

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS

**Reconhecimento de parentesco biológico em estágios imaturos
de *Heliconius erato phyllis* (Lepidoptera; Nymphalidae)**

Aluna: Janaína De Nardin

Orientador: Aldo Mellender de Araújo

Trabalho apresentado como requisito
para obtenção do grau de Bacharel no
Curso de Ciências Biológicas (Ênfase
Ambiental).

Porto Alegre, novembro de 2009.

Redigido segundo as normas do periódico *Animal Behaviour* (em anexo).

1 **Título:** Reconhecimento de parentesco biológico em estágios imaturos de
2 *Heliconius erato phyllis* (Lepidoptera; Nymphalidae)

3

4

5 Janaína De Nardin ^a e Aldo Mellender de Araújo ^a

6 ^a Laboratório de Genética Ecológica, Departamento de Genética, Instituto de
7 Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Porto Alegre, RS, Brasil.

8

9

10 Correspondência (Aldo Mellender de Araújo):

11

12

13 Departamento de Genética, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Av.
14 Bento Gonçalves, 9500, Prédio 43323, sala 207. CEP: 91501-970. Cx. Postal 15053,
15 Porto Alegre, RS, Brasil. Fone +55 51 3308-6715 Fax +55 51 3316-7311. E-mail:
16 aldo1806@gmail.com.

17

18

19 E-mail Janaína De Nardin: janaina.dn@gmail.com

20

21

22 Quantidade de palavras: 5071

23

24

25

26 O reconhecimento de parentes é importante para a evolução de comportamentos
27 como o altruísmo e a cooperação. A borboleta *Heliconius erato phyllis* apresenta um
28 comportamento que pode ser chamado de quase-social na fase adulta. Os ovos são
29 depositados individualmente, e as lagartas recém eclodidas são canibais, devorando os
30 ovos nas proximidades. Realizou-se uma série de testes sobre o canibalismo lagarta-
31 ovo, para verificar se há alguma forma de reconhecimento entre parentes e não-parentes
32 biológicos. Sobre um triângulo equilátero, de papel cartolina verde, com 0,5 cm de lado,
33 colocou-se um ovo em cada vértice. A variável analisada, após a emergência de uma
34 lagarta de primeiro ínstar, foi o canibalismo desta em relação aos ovos restantes. Três
35 etapas de testes foram implementadas: 1) dos três ovos, dois eram de irmãos e um
36 terceiro, não-parente, 2) os três ovos eram provenientes de três fêmeas independentes,
37 não-parentes e 3) os três ovos eram provenientes da mesma fêmea e, portanto, irmãos. A
38 frequência de canibalismo na etapa 1 foi de 66% para ovos não-parentes e 34% para
39 ovos irmãos, na etapa 2 foi de 83% e na etapa 3 de 53%. As diferenças foram
40 estatisticamente significativas. Os resultados encontrados mostram fortes evidências de
41 reconhecimento de parentes nas formas jovens dessa borboleta. Esse reconhecimento
42 pode ter sido importante na evolução do comportamento social da mesma e,
43 eventualmente, na atuação de seleção de parentesco. Estimativas de endocruzamento em
44 populações naturais dessa borboleta, através de marcadores moleculares, confirmam o
45 alto grau de parentesco entre os indivíduos de uma população.

46 **Palavras-chave:** reconhecimento de parentes, seleção de parentesco,
47 canibalismo lagarta-ovo, borboleta, Heliconiini

48 O reconhecimento de parentesco é definido como a capacidade de um indivíduo
49 reconhecer e preferencialmente se associar com indivíduos geneticamente relacionados
50 (Green et al. 2008). O processo de reconhecimento de parentes pode ser
51 conceitualmente dividido em três etapas: 1) uma marca (rótulo) de reconhecimento é
52 produzida, 2) um indivíduo percebe e interpreta essa marca e, conseqüentemente, 3) ele
53 age apropriadamente (Pfennig 1997).

54

55

56 Em organismos que vivem em grupos ou que tenham desenvolvido a
57 eusocialidade, o reconhecimento de parentes biológicos é importante para a evolução de
58 fenótipos como a cooperação, o altruísmo e até mesmo o canibalismo (ou predação
59 intraespecífica), sendo este último um fenômeno comum em muitos grupos
60 taxonômicos (Fox 1975; Elgar & Crespi 1992).

61

62

63 A evolução do comportamento altruísta tem intrigado biólogos por décadas, e
64 em muitas espécies tal comportamento tem evoluído através da seleção de parentesco
65 (Hamilton 1964; Wilson 1975; Trivers 1985; Hain e Neff 2007). O modelo básico para
66 a evolução do altruísmo, a regra de Hamilton (Hamilton 1964), inclui três termos: o
67 coeficiente de parentesco r , entre o altruísta e o indivíduo que recebe ajuda; o custo do
68 ato, c , em termos da produção de prole futura que o altruísta perde por comportar-se
69 altruisticamente; e o benefício do ato, b , em termos de prole extra que o indivíduo que
70 recebe ajuda ganha. Segundo essa teoria, um alelo para o altruísmo pode aumentar em
71 frequência na população se a seguinte desigualdade for satisfeita: $rb > c$. A soma da
72 prole do indivíduo altruísta e a de quem ele ajuda constitui a medida da aptidão

73 inclusiva (Hamilton 1964). A seleção de parentesco pode ser definida como a evolução
74 de características que favorecem a sobrevivência de parentes próximos do indivíduo
75 altruísta (Smith 1971). O reconhecimento de parentesco é comumente explicado pela
76 seleção de parentesco (Hamilton 1964) ou para evitar o endocruzamento (Léna e
77 Fraipont 1998). Em animais que vivem em grupos, a teoria prediz benefícios especiais
78 em cooperar com parentes (Hamilton 1964).

79

80

81 Os melhores contextos para se estudar a regra de Hamilton, a fim de determinar
82 se o reconhecimento de parentesco evoluiu através da seleção de parentesco, são
83 aqueles em que custos e benefícios podem ser estimados, e um desses contextos é o
84 canibalismo (Pfennig 1997). As vantagens óbvias do canibalismo são a obtenção da
85 refeição (do recurso alimentar), a eliminação de um potencial competidor e talvez de um
86 predador coespecífico em potencial (Fox 1975). Outro benefício adicional do
87 canibalismo diz respeito à aptidão inclusiva, onde o indivíduo canibal pode aumentar a
88 sobrevivência e reprodução de indivíduos relacionados por eliminar indivíduos não
89 relacionados. A teoria da aptidão inclusiva prevê que canibais que podem reconhecer e
90 evitar comer parentes devem ter vantagem sobre indivíduos que perderam essa
91 capacidade. Em essência, evitar o canibalismo de parentes é uma forma de nepotismo, e
92 qualquer gene que codifique este comportamento deveria difundir-se porque ele
93 promove a sobrevivência de cópias dele mesmo (Pfennig 1997). Já os custos do
94 canibalismo incluem os riscos associados com o ataque da presa que também pode ser
95 um predador (Elgar & Crespi 1992), o risco de transmissão de doenças e parasitas
96 hospedeiro-específicos (Pfennig et al.1998) e a perda potencial de aptidão inclusiva

97 quando um canibal mata e consome um indivíduo relacionado geneticamente
98 (Schausberger 2003).

99

100

101 Segundo Pfennig (1997), há vários trabalhos relatando sobre espécies canibais
102 que identificam e evitam comer parentes, como o tatuzinho do deserto *Hemilepistus*
103 *reaumuri*, o besouro *Labidomera clivicollis*, gerrídeos, o pica-pau *Melanerpes*
104 *formicivorus*, salamandras e muitas espécies de roedores.

105

106

107 No caso particular de Lepidoptera, muitas lagartas são canibais que ingerem
108 ovos, lagartas e algumas vezes pupas, o que foi evidenciado por vários pesquisadores
109 (Brower 1961; Schweitzer 1979; Joyner & Gould 1985; Pierce 1995; Reed et al. 1996;
110 Boots 1998; Sisgaard et al. 2002). No Brasil, há trabalhos com relação ao canibalismo
111 lagarta-ovo em *Ascia monuste* (Lepidoptera, Pieridae) (Barros-Bellanda & Zucoloto
112 2001, 2005; Zago-Braga & Zucoloto 2004). Entretanto, esses trabalhos não tratam do
113 reconhecimento de parentes, apenas relatam o canibalismo.

114

115

116 A borboleta *Heliconius erato phyllis* apresenta um comportamento que pode ser
117 chamado de quase-social, pois essas borboletas têm baixa dispersão, reúnem-se em
118 dormitórios comunais ao anoitecer, mantendo o local de repouso por meses, e os
119 indivíduos jovens aprendem com os mais velhos a localização das flores para
120 alimentação e o locais de repouso (Santos & Araújo 1991); além disso, em um grupo há
121 sobreposição de gerações. As fêmeas desta espécie examinam a planta antes de

122 ovipositarem, e depositam os ovos individualmente. Um dos motivos para esses
123 cuidados é detectar a presença de outros ovos na mesma planta, pois as lagartas são
124 canibais e devoram os ovos ainda não eclodidos. Estimativas de endocruzamento em
125 populações naturais dessa borboleta mostram um alto grau de parentesco entre os
126 indivíduos de uma população (Di Mare & Araújo 1986; Silva & Araújo 1994).

127

128

129 O objetivo desse trabalho é verificar se há reconhecimento de parentes entre
130 lagarta e ovo, expresso pela ocorrência ou não de interação canibalística. Os resultados
131 serão relacionados com o comportamento quase-social e com os elevados valores de
132 parentesco desta borboleta na fase adulta.

133

134

135 MÉTODOS

136

137

138 *Manutenção dos estoques de fêmeas*

139

140

141 A manutenção dos adultos da borboleta *Heliconius erato phyllis* foi feita em
142 viveiros com cerca de 2 m x 2 m x 3 m, em área adjacente ao Departamento de Genética
143 da UFRGS (Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil) cujo interior é composto de
144 muitas plantas para simular as condições naturais, incluindo *Passiflora misera*, *P.*
145 *suberosa* e *P. capsularis*, plantas em que as fêmeas de *H. erato phyllis* ovipositam, e das
146 quais as lagartas se alimentam. A alimentação das borboletas foi feita diariamente,

147 através de pequenos recipientes contendo uma mistura de água, mel e pólen. Fêmeas
148 isoladas, previamente identificadas como não-parentes, constituíram a fonte dos ovos
149 empregados nos testes de canibalismo. As fêmeas foram oriundas de populações
150 separadas por uma distância mínima de 10 km. Os ovos foram coletados com o auxílio
151 de pincéis e mantidos na geladeira até sua utilização nos experimentos, não
152 ultrapassando um tempo de 48 h após a postura.

153

154

155 *Procedimento experimental*

156

157

158 Os ovos coletados foram dispostos nos vértices de um triângulo equilátero (feito
159 de papel do tipo cartolina, verde) de 0,5 cm de lado (Figura 1). A partir deste momento,
160 três etapas de testes foram implementadas: na etapa 1, dos três ovos, dois eram de
161 irmãos e um terceiro, não-parente (Figura 1A); na etapa 2, os três ovos eram
162 provenientes de três fêmeas independentes, não-parentes (Figura 1B); e na etapa 3, os
163 três ovos eram provenientes da mesma fêmea, isto é, irmãos (Figura 1C). Todas as
164 etapas tiveram o mesmo número de repetições, isto é, N = 100. Como as fêmeas são
165 monândricas (Garcias 1983; Drummond III 1984), há a certeza de que ovos
166 provenientes de uma mesma fêmea são irmãos completos. Os triângulos eram mantidos
167 em placas de petri, com diâmetro de 10 cm e altura de 1,5 cm, em temperatura
168 ambiente, sobre um papel toalha levemente umedecido para evitar a dissecação dos
169 ovos. Cada placa de petri era dividida ao meio, podendo-se, assim, realizar até dois
170 testes.

171

172

173 A variável analisada, após a emergência de uma lagarta foi a ocorrência ou não
174 do canibalismo desta em relação aos ovos restantes. Na etapa 1, o teste foi considerado
175 inválido quando o primeiro ovo que eclodia era o do indivíduo não-parente. Quando
176 eclodia um dos ovos irmãos, o teste era considerado válido, pois se pretendia verificar
177 se o ovo irmão era reconhecido como parente através da frequência de canibalismo. Nas
178 etapas 2 e 3, qualquer que fosse o ovo eclodido, o teste era válido (estas etapas
179 correspondem aos controles). Cada teste teve a duração de 45 min; contudo, com o
180 objetivo de realizar observações adicionais sobre o comportamento das lagartas, o
181 período de observação foi estendido, como o relatado na discussão. A verificação do
182 canibalismo foi feita através da observação dos ovos em microscópio estereoscópio.

183

184

185 *Análise dos dados*

186

187

188 As análises estatísticas foram feitas utilizando o teste-G (Sokal & Rohlf 1995),
189 ajustado com correção de continuidade (correção de Yates), através do programa
190 BioEstat 5.0. Na etapa 1, realizou-se um teste-G de aderência apenas para os testes em
191 que ocorreu canibalismo, a fim de verificar se houve preferência ou não de canibalizar
192 os ovos não-parentes. Nesta etapa, a hipótese nula foi de que, dada a eclosão de um dos
193 ovos irmãos, a probabilidade de canibalizar o ovo irmão ou o não-parente era a mesma
194 ($p = 0,5$).

195

196

197 Nas etapas 2 e 3, que correspondem aos controles, realizou-se também um teste-
198 G de aderência para comparar a frequência de canibalismo com a de não canibalismo. A
199 hipótese nula foi a mesma do teste da etapa 1. Também foi feita a comparação da
200 frequência de canibalismo e não canibalismo entre as etapas 2 e 3, através de um teste-G
201 de independência/associação. Neste caso, a hipótese nula foi de uma ausência de
202 associação entre canibalismo nas etapas 2 e 3.

203

204

205 RESULTADOS

206

207

208 Os resultados gerais das três etapas estão resumidos na Tabela 1. Na etapa 1, das
209 100 repetições em que ocorreu canibalismo, onde havia a possibilidade de escolha entre
210 canibalizar um ovo irmão ou um não-parente, observa-se que o canibalismo de ovos
211 não-parentes (66%) foi significativamente superior ao de irmãos (34%). Na etapa 2 a
212 frequência de canibalismo observada foi de 83%, significativamente superior aos 50%
213 esperados. Já na etapa 3, onde os três ovos eram irmãos, a frequência de canibalismo foi
214 de 53%, não diferindo estatisticamente do esperado.

215

216

217 As frequências de canibalismo entre os dois grupos-controle (etapas 2 e 3) foram
218 diferentes (Teste-G com correção de Yates: $G_1 = 19.86$, $P < 0.0001$), mostrando que a
219 frequência de canibalismo é significativamente maior quando apenas ovos não-parentes
220 estão presentes.

221

222

223 A porcentagem de canibalismo total de cada uma das etapas é mostrada na
224 figura 2. Na etapa 1 esta porcentagem foi obtida somando a frequência de canibalismo
225 dos ovos não-parentes e irmãos, em relação aos testes em que não houve canibalismo
226 nesta etapa (Tabela 1); com isto se pretendia uniformizar os critérios para todas as
227 etapas unicamente para fins comparativos entre as três etapas.

228

229

230 DISCUSSÃO

231

232

233 Os resultados aqui relatados apresentam fortes evidências de reconhecimento de
234 parentesco biológico em formas imaturas da borboleta *Heliconius erato phyllis*. Isso
235 pôde ser constatado a partir da comparação entre as frequências de canibalismo de ovos
236 irmãos e não-parentes na etapa 1, bem como a partir da comparação entre as etapas 2 e
237 3, que mostra que quando apenas ovos não-parentes estão disponíveis (etapa 2), a
238 frequência de canibalismo é significativamente maior do que na situação onde apenas
239 ovos irmãos estão presentes (etapa 3).

240

241

242 As observações feitas durante os testes também contribuíram para reforçar que
243 existe reconhecimento de parentesco. Após a eclosão da lagarta, esta, na maioria das
244 vezes, comia o córion do próprio ovo, e então se dirigia para os demais ovos presentes
245 em cada experimento. O córion do ovo, que é rico em proteínas, é o primeiro alimento
246 da lagarta (Barros-Bellanda & Zucoloto 2001). Nos testes onde não ocorreu canibalismo

247 na etapa 3, as lagartas subiam no ovo irmão, permaneciam sobre o ovo durante alguns
248 segundos e o abandonavam, sem canibalizá-lo. Mais ainda, frequentemente se dirigiam
249 para o outro ovo, também irmão, e não o canibalizavam. Um dos experimentos que mais
250 evidenciaram reconhecimento de parentesco nesta etapa foi o teste relatado a seguir. A
251 primeira lagarta nasceu e ficou em torno de 15 min sobre o próprio córion.
252 Posteriormente ela subiu em um dos ovos irmãos e não canibalizou. Continuando a
253 observação, depois de 1 h e 30 min de experimento, a lagarta voltou ao próprio córion e
254 comeu o que havia restado. Em seguida, após 10 min, subiu em um ovo irmão e não o
255 comeu, e depois subiu no outro ovo irmão e também não canibalizou. Como o caso
256 parecia ser muito representativo, a observação foi seguida para além de duas horas após
257 a eclosão. E mais uma vez a lagarta subiu nos dois ovos irmãos, em sequência, e não
258 canibalizou, dispersando-se em seguida. Após 2 h e 15 min da eclosão da primeira
259 lagarta, nasceu a segunda, que por sua vez também subiu no ovo restante e não
260 canibalizou. Por fim, 5 h e 30 min após a eclosão da primeira lagarta, eclodiu a última
261 lagarta do experimento. Outra observação interessante é que, como até dois testes eram
262 feitos por placa de petri, embora estivessem separados, houve dois casos em que uma
263 lagarta da etapa 3 de testes não canibalizou os ovos irmãos presentes no experimento do
264 qual ela fazia parte, mas invadiu o experimento que estava próximo e canibalizou os
265 ovos não-parentes presentes no outro teste.

266

267

268 Vários mecanismos têm sido propostos para explicar como os indivíduos
269 reconhecem seus parentes, tais como reconhecimento de genes (Hamilton 1964),
270 pareamento pelo fenótipo (“phenotype matching”), associação/familiaridade (Holmes e
271 Sherman 1983), familiaridade direta/indireta (Porter 1988) e reconhecimento

272 direto/indireto (Waldman 1987). Assim, de modo geral, os indivíduos podem adquirir a
273 capacidade de reconhecer seus parentes via um de dois processos gerais: a informação
274 sobre o parentesco pode ser provida por genes individuais ou os indivíduos aprendem as
275 “marcas” que denotam o parentesco através da experiência adquirida com indivíduos
276 mais velhos (Hepper e Cleland 1999).

277

278

279 As marcas usadas para discriminar parentes de não parentes podem ser visuais,
280 auditivas ou olfatórias. Reconhecimento de parentes em insetos sociais comumente
281 conta com marcas olfatórias associadas a lipídeos epicuticulares (Lizé et al. 2006).
282 Marcas olfatórias podem ser adquiridas exogenamente a partir do alimento ou materiais
283 do ninho, mas elas também podem ser produzidas endogenamente através de
284 transferência citoplasmática de marcas maternas ou produzidas pelo próprio indivíduo
285 (Lizé et al. 2006). Com base nos resultados aqui apresentados, bem como das
286 observações adicionais, se pode sugerir que as lagartas de primeiro ínstar de *Heliconius*
287 *erato phyllis* reconhecem seus irmãos por um mecanismo de reconhecimento direto,
288 através de reconhecimento de alelos ou sendo capazes de reconhecer odores similares ao
289 seu, através do mecanismo de pareamento pelo fenótipo.

290

291

292 O reconhecimento de parentes biológicos, em fase precoce da vida da borboleta
293 *Heliconius erato phyllis*, pode ter sido importante na evolução do comportamento social
294 da mesma e, eventualmente, na ativação de seleção de parentesco (“kin selection”). O
295 reconhecimento de parentesco é geralmente considerado vital para o sucesso de insetos
296 sociais, mas compreender seu mecanismo é complicado pelo fato de que a

297 discriminação pode ocorrer em múltiplos níveis, incluindo individual, castas, colônia e
298 agregação da colônia (Jackson 2007).

299

300

301 Quando as frequências totais de canibalismo e não canibalismo foram
302 comparadas nas etapas 2 e 3, apenas na etapa 3, onde havia três ovos irmãos, a
303 frequência foi igual à esperada ao acaso (probabilidade de canibalizar: não canibalizar,
304 1/2:1/2). Na etapa 2 a frequência de canibalismo foi maior do que a esperada, indicando
305 que o comportamento canibal é frequente, ao menos em situações onde não foi
306 oferecido alimento de matéria vegetal (folhas de *Passiflora*). É fato que o canibalismo
307 de lagartas de *Heliconius erato phyllis* em relação a ovos é observado também em
308 condições de campo (Brown Jr. & Mielke 1972), não sendo este um artefato de
309 laboratório, já que é observado também quando folhas de *Passiflora* estão disponíveis.
310 O fato dessas lagartas serem canibais na natureza poderia explicar o comportamento de
311 postura individual de ovos dessa borboleta. Contudo, não constituíram objetivos desse
312 trabalho analisar se o canibalismo é preferencial em relação à herbivoria. O propósito
313 dos testes terem sido feitos em folhas de papel cartolina, e não em folhas de *Passiflora*,
314 foi justamente não ter a variável da preferência por tipo de alimentação influenciando
315 nos resultados. O objetivo foi não dar outro recurso de alimentação além dos ovos, para
316 deixar as lagartas mais propensas ao canibalismo, com o intuito de verificar se,
317 canibalizando, há preferência por parentes ou não-parentes. Todavia, trabalhos mostram
318 a ocorrência de canibalismo de ovos em lagartas herbívoras de Lepidoptera mesmo na
319 presença de “recurso vegetal” adequado (*Helicoverpa zea* (Hübner) (Lepidoptera,
320 Noctuidae) (Joyner & Gould 1985), *H. armigera* (Sigsgaard et al. 2002) e *Ascia*
321 *monuste* (Lepidoptera, Pieridae) (Barros-Belanda & Zucoloto 2005)).

322

323

324 Apesar de em nenhuma das etapas terem sido oferecidas folhas às lagartas, a
325 frequência de canibalismo foi maior quando não havia nenhum ovo parente nos testes
326 (etapa 2), diferindo significativamente da etapa 3. Era esperado que a frequência de
327 canibalismo da etapa 2 fosse a mais elevada porque, mesmo existindo reconhecimento
328 de parentes, não é o caso dessa etapa, já que apenas não-parentes estavam disponíveis.
329 Curiosamente, quando apenas ovos irmãos estavam disponíveis (etapa 3), a frequência
330 de canibalismo foi maior (53%) do que a de ovos irmãos na etapa 1 (34%), quando
331 havia a possibilidade de escolha entre um irmão e um não-parente. Isso indica que
332 quando não há essa possibilidade de escolha, as lagartas canibalizam os irmãos, já que
333 nesse caso a sua sobrevivência pode estar ameaçada. Afinal, um indivíduo canibal irá
334 obter maior sucesso genético favorecendo a si próprio do que se o fizer a um irmão. Em
335 circunstâncias específicas, o canibalismo de parentes pode aumentar a aptidão do
336 canibal por obter nutrientes e reduzir a competição (Schausberg 2003).

337

338

339 Em todas as etapas dos experimentos, obteve-se uma frequência de canibalismo
340 de ao menos 50% (Figura 2). Zago-Braga & Zucolotto (2004) também encontraram
341 taxas de canibalismo maiores do que 50% em todos os ínstaes para outra espécie de
342 borboleta, *Ascia monuste*, mesmo sendo oferecido alimento de origem vegetal (couve),
343 mostrando que nessa espécie o canibalismo é preferencial à herbivoria. Já Brower
344 (1961), que estudou o canibalismo de larvas recém-eclodidas em *Danaus plexippus* e
345 *Danaus gilippus berenice*, encontrou porcentagens de canibalismo de 14 e 32%,
346 respectivamente, em uma densidade inicial de 5 ovos e com recurso vegetal presente.

347

348

349 Estudos realizados com *Ascia monuste* (Zago-Braga & Zucolotto 2004; Barros-
350 Belanda & Zucoloto 2001) mostraram que o canibalismo ocorrendo no início do
351 desenvolvimento, bem como a ingestão de córion, reduz o tempo de desenvolvimento
352 dessa espécie, provavelmente porque provê um importante suprimento de proteína para
353 esta fase do desenvolvimento. A redução no tempo de desenvolvimento reduz o tempo
354 de exposição a predadores, parasitas e fatores ambientais que causam mortalidade e,
355 diminuindo o tempo de emergência do adulto, aumentariam as possibilidades de um
356 indivíduo se reproduzir. Já em *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera, Noctuidae),
357 indivíduos canibais têm menor sobrevivência, menor tamanho corporal e uma taxa de
358 desenvolvimento mais lenta quando comparada a não canibais (Chapman et al. 1999a).
359 Os canibais podem também obter infecções letais devido ao consumo de coespecíficos
360 infectados (Chapman et al. 1999b; Chapman et al. 2000). Entretanto, o canibalismo
361 pode reduzir o risco de ataque de predadores e parasitóides nessa espécie e, se o
362 canibalismo é ainda prevalente em populações de *S. frugiperda*, isso indica que a
363 redução na predação compensa os custos associados ao canibalismo (Chapman et al.
364 2000). Em *Heliconius erato phyllis* não há estudos publicados com relação às
365 consequências do comportamento canibal. Entretanto, novos experimentos estão sendo
366 realizados pelo nosso grupo a fim de verificar se existem diferenças na taxa de
367 desenvolvimento dos indivíduos canibais e não canibais.

368

369

370 Parentesco é um fator fundamental na evolução do canibalismo (Hamilton 1964,
371 Fox 1975, Polis 1981, Elgar & Crespi 1992). Consequentemente, o canibalismo de

372 parentes e não-parentes deve ser tratado separadamente porque o parentesco com a
373 vítima determina os custos e benefícios do canibal (Schausberger 2003).

374

375

376 Para saber se o reconhecimento de parentesco observado neste trabalho evoluiu
377 por seleção de parentesco, o comportamento de evitar comer parentes deve satisfazer a
378 regra de Hamilton (Hamilton 1964). Assim, devem-se estimar os custos e benefícios do
379 reconhecimento de parentes. Uma maneira de se estimar os benefícios da discriminação
380 de parentes é comparar o número de irmãos sobreviventes entre aqueles indivíduos que
381 discriminam e os que não discriminam parentes (Pfennig et al. 1999). E considerando
382 que um indivíduo canibal que evita comer um parente pode sofrer custos por abster-se
383 de uma refeição, os custos da discriminação poderiam ser estimados comparando-se a
384 sobrevivência, taxa de crescimento, e idade da metamorfose dos indivíduos que
385 discriminam e dos que não discriminam parentes (Pfennig et al. 1999).

386

387

388 Em geral, espera-se que indivíduos tratem parentes diferentemente de não-
389 parentes somente quando os benefícios de discriminação excedem os custos. Há
390 plasticidade na expressão do comportamento canibal, o que provê uma melhor evidência
391 para reconhecimento de parentes em espécies canibais. Essa flexibilidade é predita pela
392 Regra de Hamilton, que diz que os organismos devem ser sensíveis aos três parâmetros
393 (r , b e c), cada um dos quais pode variar independentemente dos outros dois. Então, o
394 canibalismo indiscriminado de parentes e não-parentes pode ser favorecido se há um
395 decréscimo suficiente em b e/ou um aumento em c para compensar um aumento em r .

396 Isso explica porque algumas vezes os animais podem reconhecer parentes e outras não
397 (Pfennig 1997).

398

399

400 Estimativas de endocruzamento em populações naturais da borboleta *Heliconius*
401 *erato phyllis*, a partir de polimorfismos enzimáticos e da estrutura genética, bem como a
402 partir de um estudo específico sobre os efeitos do endocruzamento, confirmam o alto
403 grau de parentesco entre os indivíduos de uma população (Di Mare & Araújo 1986;
404 Silva & Araújo 1994). Embora Di Mare & Araújo (1986) tenham encontrado que o
405 endocruzamento produz efeitos negativos em *Heliconius erato phyllis*, um alto
406 coeficiente de endocruzamento pode facilitar a evolução de algumas adaptações
407 comportamentais encontradas em *H. erato*, tais como o repouso gregário e o
408 canibalismo preferencial de não-parentes. Se as lagartas evitam comer parentes, e
409 apresentam baixa dispersão, o grau de parentesco entre os indivíduos adultos será alto,
410 ocorrendo, portanto, endocruzamento. E, se os membros do grupo forem parentes, esses
411 comportamentos podem evoluir mais rapidamente.

412

413

414 Assim, conclui-se que *Heliconius erato phyllis* discrimina parentes biológicos de
415 não-parentes, canibalizando preferencialmente os não-parentes quando há escolha.

416 Como perspectiva, espera-se testar se o reconhecimento de parentes diminui na medida
417 em que diminui o parentesco, utilizando-se, por exemplo, ovos de meio-irmãos e primos
418 em vários graus. Também se pretende identificar através de que se dá esse
419 reconhecimento: se de odores liberados pelo córion do ovo ou pelo próprio embrião, e
420 futuramente, identificar qual a substância responsável por esse reconhecimento. Outras

421 perspectivas são fazer experimentos a fim de verificar se o reconhecimento de parentes
422 nessa espécie evoluiu por seleção de parentesco, estimando-se custos e benefícios do
423 canibalismo, e testar o modo de herança deste comportamento, para num futuro mais
424 distante, até mesmo isolar o gene (ou genes) do canibalismo.

425 AGRADECIMENTOS

426

427

428 Agradecemos a todas as pessoas que colaboraram com a criação dos indivíduos
429 em viveiros e laboratório (André Luis Klein, Gabriela Pasqualim e Nicolás Oliveira
430 Mega). Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)
431 pelo apoio financeiro, e pela concessão de uma bolsa de Iniciação Científica (programa
432 PIBIC CNPq/UFRGS).

433 REFERÊNCIAS

434

435

436 **Barros-Bellanda, H. C. H. & Zucoloto, F. S.** 2001. Influence of chorion ingestion on
437 the performance of *Ascia monuste* and its association with cannibalism. Ecological
438 Entomology, **26**, 557-561.

439

440

441 **Barros-Bellanda, H. C. H. & Zucoloto, F. S.** 2005. Egg cannibalism in *Ascia monuste*
442 in the field; opportunistic, preferential and very frequent. Journal of Ethology, **23**, 133-
443 138.

444

445

446 **Boots, M.** 1998. Cannibalism and the stage-dependent transmission of a viral pathogen
447 of the Indian meal moth, *Plodia interpunctella*. Ecological Entomology, **23**, 118-122.

448

449

450 **Brower, L.** 1961. Experimental analyses of egg cannibalism in the Monarch and Queen
451 butterflies, *Dannaus plexippus* and *D. gilippus berenice*. Physiological Zoology, **34**,
452 287-296.

453

454

455 **Brown Jr., K. S. & Mielke, O. H. H.** 1972. The heliconians of Brazil (Lepidoptera;
456 Nymphalidae). Part II. Introduction and General Comments, with a Supplementary
457 Revision of the Tribe. Zoologica, **57**, 1-40.

458

459

460 **Chapman, J. W., Williams, T., Escribano, A, Caballero, P, Cave, R. D. & Goulson,**

461 **D.** 1999a. Fitness consequences of cannibalism in the fall armyworm, *Spodoptera*

462 *frugiperda*. Behavioral Ecology, **10**, 298- 303.

463

464

465 **Chapman, J. W., Williams, T, Escribano, A, Caballero, P., Cave, R. D. & Goulson,**

466 **D.** 1999b. Age-related cannibalism and horizontal transmission of a nuclear

467 polyhedrosis virus in larval *Spodoptera frugiperda*. Ecological Entomology, **24**, 268-

468 275.

469

470

471 **Chapman, J. W., Williams, T., Martínez, A. M., Cisneros, J., Caballero, P., Cave,**

472 **R. D. & Goulson, D.** 2000. Does cannibalism in *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera,

473 Noctuidae) reduce the risk of predation? Behavior, Ecology and Sociobiology, **48**, 321-

474 327.

475

476

477 **Di Mare, R. A. & Araújo, A. M.** 1986. A first survey of inbreeding effects in

478 *Heliconius erato phyllis* (Lepidoptera; Nymphalidae). Revista Brasileira de Genética, **9**,

479 11-20.

480

481

482 **Drummond III, B. A.** 1984. Multiple Mating and Sperm Competition in the
483 Lepidoptera. In: *Sperm Competition and the Evolution of Animal Mating Systems* (Ed.
484 por R. L. Smith), pp. 291-370. London: Academic Press, Inc.
485
486
487 **Elgar, M. A. & Crespi, B. J.** 1992. *Cannibalism. Ecology and Evolution among*
488 *Diverse Taxa*. Oxford: Oxford University Press.
489
490
491 **Fox, L. R.** 1975. Cannibalism in natural populations. *Annual Review of Ecology and*
492 *Systematics*, **6**, 87-106.
493
494
495 **Garcias, G.L.** 1983. Aspectos da Biologia Populacional de Cinco Espécies de
496 Heliconíneos do Anel Mimético “Laranja” (Lepidoptera, Nymphalidae). Dissertação
497 (Mestrado em Genética), Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
498
499
500 **Green, W. W., Mirza, R.S. & Pyle, G. G.** 2008. Kin recognition and cannibalistic
501 behaviours by adult male fathead minnows (*Pimephales promelas*).
502 *Naturwissenschaften*, **95**, 269-272.
503
504
505 **Hain, T. J. A. & Neff, B. D.** 2007. Multiple paternity and kin recognition mechanisms
506 in a guppy population. *Molecular Ecology*, **16**, 3938-3946.

507

508

509 **Hamilton, W. D.** 1964. The genetic evolution of social behaviour. I. Journal of

510 Theoretical Biology, **7**, 1-16.

511

512

513 **Hepper, P. G. & Cleland, J.** 1999. Developmental aspects of kin recognition.

514 *Genetica*, **104**, 199–205.

515

516

517 **Holmes, W.G.& Sherman, P.W.** 1983. Kin recognition in animals. *American Scientist*,

518 **71**, 46–55.

519

520

521 **Jackson, D. E.** 2007. Kin recognition: knowing who's boss in wasp colonies. *Current*

522 *Biology*, **17**, 547-549.

523

524

525 **Joyner, K. & Gould, F.** 1985. Developmental consequences of cannibalism in

526 *Heliothis zea* (Lepidoptera: Noctuidae). *Annals of the Entomological Society of*

527 *America*, **78**, 24–28.

528

529

530 **Léna, J. P. & Fraipont, M.** 1998. Kin recognition in the common lizard. *Behavioral*

531 *Ecology and Sociobiology*, **42**, 341-347.

532

533

534 **Lizé, A., Carval, D., Cortesero, A. M., Fournet, S. & Poinso, D.** 2006. Kin
535 discrimination and altruism in the larvae of a solitary insect. Proceedings of the Royal
536 Society B, **273**, 2381–2386

537

538

539 **Pierce, N. E.** 1995. Predatory and parasitic Lepidoptera: carnivores living on plants.
540 Journal of the Lepidopterists' Society, **49**, 412-453.

541

542

543 **Pfennig, D. W.** 1997. Kinship and cannibalism. BioScience, **47**, 667-675.

544

545

546 **Pfennig, D. W. ; Ho, S.G. & Hoffman, E. A.** 1998. Pathogen transmission as a
547 selective force against cannibalism. Animal Behaviour, **55**, 1255–1261.

548

549

550 **Pfennig, D. W., Collins, J. P. & Ziemba, R. E.** 1999. A test of alternative hypotheses
551 for kin recognition in cannibalistic tiger salamanders. Behavioral Ecology, **10**, 436-443.

552

553

554 **Polis, G.A.** 1981. The evolution and dynamics of intraspecific predation. Annual
555 Review of Ecology and Systematics, **12**, 225–251.

556

557

558 **Porter, R.H.** 1988. The ontogeny of sibling recognition in rodents: superfamily
559 Muroidea. Behavior Genetics, **18**, 483–494.

560

561

562 **Reed D. J., Begon, M. & Thompson, D. J.** 1996. Differential cannibalism and
563 population dynamics in a host-parasitoid system. Oecologia, **105**, 189-193.

564

565

566 **Santos, R.A. & Araújo, A.M.** 1991. Ecologia comportamental e seleção de parentesco
567 em *Heliconius erato phyllis* (Lepidoptera; Nymphalidae). Revista Brasileira de
568 Genética, 2 (supl.): 261.

569

570

571 **Schausberger, P.** 2003. Cannibalism among phytoseiid mites: a review. Experimental
572 and Applied Acarology, **29**, 173–191.

573

574

575 **Schweitzer, D. F.** 1979. Predatory Behaviour in *Lithophane querquera* and other spring
576 caterpillars. Journal of the Lepidopterists' Society, **33**, 129-134.

577

578

579 **Sigsgaard, L.; Greenstone, M. H. & Duffield, S. J.** 2002. Egg cannibalism in
580 *Helicoverpa armigera* on sorghum and pigeonpea. BioControl, **47**, 151–165.

581

582

583 **Silva, L. M. & Araújo, A. M.** 1994. The genetic structure of *Heliconius erato*
584 populations (Lepidoptera; Nymphalidae). *Revista Brasileira de Genética*, **17**, 19-24.

585

586

587 **Smith, J.M.** 1971. Group Selection and Kin Selection: A Rejoinder. In: *Group*
588 *Selection* (Ed. por G. C. Williams), pp. 105–112. Chicago: Aldine Atherton, Inc.

589

590

591 **Sokal, R. R. & Rohlf, F. J.** 1995. *Biometry*. 3 ed. New York: W. H. Freeman and
592 Company.

593

594

595 **Trivers R.L.** 1985. *Social Evolution*. Menlo Park: Benjamin/Cummings Publishing.

596

597

598 **Waldman, B.** 1987. Mechanisms of kin recognition. *Journal of Theoretical Biology*,
599 **128**, 159–185.

600

601

602 **Wilson, E.O.** 1975. *Sociobiology: The New Synthesis*. Cambridge: Harvard University
603 Press.

604

605

606 **Zago-Braga, R.C. & Zucoloto, F.S.** 2004. Cannibalism studies on eggs and newly
607 hatched caterpillars in a wild population of *Ascia monuste* (Godart) (Lepidoptera,
608 Pieridae). *Revista Brasileira de Entomologia*, **48**, 415-420.

Tabela 1 – Resultados dos testes de canibalismo nas três etapas. O tamanho amostral para cada uma das três etapas foi de 100 repetições. Foi utilizado teste-G de aderência, com correção de Yates, com 1 gl.

Etapa	Razão ⁽¹⁾	Canibalismo		Não canibalismo	<i>G</i>	<i>P</i>
		Irmão	NP ⁽²⁾			
1	2:1	34	66	- ⁽³⁾	9.770	0.0018
2	0:3	-	83	17	45.884	<0.0001
3	3:0	53	-	47	0.250	0.6170

⁽¹⁾ O primeiro número refere-se à quantidade de ovos irmãos; o segundo, à quantidade de ovos não relacionados biologicamente.

⁽²⁾ NP = não-parente

⁽³⁾ Em 88 repetições não houve canibalismo, de um total de 188 repetições, mas apenas as 100 onde houve canibalismo foram consideradas válidas para esta etapa.

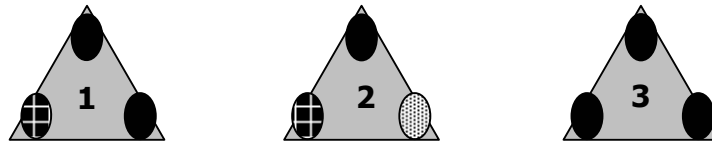


Figura 1 – Delineamento experimental implementado neste trabalho. Na etapa 1, há dois ovos irmãos e um não-parente; na etapa 2 três ovos não-parentes e na etapa 3, três ovos irmãos.

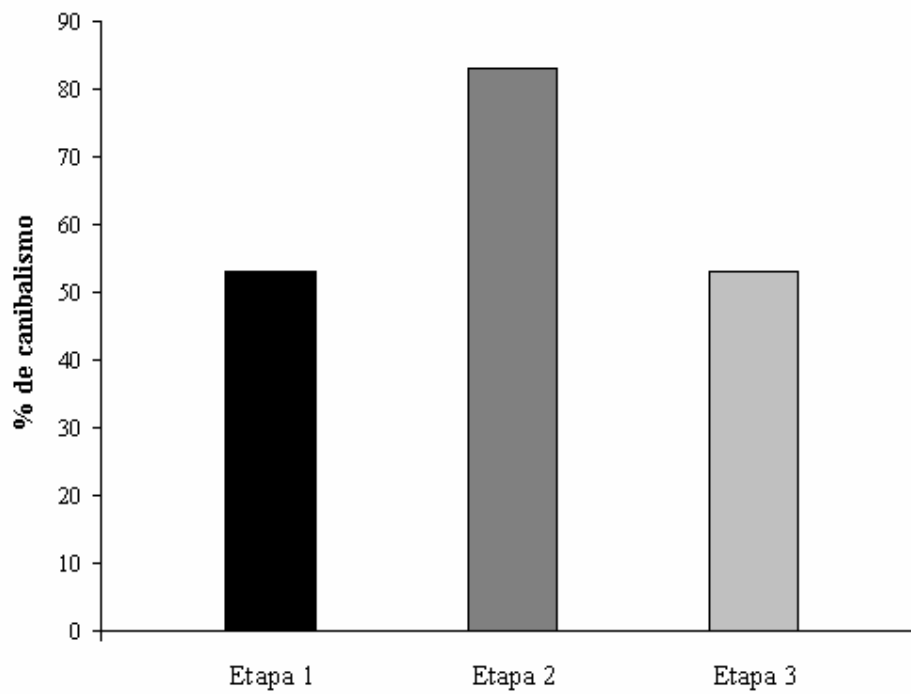


Figura 2 – Porcentagem de canibalismo nas três etapas (ver figura 1). Para fins ilustrativos da porcentagem total de canibalismo na etapa 1, a frequência de canibalismo de ovos irmãos e não-parentes foi somada.



Introduction

Types of paper

- **Research papers.** *Animal Behaviour* publishes original papers relating to all aspects of the behaviour of animals, including humans. Papers may be field, laboratory or theoretical studies. Preference is given to studies that are likely to be of interest to the broad readership of the Journal and that test explicit hypotheses rather than being purely descriptive.
- **Reviews.** These should address fundamental issues relating to behaviour and provide new insights into the subject(s) they cover. Original interdisciplinary syntheses are especially welcome. Reviews should be no longer than 6000 words (excluding references) and should include an abstract of up to 250 words. In the first instance, a preliminary outline of up to 600 words should be sent to the US or UK Editorial Office, by email, according to the geographical location or society membership of the author (see Contact details for submission below). The decision as to whether to proceed to a full review then rests with the Executive Editors or invited advisers. Contributions submitted on this basis will be subjected to the same refereeing process as normal manuscripts.
- **Essays.** These should address fundamental issues relating to behaviour and provide new insights into the subject(s) they cover. In contrast to Reviews, Essays provide an opportunity for authors to express opinions, consider the subject area in a historical context and speculate on its future development. Essays should be no longer than 6000 words (excluding references) and should include an abstract of up to 250 words. In the first instance, a preliminary outline of up to 600 words should be sent to the US or UK Editorial Office, by email, according to the geographical location or society membership of the author (see Contact details for submission below). The decision as to whether to proceed to a full essay then rests with the Executive Editors or invited advisers. Contributions submitted on this basis will be subjected to the same refereeing process as normal manuscripts.
- **Commentaries.** The Commentaries section of the Journal provides an opportunity to raise issues of general importance to the study of behaviour, including statistical analysis, theory, methodology and ethics. Unless there are clearly broader implications for the study of behaviour as a whole, critiques of particular papers or issues of more local interest should be reserved for the Forum section (see below). Decisions as to whether borderline submissions are more appropriate to the Commentaries or Forum section rest with the Executive Editors. Contributions should be brief, normally not more than six printed pages, and should not contain an abstract. Methodological contributions may be longer, subject to the discretion of the Executive Editors. The

initial decision as to prima facie merit rests with the Executive Editors or invited advisers. Contributions with prima facie merit are subjected to the same refereeing process as normal manuscripts, but responses or complementary articles may be solicited by the Executive Editors at their discretion. Other contributions are returned unrefereed to the author(s).

- **Forum.** The Forum section is published on ScienceDirect with contributions listed in the contents of the relevant hardcopy issue and cited as indicated in References below. The section accepts critiques of published papers relevant to the areas of interest of the Journal, and provides an opportunity for constructive exchanges on issues surrounding particular fields of study. Critiques of papers published in *Animal Behaviour* will be processed by the Editorial Office (US or UK) that published the original article (the manuscript numbers of papers processed by the US Office have the prefix A). Submission, review and acceptance procedures are as for Commentaries (see above), but there is no word limit. In the case of Forum critiques of published papers, the author(s) of the target article must be contacted and trivial points of difference or misunderstanding resolved; this correspondence must be submitted in a cover letter accompanying the Forum article.
- **More general correspondence** on matters relating to behavioural research is published, unrefereed, in the newsletters of ASAB and ABS. Such correspondence should be sent to the newsletter editors: Anahita J.N. Kazem, Institute of Biology, Norwegian University of Science & Technology (NTNU), N-7491 Trondheim, Norway (fax: +47 7359 1309; email: anahita.kazem@bio.ntnu.no) for ASAB; Regina H. F. Macedo, Departamento de Zoologia, Universidade de Brasilia, Brasilia DF 70910-900, Brazil (fax: +55 61 3274 1141; email: rhfmacedo@unb.br) for ABS.

Single and Double Blind Peer Review

Commencing October 2009, *Animal Behaviour* will institute a double-blind peer review process (i.e., where neither the authors' nor the reviewers' identities are known to each other). Reciprocal anonymity is suggested to provide a more objective and potentially less biased assessment of manuscripts, and help ensure that the process is fair to both junior and well-established scientists. The switch to double-blind review requires some changes to editorial procedures, and we ask potential authors to pay close attention to our revised submission guidelines. Our policy with respect to reviewers is to allow them to waive anonymity if they wish, and in accord with this, authors may also choose to submit their papers without being blinded, giving both authors and reviewers maximum flexibility in how they wish their work and comments to be assessed. *Animal Behaviour* is one of the foremost journals in its field, and the implementation of double-blind review aims at ensuring our reputation for integrity, fairness and openness to new ideas.

Contact details for submission

- Authors should submit manuscripts online to (<http://ees.elsevier.com/anbeh>). When submitting online, authors are requested to select the article type (Research paper, Review, Essay, Commentary, Forum). Each category of article is further divided into US and UK articles (e.g. US Research paper, UK Research paper, etc.) depending on whether the US or UK Editorial Office is responsible for processing the manuscript. Authors whose current address is in the Americas, or neighbouring islands, or who are members of the Animal Behavior Society should select the US article types and authors in other geographical areas or who are members of the Association for the Study of

Animal Behaviour should select the UK article types. Hard copies are not required in addition to copies submitted online. Authors who are submitting a manuscript online for the first time should read the Author Tutorial on the submission site. For enquiries relating to submissions via EES, please contact the Journal Manager at Elsevier via email (yanbe@elsevier.com).

- To submit outlines for Reviews and Essays and for other general correspondence, the address of the US office is: Lori Pierce, Office Manager, Animal Behavior Society Central Office, Indiana University, 402 N. Park Avenue, Bloomington, IN 47408-3828, U.S.A. (fax: 812 856 5542; email: lopierce@indiana.edu).

Correspondence about book reviews handled through the North American office should be sent to: Dr P. Loesche, Department of Psychology, Box 351525, University of Washington, Seattle, WA 98195, U.S.A. (fax: 206 616 4794; email:

loes@u.washington.edu). The address of the UK office is: Dr A.K. Turner, Managing Editor, Animal Behaviour Editorial Office, School of Biology, University of Nottingham, University Park, Nottingham NG7 2RD, U.K. (fax: (0) 115 9 513 249, email: angela.turner@nottingham.ac.uk).

Additional Information

Resubmitted manuscripts should also include the following:

- A detailed explanation of how the author has dealt with each of the reviewers' and Editor's comments. These comments should be uploaded as 'Revision Comments' on EES.
- A Lay Summary. The Lay Summary should be a short (maximum 150 words) statement that describes the background to and significance of the main findings of the article. It should be nontechnical and intelligible to the nonspecialist. Lay Summaries may be published on the ASAB and ABS Web sites and may be used as the basis for press releases to the media. The Journal's aim in publishing lay abstracts is to increase the accessibility of its research findings and to increase public awareness of animal behaviour research.

Page charges

This journal has no page charges.



Before You Begin

Ethics in Publishing

Animal Behaviour publishes papers by scientists conducting research at locations around the globe. Publication is, therefore, based upon mutual trust between publisher and authors. Professional integrity in the conduct and reporting of research is an absolute requirement of publication in the journal, as is a willingness to share information with other members of the scientific community. Consequently, as a condition of publication in *Animal Behaviour*, authors must agree both to honour any reasonable request for materials or methods needed to verify or replicate experiments reported in the journal and to make available, upon request, any data sets upon which published studies are based. Anyone who encounters a persistent refusal to comply with these guidelines, or has reason to suspect some other departure from acceptable

standards of scientific conduct, should contact the appropriate Executive Editor (European or American) of the journal. The Executive Editor will act in accordance with the guidelines of the U.K. Committee on Publication Ethics (⇒ <http://www.publicationethics.org.uk>) (European Editor) or the Animal Behavior Society Code of Ethics (North American Editor) and may inform an author's institution of a purported infraction. Statements on scientific integrity by the Association for the Study of Animal Behaviour and Animal Behavior Society can be found at, respectively, ⇒ <http://www.asab.org> and ⇒ <http://www.animalbehavior.org>.

Originality and Plagiarism

As noted in Elsevier's publishing and ethical guidelines, authors should ensure that they have written entirely original works. If authors have used the work and/or words of others, please ensure that this has been appropriately cited or quoted.

Plagiarism takes many forms, from 'passing off' another's paper as the author's own paper, to copying or paraphrasing substantial parts of another's paper (without attribution), to claiming results from research conducted by others. Plagiarism in all its forms constitutes unethical publishing behaviour and is unacceptable.

For further information on Ethics in Publishing and Ethical guidelines for journal publication, see also ⇒ <http://www.elsevier.com/publishingethics> and ⇒ <http://www.elsevier.com/ethicalguidelines>

Animal Welfare

The research should adhere to the ASAB/ABS Guidelines for the Use of Animals in Research (updated in each January issue of the Journal and on the Journal Web site: ⇒ http://www.elsevier.com/framework_products/promis_misc/ASAB2006.pdf), the legal requirements of the country in which the work was carried out, and all institutional guidelines. The *Guide to Ethical Information Required for Animal Behaviour Papers* (⇒ http://www.elsevier.com/framework_products/promis_misc/ethyanbe.doc) should be consulted and its requirements met.

- If ethical considerations arose in the course of the study, the author should describe in the manuscript (see Methods) how those considerations were addressed. For example, information may need to be provided on the following areas: housing and general maintenance, disposal of animals including release of wild-caught animals, culling of litters, techniques causing desertion, aggression, predation, use of live animals as food, parasitism, techniques or manipulations (e.g. physiological, pharmacological, genetic, blood and tissue sampling, use of anaesthetics and restraints, plumage alterations), trapping, marking, radiotagging, food or water deprivation, manipulation of diets and access to food, social deprivation, brood manipulations, environmental manipulations, conservation implications, details of licences/permissions obtained for the study. If authors fail to include relevant information, we shall request a revision and resubmission of the paper. In exceptional cases, where unresolved ethical questions remain, the manuscript may be sent to the ABS Animal Care Committee or the ASAB Ethical Committee for additional refereeing. In such cases, the decision as to whether the manuscript is accepted for publication remains with the Editor or, in the final instance, the Executive Editor.

Conflict of interest

All authors are requested to disclose any actual or potential conflict of interest including any financial, personal or other relationships with other people or organizations within three years of beginning the submitted work that could inappropriately influence, or be perceived to influence, their work. See also <http://www.elsevier.com/conflictsofinterest>.

Submission declaration

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, without the written consent of the copyright-holder.

Animal Behaviour will not consider submissions that have been published elsewhere, nor will it republish data found in other publications, unless the data are re-evaluated to provide new information not found in the original. Abstracts that both appear in published conference proceedings with ISBNs or ISSNs, such as special editions of journals, and provide explicit quantitative summaries of the key results, are considered as prior publication. Overlap between submitted manuscripts and published abstracts containing qualitative descriptions of the manuscript will be allowed, provided that such abstracts are not verbatim reproductions of the abstract contained within the submitted manuscript. Include all abstracts and other published materials in a cover letter accompanying the submitted manuscript on EES.

Copyright

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (for more information on this and copyright see <http://www.elsevier.com/copyright>). Acceptance of the agreement will ensure the widest possible dissemination of information. An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement. Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. Permission of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations (please consult <http://www.elsevier.com/permissions>). If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has preprinted forms for use by authors in these cases: please consult <http://www.elsevier.com/permissions>.

Retained author rights

As an author you (or your employer or institution) retain certain rights; for details you are referred to: <http://www.elsevier.com/authorsrights>.

Role of the funding source

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article in the Acknowledgments section of the manuscript.

Funding body agreements and policies

Elsevier has established agreements and developed policies to allow authors whose articles appear in journals published by Elsevier, to comply with potential manuscript archiving requirements as specified as conditions of their grant awards. To learn more about existing agreements and policies please visit [↗](http://www.elsevier.com/fundingbodies)
<http://www.elsevier.com/fundingbodies>.

Language and language services

Manuscripts should be written in British English. Authors who are unsure of correct English usage should have their manuscript checked by someone proficient in the language. Manuscripts in which the English is difficult to understand may be returned to the author for revision before scientific review. Papers that are accepted but incorrectly prepared or whose English is poor, may also be subject to delays in the press. After acceptance, the Editorial Offices will edit papers in accordance with the house style and will help authors to communicate effectively.

Authors who require information about language editing and copyediting services pre- and post-submission please visit [↗](http://www.elsevier.com/languagepolishing)<http://www.elsevier.com/languagepolishing> or our customer support site at [↗](http://epsupport.elsevier.com)<http://epsupport.elsevier.com> for more information. Please note Elsevier neither endorses nor takes responsibility for any products, goods or services offered by outside vendors through our services or in any advertising. For more information please refer to our Terms & Conditions: [↗](http://www.elsevier.com/termsandconditions)
<http://www.elsevier.com/termsandconditions>

Submission

Submission to this journal proceeds totally online and you will be guided stepwise through the creation and uploading of your files. The system automatically converts source files to a single PDF file of the article, which is used in the peer-review process. Please note that even though manuscript source files are converted to PDF files at submission for the review process, these source files are needed for further processing after acceptance. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, takes place by e-mail removing the need for a paper trail.

Referees

Please submit, with the manuscript, the names and e-mail addresses of 4 potential referees.

In case of double blind peer review, please make sure that all text that may reveal your identity is excluded from the source files.



Preparation

Language

Please write your text in good English (British usage only is accepted). Use decimal points (not decimal commas); use a space for thousands (10 000 and above).

Use of word processing software

It is important that the file be saved in the native format of the wordprocessor used. Microsoft Word is preferred; pdfs are not acceptable. See <http://www.elsevier.com/wps/find/authorsview.authors/howtosubmitpaper> for a guide to formatting documents, including LaTeX.

The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible.

Type all manuscripts with double line spacing and aligned left, including the abstract, references, figure legends and tables.

Use a font size of 11 or larger.

Manuscripts should have continuous line numbers, page numbers and wide margins throughout (including the abstract, references, figure legends and tables).

Indent each new paragraph.

Use consistent punctuation; insert only a single space between words and after punctuation.

Type text without end-of-line hyphenation, except for compound words. Use initial capitals only for proper names (e.g. names of people, places or proprietary products), not for animals or for words such as 'experiment' or 'group'. Initial capitals may be used to label categories of behaviour or specifically defined measures. Do not use italics for these, for emphasis or for foreign words.

Use two returns to end headings and paragraphs.

Do not use lower-case 'l' (el) for '1' (one) or 'O'(oh) for '0' (zero); they have different typesetting values.

Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the wordprocessor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. Do not embed "graphically designed" equations or tables, but prepare these using the wordprocessor's facility. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the Guide to Publishing with Elsevier: <http://www.elsevier.com/guidepublication>). Do not import the figures into the text file but, instead, indicate their approximate locations directly in the electronic text and on the manuscript. See also the section on Electronic illustrations.

To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the "spell-check" and "grammar-check" functions of your wordprocessor.

Article structure

Subdivision - unnumbered sections

Divide your article into clearly defined sections. Each subsection is given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line. Subsections should be

used as much as possible when cross-referencing text: refer to the subsection by heading as opposed to simply "the text".

The usual main headings for Research papers are: Methods, Results, Discussion, Acknowledgments and References (no heading is used for the Abstract or Introduction). Papers should not be forced to fit into this pattern of headings, however, if they do not naturally do so. Type main headings in capitals on a separate line on the left of the page. Type subheadings in italics at the left of the page on a separate line, and begin the main words with a capital letter. Type sub-subheadings in italics on a new line, aligned full left. Start the text on a new line after subheadings and sub-subheadings. When presenting multiple experiments, authors may use main headings for the titles of each experiment, with the Methods and Results of each experiment listed as subheadings. Try to keep subheadings short enough to fit within a single column.

Introduction

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

The Introduction should be brief, not normally exceeding two manuscript pages. Keep references to a minimum by citing reviews rather than primary research papers where appropriate.

Methods

Provide sufficient detail to allow the work to be reproduced. Methods already published should be indicated by a reference: only relevant modifications should be described. Give the names and addresses of companies providing trademarked products. Always state sample sizes (the number of animals used in the study) and the age, sex, breed/strain and source of animals. Full details of testing or observational regimes should be given. If captive animals were used, include details of housing conditions relevant to the study (e.g. cage size and type, bedding, group size and composition, lighting, temperature, ambient noise conditions, maintenance diets) both during the study and during any period before the study that might bear on the results. The Methods section may also contain a description of the kinds of statistics used and the activities that were recorded.

Ethical note. Where ethical considerations arise from the study, these should be addressed in the Methods, either in the main Methods section itself (where the additional discussion is relatively minor), or in a separate subsection of the Methods headed Ethical note. Any ethical implications of the experimental design and procedures should be identified, and any licences acquired to carry out the work specified. Procedures that were taken to minimize the welfare impact on subjects, including choice of sample sizes, use of pilot tests and predetermined rules for intervention, should be described. Any steps taken to enhance the welfare of subjects (e.g. through 'environmental enrichment') should also be indicated. If the study involved keeping wild animals in captivity, state for how long the animals were captive and whether, where and how they were returned to the wild at the end of the study.

Results

Results should be clear and concise. This section should include only results that are relevant to the hypotheses outlined in the Introduction and considered in the Discussion.

The text should complement material given in Tables or Figures but should not directly repeat it. Give full details of statistical analysis either in the text or in Tables or Figure legends. Include the type of test, the precise data to which it was applied, the value of the relevant statistic, the sample size and/or degrees of freedom, and the probability level. Number Tables and Figures in the order to which they are referred in the text. Means and standard errors/standard deviations (and medians and interquartile ranges/confidence limits), with their associated sample sizes, are given in the format $X + SE = 10.20 + 1.01$ g, $N = 15$, not $X = 10.20$, $SE = 1.01$, $N = 15$.

For significance tests, give the name of the test followed by a colon, the test statistic and its value, the degrees of freedom or sample size (whichever is the convention for the test) and the P value (note that F values have two degrees of freedom). The different parts of the statistical quotation are separated by a comma. Note use of italics for F , P , N and other variables.

If the test statistic is conventionally quoted with degrees of freedom, these are presented as a subscript to the test statistic. For example:

ANOVA: $F_{1,11} = 7.89$, $P = 0.017$

Kruskal-Wallis test: $H_{11} = 287.8$, $P = 0.001$

Chi-square test: $\chi^2_2 = 0.19$, $P = 0.91$

Paired t test: $t_{12} = 1.99$, $P = 0.07$

If the test is conventionally quoted with the sample size, this should follow the test statistic value. For example:

Spearman rank correlation: $r_s = 0.80$, $N = 11$, $P < 0.01$

Wilcoxon signed-ranks test: $T = 6$, $N = 14$, $P < 0.01$

Mann-Whitney U test: $U = 74$, $N_1 = N_2 = 17$, $P < 0.02$

P values for significant outcomes can be quoted as below a threshold significance value (e.g. $P < 0.05$, 0.01, 0.001), but wherever possible should be quoted as an exact probability value. Departure from a significance threshold of 0.05 should be stated and justified in the Methods. Marginally nonsignificant outcomes can be indicated as exact probability values or as $P < 0.1$. Nonsignificant outcomes should be indicated with an exact probability value whenever possible, or as NS or $P < 0.05$, as appropriate for the test.

State whether a test is one tailed or two tailed (or specific or nonspecific in the case of Meddis' nonparametric ANOVAs). One-tailed (or specific) tests should be used with caution. Their use is justified only when there are strong a priori reasons for predicting the direction of a difference or trend and results in the opposite direction can reasonably be regarded as equivalent to no difference or trend at all. Authors are referred to Kimmel (1957, *Psychological Bulletin*, **54**, 315-353).

Do not quote decimals with naked points, for example quote 0.01, not .01, or normally to more than three decimal places (the exception being P values for significance tests, which may be quoted to four decimal places where appropriate, e.g. 0.0001).

Regressions and analyses of variance. The significance of regressions should be tested with F or t but not the correlation coefficient r . R^2 should be quoted with both regressions and parametric analyses of variance.

Multiple range tests. Unplanned multiple range tests following ANOVA should be avoided unless their appropriateness for the comparisons in question is verified explicitly. Authors are referred to the review by Day & Quinn (1989, *Ecological Monographs*, **59**, 433-463).

Power tests. Where a significance test based on a small sample size yields a nonsignificant result, explicit consideration should be given to the power of the data for accepting the null hypothesis. Authors are referred to Thomas & Juanes (1996, *Animal Behaviour*, **52**, 856-859) and Colegrave & Ruxton (2003, *Behavioral Ecology*, **14**, 446-447) for guidance on the appropriate use of power tests. Providing a value for power based on a priori tests is preferred. Values of observed power are not appropriate. Authors should consider effect sizes and their confidence intervals in drawing conclusions regarding the null hypothesis.

Transformations. Where data have been transformed for parametric significance tests, the nature of the transformation and the reason for its selection (e.g. $\log x$, x^2 , arcsine) should be stated.

Discussion

It is often helpful to begin the Discussion with a summary of the main results. The main purpose of the Discussion, however, is to comment on the significance of the results and set them in the context of previous work. The Discussion should be concise and not excessively speculative, and references should be kept to a minimum by citing review articles as much as possible.

Conclusions

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, as a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

Appendices

If there is more than one appendix, they should be identified as 1, 2, etc. Formulae and equations in appendices should be given separate numbering: equation (A1), equation (A2), etc.

Essential title page information

Title. This should be brief and informative, and should not exceed 120 characters. Avoid abbreviations, as well as part numbers unless the papers are to be published consecutively in the same issue of the Journal.

Author names and affiliations. Where the family name may be ambiguous (e.g. a double name), please indicate this clearly. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Affiliations should not include street, box number, postal (zip) code, country (when that is obvious) or city, state, province, etc., when that is redundant with the

University name.

Corresponding author. Clearly indicate who is willing to handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. **Ensure that telephone and fax numbers (with country and area code) are provided in addition to the e-mail address and the complete postal address.**

Correspondence. At the bottom of the page, give the full postal address and e-mail address (if desired) of the corresponding author and the present postal addresses of all authors.

Word count. Include a word count for the text.

Title document

The title document should contain the title of the article, all affiliations of author and co-authors and their addresses. In case of double blind peer review, this information should not appear in any other file, in order not to yield the authors identity to the reviewer.

Abstract

The Abstract should describe the purpose of the study, outline the major findings and state the main conclusions. It should be concise, informative, explicit and intelligible without reference to the text. Abstracts should usually be limited to 250 words. Use both common and scientific names of animals at first mention in the Abstract unless they are given in the title. Avoid using references; if used, give the journal name, volume and page numbers, or the book title and publisher.

Keywords

Immediately after the abstract, provide up to 10 keywords, using British spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, "and", "of"). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

Abbreviations

Define abbreviations that are not standard in this field at their first mention in the abstract and the main text. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.

Acknowledgements

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

Nomenclature and units

Follow internationally accepted rules and conventions: use the international system of units (SI). If other quantities are mentioned, give their equivalent in SI.

Math formulae

Present simple formulae in the line of normal text where possible. Single-letter variables should be italics. Number consecutively any equations that have to be displayed separately from the text.

Footnotes

Use footnotes only to add information below the body of a Table.

Artwork

Image manipulation

While it is accepted that authors sometimes need to manipulate images for clarity, manipulation for purposes of deception or fraud will be seen as scientific ethical abuse and will be dealt with accordingly. For graphical images, this journal is applying the following policy: no specific feature within an image may be enhanced, obscured, moved, removed, or introduced. Adjustments of brightness, contrast, or colour balance are acceptable if and as long as they do not obscure or eliminate any information present in the original. Nonlinear adjustments (e.g. changes to gamma settings) must be disclosed in the figure legend.

Electronic artwork

General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Save text in illustrations as "graphics" or enclose the font.
- Only use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Helvetica, Times, Symbol.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Produce images near to the desired size of the printed version.
- Submit each figure as a separate file.

A detailed guide on electronic artwork is available on our website:

⇒ <http://www.elsevier.com/artworkinstructions> **You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.**

Formats

Regardless of the application used, when your electronic artwork is finalized, please "save as" or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS: Vector drawings. Embed the font or save the text as "graphics".

TIFF: colour or greyscale photographs (halftones): always use a minimum of 300 dpi.

TIFF: Bitmapped line drawings: use a minimum of 1000 dpi.

TIFF: Combinations bitmapped line/half-tone (colour or greyscale): a minimum of 500 dpi is required.

DOC, XLS or PPT: If your electronic artwork is created in any of these Microsoft

Office applications please supply "as is".

Please do not:

- Supply embedded graphics in your wordprocessor (spreadsheet, presentation) document;
- Supply files that are optimized for screen use (like GIF, BMP, PICT, WPG); otherwise, the resolution is too low;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

Colour artwork

If, together with your accepted article, you submit usable colour figures, then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in colour on the Web (e.g. ScienceDirect and other sites) regardless of whether these illustrations are reproduced in colour in the printed version. For colour reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article. Please indicate your preference for colour in print or on the Web only. For further information on the preparation of electronic artwork, please see <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

Please note: Because of technical complications that can arise by converting colour figures to "greyscale" (for the printed version should you not opt for colour in print) please submit in addition usable black and white versions of all the colour illustrations.

Figure captions

Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (**not** on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Tables

Number tables consecutively, with Arabic numerals, in accordance with their appearance in the text. Place footnotes to tables below the table body and indicate them with superscript symbols. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in tables do not duplicate results described elsewhere in the article. Do not divide tables into two or more parts. Tables should not contain vertical rules, and the main body of the table should not contain horizontal rules. Large tables should be narrow (across the page) and long (down the page) rather than wide and short, so that they can be fitted into the column width of the Journal.

References

Check that all references in the text are in the reference list and vice versa, that their dates and spellings match, and that complete bibliographical details are given, including page numbers, names of editors, name of publisher and full place of publication if the article is published in a book. Check foreign language references particularly carefully for accuracy of diacritical marks such as accents and umlauts. For papers in the course of publication, use 'in press' to replace the date and give the journal name in the

references. Cite unpublished manuscripts (including those in preparation or submitted), talks and abstracts of talks in the text as 'unpublished data' following a list of all authors' initials and surnames. Do not include these in the reference list.

Web references

Because of the ephemeral nature of many Web sites, other Web citations will be reviewed by the Editors to ensure they are appropriate to an archival journal. As a minimum, the full URL should be given. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given.

Reference style

Text:

All citations in the text should refer to:

1. *Single author*: the author's name (without initials, unless there is ambiguity) and the year of publication;
2. *Two authors*: both authors' names and the year of publication;
3. *Three or more authors*: first author's name followed by "et al." and the year of publication. Note that 'et al.' is not in italics.

Do not use commas to separate the author's name from the date. Use lower-case letters to distinguish between two papers by the same authors in the same year (e.g. Packer 1979a). List multiple citations in chronological order (e.g. Zahavi 1972; Halliday 1978; Arnold 1981a, b), using a semicolon to separate each reference.

Reference List:

References should be arranged first alphabetically and then further sorted chronologically if necessary. More than one reference from the same author(s) in the same year must be identified by the letters "a", "b", "c", etc., placed after the year of publication. To help readers locate 'et al.' citations with the same first authors in the reference list, list references with three (or more) names after those with two, by date, as in the following sequence: Marin & Silva 1992; Marin, Silva & Lopez 1986; Marin, Lopez & Silva 1989

Use the following system for arranging your references:

a. For periodicals

Robinson, M. H. & Robinson, B. 1970. The stabilimentum of the orb web spider, *Argiope argentata*: an improbable defense against predators. *Canadian Entomologist*, **102**, 641-645.

b. For books

Bailey, N. J. 1981. *Statistical Methods in Biology*. 2nd edn. London: Unibooks.

c. For multiauthor books

Emlen, S. T. 1978. The evolution of cooperative behaviour in birds. In: *Behavioural Ecology* (Ed. by J. R. Krebs & N. B. Davies), pp. 245-281. Oxford: Blackwell Scientific.

d. For theses

Smith, J. K. 1985. Investigations on a freshwater crab. Ph.D. thesis, University of Durham.

e. Forum articles should include volume and part number and Web site address and be

cited as:

Johnson, A. R. 1999. Scent marking in hyaenas: reply to Jones. *Animal Behaviour*, 57, F41-F43.

Note that journal titles in the reference list should be written in full.

In the case of publications in any language other than English, the original title is to be retained. However, the titles of publications in non-Latin alphabets should be transliterated, and a notation such as "(in Russian)" or "(in Greek, with English abstract)" should be added.

Work accepted for publication but not yet published should be referred to as "in press". References concerning unpublished data and "personal communications" should not be cited in the reference list but may be mentioned in the text.

Supplementary material

Elsevier accepts electronic supplementary material to support and enhance your scientific research. Supplementary files offer the author additional possibilities to publish supporting applications, movies, animation sequences, high-resolution images, background datasets, sound clips and more. Supplementary files supplied will be published online alongside the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect: ➤<http://www.sciencedirect.com>. In order to ensure that your submitted material is directly usable, please ensure that data are provided in one of our recommended file formats. Authors should submit the material in electronic format together with the article and supply a concise and descriptive caption for each file. Video files: please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your supplementary information. For more detailed instructions please visit our artwork instruction pages at ➤<http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

Submission checklist

It is hoped that this list will be useful during the final checking of an article prior to sending it to the journal's Editor for review. Please consult this Guide for Authors for further details of any item.

Ensure that the following items are present:

One Author designated as corresponding Author:

- E-mail address
- Full postal address
- Telephone and fax numbers
- All necessary files have been uploaded
- Keywords
- All figure captions
- All tables (including title, description, footnotes)
- Further considerations
- Manuscript has been "spellchecked" and "grammar-checked"
- References are in the correct format for this journal
- All references mentioned in the Reference list are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Web)
- Colour figures are clearly marked as being intended for colour reproduction on the

Web (free of charge) and in print or to be reproduced in colour on the Web (free of charge) and in black-and-white in print

•If only colour on the Web is required, black and white versions of the figures are also supplied for printing purposes For any further information please visit our customer support site at <http://epsupport.elsevier.com>.



After Acceptance

Use of the Digital Object Identifier

The Digital Object Identifier (DOI) may be used to cite and link to electronic documents. The DOI consists of a unique alpha-numeric character string which is assigned to a document by the publisher upon the initial electronic publication. The assigned DOI never changes. Therefore, it is an ideal medium for citing a document, particularly 'Articles in press' because they have not yet received their full bibliographic information. The correct format for citing a DOI is shown as follows (example taken from a document in the journal *Physics Letters B*):

doi:10.1016/j.physletb.2003.10.071

When you use the DOI to create URL hyperlinks to documents on the web, they are guaranteed never to change.

Proofs

One set of page proofs in PDF format will be sent by e-mail to the corresponding author. Elsevier now sends PDF proofs which can be annotated; for this you will need to download Adobe Reader© version 7 (or higher) available free from <http://www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html>.

Instructions on how to annotate PDF files will accompany the proofs. The exact system requirements are given at the Adobe site: <http://www.adobe.com/products/acrobat/acrrsystemreqs.htm#l70win>.

If you do not wish to use the PDF annotations function, you may list the corrections (including replies to the Query Form) in an e-mail. Please list your corrections quoting line number. If, for any reason, this is not possible, then mark the corrections and any other comments (including replies to the Query Form) on a printout of your proof and return by fax, or scan the pages and e-mail, or by post. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures.

Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Therefore, it is important to ensure that all of your corrections are sent back to us in one communication: please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed.

Proofreading is solely your responsibility. Note that Elsevier may proceed with the publication of your article if no response is received.

Offprints

The corresponding author, at no cost, will be provided with a PDF file of the article via e-mail. The PDF file is a watermarked version of the published article and includes a cover sheet with the journal cover image and a disclaimer outlining the terms and

conditions of use. Additional paper offprints can be ordered by the authors. An order form with prices will be sent to the corresponding author.

Author's Discount

Contributors to Elsevier journals are entitled to a 30% discount on most Elsevier books, if ordered directly from Elsevier.



Author Inquiries

For inquiries relating to the submission of articles (including electronic submission where available) please visit this journal's homepage. You can track accepted articles at <http://www.elsevier.com/trackarticle> and set up e-mail alerts to inform you of when an article's status has changed. Also accessible from here is information on copyright, frequently asked questions and more. Contact details for questions arising after acceptance of an article, especially those relating to proofs, will be provided by the publisher.