

**Lepkék pikkelyeiben előforduló biológiai eredetű fotonikus
nanoarchitektúrák vizsgálata és alkalmazása**

PhD téziszfüzet

Piszter Gábor

Témavezetők: Prof. Biró László Péter, MTA levelező tagja

MTA Energiatudományi Kutatóközpont Műszaki Fizikai és Anyagtudományi Intézet

Dr. Kertész Krisztián

MTA Energiatudományi Kutatóközpont Műszaki Fizikai és Anyagtudományi Intézet

Konzulens: Dr. Barócsi Attila

Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem Természettudományi Kar

Budapest

(2018)

A kutatások előzménye

A természetben előforduló színek, különösen azok, amelyeket élő organizmusok állítanak elő, gyakran egyedülálló tulajdonságokkal rendelkeznek. A színek használatával az élőlények a környezetükhöz alkalmazkodnak, amelyek ezért különféle feladatok teljesítésére alakultak ki az evolúció évmilliói alatt. Segítségükkel az egyedek képesek rejtőzködni [Bond, 2002], figyelmeztetni vagy megtéveszteni a potenciális ragadozókat [Ruxton, 2004], illetve szexuális kommunikációs jelzéseként is szolgálnak [Kemp, 2007].

Az állatvilágban előforduló színek alapvetően kétféle módon keletkezhetnek. Az ún. kémiai színek eredete mindig valamilyen festékanyag, amely képes a fény szelektív molekuláris elnyelésére, visszaverve a látható spektrum bizonyos tartományait. A színeképzés másik, „fizikai” módja során a fény fotonikus nanoarchitektúra felületéről verődik vissza, mivel bizonyos hullámhossz-tartományok nem tudnak terjedni ebben a közegben [Biró, 2011]. A szerkezeti színek gyakran különleges optikai tulajdonságokkal is rendelkeznek. Mind az árnyalat, mind a visszavert intenzitás függhet a megvilágítás és a megfigyelés irányától, így a matt, egyszínű felszíntől [Kertész, 2006] a fémesen csillogó [Plattner, 2004] és színjátékos [Yoshioka, 2007] felületekig számtalan változat megfigyelhető.

Az elmúlt évtizedekben a fizika és az anyagtudomány szemszögéből közelítve a biológiai eredetű szerkezeti színek feltérképezése, valamint az azokat előállító fotonikus nanoarchitektúrák működésének megismerése volt az egyik legfontosabb feladat. Az így megszerzett tudás ihletet adott mesterséges, „bioinspirált” nanoarchitektúrák létrehozásához [Zhao, 2012], később a potenciális alkalmazási lehetőségek is előtérbe kerültek [Potyralo, 2013]. Fontos azonban a szerkezeti színekkel kapcsolatos biológiai háttérű kérdések vizsgálata is. Például az egyedek és a populáció egésze szempontjából lényeges biológiai funkciók feltárása, mint a szerkezeti színek szerepe a lepkék életében, valamint a természetes változatosság kérdése egy-egy populáción belül, ami információval szolgálhat az élőlények életmódjáról, fejlődéséről, valamint a szerkezeti színek kialakulásának részleteiről. Az így feltárt összefüggések eredményesen hasznosíthatók az olyan alkalmazások esetében is, amelyek biológiai eredetű mintákat használnak fel.

Célkitűzések

Jelen disszertációban a boglárkalepkék kék hímjeinek szárnyán előforduló fotonikus nanoarchitektúrákat tanulmányoztam anyagtudományi vizsgálati módszerekkel (optikai mikroszkópia, pásztázó és transzmissziós elektronmikroszkópia), valamint a létrejövő

szerkezeti szín tulajdonságait különféle optikai spektrometriai technikákkal jellemeztem. Kapcsolatot kerestem a fizikai jellemzők és a biológiai funkció között, és az így megszerzett tudást a lepkeszárny gőzérzékelő szenzorként való alkalmazásában hasznosítottam.

Az eredményeimet tartalmazó fejezet első részében kilenc, azonos élőhelyen élő, közeli rokonságban lévő boglárkalepkefaj szerkezeti színének és fotonikus nanoarchitektúrájának fajspecifikusságát vizsgáltam meg, és kapcsolatot kerestem a szárnyak színárnyalata és a fajok repülési idejének éven belüli eloszlása között.

A másodikban két, hasonló színű és azonos élőhelyen élő, de eltérő párválasztási stratégiát folytató boglárkalepkefaj szerkezeti színének természetes változatosságát vizsgáltam meg. Továbbá arra a kérdésre kerestem a választ, hogy az Ikarusz boglárka (*Polyommatus icarus*) egyedek bábállapotban történő, kontrollált hűtésével hogyan módosítható a felszín kék színe és a fonákoldali mintázat.

A harmadikban az Ikarusz boglárka hímek szárnyán található fotonikus nanoarchitektúrát optikai elvű gőzérzékelő szenzorként használtam fel. Megmutattam, hogy ez a szenzoranyag kémiaiileg szelektív érzékelést tesz lehetővé, és a fotonikus nanoarchitektúra felületének módosításával a gőzérzékelési tulajdonságok is megváltoztathatóak.

Vizsgálati módszerek

A dolgozatban biológiai eredetű minták optikai és szerkezeti tulajdonságait vizsgáltam meg különféle anyagtudományi módszerek segítségével. A lepkék szárnypikkelyeiben előforduló fotonikus nanoarchitektúrák jellemzően a 100 nanométeres skálán strukturált nanokompozitok, ezért a szerkezetük feltérképezéséhez az optikai mikroszkópiánál nagyobb feloldóképességű technikák alkalmazása is szükséges. A pásztázó elektronmikroszkópia (SEM) részletgazdag felvételeket szolgáltat a fotonikus nanoarchitektúrák felületéről, míg a minták metszetéről készített transzmissziós elektronmikroszkópos (TEM) felvételekből a szerkezetek háromdimenziós felépítésére következtethetünk. A szárnypikkelyekről készült SEM és TEM képeken szerkezeti elemzést végeztem az Nanoszerkezetek Osztályon kifejlesztett Biophot Analyzer szoftver segítségével, és az így kinyert adatokat további feldolgozásnak vettem alá mesterséges neurális hálózatokat (ANN) alkalmazó kiértékelés használatával.

A szárnypikkelyeken látható szerkezeti színt és irideszcenciát szabad szemmel, illetve optikai mikroszkóppal is vizsgálhatjuk. A lepkeszárnyak színeiről kvantitatív jellemzést

legjobban a látható és közeli UV tartományú fényben mért visszavert spektrumok adnak. Méréseim során különböző optikai összeállításokban vizsgáltam meg a szárnyakról visszavert fény hullámhossz szerinti intenzitáseloszlását egy moduláris spektrofotométer segítségével. Ugyanezzel az eszközzel vizsgáltam a lepkeszárny különféle gőzök hatására bekövetkező színváltozásait is. A spektrális mérések során kinyert adatokat a boglárkalepkék színérzékelésén alapuló ábrázolásmód segítségével elemeztem, amelyről főkomponens-analízis segítségével azt is megmutattam, hogy a vizsgált hullámhossz-tartományban az adatok lehető legjobb szétválását adja. A vizsgált boglárkalepke-fajok szerkezeti színeiről az ANN alapú kiértékelés használatával mutattam meg, hogy hasonlóan a fotonikus nanoarchitektúrák szerkezeti jellemzőihez, fajspecifikusak.

Új tudományos eredmények

1.A. A Normafa környéki Boglárka-rokonú lepkék esetében megvizsgáltam a hímek dorzális szárnyfelszínén megjelenő szerkezeti eredetű kék színük és az azt előállító fotonikus nanoarchitektúra optikai és szerkezeti tulajdonságait. Először mutattam meg, hogy mind a kilenc vizsgált faj szerkezeti kék színe fajspecifikus, azaz a mért visszaverési spektrumok alapján az egyes fajok nagy pontossággal azonosíthatók mesterséges neurális hálózat alapú kiértékelés használatával.

1.B. A boglárkalepkék színérzékelésének felhasználásával először készítettem el ezen állatok háromdimenziós színingenterét, amelyben a szárnyak dorzális oldaláról merőleges beesésű fényvisszaveréssel mért adatokat ábrázolva megállapítottam, hogy az egyes fajok egyedeinek megfelelő pontok csoportosulnak, míg a különböző fajok elkülönülnek egymástól. A Normafa környéki lepkepopuláció repülési hisztogramja alapján kimutattam, hogy a hasonló színárnyalatú fajok időben eltolva vannak jelen az élőhelyükön, így a vizuális szexuális kommunikáció hatékonyan megvalósulhat.

1.C. Pásztázó és transzmissziós elektronmikroszkópos felvételek alapján először jellemeztem részletesen a vizsgált kilenc faj fotonikus nanoarchitektúráit. Mesterséges neurális hálózatos kiértékeléssel megmutattam, hogy a szerkezeti szint előállító fotonikus nanoarchitektúra is fajspecifikus, azaz a mikroszkópos felvételeken mért szerkezeti paraméterek alapján az egyes lepkék faja egyértelműen meghatározható.

Tézisponthoz tartozó publikációk: [T1], [T2]

2.A. A *Polyommatus icarus* és *Plebejus argus* fajok szerkezeti színeiről megmutattam, hogy fajspecifikusak. Összehasonlítottam a merőleges beesésű fényvisszaveréssel mért adatok és az integrálgömbbel mért adatok szórási tulajdonságait, és megmutattam, hogy ez utóbbi optikai mérési összeállítás alkalmasabb a fajon belüli színbeli változatosság vizsgálatára. Fajonként 25-25 példány mind a négy szárnyának részletes vizsgálatával (100-100 minta) először mutattam ki, hogy a szerkezeti szín kismértékű, fajon belüli változatosságának mértéke nem függ a vizsgált lepkék fajtájától, illetve párkeresési stratégiájától, ami a szerkezeti szín szexuális jelzőszínként történő használatának tulajdonítható. Megmutattam, hogy a két faj szerkezeti színének fényessége kapcsolatban van a párkeresési stratégiájukkal: a járőröző faj színe intenzívebb a területőrző társáénál.

2.B. Megmutattam, hogy a *Polyommatus icarus* bábok hosszú ideig tartó hűtésével lehetséges a kifejlett állatok fizikai jellemzőinek módosítása. Saját tenyésztésű lepkék bábjait tíz naptól mintegy két hónapig hűtve bemutattam, hogy a fonákmintázat pigment eredetű színei a hűtési idővel egyenesen arányosan változnak meg. Ezzel szemben a szerkezeti szín spektrális tulajdonságai csak kismértékben függték a hűtési időtől, az egyedi variációk jelenléte sokkal hangsúlyosabb volt, ami a faj rejtett genetikai variációival magyarázható.

Tézisponthoz tartozó publikációk: [T3], [T4]

3.A. Megmutattam, hogy a boglárkalepkék szerkezeti színe reverzibilisen és reprodukálható módon megváltozik, ha a szárnyakat körülvevő levegő atmoszférát valamilyen oldószer gőzeinek és levegőnek a keverékére cseréljük. Kifejlesztettem egy mérési protokollt és egy adatfeldolgozó szoftvert, amelyekkel kimutattam, hogy a lepkeszárny alapú gőzérzékelő szenzor színváltozása egyenesen arányos az etanolgőz koncentrációjával.

3.B. A lepkék háromdimenziós színingenterét felhasználva megmutattam, hogy hét alkalmazott gőz hatására a hím *Polyommatus icarus* lepkék kék színe úgy változik meg, hogy a változás jellege és mértéke anyagspecifikus, azaz a szárny kémiaiilag szelektív érzékelőként működik. Az eredmények főkomponens-analízissel történő ellenőrzésével bemutattam, hogy a lepkék színingenteré az adatok optimális szétválását adja, tehát alkalmas eszköz a gőzérzékelési mérések kiértékelésére.

3.C. Megmutattam, hogy a gőzérzékelés meghatározó folyamata az alacsony koncentrációk tartományában a kapilláris kondenzáció, míg a magas koncentrációk esetén a kitin fotonikus nanoarchitektúra megdagadása dominál. A szárnypikkelyekben lévő fotonikus nanoarchitektúrát 5 nm vastag Al_2O_3 bevonattal láttam el. Igazoltam, hogy a kitin

elszigetelésével megszűnik a fotonikus nanoarchitektúra megdagadásából származó színváltozás, ami az érzékenység és a kémiai szelektivitását leromlását okozza.

3.D. A lepkeszárnyakat különféle oldószerekbe áztatva megmutattam, hogy az előkezelés hatással van a kémiai szelektivitásra és az érzékenységre is. A lepkeszárny etanolban történő 14 napos áztatása mind a kémiai szelektivitást, mind a spektrális válaszjel intenzitását megnövelte.

Tézisponthoz tartozó publikációk: [T5], [T6]

A tézispontokhoz kapcsolódó tudományos közlemények

T1 Piszter G., Kertész K., Vértesy Z., Bálint Zs., Biró L. P.: Color based discrimination of chitin–air nanocomposites in butterfly scales and their role in conspecific recognition. *Analytical Methods* **3** (2011) 78–81.



A munka megjelent a folyóirat címlapján is:

T2 Bálint Zs., Kertész K., Piszter G., Vértesy Z., and Biró L. P.: The well-tuned Blues: the role of structural colours as optical signals in the species recognition of a local butterfly fauna (Lepidoptera: Lycaenidae: Polyommatainae). *Journal of the Royal Society Interface* **9** (2012) 1745–1756.

T3 Piszter G., Kertész K., Bálint Zs., Biró L. P.: Variability of the structural coloration in two butterfly species with different prezygotic mating strategies. *PLoS ONE* **11** (2016) e0165857.

T4 Kertész K., Piszter G., Horváth Z. E., Bálint Zs., Biró L. P.: Changes in structural and pigmentary colours in response to cold stress in *Polyommatus icarus* butterflies. *Scientific Reports* **7** (2017) 1118.

T5 Piszter G., Kertész K., Vértesy Z., Bálint Zs., and Biró L. P.: Substance specific chemical sensing with pristine and modified photonic nanoarchitectures occurring in blue butterfly wing scales. *Optics Express* **22** (2014) 22649–22660.

A fenti cikket a The Optical Society online folyóirata is átvette:

T6 Piszter G., Kertész K., Bálint Zs., and Biró L. P.: Pretreated butterfly wings for tuning the selective vapor sensing. *Sensors* **16** (2016) 1446.

További tudományos közlemények

7 Bálint Zs., Wojtusiak J., Piszter G., Kertész K., and Biró L. P.: Spectroboard – an instrument for measuring spectral characteristics of butterfly wings – a new tool for taxonomists. *Genus* **21** (2010) 163–168.

8 Piszter G., Kertész K., Vértesy Z., Bálint Zs., and Biró L. P.: Photonic nanoarchitectures in butterfly scales allowing species identification. *Procedia Computer Science* **7** (2011) 200–201.

9 Piszter G., Kertész K., Vértesy Z., Márk G. I., Bálint Zs., Biró L. P.: Structure-color-species correlation in photonic nanoarchitectures occurring in blue lycaenid butterfly scales. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology* **11** (2012) 8822–8828.

10 Kertész K., Piszter G., Vértesy Z., Biró L. P., Bálint Zs.: Színek harmóniája: a boglárkalepkék szerkezeti kék színének fajfelismerési szerepe – I. rész. *Fizikai Szemle* **63** (2013) 231–235.

11 Kertész K., Piszter G., Vértesy Z., Biró L. P., Bálint Zs.: Színek harmóniája: a boglárkalepkék szerkezeti kék színének fajfelismerési szerepe – II. rész. *Fizikai Szemle* **63** (2013) 293–298.

12 Piszter G., Kertész K., Bálint Zs., Biró L. P.: Matematikai pontossággal látnak a lepkék. *Természet Világa* **146** (2015) 112–115.

13 Kertész K., Piszter G., Jakab E., Bálint Zs., Vértesy Z., and Biró L. P.: Selective optical gas sensors using butterfly wing scales nanostructures. *Key Engineering Materials* **543** (2013) 97–100.

- 14** Kertész K., **Piszter G.**, Jakab E., Bálint Zs., Vértesy Z. & Biró L. P.: Color change of Blue butterfly wing scales in an air – vapor ambient. *Applied Surface Science* **281** (2013) 49–53.
- 15** Kertész K., **Piszter G.**, Jakab E., Bálint Zs., Vértesy Z., and Biró L. P.: Temperature and saturation dependence in the vapor sensing of butterfly wing scales. *Materials Science and Engineering C* **39** (2014) 221–226.
- 16** Kertész K., **Piszter G.**, Jakab E., Bálint Zs., Vértesy Z., and Biró L. P.: Vapor sensing on bare and modified blue butterfly wing scales. *Chemical Sensors* **4** (2014) 1–5.
- 17** **Piszter G.**, Kertész K., Bálint Zs., Vértesy Z., and Biró L. P.: Vapor sensing of pristine and ALD modified butterfly wings. *Materials Today: Proceedings* **1S** (2014) 216–220.
- 18** Kertész K., **Piszter G.**: Színes lepkeszárnyak nanoszerkezettől az alkalmazásig. *Élet és Tudomány* 2013/16. 499–501.
- 19** **Piszter G.**, Kertész K., Vértesy Z., Biró L. P., Bálint Zs., Jakab E.: Lepkeszárnyak fotonikus nanoarchitektúráinak gáz- és gőzérzékelési tulajdonságai. *Fizikai Szemle* **64** (2014) 120–125.
- 20** Bálint Zs., Katona G., Karácsonyi K. P., Kertész K., **Piszter G.**, Biró L. P.: Observations on the optical properties of an early summer blue butterfly community in transylvania, Romania (Lepidoptera: Lycaenidae, polyommataini). *Studia Universitatis Vasile Goldis Arad, Seria Stiintele Vietii* **24** (2014) 369–372.

Irodalmi hivatkozások listája

- Biró, L. P. *et al.* (2011) Photonic nanoarchitectures in butterflies and beetles: valuable sources for bioinspiration. *Laser Photon. Rev.* **5**, 27–51.
- Bond, A. B. *et al.* (2002) Visual predators select for crypticity and polymorphism in virtual prey. *Nature* **415**, 609–613.

- Kemp, D. J. (2007) Female butterflies prefer males bearing bright iridescent ornamentation. *Proc. Biol. Sci.* **274**, 1043–1047.
- Kertész, K. *et al.* (2006) Gleaming and dull surface textures from photonic-crystal-type nanostructures in the butterfly *Cyanophrys remus*. *Phys. Rev. E* **74**, 21922.
- Plattner, L. (2004) Optical properties of the scales of *Morpho rhetenor* butterflies: theoretical and experimental investigation of the back-scattering of light in the visible spectrum. *J. R. Soc. Interface* **1**, 49–59.
- Potyrailo, R. *et al.* (2013) Bionanomaterials and Bioinspired Nanostructures for Selective Vapor Sensing. *Annu. Rev. Mater. Res.* **43**, 307–334.
- Ruxton, D. G. *et al.* (2004) *Avoiding Attack: the Evolutionary Ecology of Crypsis, Warning Signals and Mimicry*, Oxford University Press.
- Yoshioka, S. *et al.* (2007) Polarization-sensitive color mixing in the wing of the Madagascan sunset moth. *Opt. Express* **15**, 2691–2701.
- Zhao, Y. *et al.* (2012) Bio-inspired variable structural color materials. *Chem. Soc. Rev.* **41**, 3297–3317.