

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS

**O comportamento de corte de *Heliconius erato phyllis*
(Lepidoptera, Nymphalidae) e como ele se altera perante fêmeas
acasaladas: conflito entre sinais de atração e repulsão?**

Aluno: André Luis Klein

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 2008.

Redigido segundo as normas da revista *Journal of Insect Behavior* (em anexo)

BIO
BIO
439

RS - IBIO

Título: O comportamento de corte de *Heliconius erato phyllis* (Lepidoptera, Nymphalidae) e como ele se altera perante fêmeas acasaladas: conflito entre sinais de atração e repulsão?

André Luis Klein e Aldo Mellender de Araújo

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

Título abreviado: Cortejo a fêmeas virgens e acasaladas em *H. erato phyllis*.

Correspondência (Aldo Mellender de Araújo):

Departamento de Genética, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Av. Bento Gonçalves, 9500, Prédio 43323, sala 207. CEP: 91501-970. Cx. Postal 15053, Porto Alegre, RS, Brasil. Fone +55 51 3308-6717 Fax: +55 51 3316-7311. E-mail: aldo1806@gmail.com.

E-mail de André Luis Klein: ndrklein@gmail.com.

Resumo

Observações de fêmeas de *Heliconius erato phyllis* sendo intensamente cortejadas alguns dias após a cópula contradizem a proposta de repulsividade esperada pela presença de um antiafrodisíaco transferido pelos machos; além disso, dados sobre a corte das borboletas *Heliconius* são quase ausentes na literatura. Neste trabalho se objetivou descrever o comportamento de corte de *H. erato phyllis* e compará-lo quali-quantitativamente em relação a fêmeas virgens e acasaladas. As diferenças encontradas indicam que a seqüência da corte perante fêmeas acasaladas é bloqueada na transição que levaria ao comportamento imediatamente anterior à cópula. Sugerimos que a atratividade das fêmeas seja mediada por dois sinais químicos antagônicos: o antiafrodisíaco depositado durante a cópula e um feromônio de atração importante na fase de pupa, presente apenas em fêmeas jovens.

Palavras-chave: comportamento de corte, antiafrodisíaco, atratividade das fêmeas, sinais antagônicos, borboletas.

INTRODUÇÃO

A corte pode ser definida como a parte da seqüência de acasalamento (geralmente, mas não exclusivamente, antes da cópula) em que macho e fêmea estão ao alcance um do outro em pelo menos um sentido e respondendo um ao outro, pelo menos um deles sexualmente e positivamente (Alexander *et al.* 1997). Inicialmente a etologia considerava quatro funções para o comportamento de corte: sincronizar as atividades de macho e fêmea para a reprodução, facilitar a orientação espacial entre os indivíduos, suprimir respostas não-sexuais do parceiro e impedir pareamentos heteroespecíficos (Tinbergen 1954). O surgimento de uma abordagem que rebatia propostas de seleção atuando no nível de grupos ou espécies e retomava a ênfase darwiniana na seleção no nível de indivíduos durante a década de 1960 mudou estes conceitos, tendo seu maior impacto justamente no estudo do comportamento sexual (Alcock e Gwynne 1991). Até então a idéia de escolha de um sexo pelo outro aparecia dentre as funções da corte apenas na importância de se escolher parceiros da mesma espécie, garantindo assim o isolamento reprodutivo. Atualmente, com uma ênfase maior na seleção sexual, são consideradas outras duas funções principais para a corte além do reconhecimento específico: competir com indivíduos do mesmo sexo (geralmente machos) por oportunidades de acasalamento, o que pode gerar *seleção intra-sexual*, e avaliar características do parceiro que indiquem sua qualidade (geralmente dos machos pelas fêmeas), permitindo a *seleção sexual epigâmica* ou *seleção inter-sexual* (Krebs e Davies 1990). Além da sua importância evidente para estudos de evolução que tentem explicar o valor adaptativo de um fenótipo em particular (pela seleção sexual) ou que investiguem processos de especiação e manutenção da diversidade (por isolamento reprodutivo), descrever a corte ou qualquer outra categoria de comportamento complexo na

forma de unidades discretas é essencial para a biologia comparada, a qual pode contribuir para a filogenia de um grupo taxonômico ou, no mínimo, para se compreender a história evolutiva dos próprios padrões comportamentais em questão.

As borboletas neotropicais do gênero *Heliconius* (Lepidoptera, Nymphalidae) têm sido utilizadas com grande sucesso como um modelo de estudo para a biologia evolutiva (Brower 1997 e Joron *et al.* 2006), principalmente no que diz respeito a mecanismos de isolamento reprodutivo e especiação (Mc Millan *et al.* 1997, Jiggins *et al.* 2001, Jiggins *et al.* 2004 e Mavárez *et al.* 2006). Dentro deste tema, um trabalho recente demonstrou a existência de atração sexual interespecífica no par mimético *H. erato* e *H. melpomene* decorrente da convergência no padrão de coloração das asas (Estrada e Jiggins 2008). Os autores sugerem que *H. erato*, mais eficiente em discriminar heteroespecíficos do que *H. melpomene*, deve possuir vias adicionais de reconhecimento que reduzem este custo associado à evolução do mimetismo e asseguram o isolamento reprodutivo. *H. besckei*, pertencente ao mesmo complexo mimético, também parece ser atraída por *H. erato phyllis*, iniciando perseguições em vôo com esta, mas não por *H. melpomene melpomene* que, diferentemente das duas anteriores, não possui uma faixa amarela nas asas posteriores – provavelmente um componente visual importante para o disparo do cortejo em *H. besckei* (Emsley 1970).

A comunicação sexual em borboletas constitui um cenário complexo, podendo envolver o uso de múltiplos sinais em diferentes fases do reconhecimento e da escolha de parceiros (Sweeney *et al.* 2003, Constanzo e Monteiro 2007 e Friberg *et al.* 2008). Uma vez que a atração inicial se dá predominantemente por canais visuais (Scott 1973 e Silberglied 1984), se sugere que espécies envolvidas em complexos miméticos dependam mais

fortemente de sinais químicos para o reconhecimento específico (Vane-Wright e Boppré 1993). A informação contida nos sinais visuais, contudo, pode ser alterada ou controlada pela execução de diferentes exibições comportamentais e, de fato, espécies simpátricas com padrões de coloração mais similares parecem ter justamente os rituais de corte mais divergentes e conspícuos (Rutowski 1984).

No Estado do Rio Grande do Sul (Brasil), uma das espécies de *Heliconius* mais estudadas é *H. erato phyllis*, principalmente em relação a aspectos genéticos e ecológicos (Périco e Araújo 1991, Silva e Araújo 1994, Rodrigues e Moreira 2002 e 2004, Kerpel e Moreira 2005 e Ferreira e Araújo 2006). Esta espécie possui duas alternativas de acasalamento. No *cruzamento pupal*, característica que teria se originado uma única vez dentro do gênero (Brower 1997 e Beltrán *et al.* 2007), os machos procuram pupas de fêmeas em meio à vegetação e passam a inspecioná-las diariamente, cada vez com mais frequência. No dia da eclosão os machos pousam sobre a pupa e competem pelo acesso à fêmea, com a qual um deles copula antes mesmo de ela distender completamente as asas. Em *H. hewitsoni* a estratégia é ainda mais extrema, já que os machos perfuram a pupa da fêmea com o abdômen e a cópula ocorre antes da fêmea eclodir (Deinert *et al.* 1994 e 2003). Deste modo, há um grande potencial para seleção intra-sexual gerada pela competição direta entre os machos e reforçada pelo fato de que as fêmeas copulam uma única vez na vida. A segunda alternativa corresponde aos casos em que não ocorre cruzamento pupal e a fêmea é cortejada ativamente por um macho antes da cópula. Diferentemente do cruzamento pupal, no cruzamento precedido por corte a fêmea deve ter um papel mais importante na escolha, podendo resultar em seleção sexual epigâmica. No gênero *Heliconius*, contudo, a descrição do comportamento de corte está limitada a um único trabalho com a subespécie *H. erato hydara* (Crane 1955) e, mesmo dentro da tribo

Heliconiini, existem apenas dois estudos com enfoque etológico sobre os rituais de corte (Rutowski e Schaefer 1984 e Mega 2008).

A despeito da escassez de dados descritivos, outros aspectos do comportamento sexual das borboletas *Heliconius* já são conhecidos. Um deles é a transferência de um antiafrodisiaco do macho para a fêmea durante a cópula, detectada em duas espécies até agora: *H. erato* (Gilbert 1976) e *H. melpomene* (Schulz *et al.* 2008). Nestas borboletas as fêmeas acasaladas emitem um forte odor (detectável pelo nosso olfato) proveniente de uma substância transferida pelos machos que as deixa repulsivas a estes, agindo como um reforçador da monandria. Este composto ficaria armazenado em glândulas dos últimos segmentos abdominais que, nos machos, correspondem a um par de estruturas quitinizadas, as valvas, que agarram o abdômen de sua parceira durante a cópula e, nas fêmeas, a um par de glândulas amarelas (“*stink clubs*”) que se inflam e são expostas no momento da emissão dos voláteis (Emsley 1963, Gilbert 1976 e Schulz *et al.* 2008). Gilbert (1976) sugere como possível origem para esta sinalização um feromônio ativo nos machos no final da fase de pupa, o qual permitiria a eles o reconhecimento sexual prévio quando procuram pupas do sexo oposto. Este feromônio pode então ter adquirido uma função dupla a partir do momento em que passou a ser transferido para as fêmeas, diminuindo a chance de re-cópula destas (competição espermática) e, posteriormente, minimizando para ambos os sexos o tempo gasto com cortejo a fêmeas acasaladas. Além do gênero *Heliconius*, o uso de antiafrodisiacos em Lepidoptera está relatado também apenas na família Pieridae (Andersson *et al.* 2000, Andersson *et al.* 2003 e Andersson *et al.* 2004) onde, ao contrário de *Heliconius*, a substância repelente se esgota após alguns dias nas fêmeas e estas voltam a se tornar atrativas e copular.

Numerosas observações casuais em viveiro (Aguilar e Araújo 1994 e Klein observações pessoais), têm constatado fêmeas de *Heliconius erato phyllis* sendo intensamente cortejadas até pelo menos dois dias após a cópula – sendo que estas já possuem o odor característico do antiafrodisíaco imediatamente após o desacoplamento genital. Crane (1955), referindo-se às fêmeas acasaladas de *H. erato hydara*, afirma ainda que "este odor, bem conhecido nesta espécie, parece não ter efeito sobre os machos cortesãos", e atribui a tal substância a função de defesa antipredatória. A evidência da função de antiafrodisíaco em *H. erato* provém de observações onde os machos pousados sobre uma pupa se agitavam e se afastavam ao aproximar deles uma fêmea acasalada com a glândula de cheiro exposta (Gilbert 1976). Já em *H. melpomene* a demonstração é mais experimental e se baseia em medidas de *número de abordagens* e *duração de cortejo* às fêmeas tratadas com tal substância (Schulz *et al.* 2008). Mesmo assim, partindo-se do pressuposto de que o ritual de corte é composto por várias unidades discretas, a detecção de diferenças mais sutis, isto é, não apenas na duração total, mas também na *composição* e na *estrutura temporal* das interações da corte, pode gerar hipóteses mais enriquecedoras para o efeito do antiafrodisíaco sobre os machos. No entanto, diferenças deste tipo só podem ser verificadas após se conhecer o repertório comportamental que compõe a corte na espécie em estudo.

Considerando a escassez de dados sobre a corte nas borboletas *Heliconius* e a relevância deste tema para se embasar e complementar estudos evolutivos e comportamentais dentro do grupo, o primeiro objetivo deste trabalho foi descrever o comportamento de corte de *H. erato phyllis*. Em segundo lugar, visando esclarecer a contradição do efeito repulsivo de um antiafrodisíaco sobre os machos com as observações

que constataam cortejo intenso às fêmeas alguns dias após a cópula, procurou-se responder como o comportamento de corte dos machos se altera perante fêmeas acasaladas. Do ponto de vista operacional, estas questões foram divididas em três objetivos específicos: 1) descrever as *unidades comportamentais* de machos e fêmeas em interação, 2) quantificar e comparar as unidades comportamentais dos machos perante fêmeas virgens e acasaladas e 3) quantificar e comparar as *transições de eventos* das interações com fêmeas virgens e acasaladas.

MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo foi dividido em duas grandes etapas. A primeira consistiu na descrição das unidades comportamentais e foi realizada entre outubro de 2006 e maio de 2007; a segunda objetivou a quantificação das unidades comportamentais e das transições de eventos utilizando tanto fêmeas virgens quanto acasaladas, além de complementar os dados descritivos, e foi realizada entre dezembro de 2007 e abril de 2008.

Proveniência e criação dos indivíduos

Todas as fêmeas utilizadas provinham de uma criação mantida em laboratório e viveiro, afim de que se tivesse garantia de sua virgindade e idade. Fêmeas fertilizadas obtidas de várias coletas em quatro populações naturais, além de outras provenientes da criação em laboratório que copularam posteriormente, eram mantidas em viveiros de aproximadamente 3x3x2m contendo plantas hospedeiras (*Passiflora suberosa* e *P. misera*) e de outras espécies, proporcionando um ambiente semi-natural, além de se oferecer

diariamente fontes artificiais de alimentação compostas de uma mistura a base de água, mel e pólen. Os ovos eram recolhidos todos os dias e levados ao laboratório, onde as larvas eram criadas com uma dieta diária de folhas de *P. suberosa* e sob temperatura (24-26°C) e umidade controlados até a eclosão do adulto.

Na primeira etapa do estudo utilizaram-se fêmeas provenientes de 13 proles com paternidade conhecida além de uma parte proveniente de diversas proles criadas juntamente. Parte dos machos foi obtida das coletas de campo mencionadas acima e outra parte de sete proles diferentes criadas em laboratório.

Na segunda etapa foram utilizadas fêmeas virgens provenientes de sete proles com paternidade conhecida além de uma parte proveniente de pelo menos cinco proles distintas criadas juntamente. A maior parte dos machos foi obtida de coletas realizadas em duas populações naturais e outra parte de seis proles com paternidade conhecida e de um conjunto formado por pelo menos cinco proles diferentes.

Observações e filmagens

Todas as observações foram feitas em dias com temperatura superior a 20°C, sem chuva e nem muito vento, no intervalo das 10:00 às 15:00 hs.

Na primeira etapa as observações foram realizadas em viveiros de 3x3x3m ou de 2x2x2m com as condições ambientais mencionadas em *Proveniência e criação dos indivíduos*. Em um viveiro eram mantidas apenas fêmeas virgens e em outro apenas machos. No momento da observação um macho era escolhido aleatoriamente, contanto que não tivesse sido utilizado no dia anterior, e introduzido no viveiro das fêmeas, realizando-se o método de observação *animal-focal* (Altmann 1974) sobre este indivíduo por uma hora

ou até que ocorresse cópula. Sempre que o macho se aproximava de uma fêmea, ou vice-versa, a câmera era acionada, de modo que todas as interações sexuais fossem registradas. Algumas observações também foram feitas introduzindo-se uma fêmea no viveiro contendo machos, mas esta permanecia inativa na maior parte das observações, aparentemente sendo mais influenciada pelo estresse da manipulação do que os machos. Nesta etapa foram realizadas aproximadamente 52 horas de observação, das quais seis foram filmadas – período no qual ocorreram 30 cópulas, das quais 20 foram filmadas.

Na segunda etapa todas as observações foram realizadas em viveiros iguais de 3x3x3m. No dia em que se constatava que uma fêmea havia eclodido em laboratório ela era introduzida em um viveiro vazio com as condições mencionadas acima, onde permanecia por um ou dois dias para aclimação. Após este período considerou-se que a fêmea tinha, portanto, entre um e três dias de idade, já que havia a possibilidade de ela ter eclodido no dia anterior ao que se constatou. Assim, um ou dois dias depois da introdução da fêmea, um macho, mantido em um viveiro sem fêmeas, era introduzido naquele mesmo recinto. Neste momento era acionada a câmera e se filmava ininterruptamente a fêmea até o início da cópula ou, no máximo, por 20 minutos, de modo que todas as interações dela com o macho eram registradas integralmente. Foram filmados 31 casais com fêmeas diferentes até se obter 20 cópulas, as quais ocorreram com 15 machos diferentes, sendo que cinco destes foram usados duas vezes com pelo menos dois dias de intervalo entre as observações.

As fêmeas que copulavam eram mantidas no viveiro por um, dois, ou três dias, quando se realizava a segunda observação utilizando um macho diferente do que copulou com esta e, do mesmo modo, a fêmea era filmada por 20 minutos. Assim, foram filmadas 20 fêmeas e 15 machos diferentes – novamente nenhum tendo sido usado mais do que duas

vezes. 14 das 20 fêmeas e 13 dos 15 machos utilizados no primeiro grupo (cópulas com fêmeas virgens) foram utilizados também no segundo (fêmeas acasaladas).

Foram feitos ainda dois grupos preliminares: um com 10 casais utilizando-se 10 machos diferentes e cinco fêmeas (duas vezes cada) que haviam copulado a mais de 20 dias e outro com quatro casais utilizando-se quatro machos diferentes e duas fêmeas virgens com 22 e 23 dias de idade (duas vezes cada); todas filmadas durante vinte minutos nas mesmas condições das observações anteriores.

Análise dos vídeos e quantificação

Os vídeos da primeira etapa foram assistidos cuidadosamente em tempo real e, quando necessário, quadro a quadro (30 qps) através do *software* VirtualDubMod. A partir destes vídeos os comportamentos que ocorriam durante interações macho-fêmea foram descritos e categorizados em *unidades comportamentais*.

Os vídeos da segunda etapa foram assistidos em tempo real e, com base nas unidades comportamentais já descritas, todas as interações macho-fêmea foram transcritas; considerando-se como *interação* todo movimento realizado por pelo menos um dos indivíduos enquanto próximos no mínimo cerca de cinco centímetros em pouso e 30 centímetros em voo.

A partir das transcrições as unidades comportamentais dos machos foram quantificadas quanto a três parâmetros, baseados em Martin e Bateson (1993):

Frequência = nº de ocorrências / tempo de interação

Proporção de Tempo Gasto = tempo de execução / tempo de interação

Duração Média = tempo de execução / número de ocorrências

Também foi considerada a variável qualitativa de *ocorrência* (sim/não) de cada unidade comportamental por casal.

Para a obtenção das probabilidades de *transição de eventos*, os vídeos transcritos foram convertidos em *matrizes de Markov*, nas quais as linhas correspondem aos eventos precedentes e as colunas aos eventos sucessores. Assim, com base nas razões entre o número de vezes que cada transição ocorreu e o número total de ocorrências do evento precedente se obteve valores correspondentes a *transições de Markov de primeira ordem*, onde a chance de ocorrer um evento depende unicamente da ocorrência do evento imediatamente anterior (Fagen e Young 1978). Estes valores, que representam as probabilidades de cada transição, foram posteriormente reunidos em um fluxograma para as interações com fêmeas virgens e outro com fêmeas acasaladas.

Análise estatística

Os dados qualitativos (*ocorrência*) foram analisados através do Teste Qui-quadrado e os quantitativos (*Frequência*, *Proporção de Tempo Gasto* e *Duração Média*) pelo Teste *U* de Mann-Whitney, ambos utilizando-se o software SPSS 15.0. Considerou-se o nível de significância de $\alpha = 0,05$.

RESULTADOS

Dados descritivos

Foram identificadas 14 unidades comportamentais (Tabela I) durante as interações sexuais observadas, sendo sete exclusivamente dos machos, cinco exclusivamente das fêmeas e duas em que ambos participam simultaneamente. Dentre estas, *Sobrevôo estacionário* (Figura 1A), *Exposição das androcônias* (Figura 1B), *Dobramento do abdômen*, *Perseguição em vôo* e *Abertura e afastamento* (Figura 1D) ocorrem apenas entre machos e fêmeas e, assim, podem ser considerados como comportamentos de corte. Isto não significa que as demais unidades não façam parte da corte, mas apenas que podem ser executadas também em outros contextos, como interações sociais (*Interação em vôo*, *Inspeção* e *Pouso sobre asas*), exploração do ambiente (*Inspeção*) e defesa contra predadores (*Vibração posterior* (Figura 1C), ver Crane 1955). Uma das unidades comportamentais, *Abertura e afastamento* (fêmeas), parece ter relação com a idade, sendo mais comum quanto mais velha é a fêmea. Além disso, este comportamento foi o único que nunca ocorreu em casais que copularam. *Exposição das androcônias* (machos), ao contrário, se destacou por ser a única unidade presente em todos os cortejos bem-sucedidos.

A seqüência da corte pode ser dividida em cinco etapas:

- I) *Encontro*. Há duas possibilidades de encontro seguido de cortejo: a) o macho e a fêmea se encontram em vôo ou b) o macho em vôo encontra a fêmea em pouso.
- II) *Macho e fêmea em vôo*. Nesta etapa pode ocorrer *Interação em vôo* e/ou *Perseguição em vôo*. Se o casal não se separar, segue-se o pouso da fêmea (etapa III) ou de ambos quase simultaneamente (etapa IV).

III) *Macho em vôo e fêmea em pouso*. Nesta etapa o macho geralmente executa *Inspeção* e/ou *Sobrevôo estacionário*, mas algumas vezes também pode ocorrer *Pouso sobre asas*. A fêmea pode se manter imóvel, com as asas fechadas ou abertas, ou executar *Vibração posterior*, *Contração*, *Rotação*, *Deslocamento* e, nas mais velhas *Abertura e afastamento*. Se o casal não se separar, a fêmea levanta vôo e se inicia uma perseguição (etapa II) ou o macho pousa bem próximo a ela (etapa IV).

IV) *Macho e fêmea em pouso*. Nas cortes bem sucedidas o macho normalmente executa apenas *Exposição das androcônias* e *Dobramento do abdômen*. Em interações atípicas (muito duradouras ou com fêmeas acasaladas), contudo, pode ocorrer *Batimento lento das asas* e *Toque com probóscide*. Os comportamentos possíveis para as fêmeas são os mesmos da etapa III. Se o casal não se separar a fêmea pode levantar vôo e iniciar uma perseguição (etapa II), o macho pode voltar a cortejar a fêmea em vôo (etapa III) ou ocorre o acoplamento genital (etapa V).

V) *Acoplamento genital*. Após o *Dobramento do abdômen* e a *Exposição das androcônias* o macho prende sua genitália à da fêmea, diminui o batimento das asas e faz uma rotação até ficarem em sentido antiparalelo. Alguns segundos depois ambos fecham as asas e se mantêm assim durante a maior parte da transferência espermática.

A seqüência mais simples possível para um cortejo bem-sucedido ocorre quando o macho encontra a fêmea em pouso e imediatamente pousa ao lado dela, executando apenas *Exposição das androcônias* e *Dobramento do abdômen*. Já as seqüências mais complexas ocorrem quando o macho encontra a fêmea em vôo e, durante a etapa III, a fêmea, ou durante a etapa IV, a fêmea ou o macho levantam vôo, alternando entre as fases II, III e IV várias vezes antes que ocorra a cópula ou que o casal se separe. Uma representação gráfica mais detalhada destas seqüências pode ser vista na figura 3, referente à segunda parte do

trabalho. A duração das interações contínuas de corte sucedidas por cópula nas observações em que os casais estavam isolados (segunda etapa do trabalho) variou de cinco a 92 segundos, considerando-se como o fim da interação o momento em que o macho inicia a rotação após o acoplamento genital.

Comparação entre o cortejo a fêmeas virgens e acasaladas

Das nove unidades comportamentais executadas pelos machos, apenas *Toque com probóscide* não foi quantificada por ser de difícil visualização. Em 18 dos vinte casais observados com fêmeas acasaladas, pelo menos um dos comportamentos considerados exclusivos para a corte (*Perseguição em vôo*, *Sobrevôo estacionário*, *Exposição das androcônias* e *Dobramento do abdômen*) ocorreram. Os valores de ocorrência em número de casais para cada unidade separadamente estão representados na Figura 2. Das oito unidades consideradas, duas tiveram diferença significativa: *Exposição das androcônias* e *Dobramento do abdômen*, que ocorreram com todas as fêmeas virgens que copularam.

A *Frequência* (Tabela II) diferiu significativamente para cinco unidades comportamentais: *Sobrevôo estacionário*, *Exposição das androcônias* e *Dobramento do abdômen*, mais frequentes perante fêmeas virgens, e *Interação em vôo* e *Batimento lento das asas*, mais frequentes perante fêmeas acasaladas. Devido à distribuição assimétrica dos dados, optou-se por representar *Frequência* e *Duração Média* através das medianas.

Para a *Proporção de Tempo Gasto* (Tabela III), três unidades tiveram diferença significativa: *Exposição das androcônias*, mais frequente perante fêmeas virgens, e *Interação em vôo* e *Batimento lento das asas*, mais frequentes perante fêmeas acasaladas. Assim, das três unidades que tiveram as médias mais altas perante fêmeas virgens –

Perseguição em voo (25,33%), *Sobrevôo estacionário* (20,31%) e *Exposição das androcônias* (35,53%) – totalizando 81,17% das interações, apenas uma, *Exposição das androcônias*, diferiu entre os dois grupos. *Pouso sobre asas* e *Dobramento do abdômen* foram considerados comportamentos instantâneos e, portanto, não foram quantificados quanto à *Proporção de Tempo Gasto* e *Duração Média*.

A *Duração Média* (Tabela IV) de duas unidades diferiram significativamente: *Sobrevôo estacionário*, maior perante fêmeas acasaladas, e *Exposição das Androcônias*, maior perante fêmeas virgens. *Sobrevôo estacionário*, além da diferença estatística, teve ainda valores extremos bem contrastantes, com duração média máxima de 10 contra 186 segundos perante fêmeas virgens e acasaladas, respectivamente.

Nos fluxogramas das *Transições de eventos* (Figura 3) pode-se notar pelo menos duas transições que têm uma grande chance de ocorrer ($> 0,80$) perante fêmeas virgens e que diminuíram para menos de 0,50 perante fêmeas acasaladas: *Fêmea pouso* → *Sobrevôo estacionário* e *Macho pouso* → *Exposição das androcônias*. Por outro lado, quatro transições que tinham uma chance menor que 0,50 de ocorrer perante fêmeas virgens aumentaram para mais de 0,80 perante as acasaladas: *Inspeção* → *Se afastam*, *Macho pouso* → *Batimento lento das asas*, *Exposição das androcônias* → *Batimento lento das asas* e *Latência em pouso* → *Batimento lento das asas*. Deste modo, pode-se dizer que a transição *Macho pouso* → *Exposição das androcônias* é substituída por *Macho pouso* → *Batimento lento das asas* nas interações com fêmeas acasaladas, enquanto que as demais diferenças citadas se devem a uma distribuição mais homogênea entre duas ou mais transições no grupo em que a probabilidade diminuiu.

Dentre os 10 casais observados com fêmeas acasaladas velhas, em apenas um o macho executou *Sobrevôo estacionário*, sendo que nos demais ocorreram apenas

comportamentos considerados de interações sociais. Nos quatro casais-com fêmeas virgens velhas a atividade sexual também foi baixa, com apenas um macho executando *Sobrevôo estacionário* uma vez e por menos de quatro segundos. Nestes dois grupos, contudo, foi marcante a alta frequência com que algumas fêmeas executavam *Abertura e afastamento* ao serem abordadas pelos machos – comportamento que nunca ocorreu com as fêmeas jovens. Também foram contrastantes com as outras observações as numerosas abordagens que estas fêmeas faziam aos machos que estavam em repouso, pousando assim que o macho levantava vôo.

DISCUSSÃO

O comportamento de corte de *H. erato phyllis*

A corte de *H. erato phyllis* é variável e complexa, principalmente no que diz respeito ao número de componentes e de transições de eventos; o que se reflete por fim na sua variação temporal. Esta caracterização encontra desde casos extremamente opostos na literatura, onde a corte é considerada "rápida e estereotipada" (Rutowski 1979) até alguns muito similares (Cordero 1993), onde se sugere que esta variabilidade pode refletir diferentes níveis de receptividade das fêmeas ou da qualidade intrínseca dos machos. A idade das fêmeas, geralmente relacionada com sua receptividade (Scott 1973) variou muito pouco na segunda parte deste estudo (dois dias). As características dos machos, contudo, não foram controladas e provavelmente foram responsáveis por parte desta variação. De fato, em insetos de um modo geral, persistência, intensidade, complexidade e número de

componentes da corte podem ser usados pelas fêmeas como indicadores de qualidades intrínsecas dos machos (Alcock e Thornhill 1983).

Apesar dos vários componentes facultativos, uma das unidades comportamentais da corte, *Exposição das androcônias*, ocorreu em todas as interações que terminaram em cópula (o mesmo vale para *Dobramento do abdômen*, mas este é necessariamente o modo de aproximação das genitálias). Este comportamento, *Exposição das androcônias* já havia sido relatado para *H. erato hydara* por Crane (1955) como a última etapa do cortejo, onde as "superfícies de fricção acinzentadas" das asas do macho ficam expostas. Estas superfícies correspondem à localização das androcônias no gênero *Heliconius* (Emsley 1963) – escamas associadas à glândulas de secreção cujo uso durante o cortejo, através de diferentes exhibições, é largamente difundido em borboletas (Boppré 1984). Em *H. erato phyllis* a ocorrência persistente de *Exposição das androcônias* nos casos de cópula nos leva a sugerir que o sinal emitido seja usado no reconhecimento específico, sendo fundamental para a aceitação pela fêmea. Boppré (1984), contudo, enfatiza a multiplicidade de efeitos que as androcônias podem ter em uma mesma espécie, agregando ao reconhecimento específico as funções de avaliação das condições fisiológicas dos machos pelas fêmeas e de competição intra-sexual. Em *Agraulis vanillae* há um padrão comportamental semelhante (embora sem a exposição das "superfícies de fricção") igualmente importante para o sucesso da corte (Rutowski e Schaefer 1984), tendo sido possivelmente a forma ancestral do padrão encontrado em *H. erato*.

A unidade denominada aqui de *Abertura e afastamento* mostrou-se dependente de uma idade mais avançada da fêmea e, possivelmente, de seu *status* reprodutivo. Além disso, é tentador atribuir a tal comportamento a função de rejeição, uma vez que nunca foi visto em ocasiões que terminaram em cópula e a disposição das asas da fêmea claramente

impede a aproximação lateral do macho e o acesso ao abdômen dela (ver Figura 1D). No entanto, apesar de várias posturas e movimentos de rejeição serem compartilhados entre diferentes espécies de borboletas (Scott 1973), não há qualquer registro deste comportamento na literatura.

Além de *Abertura e afastamento*, mais duas unidades descritas para as fêmeas não constam no trabalho de Crane (1955): *Contração* e *Rotação*. O primeiro é muito sutil e é possível que não tenha sido identificado anteriormente ou mesmo que não tenha sido considerado relevante. Contudo, apesar de não ter sido quantificado, pode-se sugerir que funcione como um modo de aceitação pela fêmea. Primeiramente, ele ocorre em grande parte das interações que terminam em cópula. Em segundo, a postura que a fêmea assume, com as asas fechadas e aproximando as anteriores das posteriores, deixa mais exposta a extremidade do abdômen, sendo exatamente o contrário da postura assumida em *Abertura e afastamento*. A *Rotação*, por outro lado, ocorre com pouca frequência e várias vezes com baixa intensidade (a fêmea faz um giro de poucos graus) enquanto o macho executa *Sobrevôo estacionário*, quando é possível que sirva para otimizar a captação de algum sinal químico ou mecânico (correntes de ar), ou quando ele já está pousado, quando a fêmea pode estar ajustando sua posição para o acoplamento das genitálias.

Das unidades comportamentais dos machos, além de *Exposição das androcônias*, citada acima, *Perseguição em vôo*, *Sobrevôo estacionário* e *Toque com probóscide* também são relatados no trabalho de Crane (1955); este último sendo considerado um comportamento atípico, mais freqüente em machos que já estão cortejando a fêmea por muito tempo sem sucesso. É possível que o mesmo ocorra com *H. erato phyllis*, já que nas ocasiões em que a fêmea está receptiva o macho gasta pouco tempo pousado ao lado dela, executando apenas *Exposição das androcônias* e *Dobramento do abdômen* por alguns

segundos antes do acoplamento genital. O padrão motor correspondente ao *Sobrevôo estacionário* também é encontrado em *Dryas iulia alcionea* (Mega 2008) e *Agraulis vanillae* (Rutowski e Schaefer 1984), pertencentes a gêneros basais de Heliconiini, enquanto que *Perseguição em vôo* está relatado apenas para a primeira espécie (contudo, a técnica utilizada para expor as fêmeas de *A. vanillae* aos machos, presas a um barbante, pode ter impedido a identificação deste comportamento).

As constantes abordagens aos machos feitas pelas fêmeas virgens com mais de 20 dias sugerem a solicitação de cortejo por estas, uma vez que parecem não ser mais atrativas e respondem ao levantar-vôo dos machos da mesma forma que as fêmeas receptivas o fazem quando cortejadas, ou seja, pousando rapidamente. Crane (1955) relatou observações que sugeriam o mesmo em *H. erato hydara* e, de fato, a solicitação de cortejo pelas fêmeas, em alguns casos associados com a idade, não é um fenômeno raro em borboletas (Rutowski 1980, Krebs 1988, Hiroki e Obara 1998, Daniels 2007 e Mega 2008). É possível que o alto investimento parental feito pelos machos através do espermatóforo tenha sido o responsável pela origem deste tipo de comportamento (Rutowski 1984).

Cortejo a fêmeas virgens e acasaladas

Os dados apresentados aqui confirmam a idéia originada por observações casuais de que fêmeas de *H. erato phyllis* continuam sendo atrativas sexualmente pelo menos até dois dias após a cópula. Uma vez que se trata de uma espécie monândrica, o assédio dos machos a fêmeas acasaladas pode ser considerado um *cortejo não-adaptativo*. Esta constatação, no mínimo, deixa dúvidas sobre o modo de funcionamento do antiafrodisiaco transferido pelos

machos durante a cópula (Gilbert 1976, Schulz *et al.* 2008) e corrobora a observação de Crane (1955) de que este odor não impede o assédio às fêmeas acasaladas.

O cortejo que os machos realizam perante fêmeas virgens e acasaladas difere qualitativa e quantitativamente quanto à sua composição e estrutura temporal. As diferenças qualitativas encontradas reafirmam a importância da *Exposição das androcônias* para a ocorrência de cópula e revelam a ausência deste comportamento em quase todas as interações com fêmeas acasaladas, do mesmo modo que *Dobramento do abdômen*. A *Exposição das androcônias* teve também uma diminuição perante fêmeas acasaladas para todas as variáveis quantitativas medidas e, ainda, na probabilidade de uma transição que leva a este comportamento. *Sobrevôo estacionário*, apesar de ter diminuído a frequência, aumentou muito sua *Duração Média* perante fêmeas acasaladas e, das três unidades que totalizaram mais de 80% da *Proporção de Tempo Gasto* perante fêmeas virgens, foi a única que manteve uma fração grande nas interações com as acasaladas. Olhando para estas duas unidades comportamentais dentro do ritual de corte como um todo é importante notar que *Sobrevôo estacionário* ocorre em uma fase intermediária da seqüência, antes do macho pousar, enquanto que *Exposição das androcônias* consiste na última fase, sendo executada simultaneamente com o *Dobramento do abdômen* e precedendo imediatamente o acoplamento genital. O conjunto destas diferenças, assim, pode ser interpretado como um bloqueio na seqüência de corte; inicialmente na transição *Sobrevôo estacionário* → *Macho pousa*, resultando na maior *Duração Média* do primeiro, e, após o macho pousar ao lado da fêmea (supostamente exausto, mas ainda atraído por ela), na transição *Macho pousa* → *Exposição das androcônias*, que é substituída por *Macho pousa* → *Batimento lento das asas*, resultando na ausência de *Exposição das androcônias* e *Dobramento do abdômen*.

As observações feitas com fêmeas velhas, apesar de preliminares, apontam para uma queda acentuada da atratividade destas com o aumento da idade, tanto as virgens quanto as acasaladas, uma vez que ocorreram praticamente apenas interações sociais e de curta duração. Isto também está de acordo com as aparentes solicitações de cortejo realizadas por algumas destas fêmeas, mas contraria a maior ocorrência de *Abertura e afastamento* neste grupo, desde que o consideremos como um comportamento de rejeição.

Conflito entre sinais de atração e repulsão?

As conclusões obtidas até aqui levantam duas perguntas principais: 1) Por que as fêmeas que já copularam continuam sendo cortejadas pelo menos até dois dias depois? 2) Como explicar as alterações que ocorrem na corte perante fêmeas acasaladas? A hipótese que será sugerida a seguir retoma a primeira alternativa de acasalamento de *H. erato phyllis*: o cruzamento pupal. As pupas desta espécie são extremamente crípticas, sendo facilmente confundidas com folhas secas em meio à vegetação, e provavelmente não são localizadas apenas visualmente pelos machos. Em *H. hewitsoni*, que também realiza cruzamento pupal, Deinert (2003) encontrou um padrão de visitas às pupas pelos machos que sugere a existência de um feromônio de atração. Além disso, a discriminação entre machos e fêmeas aumenta após o sexto dia de maturação pupal, quando faltam apenas cerca de três dias para a eclosão do adulto. Crane (1955), antes mesmo de ter conhecimento do cruzamento pupal, constatou em *H. erato hydara* um odor presente nos indivíduos prestes a eclodir, principalmente fêmeas, e perceptível até cerca de dois dias depois, aparentemente exalado da região distal do abdômen. Se existe um feromônio de atração emitido pelas fêmeas durante os últimos dias da fase de pupa, importante para que os

machos as localizem, e este feromônio permanecer ativo por alguns dias após a eclosão, as fêmeas jovens acasaladas teriam dois sinais químicos antagônicos: o feromônio de atração e o antiafrodisíaco. Se o segundo não for suficiente para inibir completamente o sinal do primeiro se espera que os machos continuem cortejando estas fêmeas, correspondendo ao cortejo não-adaptativo demonstrado neste estudo. As alterações do cortejo perante fêmeas acasaladas, assim, seriam resultado do conflito entre os sinais de atração e repulsão, de modo que o antiafrodisíaco atuaria principalmente inibindo o pouso do macho seguido pela *Exposição das androcônias*. A quase ausência de cortejo às fêmeas velhas, tanto virgens quanto acasaladas, está de acordo com esta proposta, uma vez que elas não teriam mais o feromônio de atração, importante apenas na fase de pupa. Em mariposas tal redução da síntese de feromônios sexuais em fêmeas velhas parece ser determinada pelo declínio da competência da glândula produtora (Delisle e Simard 2003). Apesar da carência de estudos fisiológicos deste tema em borboletas, é possível que algo similar ocorra. Tratando-se de uma espécie monândrica e que copula precocemente, a frequência de fêmeas velhas ainda virgens na natureza deve ser muito baixa, de modo que não teria havido uma pressão seletiva forte o suficiente para manter a síntese de feromônios de atração após certa idade. Resumindo, as duas questões levantadas *a posteriori* neste estudo – por que fêmeas acasaladas são cortejadas e como explicar as alterações na corte – podem ser resolvidas por um modelo onde a atratividade das fêmeas é mediada pela sua idade e *status* reprodutivo; o primeiro determinando o nível do feromônio de atração e o segundo a presença do antiafrodisíaco (Figura 4).

Uma variante sutil e não excludente deste modelo é que o bloqueio da corte seria causado pela *ausência* de um sinal emitido pelas fêmeas acasaladas, do mesmo modo que parece ocorrer na borboleta *Lycaeides idas* (Lycaenidae) (Pellmyr 1982). Isto poderia ser

causado por uma queda abrupta na receptividade das fêmeas após a cópula ou pela inibição química do sinal de atração por meio do composto transferido pelos machos. Este estudo teve seu foco sobre as alterações comportamentais dos machos, já que em borboletas este é o sexo mais ativo no cortejo e se pretendia verificar como ele se altera em relação ao antiafrodisíaco. No entanto, caso se detecte futuramente alterações comportamentais também nas fêmeas, isto pode dizer algo a mais sobre a *receptividade* destas, enquanto que o comportamento dos machos nos permite inferir mais a respeito da *atratividade*.

Além de medir e comparar o comportamento das *fêmeas* virgens com o das acasaladas, o modelo proposto neste estudo pode ser verificado analisando-se também o cortejo a fêmeas em diversas categorias de idade, a fim de se obter uma curva para a mudança da atratividade associada com o envelhecimento. Trabalhos experimentais que analisem o efeito do antiafrodisíaco separadamente de outros sinais sobre os machos são igualmente necessários. Por fim, é importante verificar se em outras espécies de *Heliconius*, com e sem cruzamento pupal, ocorre cortejo às fêmeas nos dias seguintes à cópula do mesmo modo que em *H. erato phyllis*.

AGRADECIMENTOS

Nós somos gratos a todas as pessoas que colaboraram com a criação dos indivíduos em viveiro e laboratório (Adriano Ferreira, Gabriela Pasqualim, Janafna De Nardin, Julie Zanin, Nicolás O. Mega e Pedro Vieira). À professora Helga Winge por disponibilizar um ótimo espaço de sua área de trabalho para a instalação dos viveiros usados nas observações. Agradecemos especialmente a Nicolás O. Mega pelas discussões, sugestões e críticas produtivas durante todo o andamento deste estudo. Por fim, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo suporte financeiro.

Alcock, J. & Thrall, R. (1985). *The Ecology of Animal Mating Systems*. Harvard University Press, USA.

Alexander, R. D., Marshall, B. C. & Cosgrove, J. R. (1997). Evolutionary perspectives on insect mating. In Crook, J. C. & Crepp, B. J. (eds), *The Ecology of Mating Systems in Insects and Arachnids*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 5-31.

Altmann, I. (1974). Observational study of behavior: sampling methods. *Behavior* 49: 223-267.

Andersson, J., Berg-Karlsen, A. K. & Wiklund, C. (2002). Sexual cooperation and conflict in butterflies: a male-mediated and sperm-mediated response to mate quality. *Journal of Animal Ecology* 71: 1271-1275.

Andersson, J., Berg-Karlsen, A. K. & Wiklund, C. (2003). Antipredatorism in flightless butterflies: a theory with empirical support. *Evolution* 57: 1483-1495.

Andersson, J., Berg-Karlsen, A. K. & Wiklund, C. (2004). Sexual conflict and sperm competition: time for a polyandrous butterfly male to optimize his mating and his mate's control. *Proceedings of the Royal Society B* 271: 1765-1770.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguiar, C. E. e Araújo, A. M. (1994). Comportamento social de *Heliconius erato phyllis* (Lepidoptera; Nymphalidae): comunicação pupa-imago; corte; distúrbio. Dissertação de bacharelado, Curso de Ciências Biológicas, UFRGS.
- Alcock, J. e Gwynne, D. T. (1991). Evolution of insect mating systems: the impact of individual selectionist thinking. In Bailey, W. J. e Ridsdill-Smith, J. (eds.) *Reproductive Behaviour of Insects: individuals and populations*. Chapman and Hall, London, pp. 10-41.
- Alcock, J. e Thornhill, R. (1983). *The Evolution of Insect Mating Systems*. Harvard University Press, USA.
- Alexander, R. D., Marshall, D. C. e Cooley, J. R. (1997). Evolutionary perspectives on insect mating. In Choe, J. C e Crespi, B. J. (eds.), *The Evolution of Mating Systems in Insects and Arachnids*, Cambridge Univ. Press, Cambridge, pp. 4-31.
- Altmann, J. (1974). Observational study of behavior: sampling methods. *Behaviour* **49**: 227-267.
- Andersson, J., Borg-Karlson, A. K. e Wiklund, C. (2000). Sexual cooperation and conflict in butterflies: a male-transferred anti-aphrodisiac reduces harassment of recently mated females. *Proc. R. Soc. Lond. B.* **267**: 1271-1275.
- Andersson, J., Borg-Karlson, A. K. e Wiklund, C. (2003). Antiaphrodisiacs in pierid butterflies: a theme with variation! *J. Chem. Ecol.* **29**: 1489-1499.
- Andersson, J., Borg-Karlson, A. K. e Wiklund, C. (2004). Sexual conflict and anti-aphrodisiac titre in a polyandrous butterfly: male ejaculate tailoring and absence of female control. *Proc. R. Soc. Lond. B.* **271**: 1765-1770.

- Beltrán, M. Jiggins, C. D. Brower, A. V. Z., Bermingham, E. e Mallet, M. (2007). Do pollen feeding, pupal-mating and larval gregariousness have a single origin in *Heliconius* butterflies? Inferences from multilocus DNA sequence data. *Biological Journal of the Linnean Society* **29**: 221-239.
- Boppré, M. (1984). Chemically mediated interactions between butterflies. In Vane-Wright, R. I. e Ackery, P. R. (eds.). *The Biology of Butterflies*, Academic, London, pp. 259-275.
- Brower, A. V. Z. (1997). The evolution of ecologically important characters in *Heliconius* butterflies (Lepidoptera: Nymphalidae): a cladistic review. *Zool. J. Linn. Soc.* **119**: 457-472.
- Constanzo, K. e Monteiro, A. (2006). The use of chemical and visual cues in female choice in the butterfly *Bicyclus anynana*. *Proc. R. Soc. B.* **274**: 845-851.
- Cordero, C. (1993). The courtship behavior of *Callophrys xami* (Lycaenidae). *J. Res. Lepid.* **32**: 99-106.
- Crane, J. (1955). Imaginal behavior of a Trinidad butterfly, *Heliconius erato hydara* Hewitson, with special reference to the social use of color. *Zoologica* **40**: 167-196.
- Daniels, J. C. (2007). Courtship solicitation by females of the barred sulphur butterfly (*Eurema daira*) (Lepidoptera: Pieridae). *Journal of Insect Behavior* **20**: 129-135.
- Deinert, E. I. (2003). Mate location and competition for mates in a pupal mating butterfly. In Boggs, C. L., Watt, W. B. e Ehrlich, P. R. (eds.). *Butterflies: Ecology and Evolution Taking Flight*. University of Chicago Press, Chicago, pp. 91-108.
- Deinert, E. I., Longino, J. T. e Gilbert, L. E. (1994). Mate competition in butterflies. *Science* **370**: 23-24.

- Delisle, J. e Simard, J. (2003). Age-related changes in the competency of the pheromone gland and the pheromonotropic activity of the brain of both virgin and mated females of two *Choristoneura* species. *J. Ins. Physiol.* **49**: 91-97.
- Emsley, M. (1963). A morphological study of imago Heliconiinae (Lep.: Nymphalidae) with a consideration of the evolutionary relationships within the group. *Zoologica* **48**: 85-130.
- Emsley, M. G. (1970). An observation on the use of color for species recognition in *Heliconius besckei* (Nymphalidae). *J. Lepid. Soc.* **24**: 25.
- Estrada, C. e Jiggins, C. D. (2008). Interspecific sexual attraction because of convergence in warning colouration: is there a conflict between natural and sexual selection in mimetic species? *J. Evol. Biol.* **21**: 749-760.
- Fagen, R. M. e Young, D. Y. (1978). Temporal Patterns of Behavior: intervals, latencies and sequences. In Colgan, P. W. (ed.) *Quantitative Ethology*, Wiley, New York, pp. 78-114.
- Ferreira, A. A., Garcia, R. N. e Araújo, A. M. (2006). Pupal melanization in *Heliconius erato phyllis* (Lepidoptera; Nymphalidae): genetic and environmental effects. *Genetica*, **126**: 133-140.
- Friberg, M., Vongvanich, N., Borg-Karlson, A. K., Kemp, D. J., Merilaita, S. e Wiklund, C. (2008). Female mate choice determines reproductive isolation between sympatric butterflies. *Behav. Ecol. Sociobiol.* **62**: 873-886.
- Gilbert, L.E. (1976). Postmating female odor in *Heliconius* butterflies: a male-contributed antiaphrodisiac? *Science* **193**: 419-420.
- Hiroki, M. e Obara, Y. (1998). Changes in age-related reproductive tactics in the female of the butterfly, *Eurema hecabe*. *Naturwissenschaften* **85**: 551-552.

- Jiggins, C. D., Estrada, C. e Rodrigues, A. (2004). Mimicry and the evolution of premating isolation in *Heliconius melpomene* Linnaeus. *J. Evol. Biol.* **17**: 680-691.
- Jiggins, C. D., Naisbit, R. E., Coe, R. L. e Mallet, J. (2001). Reproductive isolation caused by colour pattern mimicry. *Nature*. **411**: 302-305.
- Joron, M., Jiggins, C. D., Papanicolaou, A. e McMillan, W. O. (2006). Heliconius wing patterns: an evo-devo model for understanding phenotypic diversity. *Heredity* **97**: 157-67.
- Kerpel, S., Moreira, G. R. P. (2005). Absence of learning and local specialization on host plant selection by *Heliconius erato*. *Journal of Insect Behaviour* **18**: 433-452.
- Krebs, R. A. (1988). The mating behavior of *Papilio glaucus* (Papilionidae). *J. Res. Lepid.* **26**: 27-31.
- Krebs, J. R. e Davies, N. B. (1990). *An Introduction to Behavioural Ecology*, 2nd ed., Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- Martin, P. e Bateson, P. (1993). *Measuring Behaviour. An introductory guide*. 2nd edn. Cambridge University Press, Cambridge.
- Mavárez, J. Salazar, C. A., Birmingham, E., Salcedo, C., Jiggins, C. e Linares, M. (2006). Speciation by hybridization in *Heliconius* butterflies. *Nature* **441**: 868-871.
- McMillan, W. O., Jiggins, C. D. e Mallet, J. (1997). What initiates speciation in passion-vine butterflies? *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **94**: 8628-8633.
- Mega, N. O. (2008). Variação sazonal de tamanho, morfometria e comportamento de acasalamento em *Dryas iulia alcionea* (Lepidoptera, Nymphalidae, Heliconiinae) e suas implicações na evolução do dimorfismo sexual. Tese de doutorado, Prog. de Pós-graduação em Genética e Biologia Molecular, UFRGS.

- Pellmyr, O. (1982). Plebeian courtship revisited: studies on the female-produced male behavior-eliciting signals in *Lycaeides idas* (Lycaenidae). *J. Res. Lepid.* **21**: 147-157.
- Périco, E. e Araújo, A. M. (1991). Suitability of host plants (Passifloraceae) and their acceptableness by *Heliconius erato* and *Dryas iulia* (Lepidoptera; Nymphalidae). *Evol. Biol.* **5**: 59-74.
- Rodrigues, D. Moreira, G. R. P. (2002). Geographical variation in larval host-plant use by *Heliconius erato* (Lepidoptera: Nymphalidae) and consequences for adult life history. *Braz. J. Biol.* **62**: 321-332.
- Rodrigues, D. e Moreira, G. R. P. (2004). Seasonal variation in larval host plants and consequences for *Heliconius erato* (Lepidoptera: Nymphalidae) adult body size. *Austral Ecology* **29**: 437-445.
- Rutowski, R. L. (1979). Courtship behavior of the checkered White, *Pieris protodice* (Pieridae). *J. Lepid. Soc.* **33**: 42-49.
- Rutowski, R. L. (1980). Courtship solicitation by females of the checkered White butterfly, *Pieris protodice*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* **7**: 113-117.
- Rutowski, R. L. (1984). Sexual selection and the evolution of butterfly mating behavior. *J. Res. Lepid.* **23**: 125-142.
- Rutowski, R. L. e Schaefer, J. (1984). Courtship behavior of the gulf fritillary *Agraulis vanillae* (Nymphalidae). *J. Lepid. Soc.* **38**: 23-31
- Schulz, S., Estrada, C., Yildizhan, S., Boppré, M. e Gilbert, L. E. (2008). An antiaphrodisiac in *Heliconius melpomene* butterflies. *J. Chem. Ecol.* **34**: 82-93.
- Scott, J. A. (1973). Mating of butterflies. *J. Res. Lepid.* **11**: 99-127.

- Silberglied, R. E. (1984). Visual communication and sexual selection among butterflies. In Vane-Wright, R. I. e Ackery, P. R. (eds.). *The Biology of Butterflies*, Academic, London, pp. 207-223.
- Silva, L. M., Araújo, A. M. (1994). The genetic structure of *Heliconius erato* populations. *Revista Brasileira de Genética* 17: 19-24.
- Sweeney, A., Jiggins, C. e Johnsen, S. (2003). Polarized light as a butterfly mating signal. *Nature*. 423: 31.
- Tinbergen, N. (1954). The Origin and Evolution of Courtship and Threat Display. In Huxley, J. Hardy, A. C. e Ford, E. B. (eds.), *Evolution as a process*, George Allen and Unwin, London, pp. 232-250.
- Vane-Wright, R. I. e Boppré, M. (1993). Visual and chemical signaling in butterflies: functional and phylogenetic perspectives. *Phil. Trans. R. Soc. B*. 340: 197-205.

Tabela I. Etograma das interações macho-fêmea de *H. erato phyllis*.

UNIDADE COMPORTAMENTAL	DESCRIÇÃO
MACHO	
<i>Inspeção</i>	Em vôo, o macho se aproxima da fêmea em pouso com o corpo direcionado para ela, de modo semelhante como o faz diante de flores ou outros objetos do ambiente que o atraíam.
<i>Sobrevôo estacionário</i>	O macho permanece em vôo acima da fêmea em pouso (5-15 cm) sem se deslocar consideravelmente (Figura 1A).
<i>Pouso sobre asas</i>	O macho em vôo, ao se aproximar de uma fêmea em pouso, coloca as pernas sobre as asas anteriores dela rapidamente (< 2 seg. na maioria das vezes).
<i>Batimento lento das asas</i>	Em pouso, próximo (< 3 cm) da fêmea, o macho abre e fecha as asas lentamente.
<i>Exposição das androcônias</i>	Em pouso, próximo (< 3 cm) da fêmea, o macho bate as asas rapidamente sem abri-las muito e afasta um pouco as anteriores das posteriores, expondo a margem posterior dorsal das anteriores, onde se localizam as androcônias (Figura 1B).
<i>Dobramento do abdômen</i>	Em pouso, próximo (< 3 cm) da fêmea, geralmente em sentido paralelo ou levemente oblíquo a ela, o macho curva o abdômen em sua direção. Na maioria das vezes é executado simultaneamente com <i>Exposição das androcônias</i> .
<i>Toque com probóscide</i>	Em pouso, o macho toca várias regiões do corpo da fêmea com a probóscide.

Tabela I (continuação).

UNIDADE COMPORTAMENTAL	DESCRIÇÃO
MACHO E FÊMEA	
<i>Interação em voo</i>	Qualquer encontro em voo que não dê início a uma perseguição, mas que seja seguido por uma mudança na trajetória de pelo menos um dos indivíduos.
<i>Perseguição em voo</i>	O macho persegue a fêmea em um voo veloz com mudanças repentinas de direção, tocando-a com frequência principalmente nas regiões posterior e ventral.
FÊMEA	
<i>Vibração posterior</i>	Em pouso, a fêmea afasta um pouco as asas anteriores das posteriores, abre e vibra as posteriores e empina o abdômen em cuja extremidade é exposta uma glândula de cor amarelada (Figura 1C).
<i>Contração</i>	Em pouso e com as asas fechadas, a fêmea aproxima as anteriores das posteriores, aumentando a área de sobreposição entre elas.
<i>Rotação</i>	Em pouso, sem se deslocar, a fêmea gira em graus variados, mudando a sua orientação em relação ao macho.
<i>Deslocamento</i>	A fêmea se afasta do macho caminhando ou através de vôos breves (< 2 seg.).
<i>Abertura e afastamento</i>	Em pouso, a fêmea abre as asas e afasta as anteriores das posteriores, expondo a margem dorsal anterior das asas posteriores (Figura 1D).

Tabela II. Frequência (ocorrências por segundo de interação) das unidades comportamentais dos machos em interações com fêmeas virgens ($n = 20$) e acasaladas ($n = 20$) de *H. erato phyllis*. As unidades que diferiram significativamente ($\alpha = 0,05$) estão com as medianas mais altas em negrito.

UNIDADE COMPORTAMENTAL	MÍNIMO – MÁXIMO		MEDIANA		U
	Virgens	Acasaladas	Virgens	Acasaladas	
<i>Interação em voo</i>	0,000 – 0,250	0,000 – 0,600	0,005	0,026	127,0 ($p = 0,044$)
<i>Perseguição em voo</i>	0,000 – 0,082	0,000 – 0,079	0,031	0,004	137,0 ($p = 0,083$)
<i>Inspeção</i>	0,000 – 0,167	0,000 – 0,355	0,018	0,029	138,5 ($p = 0,093$)
<i>Sobrevôo estacionário</i>	0,000 – 0,200	0,000 – 0,056	0,065	0,013	37,0 ($p < 0,001$)
<i>Batimento lento das asas</i>	0,000 – 0,043	0,000 – 0,033	0,000	0,004	130,0 ($p = 0,029$)
<i>Exposição das androcônias</i>	0,011 – 0,200	0,000 – 0,014	0,037	0,000	1,0 ($p < 0,001$)
<i>Pouso sobre asas</i>	0,000 – 0,167	0,000 – 0,033	0,000	0,001	171,0 ($p = 0,367$)
<i>Dobramento do abdômen</i>	0,009 – 0,200	0,000 – 0,033	0,041	0,000	10,0 ($p < 0,001$)

Tabela III. Proporção de Tempo Gasto (%) com cada unidade comportamental dos machos em interações com fêmeas virgens ($n = 20$) e acasaladas ($n = 20$) de *H. erato phyllis*. As unidades que diferiram significativamente ($\alpha = 0,05$) estão com as médias mais altas em negrito (apenas neste caso se utilizou a média por se tratarem de porcentagens).

UNIDADE COMPORTAMENTAL	MÍNIMO – MÁXIMO		MÉDIA		U
	Virgens	Acasaladas	Virgens	Acasaladas	
<i>Interação em voo</i>	0,00 – 53,85	0,00 – 100,00	7,04	23,67	($U = 118; p = 0,023$)
<i>Perseguição em voo</i>	0,00 – 76,62	0,00 – 39,47	25,33	8,33	($U = 130; p = 0,054$)
<i>Inspeção</i>	0,00 – 42,03	0,00 – 61,84	7,84	14,15	($U = 131; p = 0,059$)
<i>Sobrevôo estacionário</i>	0,00 – 41,94	0,00 – 92,31	20,31	31,24	($U = 187; p = 0,725$)
<i>Batimento lento das asas</i>	0,00 – 32,74	0,00 – 90,19	3,78	22,13	($U = 116; p = 0,009$)
<i>Exposição das androcônias</i>	5,80 – 77,78	0,00 – 3,62	35,53	0,26	($U = 0; p < 0,001$)

Tabela IV. Duração Média (seg.) das unidades comportamentais dos machos e da interação completa (todo o tempo em que os indivíduos estavam próximos com pelo menos um deles se movendo) perante fêmeas virgens e acasaladas de *H. erato phyllis*. As unidades que diferiram significativamente ($\alpha = 0,05$) estão com as medianas mais altas em negrito. Entre parênteses está o n amostral de cada unidade, que corresponde ao número de casais em que a mesma ocorreu.

UNIDADE COMPORTAMENTAL	MÍNIMO – MÁXIMO		MEDIANA		U
	Virgens	Acasaladas	Virgens	Acasaladas	
<i>Interação em voo</i>	1,00 – 7,00	1,67 – 7,44	2,00 ($n = 10$)	2,70 ($n = 16$)	62,0 ($p = 0,341$)
<i>Perseguição em voo</i>	2,00 – 34,00	2,00 – 8,00	5,88 ($n = 14$)	4,67 ($n = 13$)	56,5 ($p = 0,094$)
<i>Inspeção</i>	1,00 – 5,50	1,00 – 10,00	1,38 ($n = 12$)	1,92 ($n = 17$)	86,5 ($p = 0,488$)
<i>Sobrevôo estacionário</i>	1,00 – 10,00	2,00 – 186,00	2,60 ($n = 19$)	14,83 ($n = 16$)	35,5 ($p < 0,001$)
<i>Batimento lento das asas</i>	2,00 – 18,67	10,00 – 46,75	11,75 ($n = 4$)	9,83 ($n = 11$)	10,0 ($p = 0,117$)
<i>Exposição das androcônias</i>	2,50 – 18,00	1,00 – 2,67	6,25 ($n = 20$)	2,50 ($n = 3$)	1,5 ($p = 0,009$)
<i>Interação completa</i>	4,00 – 77,00	1,67 – 370,00	19,00 ($n = 20$)	6,91 ($n = 20$)	129,5 ($p = 0,057$)

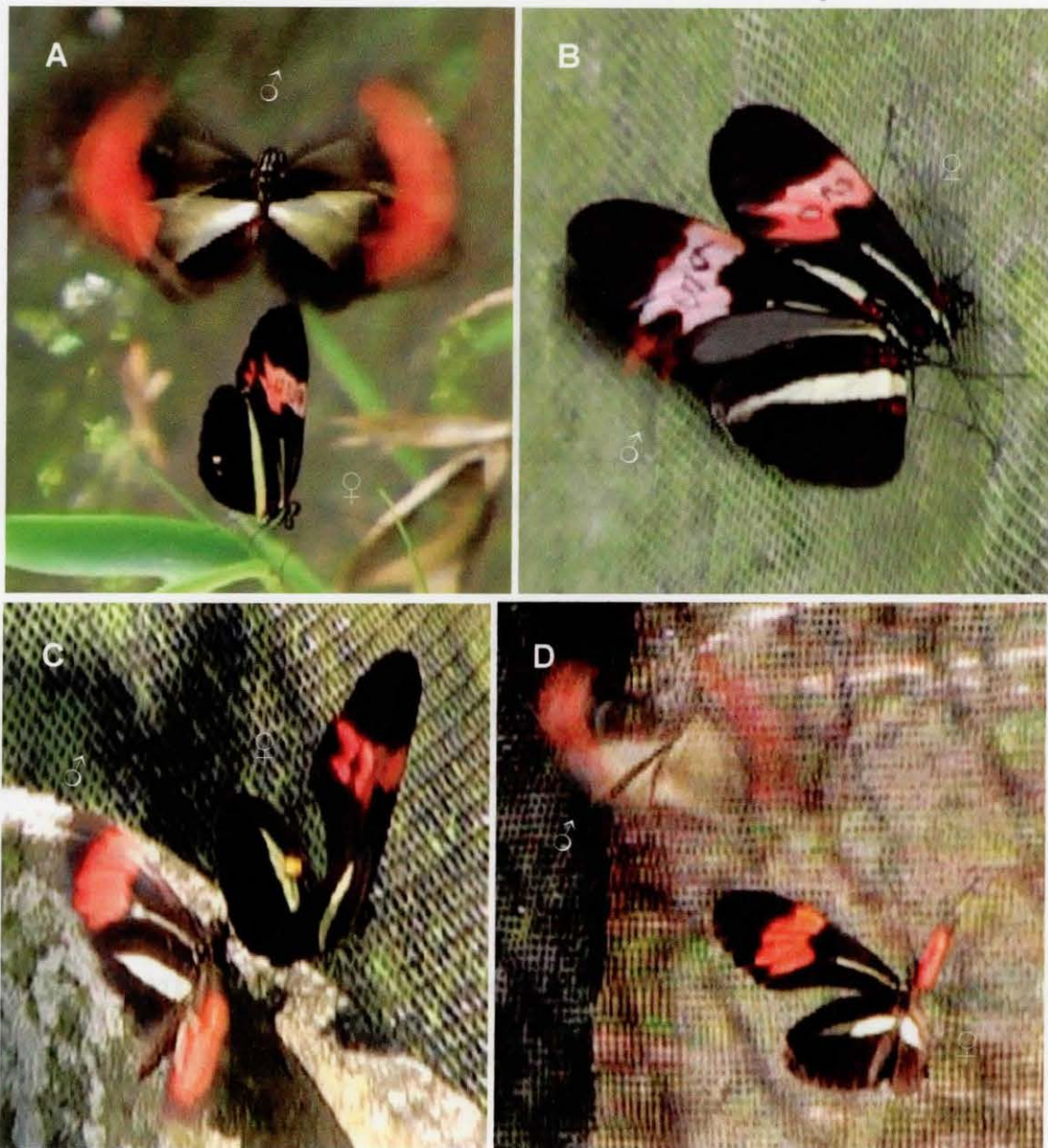


Figura 1. Algumas unidades comportamentais da corte de *H. erato phyllis* (imagens capturadas de vídeos). As descrições encontram-se no etograma (Tabela 1). A) Macho executando *Sobrevôo estacionário*; B) Macho executando *Exposição das androcônias*; note a região acinzentada na borda das asas anteriores, onde se localizam as androcônias. C) Fêmea executando *Vibração posterior*; pode-se ver a glândula amarelada exposta na extremidade do seu abdômen; D) Fêmea executando *Abertura e afastamento*.

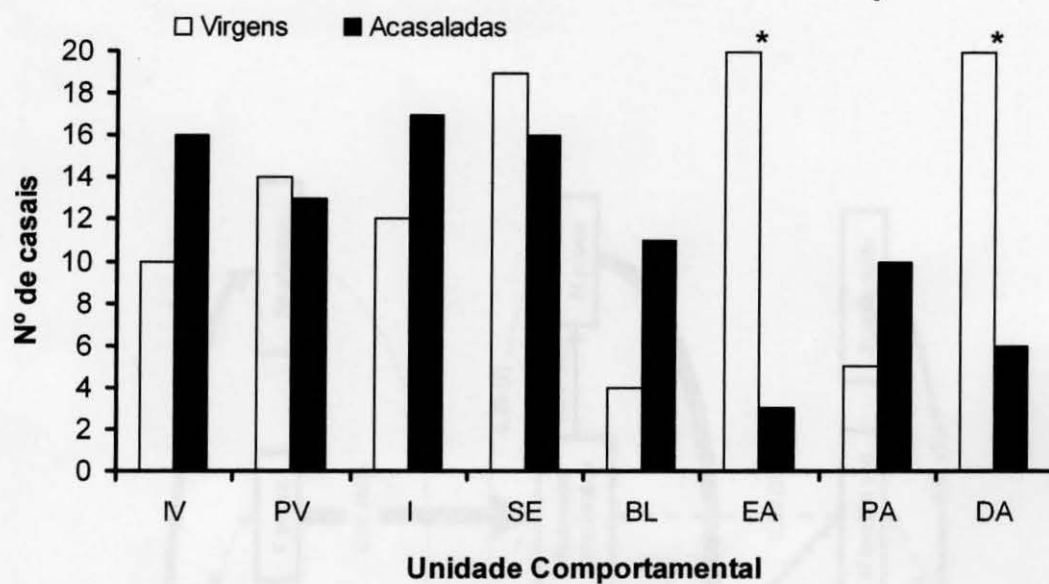
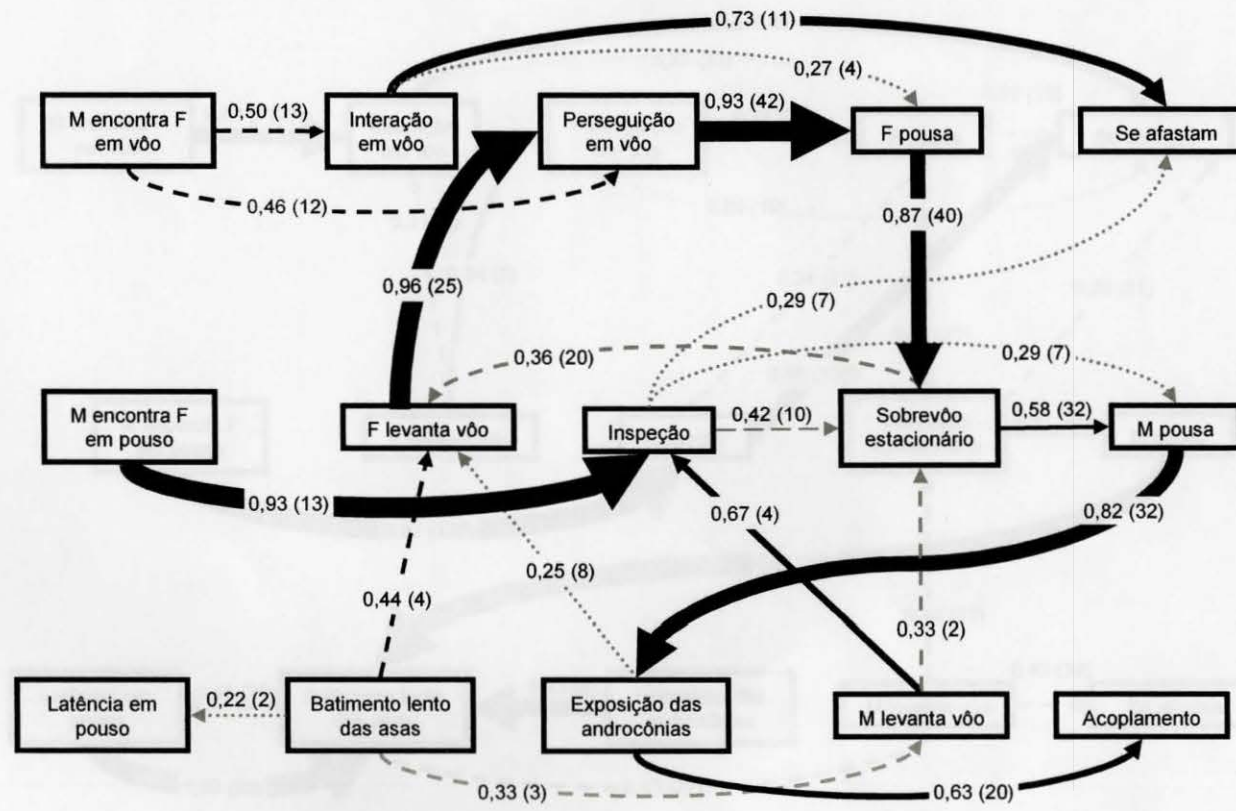
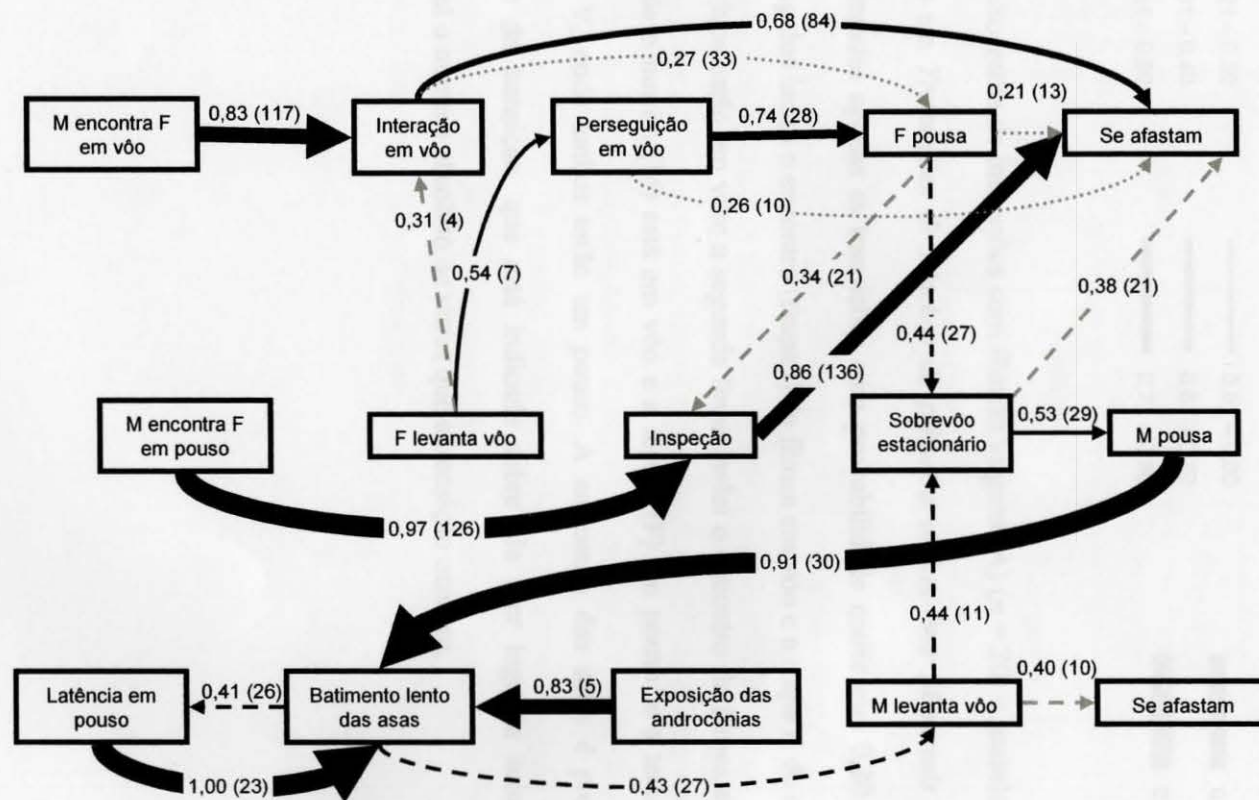


Figura 2. Ocorrência de cada unidade comportamental em número de casais dentre os 20 observados com fêmeas virgens e acasaladas. As diferenças significativas (Qui-quadrado $\alpha = 0,05$) estão assinaladas com *. *Interação em voo* (IV) ($\chi^2 = 1,385$; $p = 0,239$), *Perseguição em voo* (PV) ($\chi^2 = 0,037$; $p = 0,847$), *Inspeção* (I) ($\chi^2 = 0,862$; $p = 0,353$), *Sobrevôo estacionário* (SE) ($\chi^2 = 0,257$ $p = 0,612$), *Batimento lento das asas* (BL) ($\chi^2 = 3,267$; $p = 0,071$), *Exposição das androcônias* (EA) ($\chi^2 = 12,565$; $p < 0,001$), *Pouso sobre asas* (PA) ($\chi^2 = 1,667$; $p = 0,197$), *Dobramento do abdômen* (DA) ($\chi^2 = 7,538$; $p = 0,006$).

(A) Interações com fêmeas virgens



(B) Interações com fêmeas acasaladas



Legendas

Tipo de seta e intervalo de probabilidades:

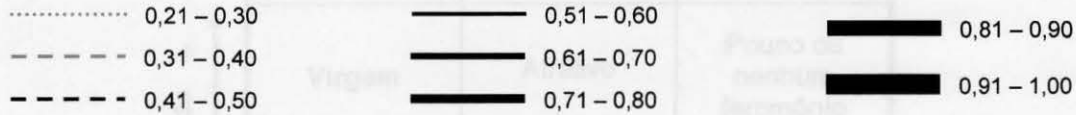


Figura 3. Fluxograma de interações com fêmeas virgens (A) ($n = 20$) e acasaladas (B) ($n = 20$) baseados em *Transições de Markov de primeira ordem* (ver *Materiais e Métodos*). Estão representadas apenas as transições com probabilidade maior que 0,20. A primeira linha de retângulos inclui o encontro (etapa I) da fêmea em vôo e a etapa II do cortejo, onde ambos indivíduos estão em vôo; a segunda linha inclui o encontro da fêmea em pouso e a etapa III, onde o macho (M) está em vôo e a fêmea (F) em pouso; e a terceira linha as etapas IV e V, onde ambos estão em pouso. A espessura das setas é proporcional à probabilidade da transição, que está indicada sobre ela (ver legenda acima), e entre parênteses está o número absoluto de vezes que a transição ocorreu.

		+ Atratividade -	
		←-----	
	IDADE	Jovem	Velha
STATUS	Virgem	Atrativo	Pouco ou nenhum feromônio
Acasalada	Atrativo + Antiafrodisíaco	Antiafrodisíaco	

↑
Atratividade +
- ↓

Figura 4. Modelo para a atratividade das fêmeas de *H. erato phyllis* mediada pela idade e pelo *status* reprodutivo. Todas as fêmeas jovens teriam o feromônio de atração, importante na fase de pupa, e todas as acasaladas teriam o antiafrodisíaco transferido pelos machos. A permanência do feromônio de atração nas fêmeas jovens acasaladas seria o responsável pelo *cortejo não-adaptativo*, o conflito deste sinal com o do antiafrodisíaco resultaria no bloqueio da seqüência de corte e a ausência do feromônio de atração em fêmeas velhas explicaria a baixa freqüência de cortejo a elas.

Instructions to Contributors

1. Manuscripts in English should be submitted only in *Double Paper*

Thomas L. Payne
University of Missouri - Columbia
CAIBSIS Deputy Editor
249 Ackland Building
Columbia, Missouri 65211
Tel: (572) 542-3234 Fax: (572) 542-3232
E-mail: tlp@missouri.edu

2. Submission is a representation that the manuscript has not been published previously and is not currently under consideration for publication elsewhere. A statement transferring copyright from the authors for their manuscripts, if they hold the copyright to Springer Science+Business Media, Inc. will be required before the manuscript can be accepted for publication. The Editor will accept the necessary forms for this transfer. Such a transfer of copyright, which previously was assumed to be implicit in the act of submitting a manuscript, is necessary under the U.S. Copyright Law in order for the publisher to carry through the dissemination of research results and protect its safety and integrity as possible.

3. Type double-spaced on one side of 8 1/2 x 11 inch white paper using good quality equipment. All letters and notes should be typed. The type must be dark, sharp, and clear. Computer-generated manuscripts must be of laser quality (not dot-matrix). Also, submit an electronic copy of the manuscript (including where possible, all illustrations and tables, either on 3.5" disks, on ZIP disk, or CD-ROM, or on a hard drive) to the Editor.

4. Order the elements comprising the manuscript as follows: title page, abstract, key words, text, references, acknowledgments, references, tables, and figure-caption list. All acknowledgments (including those for grant and financial support) should be typed in one paragraph on a separate page that directly precedes the references section.

5. A title page is to be provided and should include the title of the article, author's name (no degrees), author's affiliation, and suggested running head. The affiliation should comprise the department, institute (university, university or company), city, and state (or nation) and should be typed in a footnote to the author's name. The suggested running head should be less than 60 characters (including spaces) and should truncate the article title or an otherwise short version thereof. For better placement, the title page should include the complete mailing address, telephone number, fax number, and e-mail address (if the author designated in previous years).

6. An abstract is to be provided, preferably no longer than 175 words. (Short Communications do not require an abstract, but do require key words.)

ANEXO

(Normas da revista *Journal of Insect Behavior*)

7. A list of 4-6 key words is to be provided for the abstract. Key words should express the major points of the manuscript, as far as possible, in the following order:

8. Illustrations (photographs, drawings, graphs, and charts) are to be considered as one continuous block of text. All illustrations should be submitted on separate sheets of paper. All illustrations should be printed on one side of the paper. All illustrations should be printed on good quality photographic prints are acceptable. Identify figures on the back with the author's name and number of the illustration. Electronic artwork submitted on disk should be in EPS or PDF format (300 dots per inch and 800 dots per inch) and gray-scale only. Color art should be in the CMYK color space. Artwork should be on a separate disk from the text, and text copy must accompany the disk.

9. Tables should be captioned (with format number) and referred to by number in the text. Each table should be typed on a separate sheet of paper. Center the title above the table, and type explanatory footnotes (indicated by superscripted lowercase letters) below the table.

10. List references alphabetically at the end of the paper and refer to them in the text by name and year in parentheses. When there are three or more authors, only the first author's name is given in the text, followed by et al. References should include the title, author, year, volume number, and section page. The title and punctuation of the references should conform to that used in the journal - illustrated by the following examples:

Ward, C., Channing, R. B., and Frank, R. Y. (1987). Temporal pattern of nest construction and nest defense rates in the honeybee (*Ligustreum melliferum*). *J. Chem. Ecol.* 13:1115-1128.

Payne, T. L., and Thomson, J. M. (1998). *Behavioral Ecology of Insect Polynesian and Parasites*. Cornell Press, New York.

Payne, T. L. (1991). Evolution of antlion larval predation with experimental evidence. In *Antlion: A. R. 1991. The evolution of insect life with experimental evidence. Cornell Press, New York, pp. 261-283.*

11. Footnotes should be avoided. When their use is absolutely necessary, footnotes should be numbered chronologically using Arabic numerals and should be typed at the bottom of the page to which they refer. There shall always be footnotes, so that it is not all from the text. Use the appropriate reporting format (numbers) in the text.

12. The format of tables and page changes. Figures are available to authors, and tables forms with the usual instructions are sent with proofs.

13. Open Access Publications. In addition to the normal publication process (why an article is published in the journal and sent to the author's printer) a mechanism is available for authors who have produced work that is available to the public as a whole (including authors Springer Open Access). A Springer Open Access article is available to the public at no charge through Springer's online platform SpringerLink. To publish via Springer Open Access, authors are required to provide their work to Springer Open Access to complete the publication process and provide the required payment information. Payment must be received in full before publication of articles and be published as regular subscription-based articles. We agree that Springer Open Access articles will be included in our published articles.

Instructions to Contributors

1. Manuscripts, in English, should be submitted only to Editor Payne:
Thomas L. Payne
University of Missouri—Columbia
CAFNR Dean's Office
2-69 Agriculture Building
Columbia, Missouri 65211
Tel.: (573) 884-3024 Fax: (573) 884-3218
E-mail: JIB@missouri.edu
2. Submission is a representation that the manuscript has not been published previously and is not currently under consideration for publication elsewhere. A statement transferring copyright from the authors (or their employers, if they hold the copyright) to Springer Science+Business Media, Inc. will be required before the manuscript can be accepted for publication. The Editor will supply the necessary forms for this transfer. Such a written transfer of copyright, which previously was assumed to be implicit in the act of submitting a manuscript, is necessary under the U.S. Copyright Law in order for the publisher to carry through the dissemination of research results and reviews as widely and effectively as possible.
3. Type double-spaced on one side of 8¹/₂ × 11 inch white paper using generous margins on all sides, and submit the one original. The type must be dark, sharp, and clear. Computer-generated manuscripts must be of letter quality (not dot-matrix). Also, submit an electronic copy of the manuscript (including, where possible, all illustrations and tables), either on 3.5" diskette, on ZIP disk, on CD-ROM, or via e-mail to jib@missouri.edu.
4. Order the elements comprising the manuscript as follows: title page, abstract, key words, text, appendix, acknowledgements, references, tables, and figure-caption list. All acknowledgements (including those for grant and financial support) should be typed in one paragraph on a separate page that directly precedes the references section.
5. A title page is to be provided and should include the title of the article, author's name (no degrees), author's affiliation, and suggested running head. The affiliation should comprise the department, institution (usually university or company), city, and state (or nation) and should be typed as a footnote to the author's name. The suggested running head should be less than 80 characters (including spaces) and should comprise the article title or an abbreviated version thereof. For office purposes, the title page should include the complete mailing address, telephone number, fax number, and e-mail address of the one author designated to review proofs.
6. An abstract is to be provided, preferably no longer than 125 words. (Short Communications do not require an abstract, but do require key words.)
7. A list of 4–6 key words is to be provided directly below the abstract. Key words should express the precise content of the manuscript, as they are used for indexing purposes.
8. Illustrations (photographs, drawings, diagrams, and charts) are to be numbered in one consecutive series of Arabic numerals. The captions for illustrations should be typed on a separate sheet of paper. All illustrations must be complete and final, i.e., camera-ready. Photographs should be large, glossy prints, showing high contrast. Drawings should be prepared with india ink. Either the original drawings or good-quality photographic prints are acceptable. Identify figures on the back with author's name and number of the illustration. Electronic artwork submitted on disk should be in TIFF or EPS format (1200 dpi for line and 300 dpi for half-tones and gray-scale art). Color art should be in the CMYK color space. Artwork should be on a separate disk from the text, and hard copy must accompany the disk.
9. Tables should be numbered (with Roman numerals) and referred to by number in the text. Each table should be typed on a separate sheet of paper. Center the title above the table, and type explanatory footnotes (indicated by superscript lowercase letters) below the table.
10. List references alphabetically at the end of the paper and refer to them in the text by name and year in parentheses. Where there are three or more authors, only the first author's name is given in the text, followed by *et al.* References should include (in this order): last names and initials of all authors, year published, title of article, name of publication, volume number, and inclusive pages. The style and punctuation of the references should conform to that used in the journal—illustrated by the following examples:
Journal Article
Schal, C., Charlton, R. E., and Cardé, R. T. (1987). Temporal patterns of sex pheromone titers and release rates in *Holomelina lamae* (Lepidoptera: Arctiidae). *J. Chem. Ecol.* **13**: 1115–1129.
Book
Poinar, G. O., Jr., and Thomas, G. M. (1984). *Laboratory Guide to Insect Pathogens and Parasites*, Plenum Press, New York.
Contribution to a Book
Payne, T. L. (1981). Disruption of southern pine beetle infestations with attractants and inhibitors. In Mitchell, E. R. (ed.), *Management of Insect Pests with Semiochemicals: Concepts and Practice*, Plenum Press, New York, pp. 365–383.
11. Footnotes should be avoided. When their use is absolutely necessary, footnotes should be numbered consecutively using Arabic numerals and should be typed at the bottom of the page to which they refer. Place a line above the footnote, so that it is set off from the text. Use the appropriate superscript numeral for citation in the text.
12. **The journal makes no page charges.** Reprints are available to authors, and order forms with the current price schedule are sent with proofs.
13. **Open Choice Publication.** In addition to the normal publication process (whereby an article is submitted to the journal and access to that article is granted to customers who have purchased a subscription), Springer now provides an alternative publishing option: Springer Open Choice. A Springer Open Choice article receives all the benefits of a regular 'subscription-based' article, but in addition is made available publicly through Springer's online platform SpringerLink. To publish via Springer Open Choice, upon acceptance please visit www.springeronline.com/openchoice to complete the relevant order form and provide the required payment information. Payment must be received in full before publication or articles will be published as regular subscription-model articles. We regret that Springer Open Choice cannot be ordered for published articles.

VISTO: Aldo Zuppler de Araujo
10/12/2008

