Islands. *Entomol Gaz* 115:30–39
- Bybee SM, Yuan F, Ramstetter MD, Llorente-Bousquets J, Reed RD, Osorio D, Briscoe AD (2012) UV photoreceptors and UV-yellow wing pigments in *Heliconius* butterflies allow a color signal to serve both mimicry and intraspecific communication. *Am Nat* 179:38–51
- Chadyšiene R, Girgždys A (2008) Ultraviolet radiation albedo of natural surfaces. *J Environ Eng Landsc Manag* 16:83–88
- Chen P-J, Awata H, Matsushita A, Yang E-C, Arikawa K (2016) Extreme spectral richness in the eye of the common bluebottle butterfly, *Graphium sarpedon*. *Front Ecol Evol* 4:1–12
- Chown SL, Gaston KJ (2010) Body size variation in insects: a macroecological perspective. *Biol Rev Camb Philos Soc* 85:139–169
- Cotton T-J, Fowler K, Pomiankowski A (2004) Condition dependence of sexual ornament size and variation in the stalk-eyed fly *Cyrtodiopsis dalmanni* (Diptera: Diopsidae). *Evolution* 58:1038–1046



- Dalrymple RL, Kemp DJ, Flores-Moreno H, Laffan SW, White TE, Hemmings FA, Tindall ML, Moles AT (2015) Birds, butterflies and flowers in the tropics are not more colourful than those at higher latitudes. *Glob Ecol Biogeogr* 24:1424–1432
- Dixon AFG, Honěk A, Keil P, Kotela MAA, Šizling AL, Jarošík V (2009) Relationship between the minimum and maximum temperature thresholds for development in insects. *Funct Ecol* 23:257–264
- Eguchi E, Meyer-Rochow VB (1983) Ultraviolet photography of forty-three species of lepidoptera representing ten families. *Annot Zool Jpn* 56:10–18
- Endler JA (1981) An overview of the relationships between mimicry and crypsis. *Biol J Linn Soc* 16:25–31
- Ferris CD (1972) Ultraviolet photography as an adjunct to taxonomy. *J Lepid Soc* 26:210–215
- Fischer K, Karl I (2010) Exploring plastic and genetic responses to temperature variation using copper butterflies. *Clim Res* 43:17–30
- Fleishman LJ, Loew ER, Whiting MJ (2011) High sensitivity to short wavelengths in a lizard and implications for understanding the evolution of visual systems in lizards. *Proc R Soc Lond B* 278:2891–2899
- Fordyce JA, Nice CC, Forister ML, Shapiro AM (2002) The significance of wing pattern diversity in the Lycaenidae: mate discrimination by two recently diverged species. *J Evol Biol* 15:871–879
- Friberg M, Vongvanich N, Borg-Karlson A-K, Kemp DJ, Merilaita S, Wiklund C (2008) Female mate choice determines reproductive isolation between sympatric butterflies. *Behav Ecol Sociobiol* 62:873–886
- Fukano Y, Satoh T, Hirota T, Nishide Y, Obara Y (2012) Geographic expansion of the cabbage butterfly (*Pieris rapae*) and the evolution of highly UV-reflecting females. *Insect Sci* 19:239–246
- Galván I (2011) Ultraviolet-blue plumage colouration can be perceived as an indicator of fluctuating asymmetry by Blue Tits (*Cyanistes caeruleus*). *J Ornithol* 152:223–230
- Ghiradella H, Aneshansley D, Eisner T, Silberglied RE, Hinton HE (1972) Ultraviolet reflection of a male butterfly: interference color caused by thin-layer elaboration of wing scales. *Science* 178:1214–1217
- Gibbs M, Breuker CJ (2006) Effect of larval-rearing density on adult life-history traits and developmental stability of the dorsal eyespot pattern in the speckled wood butterfly, *Pararge aegeria*. *Entomol Exp Appl* 118:41–47
- Glaeser G, Paulus HF, Nachtigall W (2017) Criteria of evolution. In: Glaeser G, Paulus HF, Nachtigall W (eds) *The evolution of flight*. Springer, Cham, pp 87–122
- Graham J, Özener B (2016) Fluctuating asymmetry of human populations: a review. *Symmetry* 8:154
- Graham JH, Raz S, Hel-Or H, Nevo E (2010) Fluctuating asymmetry: methods, theory, and applications. *Symmetry* 2:466–540
- Hart NS, Vorobyev M (2005) Modelling oil droplet absorption spectra and spectral sensitivities of bird cone photoreceptors. *J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol* 191:381–392
- Herman JR, Krotkov N, Celarier E, Larko D, Labow G (1999) Distribution of UV radiation at the Earth's surface from TOMS-measured UV-backscattered radiances. *J Geophys Res Atmos* 104:12059–12076
- Hijmans RJ, Cameron SE, Parra JL, Jones PG, Jarvis A (2005) Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *Int J Climatol* 25:1965–1978
- Hiyama A, Taira W, Otaki JM (2012) Color-pattern evolution in response to environmental stress in butterflies. *Front Genet* 3:15
- Hunt S, Cuthill IC, Bennett AT, Church SC, Partridge JC (2001) Is the ultraviolet waveband a special communication channel in avian mate choice? *J Exp Biol* 204:2499–2507
- Imafuku M (2008) Variation in UV light reflected from the wings of *Favonius* and *Quercusia* butterflies. *Entomol Sci* 11:75–80
- Iwasa Y, Pomiankowski A (1995) Continual change in mate preferences. *Nature* 377:420–422
- Kemp DJ (2006a) Heightened phenotypic variation and age-based fading of ultraviolet butterfly wing coloration. *Evol Ecol Res* 8:515–527
- Kemp DJ (2006b) Ultraviolet ornamentation and male mating success in a high-density assemblage of the butterfly *Colias eurytheme*. *J Insect Behav* 19:669–684
- Kemp DJ (2007) Female butterflies prefer males bearing bright iridescent ornamentation. *Proc R Soc Lond B* 274:1043–1047
- Kemp DJ (2008a) Female mating biases for bright ultraviolet iridescence in the butterfly *Eurema hecabe* (Pieridae). *Behav Ecol* 19:1–8
- Kemp DJ (2008b) Resource-mediated condition dependence in sexually dichromatic butterfly wing coloration. *Evolution* 62:2346–2358
- Kemp DJ, Macedonia JM (2006) Structural ultraviolet ornamentation in the butterfly *Hypolimnas bolina* L. (Nymphalidae): visual, morphological and ecological properties. *Aust J Zool* 54:235–244
- Kemp DJ, Rutowski RL (2007) Condition dependence, quantitative genetics, and the potential signal content of iridescent ultraviolet butterfly coloration. *Evolution* 61:168–183

- Kemp DJ, Rutowski RL (2011) The Role of coloration in mate choice and sexual interactions in butterflies. *Adv Study Behav* 43:55–92
- Kemp DJ, Rutowski RL, Mendoza M (2005) Colour pattern evolution in butterflies: a phylogenetic analysis of structural ultraviolet and melanic markings in North American sulphurs. *Evol Ecol Res* 7:133–141
- Kemp DJ, Vukusic P, Rutowski RL (2006) Stress-mediated covariance between nano-structural architecture and ultraviolet butterfly coloration. *Funct Ecol* 20:282–289
- Kemp DJ, Herberstein ME, Grether GF (2012) Unraveling the true complexity of costly color signaling. *Behav Ecol* 23:233–236
- Kleisner K, Kočnar T, Tureček P, Stella D, Akoko RM, Třebický V, Havlíček J (2017) African and European perception of African female attractiveness. *Evol Hum Behav* 38:744–755
- Klingenberg CP (2011) MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Mol Ecol Resour* 11:353–357
- Klingenberg CP (2015) Analyzing fluctuating asymmetry with geometric morphometrics: concepts, methods, and applications. *Symmetry* 7:843–934
- Klingenberg CP (2016) Size, shape, and form: concepts of allometry in geometric morphometrics. *Dev Genes Evol* 226:113–137
- Klingenberg CP, McIntyre GS (1998) Geometric morphometrics of developmental instability: analyzing patterns of fluctuating asymmetry with Procrustes methods. *Evolution* 52:1363–1375
- Klingenberg CP, Barluenga M, Meyer A (2002) Shape analysis of symmetric structures: quantifying variation among individuals and asymmetry. *Evolution* 56:1909–1920
- Knuttell H, Fiedler K (2000) On the use of ultraviolet photography and ultraviolet wing patterns in butterfly morphology and taxonomy. *J Lepid Soc* 54:137–144
- Komárek S (2003) Mimicry, aposematism and related phenomena: mimetism in nature and the history of its study. *Lincom Europa, München*
- Kudrna O (1975) A revision of the genus *Gonepteryx* Leach (Lep., Pieridae). *Entomol Gaz* 26:3–37
- Leamy LJ, Klingenberg CP (2005) The genetics and evolution of fluctuating asymmetry. *Annu Rev Ecol Syst* 36:1–21
- Lens LUC, Van Dongen S, Kark S, Matthysen E (2002) Fluctuating asymmetry as an indicator of fitness: can we bridge the gap between studies? *Biol Rev* 77:27–38
- Lim MLM, Land MF, Li D (2007) Sex-specific UV and fluorescence signals in jumping spiders. *Science* 315:481
- Losey GS, Cronin TW, Goldsmith TH, Hyde D, Marshall NJ, McFarland WN (1999) The UV visual world of fishes: a review. *J Fish Biol* 54:921–943
- Lukhtanov VA, Kandul NP, Plotkin JB, Dantchenko AV, Haig D, Pierce NE (2005) Reinforcement of prezygotic isolation and karyotype evolution in *Agrodiaetus* butterflies. *Nature* 436:385–389
- Mardia KV (2005) Statistical assessment of bilateral symmetry of shapes. *Biometrika* 92:249–250
- Matsuno H (1988) The ultraviolet reflectance pattern of the genus *Gonepteryx* (Lepidoptera, Pieridae) and its adaptive significance. *Trans Lepid Soc Jpn* 39:149–165
- Mazokhin-Porshnyakov GA (1957) Reflecting properties of butterfly wings and the role of ultra-violet rays in the vision of insects. *Biophysics* 2:285–296
- Meslin C, Cherwin TS, Plakke MS, Small BS, Goetz BJ, Morehouse NI, Clark NL (2017) Structural complexity and molecular heterogeneity of a butterfly ejaculate reflect a complex history of selection. *Proc Natl Acad Sci USA*. <https://doi.org/10.1111/geb.12368>
- Meyer-Rochow VB (1991) Differences in ultraviolet wing patterns in the New Zealand lycaenid butterflies *Lycaena salustius*, *L. rauparaha*, and *L. feredayi* as a likely isolating mechanism. *J R Soc NZ* 21:169–177
- Meyer-Rochow VB, Järvillehto M (1997) Ultraviolet colours in *Pieris napi* from Northern and Southern Finland: arctic females are the brightest! *Naturwissenschaften* 84:165–168
- Møller AP, Pomiankowski A (1993) Fluctuating asymmetry and sexual selection. *Genetica* 89:267–279
- Morehouse NI, Rutowski RL (2010) Developmental responses to variable diet composition in a butterfly: the role of nitrogen, carbohydrates and genotype. *Oikos* 119:636–645
- Morehouse NI, Vukusic P, Rutowski R (2007) Pterin pigment granules are responsible for both broadband light scattering and wavelength selective absorption in the wing scales of pierid butterflies. *Proc R Soc Lond B* 274:359–366
- Mouchet SR, Vukusic P (2018) Structural colours in lepidopteran scales. In: Ffrench-Constant RH (ed) *Butterfly wing patterns and mimicry*. Elsevier, Amsterdam, pp 1–53
- Nekrutenko YP (1964) The hidden wing-pattern of some Palearctic species of *Gonepteryx* and its taxonomic value. *J Res Lepid* 3:65–68
- Nekrutenko YP (1968) Phylogeny and geographical distribution of the genus *Gonepteryx* (Lepidoptera, Pieridae): an attempt of study in historical zoogeography. *Naukova Dumka, Kiev*

- Nekrutenko YP (1972) A new subspecies of *Gonepteryx amintha* (Pieridae) from Yunnan, mainland China, with comparative notes. *J Res Lepid* 11:235–240
- Obara Y (1970) Studies on the mating behavior of the White Cabbage Butterfly *Pieris rapae crucivora* Boisduval III. Near-ultra-violet reflection as the signal of intraspecific communication. *Z Vgl Physiol* 69:99–116
- Obara Y, Majerus MEN (2000) Initial mate recognition in the British cabbage butterfly, *Pieris rapae rapae*. *Zool Sci* 17:725–730
- Obara Y, Ozawa G, Fukano Y (2008) Geographic variation in ultraviolet reflectance of the wings of the female cabbage butterfly, *Pieris rapae*. *Zool Sci* 25:1106–1110
- Obara Y, Watanabe K, Satoh T (2010) UV reflectance of inter-subspecific hybrid females obtained by crossing cabbage butterflies from Japan (*Pieris rapae crucivora*) with those from New Zealand (*P. rapae rapae*). *Entomol Sci* 13:156–158
- Ödeen A, Håstad O (2013) The phylogenetic distribution of ultraviolet sensitivity in birds. *BMC Evol Biol* 13:36
- Oliver JC, Monteiro A (2011) On the origins of sexual dimorphism in butterflies. *Proc R Soc Lond B* 278:1981–1988
- Olofsson M, Vallin A, Jakobsson S, Wiklund C (2010) Marginal eyespots on butterfly wings deflect bird attacks under low light intensities with UV wavelengths. *PLoS ONE* 5:e10798
- Osorio D, Vorobyev M (2008) A review of the evolution of animal colour vision and visual communication signals. *Vis Res* 48:2042–2051
- Oudemans JT (1903) Etudes sur la position de repos chez les Lepidopteres. Verhandelingen der Koninklijke Akademie van Wetenschappen, Amsterdam
- Painting CJ, Rajamohan G, Chen Z, Zeng H, Li D (2016) It takes two peaks to tango: the importance of UVB and UVA in sexual signalling in jumping spiders. *Anim Behav* 113:137–146
- Palmer RA, Strobeck C (2003) Fluctuating asymmetry analyses revisited. In: Polak M (ed) *Developmental Instability (DI): causes and Consequences*. Oxford University Press, Oxford, pp 279–319
- Papke R, Kemp D, Rutowski R (2007) Multimodal signalling: structural ultraviolet reflectance predicts male mating success better than pheromones in the butterfly *Colias eurytheme* L. (Pieridae). *Anim Behav* 73:47–54
- Pecháček P, Stella D, Keil P, Kleisner K (2014) Environmental effects on the shape variation of male ultraviolet patterns in the Brimstone butterfly (*Gonepteryx rhamni*, Pieridae, Lepidoptera). *Naturwissenschaften* 101:1055–1063
- Pirih P, Wilts BD, Stavenga DG (2011) Spatial reflection patterns of iridescent wings of male pierid butterflies: curved scales reflect at a wider angle than flat scales. *J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol* 197:987–997
- Polak M, Starnes WT (2005) Environmental origins of sexually selected variation and a critique of the fluctuating asymmetry-sexual selection hypothesis. *Evolution* 59:577–585
- Poulton EB (1890) *Colours of animals: their meaning and use, especially considered in the case of insects*. D. Appleton & Company, New York
- R Development Core Team (2015) *R: a language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>
- Remington CL (1973) Ultraviolet reflectance in mimicry and sexual signals in the Lepidoptera. *J N Y Entomol Soc* 81:124
- Rohlf FJ (2013a) *TpsDig* (version 2.17). Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook
- Rohlf FJ (2013b) *TpsRelw* (version 1.53). Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook
- Rothschild M (1981) The mimics must move with the times. *Biol J Linn Soc* 16:21–23
- Rutowski RL (1977) The use of visual cues in sexual and species discrimination by males of the small sulphur butterfly *Eurema lisa* (Lepidoptera, Pieridae). *J Comp Physiol* 115:61–74
- Rutowski RL, Kemp DJ (2017) Female iridescent colour ornamentation in a butterfly that displays mutual ornamentation: is it a sexual signal? *Anim Behav* 126:301–307
- Rutowski RL, Gilchrist GW, Terkalian B (1987) Female butterflies mated with recently mated males show reduced reproductive output. *Behav Ecol Sociobiol* 20:319–322
- Rutowski RL, Macedonia JM, Morehouse N, Taylor-Taft L (2005) Pterin pigments amplify iridescent ultraviolet signal in males of the orange sulphur butterfly, *Colias eurytheme*. *Proc R Soc Lond B* 272:2329–2335
- Rutowski RL, Macedonia JM, Merry JW, Morehouse NI, Yturralde K, Taylor-Taft L, Gaalema D, Kemp DJ, Papke RS (2007) Iridescent ultraviolet signal in the orange sulphur butterfly (*Colias eurytheme*): spatial, temporal and spectral properties. *Biol J Linn Soc* 90:349–364

- Schoch RR (2010) Riedl's burden and the body plan: selection, constraint, and deep time. *J Exp Zool B Mol Dev Evol* 314B:1–10
- Scott TA (1972) Mating of butterflies. *J Res Lepidoptera* 11:99–127
- Shawkey MD, Morehouse NI, Vukusic P (2009) A protean palette: colour materials and mixing in birds and butterflies. *J R Soc Interface* 6:221–231
- Sheehan MJ, Tibbetts EA (2011) Condition dependence and the origins of elevated fluctuating asymmetry in quality signals. *Behav Ecol* 22:1166–1172
- Shimmi O, Matsuda S, Hatakeyama M (2014) Insights into the molecular mechanisms underlying diversified wing venation among insects. *Proc R Soc Lond B* 281:20140264
- Silberglied RE (1979) Communication in the ultraviolet. *Annu Rev Ecol Syst* 10:373–398
- Silberglied RE (1984) Visual communication and sexual selection among butterflies. In: Vane-Wright RI, Ackery PR (eds) *The biology of butterflies*. Academic Press, London, pp 207–223
- Silberglied RE, Taylor OR (1973) Ultraviolet differences between the sulphur butterflies, *Colias eurytheme* and *C. philodice*, and a possible isolating mechanism. *Nature* 241:406–408
- Silberglied RE, Taylor OR (1978) Ultraviolet reflection and its behavioral role in courtship of sulfur butterflies *Colias Eurytheme* and *C. Philodice* (Lepidoptera, Pieridae). *Behav Ecol Sociobiol* 3:203–243
- Stavenga DG (2014) Thin film and multilayer optics cause structural colors of many insects and birds. *Mater Today Proc* 1:109–121
- Stavenga D, Arikawa K (2006) Evolution of color and vision of butterflies. *Arthropod Struct Dev* 35:307–318
- Stavenga DG, Giraldo MA, Hoenders BJ (2006) Reflectance and transmittance of light scattering scales stacked on the wings of pierid butterflies. *Opt Express* 14:4880–4890
- Stella D, Faltýnek Fric Z, Rindos M, Kleisner K, Pecháček P (2018a) Distribution of ultraviolet ornaments in *Colias* butterflies (Lepidoptera: Pieridae). *Environ Entomol* 47:1344–1354
- Stella D, Pecháček P, Meyer-Rochow VB, Kleisner K (2018b) UV reflectance is associated with environmental conditions in Palaearctic *Pieris napi* (Lepidoptera: Pieridae). *Insect Sci* 25:508–518
- Stevens M (2005) The role of eyespots as anti-predator mechanisms, principally demonstrated in the Lepidoptera. *Biol Rev* 80:573–588
- Talloon W, Van Dyck H, Lens L, Mallet J (2004) The cost of melanization: butterfly wing coloration under environmental stress. *Evolution* 58:360–366
- Tovée MJ (1995) Ultra-violet photoreceptors in the animal kingdom: their distribution and function. *Trends Ecol Evol* 10:455–460
- Tsubaki Y, Matsumoto K (1998) Fluctuating asymmetry and male mating success in a sphragis-bearing butterfly *Luehdorfia japonica* (Lepidoptera: Papilionidae). *J Insect Behav* 11:571–582
- Tuomaala M, Kaitala A, Rutowski RL (2012) Females show greater changes in wing colour with latitude than males in the green-veined white butterfly, *Pieris napi* (Lepidoptera: Pieridae). *Biol J Linn Soc* 107:899–909
- Vane-Wright RI, Boppré M (1993) Visual and chemical signalling in butterflies: functional and phylogenetic perspectives. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 340:197–205
- Wahlberg N, Rota J, Braby MF, Pierce NE, Wheat CW (2014) Revised systematics and higher classification of pierid butterflies (Lepidoptera: Pieridae) based on molecular data. *Zool Scr* 43:641–650
- Wickman PO (1992) Sexual selection and butterfly design—a comparative study. *Evolution* 46:1525–1536
- Wijnen B, Leertouwer HL, Stavenga DG (2007) Colors and pterin pigmentation of pierid butterfly wings. *J Insect Physiol* 53:1206–1217
- Wiklund C, Lindfors V, Forsberg J (1996) Early male emergence and reproductive phenology of the adult overwintering butterfly *Gonepteryx rhamni* in Sweden. *Oikos* 75:227–240
- Windig JJ, Nylin S (1999) Adaptive wing asymmetry in males of the speckled wood butterfly (*Pararge aegeria*)? *Proc R Soc Lond B* 266:1413–1418
- Zapletalová L, Zapletal M, Konvicka M (2016) Habitat impact on ultraviolet reflectance in moths. *Environ Entomol* 45:1300–1305

**VI.**

**Hanzalová D, Pecháček P, Bartoňová A, Marešová J, Rindoš M, Kleisner K, Faltýnek Fric Z. Co-evolution of UV reflectance patterns and biogeography of brimstone butterflies (Lepidoptera: Pieridae: *Gonepteryx*).**

*V době odevzdání dizertační práce se článek nachází v recenzním řízení.*

1 **Co-evolution of UV reflectance patterns and biogeography of**  
2 **brimstone butterflies (Lepidoptera: Pieridae: Gonepteryx)**

3

4 **Dana Hanzalová<sup>1</sup>, Pavel Pecháček<sup>3</sup>, Alena Bartoňová<sup>1,2</sup>, Jana Marešová<sup>1,2</sup>,**  
5 **Michal Rindoš<sup>1,2</sup>, Karel Kleisner<sup>3</sup>, Zdeněk Faltýnek Fric<sup>2\*</sup>**

6

7 <sup>1</sup> University of South Bohemia, Faculty of Science, Branišovská 1760, CZ-370 05 České  
8 Budějovice, Czech Republic

9 <sup>2</sup> Biology Centre of the Czech Academy of Sciences, Institute of Entomology, Branišovská 31, CZ-  
10 370 05 České Budějovice, Czech Republic

11 <sup>3</sup> Department of Philosophy and History of Science, Charles University, Viničná 7, CZ-128 44  
12 Praha 2, Czech Republic

13

14 \*Corresponding author:

15 E-mail: [fric@entu.cas.cz](mailto:fric@entu.cas.cz) (ZFF)

17 **Abstract**

18 Ultraviolet reflectance patterns (UV patterns) are a striking phenomenon which occurs in the  
19 Lepidoptera. Famous examples are found in the genus *Gonepteryx* (Leach, 1815), where UV  
20 patterns vary between most species. To investigate the link between the presence of UV patterns  
21 and the evolution of *Gonepteryx*, we reconstructed the phylogeny and biogeography of the genus  
22 based on one mitochondrial (Cytochrome c Oxidase) and two nuclear genes (Wingless, Arginine  
23 Kinase). We inferred that the ancestor of *Gonepteryx* must have inhabited a large area spanning  
24 from the Canary Islands to the Mediterranean, the mountains of Central Asia, and all the way to  
25 East Asia including Taiwan. Reconstruction of the ancestral state revealed that already the ancestor  
26 possessed a moderately sized UV-reflective area on both forewings and hindwings. UV patterns on  
27 the forewings are more common than on the hindwings and they usually cover an area that is larger  
28 than in the common ancestor. The largest increase from the ancestral state of the UV pattern took  
29 place in the Canarian species and in the Asian branch containing *G. amintha* (Blanchard, 1871) and  
30 *G. maxima* (Butler, 1885). In the common ancestor, reflective area on the hindwing was smaller  
31 than on the forewing and in descendant species, this patch tends to disappear. There is a significant  
32 correlation between the variability of UV pattern and the number of species inhabiting an area.

33

34 **Keywords**35 UV reflectance, *Gonepteryx*, phylogeny, biogeography, ancestral state reconstruction

## 37 **Introduction**

38           Sensitivity to ultraviolet light was for the first time observed in animals in 1882 by John  
39 Lubbock, the 1<sup>st</sup> Baron Avebury [1]. Since then, many studies provided strong evidence of  
40 ultraviolet perception in all major animal groups [2]. It is found in vertebrates, such as reptiles [3]  
41 birds [4-6], mammals [7], as well as in invertebrates, including spiders [8,9], beetles [10], butterflies  
42 and moths [11-17]. In recent decades, especially the last group, Lepidoptera, became a subject of  
43 particular interest to researchers [18-21].

44           One of the best examples of butterflies with prominent UV patterns is the genus *Gonepteryx*  
45 [22-27]. With the exceptions of few species, such as *G. rhamni* (Linnaeus, 1758) [28], the UV  
46 pattern, also called ‘hidden wing pattern’, is located on the wings of males. It is highly distinct on  
47 an interspecific level but strongly consistent on an intraspecific level. UV pattern can therefore be  
48 used for species identification [29-31]. It has also been investigated whether in the genus  
49 *Gonepteryx*, UV patterns play a role in sexual selection like they do in some other pierids  
50 [12,32,33]. Recent results suggest that in *Gonepteryx* species, UV patterns are relevant in courtship,  
51 but their exact role remains uncertain [27]. We address this issue in the discussion.

52           The genus *Gonepteryx* consists of 16 middle-sized species [31], most of which inhabit the  
53 Palaearctic. *G. taiwana* (Paravicini, 1913), *G. amintha formosana* (Fruhstorfer, 1908), and *G.*  
54 *amintha burmensis* (Tytler, 1926) occur in the Oriental region, specifically in Taiwan, northern  
55 Indochina, Myanmar, and the southern Himalayas [31]. The most widespread *Gonepteryx* species is  
56 *G. rhamni*, which is found in a large area spanning from north-west Africa, through the  
57 Mediterranean and boreal Eurasia, and all the way to the mountains of East Asia. In this study, we  
58 examine, for the first time, the relationship between the phylogeny of the whole genus *Gonepteryx*  
59 and the evolution of UV patterns. We hypothesise that the evolution of UV patterns correlates with  
60 the phylogeny of the genus and a higher variety of UV patterns is found in areas where two or more



61 species live sympatrically. The main objective of this study is (1) to reconstruct a phylogenetic tree  
62 of *Gonepteryx* genus, including almost all currently existing species, (2) to examine the  
63 biogeographic relationships across the genus, and (3) to link them with the presence of UV patterns  
64 and their evolution.

65

## 66 **Materials and methods**

### 67 **Sampling**

68 Samples were collected directly in the field or obtained from private collections. We gathered and  
69 successfully isolated DNA from 97 individuals belonging to 13 *Gonepteryx* species (Fig 1 and S1  
70 Table, including specimen ID numbers, GenBank accession numbers, information about specimen  
71 repository). Our samples covered most of the genus distribution range. We missed only *G.*  
72 *mahaguru*, *G. nipponica*, and *G. chinensis*. With respect to the taxonomic status of the species and  
73 subspecies, we followed Bozano et al. [31]. As outgroups, we selected three species of related  
74 genera: *Catopsilia florella* (Fabricius, 1775), *Dercas gobrias* (Hewitson, 1864) and *Eurema lisa*  
75 (Boisduval & LeConte, 1829). Outgroup sequences were adopted from GenBank  
76 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) (S1 Table).

77

78 **Fig 1. Distribution of samples of *Gonepteryx* spp. used for phylogenetic and biogeographic**  
79 **analyses.**

80

### 81 **DNA extraction, PCR amplification, and sequencing**

82 We extracted genomic DNA from butterfly legs by grinding the dry tissue. We used  
83 Genomic DNA Mini Kit (Tissue) (Geneaid) for the extraction and followed producer's instructions.

84 The isolated DNA was kept in microtubes at -20°C. Fragments of the DNA were amplified using  
85 Polymerase Chain Reactions (PCR). We ran the PCR for one mitochondrial (*cytochrome c oxidase*  
86 *subunit I*, COI) and two nuclear (*wingless*, WG; *arginine kinase*, ArgKin) markers using protocols  
87 described by Wahlberg and Wheat [34]. The reaction was prepared in volumes of 25µl (12.5µl of  
88 PPP Mastermix [Top-Bio], 8.6µl of H<sub>2</sub>O, 1µl of reverse primer, 1µl of forward primer, and 1.9µl of  
89 DNA). For amplification, we used the following primers: HybLCO-HybHCO and HybRon-  
90 HybHCO for the first part of COI, HybLepWG1-HybLepWG2 for WG, and ArginineF-ArginineR  
91 for ArgKin. Universal tails T7Promoter and T3 were attached to all primers. We used the following  
92 PCR protocol: 95°C for 5min; 94°C for 30s, 50°C for 30s, and 72°C for 90s for 35 cycles, and final  
93 extension at 72°C for 10min. Sequencing was provided by Macrogen Inc. on ABI3730XL DNA  
94 analysers. We trimmed the low-quality regions and aligned the final sequences in Geneious v. 9.0.4.  
95 [35].

96

## 97 **Phylogenetic analyses and estimation of diversification time**

98 We partitioned the data using gene and codon positions. The best partitioning scheme and  
99 substitution model were selected by Partition Finder2 [36] based on BIC values. For the  
100 concatenated dataset, the selected model was GTR+G (Generalised time-reversible model plus  
101 gamma distribution). To reconstruct the phylogenetic trees, we used both Maximum Likelihood  
102 (ML) and Bayesian Inference (BI) methods. ML was carried out in *the IQ-TREE software* [37] with  
103 *ultrafast bootstrap (1,000 steps)* [38]. BI was carried out in MrBayes 3.2 [39] based on 5,000,000  
104 MCMC generations with sampling frequency of 1,000, temperature of 0.2, two chains, and four  
105 runs. We discarded the first 10% of trees as burn-in, which was sufficient according to the control  
106 by the *sump* command. Then we summarised our four independent runs and constructed a majority-  
107 rule consensus tree.

108 To estimate diversification times, we used BEAST 1.8.4. [40]. We adopted three secondary

109 calibration points from Rota et al. [41]. The first calibration point was set to the point of separation  
110 between *Gonepteryx* and *Eurema* (47.95 million years ago (Mya),  $\pm 2.5$  million years (My) standard  
111 deviation, (SD)), the second point to separation of *Gonepteryx* and *Dercas* from *Catopsilia* (38.5  
112 Mya,  $\pm 2.2$  My SD), and the third point to the separation of genus *Gonepteryx* from *Dercas* (32.97  
113 Mya,  $\pm 1.4$  My SD). We used an uncorrelated log-normal relaxed clock with a constant coalescent  
114 model. Analyses were run for 50,000,000 generations, sampled every 5,000 generations, and  
115 repeated three times. The three models were checked (effective sample size (ESS) values larger  
116 than 200) and their convergence compared in TRACER v.1.7 [42]. From the three runs, a single  
117 Maximum Clade Credibility (MCC) tree was constructed.

118 All of these analyses were run using the computational facilities of MetaCentrum of the  
119 Czech National Grid Infrastructure (<https://metavo.metacentrum.cz/>) and CIPRES portal [43].

120

## 121 **Biogeographic analysis**

122 For biogeographic analysis, we used the MCC tree obtained by the BEAST analysis. To  
123 limit the effects of false information due to uncertainty in outgroup taxa, we removed all outgroups  
124 from the tree. We defined 7 distribution areas: Canary Islands and Madeira (A), North-west Africa  
125 (B), Boreal Eurasia (C), the Mediterranean (D), South Asia (E), East Asia (F) and Taiwan (G) (S1  
126 Table). Reconstruction of the ancestral area was computed in RASP 4.0 [44] using BioGeoBears  
127 (BGB) script [45], which compares several alternative biogeographic scenarios and performs  
128 inference of biogeographic history on phylogenies. This method allows for testing different  
129 biogeography models based on AICc, DEC, DIVALIKE, and BAYAREALIKE, with or without the  
130 founder effect (J) [45]. We ran the analyses for the *full* dataset of all samples and for a *reduced*  
131 dataset with samples shrunk to 16 OTU (S1 Table). We allowed for at most 7 possible areas.

132

## 133 **Analysis of UV reflectance**

134 From our *Gonepteryx* ultraviolet photo database (UV pictures of over 500 males collected  
135 for Pecháček et al. [27]), we randomly selected three representatives of each taxon with the  
136 exception of taxa where we did not have three samples at our disposal: we had only one sample for  
137 *G. rhamni tianschanica*, *G. rhamni nana*, and *G. maxima maxima*, and only two samples for *G.*  
138 *aspasia coreanensis*, *G. eversi*, and *G. palmae*. For each butterfly specimen, we measured the  
139 diagonal length of the wing (D), and the gap (G) between the UV patch and wing edge (on four  
140 veins, averaging the resulting values, see Fig 2). For the measurement, we used tpsDig2 software  
141 [46]. We calculated the D/G ratio and converted it to a 0–100 scale, where 100 means that there is  
142 no gap and the patch reaches to the wing edge. We divided the resulting range between maximal  
143 and minimal ratio in six groups according to the patch range in each wing pair separately.  
144 Forewing: 6 (98.62–95.22), 5 (95.21–91.82), 4 (91.82–88.42), 3 (88.41–85.02), 2 (85.01–81.61), 1  
145 (UV spot or very small pattern), 0 (no UV reflectance pattern); hindwing: 6 (95,7–90,95), 5 (90,94–  
146 86,11), 4 (86,1–81,27), 3 (81,26–76,3), 2 (76,42–71,58), 1 (UV spot or very small pattern), 0 (no  
147 UV reflectance pattern) (see Fig 3 and S1 Table). We always measured the right wing. To prevent  
148 bias, all measurements were performed by a single person.

149

150 **Fig 2. Measured distances on the wings of the *Gonepteryx* butterflies shown on the example of**  
151 ***G. burmensis* (see [27]).** Lines show the diagonal length (red) and gap (4 averaged measurements)  
152 between the UV pattern and wing edge (yellow) used for the measurements.

153

154 **Fig 3. Categorisation of extent of UV reflectance pattern illustrated on real specimens for both**  
155 **the forewing and the hindwing.**

156 We counted the presence of different number of UV patterns in the seven biogeographic areas and  
157 correlated them with the number of species inhabiting the area (Table 1).

158

159 **Table 1. The number of species of genus *Gonepteryx* present in particular areas and the**  
 160 **number of different types of UV patterns on their forewings and hindwings. \*These species are**  
 161 **in reality allopatric.**

Area	No. of species	No. of different UV patterns on the forewing	No. of different UV patterns on the hindwing
(A) Canary Islands + Madeira	4*	1	1
(B) North-west Africa	2	2	2
(C) Boreal Eurasia	1	2	2
(D) Mediterranean	3	4	5
(E) South Asia	5	4	3
(F) East Asia	5	6	2
(G) Taiwan	2	2	2

162

163 We reconstructed the ancestral UV pattern using fastAnc algorithm for continuous  
 164 characters (phytools package; [47]) in R 3.3.1 [48] separately for the forewing and the hindwing.  
 165 We tested the phylogenetic signal in UV reflectance using Blomberg's K [49] and Pagel's  $\lambda$   
 166 statistics [50]. The K value compares variance-covariance effects of data on phylogeny with a  
 167 Brownian motion model. Value of  $\lambda$  indicates a transformation of phylogeny which ensures the best  
 168 fit of trait data to the Brownian motion model. In both measures, values close to zero represent no  
 169 phylogenetic signal, whereas values close to 1 indicate a strong phylogenetic signal. The values  
 170 were calculated in R (function phylosig in package phytools with 1,000 simulations).

171

## 172 **Results**

### 173 **Phylogenetic analyses and estimation of diversification time**

174 In total, we obtained sequences for 97 individuals from 13 *Gonepteryx* species. The total

175 length of each sequence was 487bp for COI, 412bp for WG, and 544bp for ArgKin. The best  
176 substitution model selected by PartitionFinder for the concatenated dataset was GTR+G. Genus  
177 *Gonepteryx* is monophyletic with *Dercas*, the most closely related genus of the chosen outgroups.  
178 Results of the three phylogenetic methods – ML (S1 Fig), BI in MrBayes (S2 Fig), and BEAST (Fig  
179 4) – were congruent in topology, dividing the genus into three well-supported clades (Clades A–C  
180 in Fig 4). The only diverging results are in the position of *G. maxima* within *G. nepalensis* and *G.*  
181 *amintha* (Clade B) and in the position of *G. taiwana* within *G. aspasia* (Clade A). Clade A,  
182 including *G. taiwana* and *G. aspasia*, split from the common ancestor of the genus *Gonepteryx*  
183 around 22 Mya. This clade is sister to the others. Clade B, containing *G. nepalensis*, *G. amintha*,  
184 and *G. maxima*, separated from Clade C around 12 Mya. Clade C is divided in three subclades  
185 (Subclade D-F). The first split within Clade C occurred between Subclade D, formed by the three  
186 species endemic to the Canary Islands (*G. cleobule*, *G. eversi*, and *G. palmae*), and Subclades E and  
187 F around 10 Mya. *G. palmae* is a sister species to *G. eversi* and *G. cleobule*, and it separated  
188 approximately 5.5 Mya. The only member of Subclade E, the most widespread species, *G. rhamni*,  
189 separated from the last group of species, Subclade F, around 8 Mya. And finally, Subclade F is  
190 divided into a branch of *G. farinosa* – which is sister to the branch of paraphyletic *G. cleopatra* –  
191 and *G. maderensis*, and it separated 5.5 Mya.

192

193 **Fig 4. Chronogram calculated by BEAST and biogeography models analysed by BGB.** Areas  
194 used for the BGB models are shown in the map with a scenario of dispersal among them; \*marks  
195 the results for a *reduced* dataset with samples shrunk to 16 OUT.

196

## 197 **Biogeographic analysis**

198 The BioGeoBears analysis had shown that the most favoured biogeographic model for the  
199 *full* dataset was DIVALIKE+J, a dispersal-vicariance model with a founder effect, whereas the most

200 favoured model for the *reduced* dataset was DIVALIKE (Table 2). The two models are almost  
 201 identical: the main difference is in a wider distribution of the ancestor of *G. nepalensis*, *G. maxima*,  
 202 and *G. amintha* (Fig 4). The most frequent biogeographic events were dispersals (26 events) and  
 203 vicariance (18 events). Biogeographic analysis (Fig 4) shows that the common ancestor of  
 204 *Gonepteryx* inhabited a wide area spanning from the Canary Islands through the Mediterranean and  
 205 mountains of South Asia, all the way to East Asia including Taiwan. The genus vicariantly  
 206 speciated into three clades: Clade A had remained in East Asia, Clade B originated in South Asia  
 207 but dispersed also to East Asia, and finally, Clade C originated in the Mediterranean and the Canary  
 208 Islands, and then spread to Madeira, boreal part of Eurasia, and the mountains of South Asia with  
 209 *G. rhamni* becoming the most widespread *Gonepteryx* species of all. A group consisting of *G.*  
 210 *eversi*, *G. cleobule*, and *G. palmae* (Subclade D) separated from other species and remained in the  
 211 area of the Canary Islands.

212

213 **Table 2. Parameters of biogeographic models of the genus *Gonepteryx* conducted in**  
 214 **BioGeoBears.** By the lowest AICc, DIVALIKE+J model was selected as best corresponding to the  
 215 *full* dataset and DIVALIKE to the *reduced* dataset. *Full* dataset – all specimens used for the  
 216 calculations; *reduced* dataset – the samples were shrunk to 16 OTU (Table S1); LnL – likelihood of  
 217 the model; d – dispersal parameter; e – extinction parameter; j – founder effect.

Model	LnL	No. of parameters	d	e	j	AICc
<i>Full</i> dataset						
DEC	-106	2	0.009	1.0e-12	0.000	216.1
DEC+J	-80.7	3	1.0e-12	1.0e-12	0.017	167.7
DIVALIKE	-94.57	2	0.010	2.0e-09	0.000	193.3
DIVALIKE+J	-78.13	3	1.0e-12	1.0e-12	0.016	162.5
BAYAREALIKE	-155.1	2	0.011	0.130	0.000	314.3

BAYAREALIKE+J	-84.34	3	1.0e-07	1.0e-07	0.018	174.9
<i>Reduced dataset</i>						
DEC	-42.2	2	0.009	0.006	0.000	89.32
DEC+J	-36.58	3	0.004	1.0e-12	0.054	81.16
DIVALIKE	-37.68	2	0.009	1.0e-12	0.000	80.28
DIVALIKE+J	-36.43	3	0.007	1.9e-09	0.028	80.86
BAYAREALIKE	-49.79	2	0.011	0.110	0.000	104.5
BAYAREALIKE+J	-39.69	3	0.004	1.0e-07	0.11	87.39

218

## 219 **Ultraviolet patterns**

220           The evolution of ultraviolet patterns in male *Gonepteryx* butterflies shows that the common  
221 ancestor had a UV pattern on its forewings but only a little UV pattern on its hindwings (Fig 5). The  
222 relationship between the number of species and variability of their forewing UV patterns, omitting  
223 area A as the species are in reality allopatric, was significant ( $F=13.50$ ;  $df=1, 4$ ;  $p=0.021$ ) but there  
224 was no significant relation between the number of species and variability of the UV pattern on the  
225 hindwings ( $F=0.16$ ;  $df=1, 4$ ;  $p=0.708$ ). Bloomberg's K values for the UV pattern on forewings were  
226 1.229 ( $p<0.001$ ) and for the hindwings 1.312 ( $p<0.001$ ). Pagel's  $\lambda$  values for the forewings were  
227 0.99 ( $p<<0.001$ ) and for the hindwings 0.995 ( $p<<0.001$ ). This implies that UV patterns on both  
228 wings have a strong phylogenetic signal.

229

230 **Fig 5. The evolution of UV patterns in the genus *Gonepteryx* on the forewings (left) and**  
231 **hindwings (right) mapped on the BEAST chronogram.** Trait values define the size of UV pattern  
232 on a scale of 0 to 6 (Fig 3).

233

234           The extent of forewing surface covered with a UV pattern grew independently in the



235   Canarian species (*G. eversi*, *G. cleobule*, and *G. palmae*; Subclade D) and in *G. maderensis*  
236   (Subclade F), where however the increase in UV-reflective area may be due to convergence, and in  
237   the Clade B branch of *G. amintha* and *G. maxima*, while in *G. cleopatra*, the UV-reflective area  
238   grew little. In *G. farinosa*, UV pattern on the forewings disappeared completely and in *G. taiwana*,  
239   it is nearly absent.

240           UV patterns on the hindwings are not as common as UV patterns on the forewings. The  
241   most prominent hindwing pattern developed in the three Canarian species (*G. eversi*, *G. cleobule*,  
242   and *G. palmae*), while the Madeiran *G. maderensis* and Mediterranean *G. cleopatra* display a  
243   slightly smaller UV pattern on the hindwings but the pattern is still significantly larger than in the  
244   common ancestor. A small UV pattern, similar in size to the common ancestor, is found also in *G.*  
245   *maxima* and subspecies *G. amintha formosana* and *G. rhamni meridionalis*. Other taxa of the genus  
246   show no signs of UV patterns on their hindwings.

247

## 248   **Discussion**

### 249   **Phylogeny and biogeography**

250           We examined the phylogeny of the genus *Gonepteryx* and the evolution of UV patterns on  
251   its forewings and hindwings. The genus is divided in three main groups corresponding to the  
252   geographic areas they inhabit: an eastern and southern Asian group, including *G. taiwana*, *G.*  
253   *aspasia*, *G. nepalensis*, *G. amintha*, and *G. maxima* (Clades A and B), and a Eurasian group (Clade  
254   C), which can be further subdivided into a Canarian branch (Subclade D) and two continental  
255   branches (Subclades E and F) (Fig 4).

256           While most species are well defined, several species show deep splits: *G. alvinda*, treated by  
257   Bozano et al. [31] as a subspecies of *G. aspasia*, is probably a distinct species which separated app.  
258   10 Mya from the common ancestor of other *G. aspasia* populations; *G. cleopatra* is paraphyletic

259 with *G. maderensis* inside the group.

260 Biogeographic history of the genus shows some repeated patterns. First, in a few cases, a  
261 species originated in the south and then dispersed toward the north. In *G. rhamni*, specimens  
262 attributed to *ssp. meridionalis* (Armenia, Lebanon, Morocco) are basal to other populations. The  
263 same holds for *G. cleopatra* (including *G. maderensis*), where *ssp. taurica* from Cyprus and  
264 Lebanon is basal. Another repeated pattern is found in eastern Asian clades, where despite the  
265 relatively recent opening of the Taiwan strait, Taiwanese taxa had split from continental populations  
266 relatively early [cf. 51]. This is the case of *G. taiwana* vs. *aspasia* as well as *amintha formosana*  
267 and other *amintha* subspecies.

268

## 269 **The origin and evolution of UV reflectance**

270 The common ancestor of genus *Gonepteryx* had a UV pattern on both forewings and  
271 hindwings, whereby the UV-reflective area on the hindwings was much smaller than on the  
272 forewings (Fig 5). The evolution of UV patterns is driven by phylogeny, which is why in some  
273 instances we find convergent development or convergence towards disappearance of a UV pattern.  
274 In species inhabiting the Canary Islands, the Mediterranean, and north-west Africa, UV-reflective  
275 area grew significantly on both forewings and hindwings. In the branch containing *G. amintha* and  
276 *G. maxima*, UV pattern grew on the forewings only. UV patterns on the forewings tends to retain  
277 their size or expand in the course of evolution. The only exceptions to this rule are *G. taiwana*,  
278 where the pattern shrank significantly, and *G. farinosa*, where it disappeared altogether. On the  
279 hindwings, on the other hand, UV patterns were smaller already in the ancestor and in the course of  
280 evolution, they tended to disappear.

281 It ought to be mentioned, however, that the categories (Fig 3) used in this study do not  
282 capture some of the subtler differences in the size of UV-reflective areas. For example, *G. amintha*  
283 and *G. nepalensis* belong to the same category although the reflecting area in *G. nepalensis* is

284 larger. Moreover, measurements of just a limited number of individuals cannot capture the full  
285 variability of UV patterns, such as differences in small reflecting dots. These may be very small  
286 (e.g. in *G. rhamni rhamni*) or highly distinctive (e.g. in *G. nepalensis* or *G. taiwana*). In our study,  
287 we also compared only the size and shape of UV-reflective areas, not the intensity of reflection. The  
288 intensity, however, is so variable that such comparisons probably would not yield any significant  
289 results [15].

290         It remains to be seen what the role of UV patterns in the *Gonepteryx* is. Ultraviolet patterns  
291 can serve as a defence mechanism against predators, either to distract from the important body parts  
292 [52], or to imitate habitat characteristics [53]. More frequently, however, UV patterns are associated  
293 with sexual selection [20]. It has been shown that they can have an important function in mate  
294 recognition [12,54]. Mate selection, however, is affected not only by the presence or absence of a  
295 UV pattern, but also its properties, such as the intensity (brightness) of UV reflection [33,55,56]. In  
296 some species, the pattern could be significantly affected by the environment (temperature, larval  
297 food resources, etc.) where an individual developed [57,58], in which case UV ornaments would be  
298 condition-dependent and indicate the qualities of a potential mate [59]. Nevertheless, in *Gonepteryx*  
299 butterflies we still have no direct evidence that UV patterns indeed play a role in sexual selection.  
300 Our assumptions therefore rest merely on indirect evidence [27,28] or analogies with other species  
301 where the role of UV pattern in sexual selection has been convincingly demonstrated.

302         An interesting result of our study is that UV patterns completely disappeared in *G. farinosa*,  
303 that is, in a species which is in many areas sympatric with *G. rhamni*. Moreover, UV patterns  
304 became considerably smaller in *G. taiwana* which is sympatric with *G. amintha formosana*. In this  
305 sense, it is also interesting that all *G. amintha* subspecies have the same UV pattern on forewings  
306 but strikingly different patterns on the hindwings. It indicates that in this species, hindwing UV  
307 patterns may play a crucial role in mate recognition [27]. By analogy with results pertaining to  
308 *Colias* butterflies, the fact that iridescent UV patterns change in the course of evolution more than  
309 other characteristics, such as the colour of pigmentation, suggests that UV patterns indeed play a

310 role in mate recognition [16,60]. Nevertheless, a direct proof of this function of UV colouration in  
311 *Gonepteryx* butterflies would require behavioural experiments which, to the best of our knowledge,  
312 have not yet been undertaken.

313 Possible future studies could focus on uncovering relationships between the phylogeny and  
314 UV reflectance patterns in other genera of Pieridae, which would place our results in a wider  
315 context. Another interesting topic might be a more thorough exploration of the taxonomic position  
316 of the handful of problematic species, such as *G. nepalensis*, *G. cleopatra*, or the situation of *G.*  
317 *aspasia* and *G. acuminata* on the Korean Peninsula.

318

## 319 **Acknowledgements**

320 We would like to thank Layla El Hajj, Vladimír Hula, Josef Jaroš, Jiří Rieger, Vladimír  
321 Vrabc, Pavel Vrba, and Zdeněk Weidenhoffer, who enabled us to study their collection material.  
322 Other material was kindly provided by Jiří Beneš, Oldřich Čížek, Milan Kopp, Dmitriy V. Morgun,  
323 Andro Truuverk, and Michal Zapletal. We would like to thank Anna Pilátová for English  
324 proofreading.

325

## 326 **References**

- 327 1. Lubbock J. Ants, bees, and wasps. A record of observations on the habits of the social  
328 Hymenoptera. New York: D. Appleton and Co.; 1882.
- 329
- 330 2. Tovée MJ. Ultra-violet photoreceptors in the animal kingdom: Their distribution and function.  
331 Trends Ecol Evol. 1995; 10: 455-459.
- 332
- 333 3. Fleishmann L, Leal M, Loew E. Ultraviolet vision in lizards. Nature. 1993; 365: 397–397.
- 334
- 335 4. Burkhardt D. Birds, berries and UV. Naturwissenschaften. 1982; 69: 153–157.
- 336

- 337 5. Burkhardt D. UV vision: a bird's eye view of feathers. *J Comp Physiol. A.* 1989; 164: 787-796.  
338
- 339 6. Bennett ATD, Cuthill IC. Ultraviolet vision in birds: What is its function? *Vision Res.* 1994; 34:  
340 1471-1478.  
341
- 342 7. Jacobs GH, Neitz J, Deegan JF. Retinal receptors in rodents maximally sensitive to ultraviolet  
343 light. *Nature.* 1991; 353: 655-656.  
344
- 345 8. Heiling AM, Herberstein ME, Chittka L. Pollinator attraction: Crab-spiders manipulate flower  
346 signals. *Nature.* 2003; 421: 334.  
347
- 348 9. Heiling AM, Chittka L, Cheng K, Herberstein ME. Colouration in crab spiders: Substrate choice  
349 and prey attraction. *J Exp Biol.* 2005; 208: 1785–1792.  
350
- 351 10. Pope RD, Hinton HE. A preliminary survey of ultraviolet reflectance in beetles. *Biol J Linn Soc*  
352 *Lond.* 1977; 9: 331-348.  
353
- 354 11. Nekrutenko YP. Gynandromorphic effect and the optical nature of hidden wing-pattern in  
355 *Gonepteryx rhamni* L. (Lepidoptera, Pieridae). *Nature.* 1965; 205: 417-418.  
356
- 357 12. Silberglied RE, Taylor OR. Ultraviolet reflection and its behavioral role in courtship of sulfur  
358 butterflies *Colias eurytheme* and *Colias philodice* (Lepidoptera, Pieridae). *Behav Ecol Sociobiol.*  
359 1978; 3: 203-243.  
360
- 361 13. Silberglied RE. Communication in the ultraviolet. *Annu Rev Ecol Evol Syst.* 1979; 10: 373-398.  
362
- 363 14. Eguchi E, Meyer-Rochow VB. Ultraviolet photography of forty three species of Lepidoptera  
364 representing ten families. *Annot Zool Jpn.* 1983; 56: 10-18.  
365
- 366 15. Brunton CFA, Majerus MEN. Ultraviolet colors in butterflies— intraspecific or inter-specific  
367 communication. *Proc R Soc Lond B Biol Sci.* 1995; 260: 199-204.  
368
- 369 16. Kemp DJ, Rutowski RL, Mendoza M. Colour pattern evolution in butterflies: A phylogenetic  
370 analysis of structural ultraviolet and melanic markings in North American sulphurs. *Evol Ecol Res.*  
371 2005; 7: 133-141.  
372
- 373 17. Ghosh S, Mishra M. Fine nanostructural variation in the wing pattern of a moth *Chiasmia*  
374 *eleonora* Cramer (1780). *J Biosci.* 2018; 43: 673-384.  
375
- 376 18. Obara Y, Hidaki T. Recognition of the female by the male, on the basis of ultra-violet reflection,  
377 in the white cabbage butterfly, *Pieris rapae crucivora* Boisduval. *Proc Jpn Acad.* 1968; 44: 829-

- 378 832.  
379
- 380 19. Silberglied RE. Visual communication and sexual selection among butterflies. In: Vane-Wright  
381 RI, Ackery PR, editors. The biology of butterflies. London: Academic Press; 1984. pp. 207-223.  
382
- 383 20. Kemp DJ, Rutowski RL. The role of coloration in mate choice and sexual interactions in  
384 butterflies. *Adv Study Behav.* 2011; 43: 55-92.  
385
- 386 21. Stella D, Fric ZF, Rindoš M, Kleisner K, Pecháček P. Distribution of ultraviolet ornaments in  
387 *Colias* butterflies (Lepidoptera: Pieridae). *Environ Entomol.* 2018; 47: 1344-1354.  
388
- 389 22. Brunton CFA. The evolution of ultraviolet patterns in European *Colias* butterflies (Lepidoptera,  
390 Pieridae): A phylogeny using mitochondrial DNA. *Heredity.* 1998; 80: 611-616.  
391
- 392 23. Makino K, Satoh K, Ueno N. Sex in *Pieris rapae* L. and the pteridin content of their wings.  
393 *Nature.* 1952; 170: 933- 934.  
394
- 395 24. Mazokhin-Porshniakov GA. Reflecting properties of butterfly wings and the role of ultra-violet  
396 rays in the vision of insects. *Biophysics.* 1957; 2: 285-296.  
397
- 398 25. Nekrutenko YP. The hidden wing-patterns of some Palearctic species of *Gonepteryx* and its  
399 taxonomic value. *J Res Lepid.* 1964; 3: 65-68.  
400
- 401 26. Pirih P, Wilts BD, Stavenga DG. Spatial reflection patterns of iridescent wings of male pierid  
402 butterflies: curved scales reflect at a wider angle than flat scales. *J Comp Physiol A Neuroethol*  
403 *Sens Neural Behav Physiol.* 2011; 197: 987-997.  
404
- 405 27. Pecháček P, Stella D, Kleisner K. A morphometric analysis of environmental dependences  
406 between ultraviolet patches and wing venation patterns in *Gonepteryx* butterflies (Lepidoptera,  
407 Pieridae). *Evol Ecol.* 2019; 33: 89-110.  
408
- 409 28. Pecháček P, Stella D, Keil P, Kleisner K. Environmental effects on the shape variation of male  
410 ultraviolet patterns in the Brimstone butterfly (*Gonepteryx rhamni*, Pieridae, Lepidoptera).  
411 *Naturwissenschaften.* 2014; 101: 1055-1063.  
412
- 413 29. Nekrutenko YP. Phylogeny and geographical distribution of the genus *Gonepteryx*  
414 (Lepidoptera, Pieridae): An attempt of study in historical zoogeography. Kiev: Naukova dumka;  
415 1968.  
416
- 417 30. Kudrna O. A revision of the genus *Gonepteryx* Leach (Lep., Pieridae). *Entomol Gaz.* 1975; 26:  
418 3-37.

419

420 31. Bozano GC, Coutsis JG, Heřman P, Allegrucci G, Cesaroni D, Sbordoni V. Guide to the  
421 Butterflies of the Palearctic Region. Pieridae, Part III, Subfamily Coliadinae, Tribes Rhodocerini,  
422 Euremini, Coliadini, Genus *Catopsilia* & Subfamily Dismorphiinae. Milano: Omnes Artes; 2016.

423

424 32. Obara Y. Studies on the mating behaviour of the White Cabbage Butterfly *Pieris rapae*  
425 *crucivora* Boisduval III. Near-ultra-violet reflection as the signal of intraspecific communication. *Z*  
426 *Vgl Physiol.* 1970; 69: 99–116.

427

428 33. Papke R, Kemp D, Rutowski R. Multimodal signalling: structural ultraviolet reflectance  
429 predicts male mating success better than pheromones in the butterfly *Colias eurytheme* L.  
430 (Pieridae). *Anim Behav.* 2007; 73: 47-54.

431

432 34. Wahlberg N, Wheat CW. Genomic outposts serve the phylogenomic pioneers: designing novel  
433 nuclear markers for genomic DNA extractions of Lepidoptera. *Syst Biol.* 2008; 57: 231-242.

434

435 35. Kearse M, Moir R, Wilson A, Stones-Havas S, Cheung M, Sturrock S, Buxton S, Cooper A,  
436 Markowitz S, Duran C, Thierer T, Ashton B, Mentjies P, Drummond AJ. Geneious Basic: an  
437 integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence  
438 data. *Bioinformatics.* 2012; 28: 1647-1649.

439

440 36. Lanfear R, Calcott B, Ho SYW, Guindon S. PartitionFinder: Combined selection of partitioning  
441 schemes and substitution models for phylogenetic analyses. *Mol Biol Evol.* 2016; 29: 1695-1701.

442

443 37. Nguyen L-T, Schmidt HA, von Haeseler A, Minh BQ. IQ-TREE: A fast and effective stochastic  
444 algorithm for estimating maximum likelihood phylogenies. *Mol Biol Evol.* 2015; 32:268-274.

445

446 **38. Hoang DT, Chernomor O, von Haeseler A, Minh BQ, Vinh LS.** UFBoot2: Improving the  
447 ultrafast bootstrap approximation. *Mol Biol Evol.* 2018; 35: 518-522.

448

449 39. Ronquist F, Huelsenbeck JP. MRBAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed  
450 models. *Bioinformatics.* 2003; 19: 1572-1574.

451

452 40. Drummond AJ, Suchard MA, Xie D, Rambaut A. Bayesian phylogenetics with BEAUti and the  
453 BEAST 1.7. *Mol Biol Evol.* 2012; 29: 1969-1973.

454

455 41. Rota J, Malm T, Chazot N, Peña C, Wahlberg N. A simple method for data partitioning based  
456 on relative evolutionary rates. *Peer J.* 2018; 6: e5498.

457

458 42. Rambaut A, Drummond AJ, Xie D, Baele G, Suchard MA. Posterior summarisation in Bayesian  
459 phylogenetics using Tracer 1.7. *Syst Biol.* 2018; **67: 901-904.**

460

- 461 43. Miller MA, Pfeiffer W, Schwartz T. Creating the CIPRES Science Gateway for inference of  
462 large phylogenetic trees. In: Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop  
463 (GCE). New Orleans: IEEE; 2010.
- 464
- 465 44. Yu Y, Harris AJ, Blair C, He X. RASP (Reconstruct Ancestral State in Phylogenies): A tool for  
466 historical biogeography. *Mol Phylogenet Evol.* 2015; 87: 46-49.
- 467
- 468 45. Matzke NJ. Model selection in historical biogeography reveals that founder-event speciation is  
469 a crucial process in island clades. *Syst Biol.* 2014; 63: 951-970.
- 470
- 471 46. Rohlf FJ. TpsDig2 (version 2.17). Department of Ecology and Evolution, State University of  
472 New York at Stony Brook; 2013.
- 473
- 474 47. Revell LJ. Phytools: An R package for phylogenetic comparative biology (and other things).  
475 *Methods Ecol Evol.* 2012; 3: 217-223.
- 476
- 477 48. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for  
478 Statistical Computing. Vienna, Austria; 2013. Available from <https://www.R-project.org/>
- 479
- 480 49. Bloomberg SP, Garland TJr, Ives AR. Testing for phylogenetic signal in comparative data:  
481 Behavioral traits are more labile. *Evolution.* 2007; 57: 717-745.
- 482
- 483 50. Pagel M. Inferring the historical patterns of biological evolution. *Nature.* 1999; 401: 877-884.
- 484
- 485 51. Liu J, Li T, Xiang R, Chen M, Yan W, Chen Z, Liu F. Influence of the Kuroshio Current  
486 intrusion on Holocene environmental transformation in the South China Sea. *Holocene.* 2013; 23:  
487 850-859.
- 488
- 489 52. Olofsson M, Vallin A, Jakobsson S, Wiklund C. Marginal eyespots on butterfly wings deflect  
490 bird attacks under low light intensities with UV wavelengths. *PLOS One.* 2010; 5: e10798.
- 491
- 492 53. Zapletalová L, Zapletal M, Konvička M. Habitat impact on ultraviolet reflectance in moths.  
493 *Environ Entomol.* 2016; 45: 1300-1305.
- 494
- 495 54. Obara Y, Majerus MEN. Initial Mate Recognition in the British Cabbage Butterfly, *Pieris rapae*  
496 *rapae*. *Zoolog Sci.* 2000; 17:725-730.
- 497
- 498 55. Kemp DJ. Female butterflies prefer males bearing bright iridescent ornamentation. *Proc R Soc*  
499 *Lond B Biol Sci.* 2007; 274:1043-1047.
- 500
- 501 56. Kemp DJ. Female mating biases for bright ultraviolet iridescence in the butterfly *Eurema*



502 *hecabe* (Pieridae). Behav Ecol. 2008a; 19: 1-8.  
503  
504 57. Knüttel H, Fiedler K. Host-plant-derived variation in ultraviolet wing patterns influences mate  
505 selection by male butterflies. J Exp Biol. 2001; 204: 2447-2459.  
506  
507 58. Kemp DJ, Rutowski RL. Condition dependence, quantitative genetics, and the potential signal  
508 content of iridescent ultraviolet butterfly coloration. Evolution. 2007; 61:168-183.  
509  
510 59. Kemp DJ. Resource-mediated condition dependence in sexually dichromatic butterfly wing  
511 coloration. Evolution. 2008b; 62: 2346-2358.  
512  
513 60. Brunton CFA. The evolution of ultraviolet patterns in European *Colias* butterflies (Lepidoptera,  
514 Pieridae): A phylogeny using mitochondrial DNA. Heredity. 1998; 80: 611-616.  
515  
516  
517

518

## 519 **Appendices**

520 **S1 Table. Samples of butterflies of the genus *Gonepteryx* used for the molecular phylogeny,**  
521 **biogeography and ancestral state reconstruction of UV pattern.** The table shows the repository  
522 of the specimens, the area used in BGB, the assigned OTU, the category of UV pattern on forewing  
523 (FW) and hindwing (HW) and GenBank accession numbers of individual genes (COI, *wingless*,  
524 *arginine kinase*).

525

526 **S1 Fig. Maximum Likelihood (ML, IQTree) of phylogeny of the butterfly genus *Gonepteryx*.**  
527 Species according Bozano et al. (2016) are shown in different colours.

528

529 **S2 Fig. Bayesian Inference (BI, MrBayes) reconstruction of phylogeny of the butterfly genus**  
530 ***Gonepteryx*.** Species according Bozano et al. (2016) are shown in different colours.

Fig 1

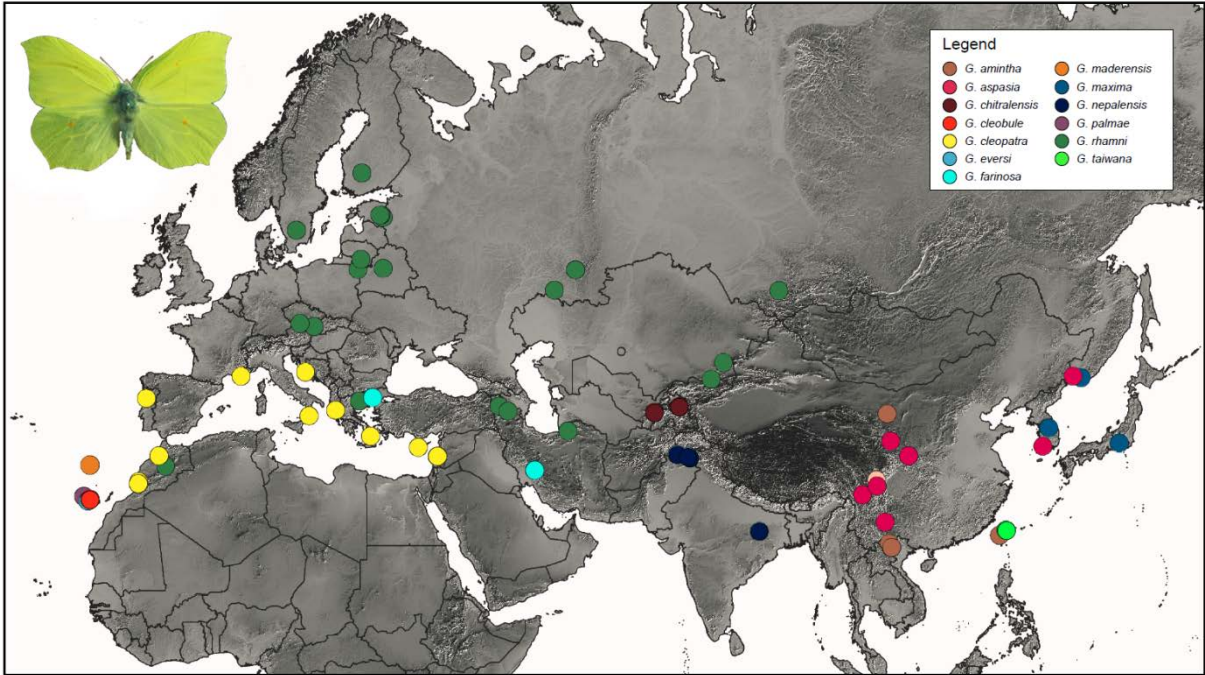


Fig 2

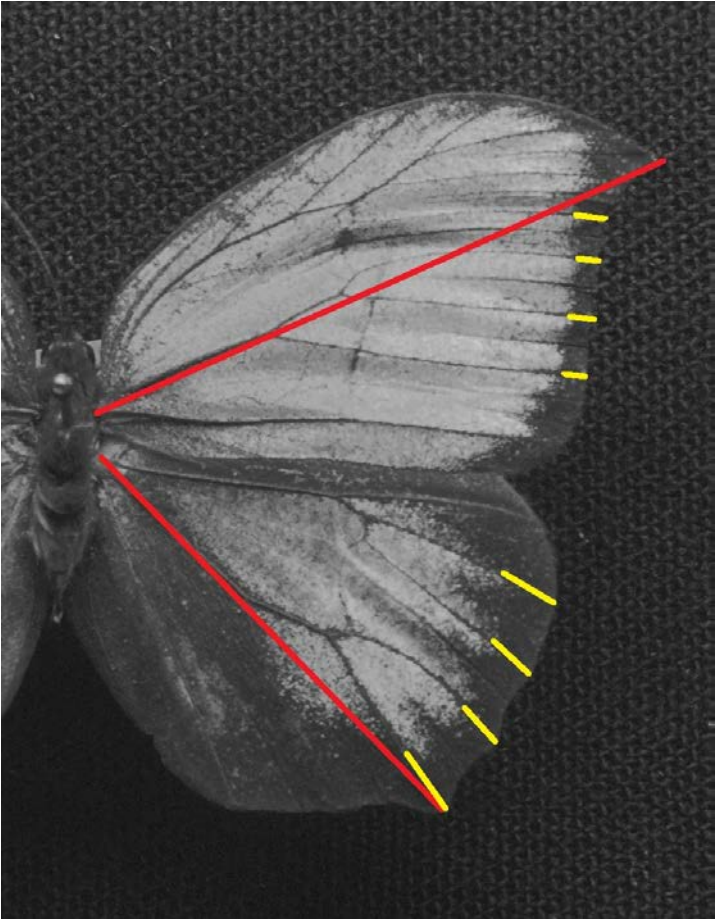


Fig 3

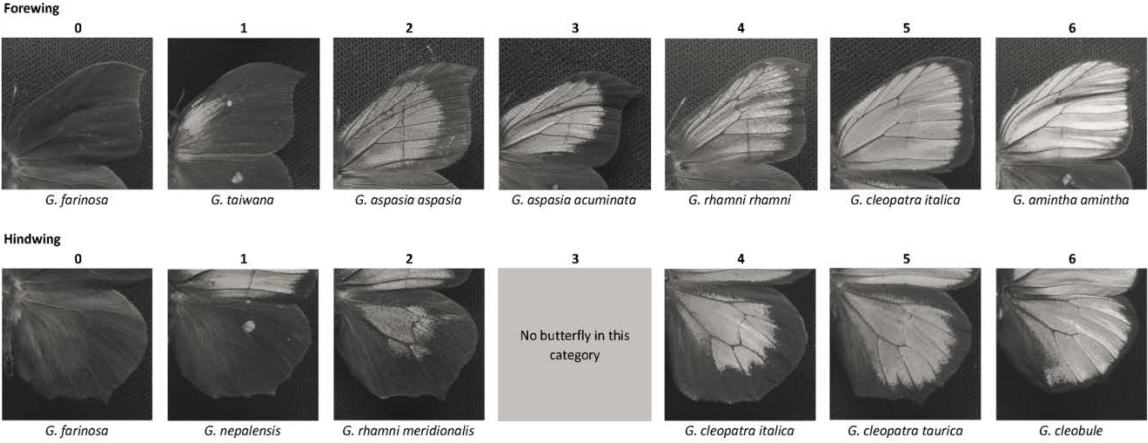


Fig 4

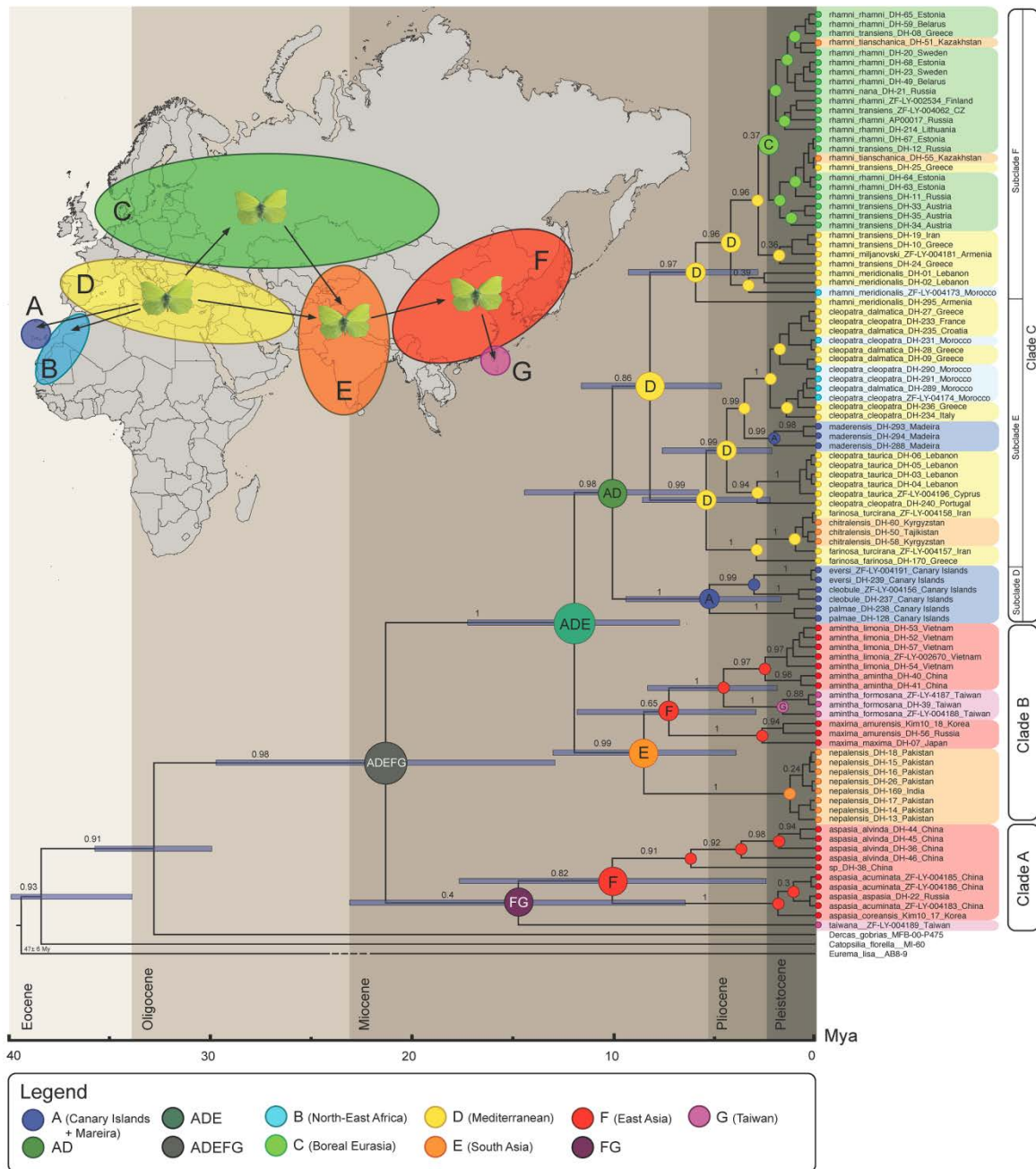


Fig 5

