

Estudo eletroforético sobre a estrutura populacional do krill, *Euphausia superba* Dana, na região da Passagem Drake - Estreito de Bransfield - oeste da Península Antártica

PHAN Van Ngan¹; Vicente GOMES¹; Maria José de Arruda Campos Rocha PASSOS¹ & Hana SUZUKI²

1 - Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo
(Caixa Postal 9075, 01065-970, São Paulo, SP, Brasil)

2 - Centro de Estudos do Mar, Universidade Federal do Paraná
(Caixa Postal 43, 83200-970, Paranaguá, PR, Brasil)

● **Abstract:** Samples of Antarctic krill, *Euphausia superba*, collected from 18 locations in the Drake Passage, Bransfield Strait and on the west coast of the Antarctic Peninsula were analyzed for protein variation using enzyme electrophoresis. Of 19 enzyme *loci* studied, 14 (73,6%) exhibit allelic variations. Average heterozygosity for a station varies from 0,129 to 0,157. Five *loci* are with null alleles. Differences in allelic frequency related to sex and size of animal were not observed. No significant deviations from random mating expectation according to the Hardy-Weinberg principle were found in any *locus* at any station except Aph-1 at the stations 8 and 18; Est-1 at the station 9 and 11, and Mdh-1 at the station 18. These deviations are likely due to the difficulty in analysing the enzyme pattern or to the small sample sizes. Analysis of allele distribution indicate that samples from all locations are homogeneous in all polymorphic *loci*. Genetic distances between samples vary from 0.000 to 0.002. These results suggest that specimens from all locations of the investigated region belong to a single genetically homogeneous population. The contribution of physical and biological factors to the homogeneity of krill in the region and the necessity of a detailed study utilizing not only electrophoresis but also another techniques were discussed.

● **Resumo:** Foram analisadas amostras de krill, *Euphausia superba*, coletadas em 18 estações na região da Passagem Drake-Estreito de Bransfield-oeste da Península Antártica para estudar as variações genéticas através de eletroforese de enzimas em gel de poliacrilamida. Dezenove *loci* enzimáticos foram analisados, dos quais quatorze (73,6%) apresentam variações alélicas. Cinco dos *loci* polimórficos apresentam alelos nulos. A heterozigosidade média varia de 0,129-0,157 dependendo da localidade. Não foram observadas, no entanto, diferenças relacionadas ao sexo e ao tamanho do animal. A conformidade de distribuição de fenótipos em relação ao equilíbrio de Hardy-Weinberg foi encontrada em todos os *loci* em todas as estações, exceto Aph-1 das estações 8 e 18, Est-1 das estações 9 e 11 e Mdh-1 da estação 18. As análises de distribuição de alelos indicam a homogeneidade entre todas as amostras coletadas em localidades diferentes. A distância genética entre as amostras varia de 0,000 - 0,002. Os resultados sugerem que os indivíduos de todas as amostras coletadas em todas as estações, pertencem a uma única população com acasalamento ao acaso. A contribuição de fatores físicos e biológicos na homogeneidade do krill na região e a necessidade de um estudo mais detalhado, utilizando não somente a eletroforese mas também outros métodos, foram discutidas.

● **Descriptors:** Population structure, Electrophoresis, Isoenzymes, *Euphausia superba*, Drake Passage, Bransfield Strait, Antarctic Peninsula, Antarctica.

● **Descritores:** Estrutura da população, Eletroforese, Isoenzimas, *Euphausia superba*, Passagem de Drake, Estreito de Bransfield, Península Antártica, Antártica.

Introdução

Ocorrem no Oceano Antártico sete espécies da família Euphausiidae (FAO, 1985) pertencentes a dois gêneros, *Euphausia* (cinco espécies) e *Thysanoessa* (duas espécies). *Euphausia superba*, o krill da Antártica, referido daqui em diante como krill, é a espécie que apresenta o maior tamanho dentre os euphausiáceos do mundo. Seu comprimento total pode chegar até 60 mm. Esta espécie constitui cerca de 50% da biomassa do zooplâncton no Oceano Antártico. Além de ser o organismo chave entre os produtores primários marinhos e os predadores dos níveis superiores da cadeia alimentar do ecossistema antártico, o krill é considerado como uma espécie de grande potencialidade para a pesca comercial. Em geral, o krill tem distribuição circumpolar ao sul da Convergência Antártica (Marr, 1962). Sua ocorrência, entretanto, não é homogênea ao longo de toda área, apresentando aglomerações espaciais. Em grande escala hidrográfica, existem duas zonas com áreas de alta biomassa de krill. Uma está associada à Deriva do Vento Leste e encontra-se próxima ao Continente Antártico; a outra ocorre onde esta Deriva encontra-se com os vastos sistemas de giros e atua juntamente com a Deriva do Vento Oeste (Priddle *et al.*, 1987). Estas áreas de alta concentração, no entanto, não são isoladas, existindo, entre elas, regiões de menores densidades. Nesta escala, a distribuição circumpolar do krill está ligada intimamente com a circulação oceânica implicando em certo intercâmbio de genes e na homogeneidade genética da espécie entre as áreas.

Em meso-escala, no entanto, têm sido demonstradas associações entre as grandes concentrações de krill e massas de águas específicas, tais como giros ciclônicos (Lubimova *et al.*, 1982). A distribuição confinada do krill, dentro de sistemas de circulações locais, dá origem à especulações de que algumas concentrações poderiam constituir populações isoladas ou até mesmo raças distintas (Makarov, 1974). Mackintosh (1973) descreveu cinco áreas principais de alta concentração de krill, denominando estas concentrações de estoques de Weddell, de Enderby, de Kerguelen-Gaussberg, do Mar de Ross e do Mar de Bellingshausen. Lubimova *et al.* (1982) postularam que o krill distribuído nos sistemas circulatórios fechados dos Setores Índico e Pacífico constituem populações isoladas.

Outras evidências que levam vários autores a sugerirem a existência de populações discretas e isoladas de krill ao redor do Continente Antártico são as ocorrências de diferentes fenótipos regionais. Mackintosh (1972) e Fevolden (1979) encontraram krill com diferentes taxas de crescimento, estádios de maturidade e épocas de desova nas regiões norte e sul do Setor Atlântico. McWhinnie *et al.* (1981, *cit. in*: Anderson, 1982) relataram

diferenças na taxa de respiração e na tolerância à temperatura do krill de diferentes regiões.

Durante os últimos quinze anos foram realizados vários estudos genéticos de krill através de métodos eletroforéticos (Ayala *et al.*, 1975; Fevolden & Ayala, 1981; Anderson, 1982; Schneppenheim & MacDonald, 1984; Fevolden, 1988; Fevolden & Schneppenheim, 1989). Apesar de existirem evidências de uma só população circumpolar inter-reprodutiva, há, entretanto, pequenas mas significativas diferenças que ainda não foram esclarecidas, indicando a possível existência de populações isoladas.

O objetivo deste trabalho é o de estudar, através do método eletroforético, a variação genética e a estrutura populacional do krill no Estreito de Bransfield, na Passagem Drake, ao oeste da Península Antártica onde pode existir uma mistura de krill do Mar de Bellingshausen e do Mar de Weddell, duas das regiões de grande concentração desse animal descritas por Mackintosh (1973) no Oceano Antártico.

Material e métodos

O material utilizado neste trabalho foi coletado em 18 localidades na região da Passagem Drake - Estreito de Bransfield - oeste da Península Antártica com rede de arrasto de meia água, Isaacs-Kidd, ou com rede Bongô, a bordo do N/Oc. "Prof. W. Besnard" do Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo. As posições das localidades e anos de coleta estão na Figura 1. Imediatamente após a captura, o krill foi colocado sobre papel de filtro durante alguns segundos para retirar o excesso de água e em seguida, foi distribuído em camada única em bandejas de plástico e colocado no congelador à -20°C durante aproximadamente seis horas. Depois deste tratamento, foi colocado em sacos plásticos e conservado na mesma temperatura para ser transportado ao laboratório do Instituto Oceanográfico, em São Paulo. Este tratamento foi necessário para que os animais não aderissem uns aos outros durante o congelamento e para facilitar o uso do material congelado. A identificação da espécie foi feita de acordo com as chaves de Mauchline (1982).

Foram estudadas as seguintes enzimas: desidrogenase láctica (Ldh), desidrogenase málica (Mdh), enzima málica (Me), desidrogenase isocítrica (Idh), oxidase aldeídica (Ao), transferase do amino aspartato (Aat), esterases (Est), fosfatase alcalina (Aph) e fosfatase ácida (Acph). Os padrões de Acph, no entanto, são idênticos aos de Aph, conseqüentemente apenas os padrões de Aph foram utilizados.

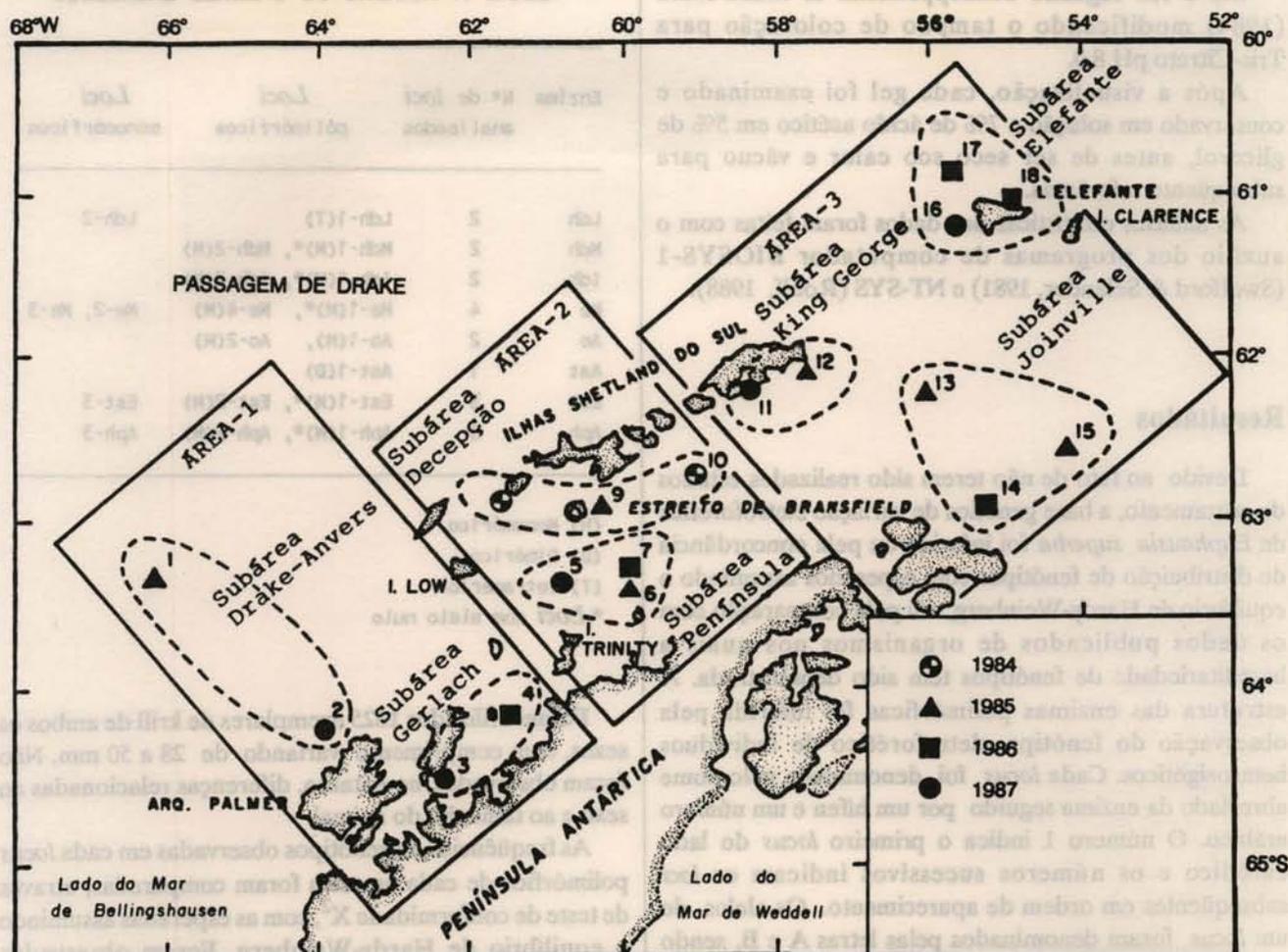


Fig. 1. Posições das estações de coleta e seus agrupamentos em áreas e subáreas.

Os extratos para as enzimas Mdh, Aat, Idh e Acph, foram obtidos através de maceração do abdome com Tris-EDTA-Glicerol (Scopes, 1968); para as enzimas Ldh, Ao, Me, Aph e Est, através de maceração do animal inteiro com a mesma solução de extração. A proporção foi de 1:1 (peso:volume) e a centrifugação foi de 9000 rpm durante 40 min entre 0°-5°C. A quantidade de amostras utilizadas foi de 5 µl para Est, Ldh e Mdh, e de 10 µl para Aph, Acph, Aat, Ao, Idh e Me.

Foi utilizado método eletroforético vertical em gel de poli-acrilamida descrito por Akroyd (1967) e modificado por Phan (1980). Os sistemas de tampão e outras condições para separação eletroforética variaram de acordo com as enzimas:

Ldh, Mdh, Aph, Acph e Est segundo Phan (1980): a análise foi a 45mA/40 min para Mdh, Aph e Acph; 120 min para Ldh e 60 min para Est.

Idh e Me: gel de duas camadas em tampão Tris-Citrato pH 5,8 em diferentes diluições para cada camada; 1/2 para a camada inferior e 1/28 para a camada superior. O tampão

da cuba foi o mesmo, com diluição 1/10. A análise foi a 45 mA/50 min para Idh e 75 min para Me.

Aat e Ao: gel de duas camadas em tampão Tris-Citrato pH 7,0. Para Ao, o mesmo tampão foi utilizado como tampão da cuba e a análise foi a 45 mA/120 min. Para Aat, o tampão da cuba foi Tris-Glicina pH 8,9. A análise foi a 200V/40 min.

Para a visualização foram empregados reagentes de grau analítico da Sigma. Os métodos de coloração foram os seguintes:

Ldh, Mdh e Aph segundo Fevolden & Ayala (1981), modificando o tampão de coloração para 0,1M Tris-HCl pH 8,0 e o de imersão de Aph para 0,2M Tris-HCl pH 9,5.

Acph segundo Fevolden & Ayala (*op. cit.*) sendo o tampão de coloração modificado para 0,2M Acetato pH 5,0.

Idh segundo Fevolden & Ayala (*op. cit.*) substituindo-se o tampão de coloração por Tris-Citrato pH 8,0.

Aat segundo Schneppenheim & MacDonald (1984) e Est segundo Flowerdew & Crisp (1975).

Me e Ao segundo Schneppenheim & MacDonald (1984) modificando o tampão de coloração para Tris-Citrato pH 8,0.

Após a visualização, cada gel foi examinado e conservado em solução a 7% de ácido acético em 5% de glicerol, antes de ser seco sob calor e vácuo para subsequente referência.

As análises estatísticas dos dados foram feitas com o auxílio dos programas de computador BIOSYS-1 (Swofford & Selander, 1981) e NT-SYS (Rohlf, 1988).

Resultados

Devido ao fato de não terem sido realizados estudos de cruzamento, a base genética de variação eletroforética de *Euphausia superba* foi inferida ou pela concordância de distribuição de fenótipos com esperados assumindo o equilíbrio de Hardy-Weinberg, ou pela comparação com os dados publicados de organismos nos quais a hereditariedade de fenótipos tem sido demonstrada. A estrutura das enzimas polimórficas foi inferida pela observação do fenótipo eletroforético de indivíduos heterozigóticos. Cada *locus* foi denominado pelo nome abreviado da enzima seguido por um hífen e um número arábico. O número 1 indica o primeiro *locus* do lado catódico e os números sucessivos indicam os *loci* subsequentes em ordem de aparecimento. Os alelos de um *locus* foram denominados pelas letras A e B, sendo que A é o de menor velocidade.

A variação genética de cada amostra foi estimada pela (1) proporção de *loci* polimórficos (um *locus* é considerado polimórfico se a frequência do alelo mais comum não é maior do que 0,95); (2) heterozigosidade média de todos os *loci* e (3) número médio de alelos por *locus*. Foi encontrada variação alélica em 14 (73,6%) dos 19 *loci* examinados. Cinco *loci*, Ldh-2, Me-2, Me-3, Est-3 e Aph-3, foram monomórficos (Tab. 1). As frequências de alelos nos *loci* polimórficos e o número de exemplares utilizados na análise de cada *locus* em cada estação estão na Tabela 2.

A Tabela 3 resume as variações genéticas das amostras de cada estação. A porcentagem de *loci* polimórficos, variou de 63,2% a 73,7% com o valor médio de 69,6%; a heterozigosidade média observada, variou de $0,129 \pm 0,027$ a $0,161 \pm 0,030$ com o valor médio de $0,147 \pm 0,011$; a heterozigosidade média esperada assumindo o equilíbrio de Hardy-Weinberg variou de $0,128 \pm 0,028$ a $0,154 \pm 0,030$, com o valor médio de $0,145 \pm 0,011$. Esta Tabela apresenta, também, o tamanho médio das amostras e o número médio de alelos por *locus*, que foi $1,7 \pm 0,1$ em todas as estações. Não foram observadas diferenças de alelos fixos entre as estações.

Tabela 1. Resumo de enzimas analisadas

Enzima	Nº de <i>loci</i> analisados	<i>Loci</i> polimórficos	<i>Loci</i> monomórficos
Ldh	2	Ldh-1(T)	Ldh-2
Mdh	2	Mdh-1(M)*, Mdh-2(M)	
Idh	2	Idh-1(M)*, Idh-2(M)	
Me	4	Me-1(M)*, Me-4(M)	Me-2, Me-3
Ao	2	Ao-1(M), Ao-2(M)	
Aat	1	Aat-1(D)	
Est	3	Est-1(M)*, Est-2(M)	Est-3
Aph	3	Aph-1(M)*, Aph-2(M)	Aph-3

(M) Monomérico

(D) Dimérico

(T) Tetramérico

* *Loci* com alelo nulo

Foram utilizados 1625 exemplares de krill de ambos os sexos, com comprimento variando de 28 a 50 mm. Não foram observadas, no entanto, diferenças relacionadas ao sexo e ao tamanho do animal.

As frequências de genótipos observadas em cada *locus* polimórfico de cada amostra foram comparadas, através de teste de conformidade X^2 , com as esperadas assumindo o equilíbrio de Hardy-Weinberg. Foram observados apenas quatro *loci*, entre 252 testes, com desvios significativos do esperado de Hardy-Weinberg. São eles Est-1 ($p = 0,004$) da estação 9; Est-1 ($p = 0,030$) da estação 11; Mdh-1 ($p = 0,034$) e Aph-1 ($p = 0,003$) da estação 18. Todos foram devidos à deficiência de heterozigotos. Os restantes têm valor de p variando entre 0,073 (um *locus*, Aph-1, estação 8) a 1,0 (um *locus*, Aat-1, estação 4).

A região de coleta do material para este estudo abrange aproximadamente uma área de 4.600 km². As coletas foram efetuadas em 18 estações. Para testar a homogeneidade de frequência de genes, as estações, dependendo de sua posição geográfica, foram agrupadas em sete subáreas que, por sua vez, foram agrupadas em três áreas (Fig. 1). As frequências de genes em cada *locus* de cada estação foram comparadas com as da população de cada área e da área total através da análise de contingência X^2 . Não foram observadas diferenças significativas entre as áreas separadas ou na região de coleta como um todo (Tab. 4). Os resultados dos testes sugerem que não existem diferenças significativas entre os estoques de genes na região de coleta e que os indivíduos coletados em estações

Tabela 2. Frequências de alelos em amostras coletadas nas estações de números 1 a 18

Locus	Estação																	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Ldh-1																		
(N)	119	80	100	130	120	100	80	50	29	150	30	120	100	105	80	50	150	30
A	0,063	0,094	0,055	0,050	0,071	0,085	0,044	0,060	0,069	0,073	0,083	0,075	0,040	0,048	0,063	0,090	0,077	0,067
B	0,937	0,906	0,945	0,950	0,929	0,915	0,956	0,940	0,931	0,927	0,917	0,925	0,960	0,952	0,938	0,910	0,923	0,933
Ldh-2																		
(N)	120	80	100	130	120	100	80	50	30	150	30	120	100	105	80	50	150	30
A	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Mdh-1																		
(N)	120	79	100	130	120	100	80	48	30	150	28	120	100	105	80	50	150	29
A	0,067	0,051	0,065	0,058	0,092	0,055	0,081	0,063	0,050	0,067	0,071	0,083	0,075	0,086	0,094	0,080	0,073	0,086
B	0,933	0,949	0,935	0,942	0,908	0,945	0,919	0,938	0,950	0,933	0,929	0,917	0,925	0,914	0,906	0,920	0,927	0,914
Mdh-2																		
(N)	120	80	100	129	120	100	80	50	30	150	30	120	100	105	80	49	150	30
A	0,071	0,056	0,085	0,058	0,054	0,075	0,094	0,060	0,100	0,097	0,067	0,079	0,090	0,057	0,069	0,061	0,063	0,050
B	0,929	0,944	0,915	0,942	0,946	0,925	0,906	0,940	0,900	0,903	0,933	0,921	0,910	0,943	0,931	0,939	0,937	0,950
Idh-1																		
(N)	120	80	98	130	120	100	80	50	30	150	30	120	100	104	80	50	150	30
A	0,079	0,106	0,097	0,065	0,071	0,085	0,044	0,040	0,067	0,057	0,083	0,104	0,080	0,087	0,094	0,090	0,053	0,033
B	0,921	0,894	0,903	0,935	0,929	0,915	0,956	0,960	0,933	0,943	0,917	0,896	0,920	0,913	0,906	0,910	0,947	0,967
Idh-2																		
(N)	120	79	100	130	120	100	80	50	30	150	30	120	100	105	80	50	149	29
A	0,079	0,057	0,075	0,069	0,096	0,070	0,081	0,090	0,033	0,097	0,067	0,054	0,085	0,071	0,063	0,110	0,081	0,052
B	0,921	0,943	0,925	0,931	0,904	0,930	0,919	0,910	0,967	0,903	0,933	0,946	0,915	0,929	0,938	0,890	0,919	0,948
Me -1																		
(N)	120	80	100	130	120	99	79	50	30	150	30	120	100	100	80	50	150	30
A	0,108	0,112	0,075	0,085	0,104	0,091	0,120	0,070	0,133	0,093	0,067	0,079	0,090	0,110	0,119	0,080	0,123	0,150
B	0,892	0,887	0,925	0,915	0,896	0,909	0,880	0,930	0,867	0,907	0,933	0,921	0,910	0,890	0,881	0,920	0,877	0,850
Me -2																		
(N)	120	80	100	130	120	100	80	50	30	150	30	120	100	105	80	50	150	30
A	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Me -3																		
(N)	120	80	100	130	120	100	80	50	30	150	30	120	100	105	80	50	150	30
A	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Me -4																		
(N)	120	80	100	130	120	100	80	50	30	150	30	120	100	105	80	50	150	30
A	0,938	0,962	0,945	0,923	0,933	0,955	0,950	0,970	0,917	0,920	0,917	0,946	0,930	0,914	0,906	0,900	0,957	0,883
B	0,063	0,038	0,055	0,077	0,067	0,045	0,050	0,030	0,083	0,080	0,083	0,054	0,070	0,086	0,094	0,100	0,043	0,117
Ao -1																		
(N)	120	80	100	130	120	100	79	50	30	150	30	120	100	105	79	50	149	30
A	0,154	0,206	0,135	0,146	0,167	0,190	0,184	0,180	0,150	0,173	0,233	0,179	0,165	0,195	0,177	0,130	0,148	0,200
B	0,846	0,794	0,865	0,854	0,833	0,810	0,816	0,820	0,850	0,827	0,767	0,821	0,835	0,805	0,823	0,870	0,852	0,800
Ao -2																		
(N)	120	80	100	129	120	100	79	50	29	150	30	120	100	105	80	50	150	27
A	0,067	0,094	0,055	0,058	0,083	0,060	0,063	0,080	0,052	0,087	0,033	0,075	0,090	0,076	0,106	0,050	0,077	0,037
B	0,933	0,906	0,945	0,942	0,917	0,940	0,937	0,920	0,948	0,913	0,967	0,925	0,910	0,924	0,894	0,950	0,923	0,963
Aat-1																		
(N)	120	80	100	130	120	100	80	50	30	150	30	120	100	105	80	48	150	30
A	0,450	0,381	0,360	0,431	0,392	0,440	0,381	0,460	0,350	0,447	0,467	0,400	0,455	0,433	0,369	0,365	0,410	0,383
B	0,550	0,619	0,640	0,569	0,608	0,560	0,619	0,540	0,650	0,553	0,533	0,600	0,545	0,567	0,631	0,635	0,590	0,617

N = Número de exemplares.

Tabela 2. Continuação

Locus	Estação																	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Est-1																		
(N)	120	80	100	130	120	100	80	50	29	150	30	120	100	105	80	50	150	29
A	0,083	0,138	0,115	0,108	0,129	0,105	0,094	0,080	0,069	0,087	0,083	0,112	0,125	0,071	0,112	0,090	0,097	0,121
B	0,917	0,863	0,885	0,892	0,871	0,895	0,906	0,920	0,931	0,913	0,917	0,887	0,875	0,929	0,887	0,910	0,903	0,879
Est-2																		
(N)	120	80	100	130	119	100	79	50	30	150	30	120	100	105	79	49	150	30
A	0,254	0,237	0,265	0,242	0,261	0,290	0,278	0,270	0,183	0,297	0,233	0,237	0,280	0,257	0,285	0,286	0,250	0,217
B	0,746	0,762	0,735	0,758	0,739	0,710	0,722	0,730	0,817	0,703	0,767	0,762	0,720	0,743	0,715	0,714	0,750	0,783
Est-3																		
(N)	120	80	100	130	120	100	80	50	30	150	30	120	100	105	80	50	150	30
A	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Aph-1																		
(N)	120	80	100	130	120	99	79	49	30	150	30	120	100	105	80	49	150	30
A	0,096	0,144	0,105	0,108	0,112	0,121	0,127	0,071	0,083	0,110	0,067	0,079	0,135	0,119	0,087	0,133	0,123	0,067
B	0,904	0,856	0,895	0,892	0,887	0,879	0,873	0,929	0,917	0,890	0,933	0,921	0,865	0,881	0,913	0,867	0,877	0,933
Aph-2																		
(N)	120	80	100	130	120	100	80	50	30	150	30	120	100	105	80	50	150	30
A	0,096	0,063	0,080	0,092	0,104	0,095	0,087	0,090	0,033	0,077	0,083	0,075	0,070	0,067	0,056	0,110	0,107	0,050
B	0,904	0,938	0,920	0,908	0,896	0,905	0,913	0,910	0,967	0,923	0,917	0,925	0,930	0,933	0,944	0,890	0,893	0,950
Aph-3																		
(N)	120	80	100	130	120	100	80	50	30	150	30	120	100	105	80	50	150	30
A	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

diferentes pertencem a uma só população inter-reprodutiva.

Mais evidências da homogeneidade genética do krill na região estudada são encontradas nas estimativas de índices de similaridade genética I e de distância genética D (Nei, 1972) entre as amostras coletadas nas diferentes estações. Os valores de I variam de 0,998 a 1 e os de D variam de 0 a 0,002. Estes valores estão dentro dos limites frequentemente encontrados entre amostras coletadas em diferentes locais de ocorrência de uma mesma espécie (Avice, 1974; Ferguson, 1980) e nos krill considerados como da mesma população com acasalamento ao acaso (Fevolden, 1986). Os valores de D estão na matriz de distância genética apresentada na Tabela 5. O dendrograma construído através do método de agrupamento de pares por média aritmética não ponderada, UPGMA (Sneath & Sokal, 1973) utilizando estes valores encontra-se na Figura 2. No dendrograma, os ramos com os índices de distância genética maior do que 0,0015 são constituídos de amostras (estações) de pequeno número de exemplares.

Os F-estatísticos (Wright, 1965, 1978; Nei, 1977) foram utilizados para analisar a fonte e a diferença de variação genética, dentro de uma amostra individual e entre as amostras coletadas em diferentes estações. A fórmula básica utilizada é:

$$1 - F_{IT} = (1 - F_{IS})(1 - F_{ST})$$

onde F_{IS} e F_{IT} são, respectivamente, os índices de fixação relativos às amostras individuais e à amostra total. F_{IS} e F_{IT} representam os desvios médios do equilíbrio de Hardy-Weinberg nas amostras individuais e na amostra total. F_{ST} representa a quantia de variação de frequência do alelo entre as amostras individuais. F_{IS} e F_{IT} podem ser negativos enquanto F_{ST} é sempre positivo. A significância do F_{ST} foi avaliada utilizando X^2 calculado de acordo com Workman & Niswander (1970): $X^2 = 2N_T F_{ST}(k-1)$ onde N_T = número total de indivíduos examinados, k = número de alelos e s = número de amostras com $(k-1)(s-1)$ graus de liberdade. A significância de F_{IS} foi testada de acordo com Li (1955): $X^2 = NF_{IS}^2$. A significância de F_{IT} foi testada de acordo

Tabela 3. Variabilidade genética em todos os *loci* de todas as amostras

Estação	Tamanho médio de amostra por <i>locus</i>	Nº médio de alelo por <i>locus</i>	Porcentagem de <i>loci</i> polimórficos	Heterozigosidade média/estação	
				Obs.	Esp.
1	119,9(0,1)	1,7(0,1)	73,7	0,143(,030)	0,144(,030)
2	79,9(0,1)	1,7(0,1)	68,4	0,157(,031)	0,151(,031)
3	99,9(0,1)	1,7(0,1)	73,7	0,144(,030)	0,140(,029)
4	129,9(0,1)	1,7(0,1)	73,7	0,136(,030)	0,138(,029)
5	119,9(0,1)	1,7(0,1)	73,7	0,155(,031)	0,154(,030)
6	99,9(0,1)	1,7(0,1)	68,4	0,149(,030)	0,149(,031)
7	79,7(0,1)	1,7(0,1)	63,2	0,150(,030)	0,147(,031)
8	49,8(0,1)	1,7(0,1)	63,2	0,133(,028)	0,134(,031)
9	29,8(0,1)	1,7(0,1)	63,2	0,129(,027)	0,128(,028)
10	150,0(0,0)	1,7(0,1)	73,7	0,149(,030)	0,152(,031)
11	29,9(0,1)	1,7(0,1)	68,4	0,146(,032)	0,141(,031)
12	120,0(0,0)	1,7(0,1)	73,7	0,144(,030)	0,144(,029)
13	100,0(0,0)	1,7(0,1)	68,4	0,156(,031)	0,152(,031)
14	104,7(0,3)	1,7(0,1)	68,4	0,146(,031)	0,147(,031)
15	79,9(0,1)	1,7(0,1)	73,7	0,159(,030)	0,153(,030)
16	49,7(0,1)	1,7(0,1)	73,7	0,161(,031)	0,152(,030)
17	149,9(0,1)	1,7(0,1)	68,4	0,148(,030)	0,146(,030)
18	29,7(0,2)	1,7(0,1)	63,2	0,140(,032)	0,139(,031)
Média	90,0(0,1)	1,7(0,0)	69,6	0,147(,011)	0,145(,011)

Um *locus* é considerado polimórfico se a frequência do alelo mais comum não for maior que 0,95.

(erro padrão entre parênteses).

Obs.= observado

Esp.= esperado

Tabela 4. Teste de contingência χ^2 para todos os *loci* de todas áreas

Locus	Nº de alelos	Área 1			Área 2			Área 3			Área Total		
		χ^2	g.l.	P	χ^2	g.l.	P	χ^2	g.l.	P	χ^2	g.l.	P
Ldh1	2	3,527	3	0,31724	2,611	5	0,75963	5,511	7	0,59791	11,865	17	0,80824
Mdh1	2	0,537	3	0,91058	3,176	5	0,67288	0,856	7	0,99683	7,738	17	0,97183
Mdh2	2	1,694	3	0,63829	4,689	5	0,45499	2,791	7	0,90361	10,629	17	0,87518
Idh1	2	2,696	3	0,44085	4,042	5	0,54343	7,269	7	0,40137	17,990	17	0,38949
Idh2	2	0,775	3	0,85555	3,590	5	0,60986	4,639	7	0,70390	10,756	17	0,86896
Me 1	2	2,334	3	0,50602	2,848	5	0,72344	6,582	7	0,47363	12,312	17	0,78091
Me 4	2	2,848	3	0,41571	5,429	5	0,36582	9,713	7	0,20543	19,767	17	0,28632
Ao 1	2	3,910	3	0,27137	0,782	5	0,97815	5,378	7	0,61400	11,245	17	0,84354
Ao 2	2	2,633	3	0,45175	2,283	5	0,80869	6,311	7	0,50396	12,097	17	0,79421
Aat1	2	4,662	3	0,19826	4,843	5	0,43533	5,139	7	0,64298	14,818	17	0,60862
Est1	2	3,060	3	0,38254	4,072	5	0,53910	4,491	7	0,72182	12,042	17	0,79758
Est2	2	,478	3	0,92378	3,727	5	0,58930	2,847	7	0,89880	8,896	17	0,94347
Aph1	2	2,408	3	0,49216	2,637	5	0,75570	8,047	7	0,32848	13,090	17	0,73011
Aph2	2	1,648	3	0,64849	3,650	5	0,60089	6,973	7	0,43168	12,574	17	0,76420
Total		33,210	42	0,83183	48,379	70	0,97730	76,547	98	0,94657	175,819	238	0,99908

g.l. = graus de liberdade.

P = probabilidade.

com Brown (1970): se $|F_{IT}| N > 1,96$, F_{IT} é significativo ao nível 5%.

Como foi constatado nos testes de contingência χ^2 , a análise da distribuição de genótipos utilizando F_{IS} mostra a conformidade com o equilíbrio de Hardy-Weinberg para todos os *loci*, exceto Idh-2 (Tab. 6).

A semelhança entre os valores de F_{IS} , desvios nas amostras individuais das expectativas de Hardy-Weinberg e de F_{IT} , desvio da amostra total, indica que o desvio para o krill da região em estudo como um todo, não é maior do que os desvios constatados nas estações individuais. Os valores de F_{ST} indicam que somente 0,5% do total da diversidade dos genes é devido à variações entre as amostras e que 99,5% ocorrem nas amostras individuais (Tab. 6). Os F-estatísticos, em geral, indicam que as amostras individuais foram tomadas de populações com acasalamento ao acaso.

Os F-estatísticos podem ser utilizados para a análise hierárquica da diferenciação populacional. Utilizando-se as divisões da região de amostragem em áreas, subáreas e estações (Fig. 1) como níveis hierárquicos, os F-estatísticos, para cada um dos níveis da hierarquia em relação a outros níveis, mostram que as variações entre as áreas não são maiores do que as variações entre as subáreas, ou as variações entre as amostras (Tab. 7).

Discussão

As variabilidades genéticas de *E. superba*, a porcentagem de *loci* polimórficos e a heterozigidade média encontradas em nosso trabalho são, respectivamente, 0,696 e 0,147 e são maiores do que os valores relatados por outros autores. Nossos valores, no entanto, estão dentro dos encontrados para os eufausiáceos (Tab. 8) e outros invertebrados (Ferguson, 1980). As diferenças entre nossos valores e os de outros autores provavelmente são devidas a um ou a uma combinação dos seguintes fatores:

(a) diferenças nos métodos utilizados: as enzimas Ao, Idh, Mdh e Me foram analisadas em membranas de acetato por Schneppenheim & MacDonald (1984) e foram consideradas como monomórficas. As mesmas enzimas, no entanto, quando por nós analisadas em gel de poliácridamida foram constatadas como polimórficas.

(b) *loci* polimórficos com alelo nulo: nenhum *locus* com alelo nulo foi analisado por outros autores. O alelo nulo é um alelo que ou não produz uma proteína ou produz uma proteína enzimaticamente não funcional. Os homozigotos de um alelo nulo não aparecem como uma banda no eletroferograma se a revelação depende da atividade enzimática e os heterozigotos aparecem como

Tabela 6. Sumário de F-estatísticos para todos os loci

Locus	F(IS)	F(IT)	F(ST)
Ldh-1	-0,022	-0,018	0,004
Mdh-1	0,004	0,007	0,003
Mdh-2	-0,028	-0,025	0,004
Idh-1	-0,047	-0,040	0,007
Idh-2	-0,061*	-0,056*	0,005
Me -1	-0,038	-0,032	0,006
Me -4	-0,039	-0,031	0,008
Ao -1	-0,027	-0,022	0,005
Ao -2	-0,020	-0,014	0,006
Aat-1	0,012	0,017	0,006
Est-1	-0,003	0,001	0,004
Est-2	0,004	0,008	0,004
Aph-1	0,016	0,022	0,006
Aph-2	-0,024	-0,018	0,005
Média	-0,013	-0,008	0,005

* Significativo a nível de 0,05.

(Alp-2) de fosfatase alcalina (Anderson, 1982). Em nosso trabalho, além da fosfatase alcalina (Aph-1), o alelo nulo foi também encontrado em Mdh, Idh, Me e Est. Uma das possíveis causas do porquê não haver sido encontrado alelo nulo nestas enzimas por outros autores poderia ser a diferença de métodos utilizados. Um alelo pode comportar-se como alelo nulo em um sistema tampão mas exibir sua atividade num outro (Ruddle & Roderick, 1968; Burnet, 1972 *cit. in*: Anderson, 1982).

Tabela 7. F-estatísticos e variâncias de todos os loci

Comparação		Variância	F XY
X	Y		
Estação	- Subárea	0,00050	0,000
Estação	- Área	0,00076	0,000
Estação	- Total	-0,00093	-0,000
Subárea	- Área	0,00026	0,000
Subárea	- Total	-0,00143	-0,001
Área	- Total	-0,00169	-0,001

(c) Diferenças de loci e enzimas estudadas: não foram estudadas em nosso trabalho as enzimas de pequena variabilidade genética e não se sabe se os mesmos loci de uma mesma enzima constam tanto em nosso trabalho quanto em trabalhos realizados por outros autores.

(d) Conservação das amostras: em nosso trabalho, imediatamente após a captura, as amostras de krill foram conservadas a -20°C; enquanto que foram conservadas a -80°C por outros autores. Em nosso trabalho não foram detectadas, entretanto, diferenças entre zimogramas obtidos de amostras de krill conservados e de krill sacrificados no dia da análise eletroforética.

Neste trabalho, foram encontradas deficiências de heterozigotos, i.e., as frequências observadas de heterozigotos foram significativamente menores que as frequências esperadas assumindo o equilíbrio de

Tabela 8. Variabilidade genética de eufausiáceos

Espécie	P _{0,95}	P _{0,99}	Het _{esp}	Het _{obs}	Ref
<i>E. superba</i>	0,139	0,361	0,058	-	1
<i>E. superba</i>	0,514	0,314	0,099	-	2
<i>E. superba</i>	-	-	0,110	-	3
<i>E. superba</i>	-	-	0,118	-	4
<i>E. superba</i>	0,217	0,319	0,077	0,069	7
<i>E. superba</i>	0,091	0,182	0,052	0,053	7
<i>E. superba</i>	0,200	0,400	0,111	0,095	7
<i>E. superba</i>	0,696	-	0,145	0,147	pt
<i>E. crystallophias</i>	0,303	0,394	0,093	-	2
<i>E. krohnii</i>	0,750	-	0,230	-	5
<i>E. pacifica</i>	-	-	0,028	-	6
<i>E. mucronata</i>	-	-	-	0,153	6
<i>E. distinguenda</i>	-	-	-	0,201	6
<i>E. frigida</i>	-	-	-	0,110	6
<i>M. norvegica</i>	-	-	-	0,070	6
<i>N. megalops</i>	1,000	-	0,320	-	5
<i>T. longicaudata</i>	-	-	0,029	-	7
<i>T. raschi</i>	-	-	-	0,032	6

Het_{obs} = Heterozigosidade observadaHet_{esp} = Heterozigosidade esperada

Ref = Referência

1. Ayala *et al.* (1975)

2. Fevolden & Ayala (1981)

3. Schneppenheim & Macdonald (1984)

4. Kühl & Schneppenheim (1986)

5. Bucklin & Wiebe (1986)

6. Fevolden (1984)

7. Anderson (1982)

pt: presente trabalho

Hardy-Weinberg, nos *loci* Aph-1 das estações 8 e 18, Est-1 das estações 9 e 11 e Mdh-1 da estação 18. Nos invertebrados, a deficiência de heterozigotos pode ser explicada por vários fatores (Fujio *et al.*, 1983), entre os quais, os mais comuns, são erros na interpretação dos fenótipos, efeito de Wahlund, alelo nulo, endocruzamentos, etc. O efeito de Wahlund, i.e., a amostragem de uma mistura de duas ou mais populações distintas, é pouco provável, pois não foram encontradas neste trabalho distribuições heterogêneas de alelos. Levando em consideração o fato de que todos são *loci* com alelo nulo e provenientes de amostras com tamanhos relativamente pequenos, é muito provável que a deficiência encontrada seja devida à dificuldade na contagem dos fenótipos. A análise de alelo nulo foi considerada como particularmente difícil (Utter *et al.*, 1986). Num *locus* com alelo nulo, a diferença entre heterozigotos e homozigotos de um alelo está apenas na intensidade da banda. Um heterozigoto, neste caso, pode ser confundido com um homozigoto, o que resultará na deficiência de heterozigotos e excesso de homozigotos na comparação com os esperados de Hardy-Weinberg.

Nossos resultados indicam que não existem evidências de diferenciação genética entre as amostras coletadas em 18 localidades diferentes do Estreito de Bransfield, da Passagem Drake e do oeste da Península Antártica. Nossos resultados apoiam a hipótese de que todas as amostras foram tomadas de uma única população com acasalamento ao acaso e concordam com os de Schneppenheim & MacDonald (1984), Fevolden (1986), e Kühl & Schneppenheim (1986). Os resultados de estudos bioquímicos sobre a homogeneidade genética do krill no Estreito são apoiados por estudos morfológicos. Siegel (1983) não conseguiu discriminar diferenças entre os krill do Mar de Bellingshausen, do Estreito de Bransfield e do norte e sudeste do Mar de Weddell utilizando características morfológicas. Fevolden & George (1984) não conseguiram discriminar os estoques de krill a oeste da Península, utilizando somente informações sobre distribuição de comprimento. Nossos resultados, no entanto, não estão de acordo com os dados obtidos por Fevolden & Ayala (1981) e por Anderson (1982), a respeito da existência de populações separadas de krill no oeste e leste da Península Antártica.

A homogeneidade genética do krill parece ter uma extensão ainda maior. Fevolden & Schneppenheim (1989), estudaram as variações de alozimas em animais coletados no Mar de Ross e no Mar de Bellingshausen no Setor Pacífico do Oceano Antártico e compararam com os resultados obtidos em vários locais no Setor Atlântico (Schneppenheim & MacDonald, 1984; Kühl & Schneppenheim, 1986) e na Baía Prydz no Setor Índico (MacDonald *et al.*, 1986). Esses autores concluíram que não existe nenhuma evidência de estrutura populacional

do krill do Setor Pacífico e que o krill deste Setor, não pode ser diferenciado geneticamente do krill do Setor Atlântico ou Índico através de método eletroforético. Apesar da pequena quantidade de *loci* analisados, os resultados obtidos levaram os autores a sugerir a hipótese de uma única população circumpolar de krill, com acasalamento ao acaso. Esta hipótese, de acordo com MacDonald & Schneppenheim (1983), não exige o movimento de um número substancial de krill, em toda extensão da distribuição da espécie durante uma única geração. Os autores acreditam que, mesmo que existam áreas de desova geograficamente isoladas, o inter cruzamento de krill nas áreas adjacentes seria suficiente para que todos os estoques possam ser considerados como parte de uma única população inter-reprodutiva.

A homogeneidade genética do krill, encontrada através do polimorfismo de proteínas no Estreito de Bransfield, é provavelmente uma consequência da sua capacidade de dispersarem-se em longas distâncias, de misturarem-se entre si e de tolerarem as condições ambientais. A dispersão impede o isolamento local, a mistura facilita o intercâmbio gênico, e a tolerância promove a sobrevivência e o sucesso na reprodução. Vários fatores, físicos e biológicos, isolados e/ou em conjunto, governam esses processos.

O Estreito de Bransfield, área principal da coleta de material para este trabalho, é essencialmente uma faixa de água de 100 km de largura, estendendo-se de sudoeste a nordeste entre as Ilhas Shetland do Sul e a Península Antártica, e da Ilha Low à Ilha Clarence numa extensão de cerca de 460 km (Fig. 1). Do lado sudoeste uma corrente, de água do Mar de Bellingshausen, entra no Estreito e flui ao longo da costa sul das Ilhas Shetland do Sul. Do lado sudeste uma corrente de água do Mar de Weddell espalha-se ao longo da costa da Península Antártica, às vezes até a Ilha Trinity, onde se une com a corrente de água proveniente do Mar de Bellingshausen. O krill do Estreito de Bransfield e do norte das Ilhas Shetland do Sul, de acordo com Wolnomiejski *et al.* (1982), tem origem no Mar de Weddell e no Mar de Bellingshausen. Uma vez entrando no Estreito, as duas correntes superficiais, de direções opostas, juntamente com a água relativamente estável no fundo do Estreito, podem fazer com que o krill de origens diferentes se torne uma mistura giratória dentro do mesmo.

No ambiente marinho, o fluxo de genes entre as populações de invertebrados provavelmente ocorre, mais freqüentemente, pela dispersão de larvas planctônicas (Burton, 1983). Os animais com larvas pelágicas, comparados aos animais de larvas bentônicas, são geralmente considerados como pouco variáveis geneticamente, devido à sua maior capacidade de dispersão (Scheltema, 1971). Os ovos de krill depois da

fertilização caem na plataforma continental na região costeira ou até 3000 m de profundidade na região oceânica, eclodem como náuplios e sobem para a superfície como calyptopis. A viagem de descida e subida dura em torno de 21 a 30 dias, dependendo do autor. Durante estes dias os processos verticais os levam às circulações oceânicas, onde permanecem à mercê de correntes durante cerca de 100 dias, antes de completarem as fases de desenvolvimento como larvas. Apesar de serem considerados como organismos planctônicos, os adultos, por outro lado, são muito ativos e são excelentes nadadores. Marr (1962) observou um cardume de krill nadar contra a corrente com velocidade de 18 cm.s^{-1} . Kanda *et al.* (1982) observaram cardumes migrando contra a corrente de água com velocidade média de $11,6\text{-}12,9 \text{ cm.s}^{-1}$ numa distância de 186,5 km. A deriva passiva de ovos e larvas e a migração ativa de jovens e adultos podem funcionar como mecanismos de dispersão que impedem o processo de adaptação às condições locais.

A água na área do Estreito de Bransfield é uma conseqüência da complexa interação entre as águas do Mar de Bellingshausen, do Mar de Weddell e das características locais. Em geral, a água mais quente e menos salgada com origem no Mar de Bellingshausen, é dominante a sudoeste do Estreito e ao sul das Ilhas Shetland do Sul; a água mais fria e mais salgada, originária do Mar de Weddell, é dominante a sudeste do Estreito e ao norte da Península. Oito massas de água foram identificadas no Estreito e na sua proximidade, como resultado da mistura destes dois tipos de água (BIOMASS, 1982, 1983). Variações a curto prazo e variações interanuais na distribuição destas massas de água têm uma correlação marcante com o acúmulo do krill (Makarov *et al.*, 1987). Em alguns locais, no entanto, as flutuações hidro-meteorológicas a longo prazo, podem alterar as condições hidrodinâmicas e, conseqüentemente, a distribuição do krill (Maslennikov & Solyankin, 1987). Fatores ambientais como salinidade, temperatura, nutrientes e concentração de oxigênio, no entanto, parecem não governar diretamente a distribuição do krill (Kalinowski & Witek, 1985; Godlewska & Rakusa-Suszczewski 1988; Katsuragawa *et al.*, 1989). As variações destes fatores no Estreito estão, na verdade, dentro dos limites de tolerância dos cardumes de krill determinados por Rakusa-Suszczewski (1978). Desse modo, é provável que no Estreito de Bransfield, bem como na área total de ocorrência do krill, i.e., entre o Continente Antártico e a Convergência Antártica, não existam condições hidrodinâmicas e físico-químicas suficientemente persistentes para atuarem como barreira ambiental para a formação de populações geneticamente isoladas.

No Oceano Antártico apenas o krill das áreas a oeste da Península, Estreito de Bransfield, Mar de Scotia e Mar de Weddell foi estudado repetidamente, com certo grau de detalhamento em termos de número de *loci* e número de locais de amostragem. Em outras áreas somente alguns *loci* de algumas amostras foram examinados. Para uma melhor compreensão da população circumpolar do krill é necessário que um número maior de *loci* de animais, coletados em maior número de locais em todos os setores do Oceano Antártico, seja examinado. É necessário também a aplicação de outros métodos genéticos para esta investigação. A análise eletroforética só pode revelar uma fração de variantes genéticas (Hubby & Lewontin, 1966). Além de mutações redundantes, muitas substituições de aminoácidos não resultam em carga ou variação configuracional suficientes para poderem ser detectadas por esta técnica.

Além dos dados eletroforéticos existem alguns trabalhos isolados sobre a citogenética de krill. Yabu & Kawamura (1984), obtiveram de 15 machos, coletados em duas localidades à leste da Antártica, metáfases com $n = 16$ e $2n = 32$. Phan *et al.* (1989) obtiveram de quatro machos coletados à oeste do Continente 47 metáfases de boa qualidade, todas com $n = 17$ bivalentes.

É provável que a diferença de um cromossomo meiótico acima citada seja devida à diferença de métodos utilizados. Para obtenção dos cromossomos Phan *et al.* (1989) utilizaram suspensão de células hipotonizadas de glândula seminal de krill injetado com colchicina, enquanto que os autores japoneses utilizaram a dissecação daquela glândula de krill, fixada em álcool:ácido acético (3:1) imediatamente após a captura. É também possível que a diferença no número de cromossomos reflita diferença genética existente entre krill coletados em diferentes localidades. Os exemplares utilizados no estudo de Phan *et al.* (1989), foram coletados num lugar afastado dentro da Baía do Almirantado, enquanto que os animais utilizados no trabalho de Yabu & Kawamura (1984), foram coletados no mar aberto do lado oposto do Continente. Para explicar as possíveis causas e implicações desta diferença é necessário um estudo mais detalhado.

Além de estudos genéticos, conhecimentos relacionados aos impactos diferenciais do ambiente sobre as características da espécie são também necessários. São conhecimentos indispensáveis para a compreensão e a integração dos dados obtidos através de diversas investigações.

Conclusões

Baseando-se nos dados obtidos através dos estudos eletroforéticos de krill coletado na região da Passagem Drake-Estreito de Bransfield-oeste da Península Antártica conclui-se que:

Não foram encontradas diferenças em frequências de alelos dos *loci* examinados em função do sexo e do tamanho dos animais.

O krill coletado em diferentes localidades pertence à uma única população geneticamente homogênea. Sistemas de circulação, densidade da população, capacidade de dispersão e tolerância às condições ambientais, como também as interações entre os mesmos, são considerados como os fatores que promovem esta homogeneidade.

É necessário um estudo mais detalhado, utilizando várias técnicas distintas, para analisar uma grande quantidade de amostras coletadas no maior número possível de localidades ao redor do Continente, para compreender melhor a estrutura populacional circumpolar do krill no Oceano Antártico.

Agradecimentos

Agradecemos ao Programa Antártico Brasileiro, PROANTAR/CNPq, à Comissão Interministerial para os Recursos do Mar, CIRM, e ao Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo, pela oportunidade, apoio logístico e financeiro para realizar este trabalho. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pela bolsa de pesquisa concedida (Proc. 300299/77-O). À tripulação e equipes científicas das Expedições Antárticas do N/Oc. "Prof. W. Besnard" pelo material coletado. À Estação Antártica Brasileira "Comandante Ferraz" pela hospitalidade e apoio durante os trabalhos de campo. À Srta. Lucy Teixeira pela padronização das referências bibliográficas e à Marizilda Magro pelas ilustrações.

Referências bibliográficas

- AKROYD, P. 1967. Acrylamide gel slab electrophoresis in a simple glass cell for improved resolution and comparison of serum proteins. *Analyt. Biochem.*, 19:399-410.
- ANDERSON, R. C. 1982. Isozyme variation in euphausiids. PhD. Thesis. University of East Anglia, Fisheries Laboratory. Lowestoft. 184p.
- AVISE, J. C. 1974. Systematic value of electrophoretic data. *Syst. Zool.*, 23:465-481.
- AYALA, F. J.; VALENTINE, J. W. & ZUMWALT, G. S. 1975. An electrophoretic study of the Antarctic zooplankton *Euphausia superba*. *Limnol. Oceanogr.*, 20:635-640.
- BIOMASS. 1982. 1st Post-FIBEX Hydrographic Data Interpretation Workshop, Hamburg FRG, 20-26 September 1982. BIOMASS Rep. Ser., 30. 11p.
- _____. 1983. 2nd Post-FIBEX Hydrographic Data Interpretation Workshop, Hamburg FRG, 16-20 May 1983. BIOMASS Rep. Ser., 31. 26p.
- BROWN, A. H. D. 1970. The estimation of Wright's fixation index from genotypic frequencies. *Genetica*, 41:399-406.
- BUCKLIN, A. & WIEBE, P. H. 1986. Genetic heterogeneity in euphausiid populations: *Euphausia krohnii* and *Nematoscelis megalops* in North Atlantic slope water. *Limnol. Oceanogr.*, 31:1346-1352.
- BURTON, R. S. 1983. Protein polymorphisms and genetic differentiation of marine invertebrate populations. *Mar. Biol. Letts*, 4:193-206.
- FAO. 1985. FAO species identification sheets for fishery purposes. Southern Ocean. CCAMLR Convention area, fishing areas 48, 58 and 88. Commission for the Conservation of Antarctic Marine Living Resources. Rome, Food and Agriculture Organization of the United Nations. 232p.
- FERGUSON, A. 1980. Biochemical systematic and evolution. Glasgow, Blackie. 194p.
- FEVOLDEN, S. E. 1979. Investigations on krill (Euphausiacea) sampled during the Norwegian Antarctic Research Expedition, 1976 - 1977. *Sarsia*, 64:189-198.
- _____. 1986. Genetic variation of *Euphausia superba* Dana in the Antarctic Peninsula waters. *Sarsia*, 71:169-175.
- _____. 1988. Biochemical genetics and population structure of *Euphausia superba*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 90B:507 - 513.
- _____. & AYALA, F. J. 1981. Enzyme polymorphism in Antarctic krill (Euphausiacea): genetic variation between populations and species. *Sarsia*, 66:167-181.
- _____. & GEORGE, R. Y. 1984. Size frequency pattern of *Euphausia superba* in the Antarctic Peninsula waters in the Austral Summer of 1983. *J. crustacean Biol.*, 4 (Spec. No. 1):107- 122.
- _____. & SCHNEPPENHEIM, R. 1989. Genetic homogeneity of krill (*Euphausia superba* Dana) in the Southern Ocean. *Polar Biol.*, 9:533-539.

- FLOWERDEW, M. W. & CRISP, D. J. 1975. Esterase heterogeneity and an investigation into racial differences in the cirripede *Balanus balanoides* using acrylamide gel electrophoresis. *Mar. Biol.*, 33:33-39.
- FUJIO, Y.; YAMANAKA, R. & SMITH, J. P. 1983. Genetic variation in marine molluscs. *Bull. japan. Soc. scient. Fish.*, 49:1809-1817.
- GODLEWSKA, M. & RAKUSA-SUSZCZEWSKI, S. 1988. Variability of krill, *Euphausia superba*, Dana 1852 (Crustacea, Euphausiacea), distribution and biomass in the Western Antarctica (Bransfield Strait, Drake Passage, Elephant Island) during 1976-1977. *Investigación pesq.*, Barcelona, 52:575-586.
- HUBBY, J. L. & LEWONTIN, R. C. 1966. A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural populations. I. The number of alleles at different loci in *Drosophila pseudoobscura*. *Genetics*, 54:577-594.
- KANDA, K.; TAKAGI, K. & SEKI, Y. 1982. Movement of the larger swarms of Antarctic krill *Euphausia superba* population off Enderby Land during 1976 - 1977 season. *J. Tokyo Univ. Fish.*, 68:25-42.
- KALINOWSKI, J. & WITEK, Z. 1985. Scheme for classifying aggregations of Antarctic krill. *BIOMASS Handb.*, (27), 9p.
- KATSURAGAWA, M.; NONATO, L. V.; MADUREIRA, L.; AMARAL, J. C. & FERREIRA, S. L. B. L. 1989. Analysis of krill distribution in the Bransfield Strait and Drake Passage by means of hydroacoustic survey. *Pesq. antárt. brasil.*, 1:11-23.
- KÜHL, S. & SCHNEPPENHEIM, R. 1986. Electrophoretic investigations of genetic variation in two krill species *Euphausia superba* and *E. crystallorophias* (Euphausiidae). *Polar Biol.*, 6:17-23.
- LI, C. C. 1955. *Population genetics*. Chicago, University of Chicago Press. 366p.
- LUBIMOVA, T. G.; MAKAROV, R. R.; MASLENNIKOV, V. V.; SHEVTSOV, V. V. & SHUST, K. V. 1982. The ecological peculiarities, stocks and rôle of *E. superba* in the trophic structure of the Antarctic ecosystem. *Selected Papers Presented to the Scientific Committee of CCAMLR, 1982-1984. Part II: p. 391-505*. Hobart, Australia.
- MacDONALD, C. M. & SCHNEPPENHEIM, R. 1983. Breeding structure and stock identity in the Antarctic krill *Euphausia superba* Dana. In: Schnack, S. B., ed. *On the biology of krill Euphausia superba*. Proceedings of the Seminar and Report of the Krill Ecology Group. Bremerhaven, 12-16 May 1983. *Ber. Polarfors. Alfred-Wegener-Inst. Polarfors.*, Sonderheft, 4:240-245.
- _____; WILLIAMS, R. & ADAMS, M. 1986. Genetic variation and population structure of krill (*Euphausia superba* Dana) from the Prydz Bay region of Antarctic waters. *Polar Biol.*, 6:233-236.
- MacKINTOSH, N. A. 1972. Life cycle of Antarctic krill in relation to ice and water conditions. 'Discovery' Repts, 36:1-94.
- _____. 1973. Distribution of post-larval krill in the Antarctic. 'Discovery' Repts, 36:95-156.
- MAKAROV, R. R. 1974. Dominance of larval forms in Euphausiid (Crustacea: Eucaridae) ontogenesis. *Mar. Biol.*, 27:93-99.
- _____; MASLENNIKOV, V. V.; SOLYANKIN, E. V.; SPIRIDONOV, V. A. & YAKOVLEV, V. N. 1987. Variability in population density of Antarctic krill in the western Scotia Sea in relation to hydrological conditions. In: Sahrhage, D., ed. *Antarctic Ocean and resources variability*. Berlin, Springer-Verlag. p. 231-236.
- MARR, J. W. S. 1962. The natural history and geography of the Antarctic krill (*Euphausia superba* Dana). 'Discovery' Repts, 32:33-464.
- MASLENNIKOV, V. V. & SOLYANKIN, E. V. 1987. Patterns of fluctuations in the hydrological conditions of the Antarctic and their effect on the distribution of Antarctic krill. In: Sahrhage, D., ed. *Antarctic Ocean and resources variability*. Berlin, Springer-Verlag. p. 209-213.
- MAUCHLINE, J. 1982. Key for the identification of Antarctic euphausiids. *BIOMASS Handb.*, (5), 4p.
- NEI, M. 1972. Genetic distance between populations. *Am. naturalist*, 106:283-292.
- _____. 1977. F-statistics and analysis of gene diversity in subdivided populations. *Ann. Human Genet.*, 41:225-233.
- PHAN, V. N. 1980. Estudo bioquímico e fisiológico sobre os bagres marinhos do Brasil. I. Sobre padrão eletroforético do plasma em gel de poliácridamida dos bagres da região estuarino lagunar de Cananéia. *Bolm Inst. oceanogr.*, S Paulo, 29:301-303.

- PHAN, V. N.; GOMES, V.; SUZUKI, H. & PASSOS, M. J. A. C. R. 1989. Preliminary study on chromosomes of Antarctic krill, *Euphausia superba* Dana. *Polar Biol.*, 10:149-150.
- PRIDDLE, J.; CROXALL, J. P.; EVERSON, I.; HEYWOOD, R. B.; MURPHY, E. J.; PRINCE, P. A. & SEAR, C. B. 1987. Large-scale fluctuations in distribution and abundance of krill. A discussion of possible causes. In: Sahrhage, D., ed. *Antarctic Ocean and resources variability*. Berlin, Springer-Verlag, p. 169-182.
- RAKUSA-SUSZCZEWSKI, S. 1978. Environmental conditions within krill swarms. *Pol. Arch. Hydrobiol.*, 25:585-587.
- ROHLF, F. J. 1988. NTSYS-pc Numerical taxonomy and multivariate analysis system. New York. Exeter Publ. 156p.
- SHELTEMA, R. S. 1971. Larval dispersal as a means of genetic exchange between geographically separated populations of shoalwater benthic marine gastropods. *Biol. Bull. mar. biol. Lab., Woods Hole*, 140:284-322.
- SCHNEPPENHEIM, R. & MacDONALD, C. M. 1984. Genetic variation and population structure of krill (*Euphausia superba*) in the Atlantic sector of Antarctic waters and off the Antarctic Peninsula. *Polar Biol.*, 3:19-28.
- SCOPES, R. K. 1968. Methods for starch gel electrophoresis of sarcoplasmic proteins. An investigation of the relative variety of species. *Biochem. J.*, 107:139-150.
- SIEGEL, V. 1983. Population structure of *Euphausia superba* in the eastern part of the Bransfield Strait. In: Schnack, S. B., ed. *On the biology of krill Euphausia superba*. Proceeding of the Seminar and Report of the Krill Ecology Group. Bremerhaven, 12-16. May 1983. Ber. Polarforsch. Alfred-Wegener-Inst. Polarforsch., Sonderheft, 4:227-238.
- SMITH, P. J.; FRANCIS, R. I. C. C. & JAMIESON, A. 1981. An excess of homozygotes at a serum esterase locus in the Atlantic mackerel *Scomber scombrus*. *Anim. Blood Groups and Biochemical Genetics*, 12:171-180.
- SNEATH, P. H. & SOKAL, R. R. 1973. *Numerical taxonomy*. San Francisco, W. H. Freeman. 573p.
- SWOFFORD, D. L. & SELANDER, R. B. 1981. BIOSYS-1: a FORTRAN program for the comprehensive analysis of electrophoretic data in population genetics and systematics. *J. Hered.*, 72:282-283.
- UTTER, F.; AEBERSOLD, P. & WINAS, G. 1986. Interpreting genetic variation detected by electrophoresis. In: Ryman, N. & Utter, F., eds *Population genetics & fisheries management*. Washington Sea Grant Program. Seattle, University of Washington Press. p. 21-45.
- WOLNOMIEJSKI, N.; CZYKIETA, H.; STEPNIK, R. & JACKOWSKA, H. 1982. Biological characteristics of *Euphausia superba* Dana in the southern Drake Passage and the Bransfield Strait in February-March, 1981 (BIOMASS-FIBEX). *Pol. Polar Res.*, 3:259-271.
- WORKMAN, P. L. & NISWANDER, J. D. 1970. Population studies on southwestern Indian tribes. II. Local genetic differentiation in the Papago. *Am. J. Human Genet.*, 22:24-49.
- WRIGHT, S. 1965. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution*, 19:395-420.
- _____ 1978. *Evolution and the genetics of populations. Variability within and among natural populations*. Chicago, University of Chicago Press. v.4.
- YABU, H. & KAWAMURA, A. 1984. Chromosomes of *Euphausia superba* Dana. *Bull. Plankt. Soc. Japan*, 31:61-63.

(Manuscrito recebido 25 agosto 1992; revisto 13 dezembro 1993; aceito 17 dezembro 1993)