



*Estudo do ciclo reprodutivo do berbigão (*Cerastoderma edule*,
Linnaeus, 1758), da Lagoa de Óbidos, Leiria Portugal*

Ana Beatriz Gonçalves Trindade

[2017]



*Estudo do ciclo reprodutivo do berbigão (*Cerastoderma edule*,
Linnaeus, 1758), da Lagoa de Óbidos, Leiria Portugal*

Ana Beatriz Gonçalves Trindade

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Aquacultura

Dissertação de Mestrado realizada sob a orientação da Especialista Teresa Baptista

[2017]

Título: Estudo do ciclo reprodutivo do berbigão (*Cerastoderma edule*, Linnaeus, 1758), da Lagoa de Óbidos, Leiria Portugal

Copyright © Ana Beatriz Gonçalves Trindade

Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar – Peniche

Instituto Politécnico de Leiria

2017

A Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar e o Instituto Politécnico de Leiria têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

Agradecimentos

Muitas pessoas estiveram do meu lado a apoiar e ajudar na realização da dissertação de mestrado, queria expressar o meu imenso agradecimento e gratidão, especialmente:

- À minha orientadora, a Especialista Teresa Baptista pela oportunidade e confiança que depositou em mim na realização deste trabalho, e por todo o apoio e empenho demonstrado;
- Ao Diretor da Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar ESTM – IPL por aceitar o desenvolvimento deste estudo;
- À Professora Doutora Ana Pombo, coordenadora do Mestrado de Aquacultura da ESTM, pelo seu apoio;
- À Professora Susana Mendes, pela ajuda estatística e pela sua disponibilidade;
- À Associação de Pescadores e Mariscadores Amigos da Lagoa de Óbidos (APMALO), especialmente ao Sr.º Elias, que disponibilizou os organismos em estudo;
- À Mestre Daniela Machado, a Mestre Catarina Anjos e a Andreia Raposo por tudo o que me ensinaram e por toda a paciência que tiveram comigo;
- Aos Pedros, Pedro Moreira e Pedro Albano, pelas viagens até à Lagoa de Óbidos e as longas horas que tivemos na histologia a fazer cortes e colorações;
- À Ana Rita Ferreira um obrigada especial, mais do que uma colega, uma grande amiga, pelo seu apoio e pela sua ajuda imprescindível nas amostragens;
- À Joana Ribeiro, Margarete Matias e a Cláudia Lopes pela vossa disponibilidade sempre que precisava;
- A ti, Tiago, por toda a paciência, amor e companheirismo neste período. Tiveste presente em todos os momentos e acreditaste sempre em mim;
- Aos meus pais que tiveram sempre comigo desde o primeiro dia, acreditaram em mim e deram muita força quando tudo parecia estar a correr mal. Sem vocês tudo seria mais difícil. Obrigada por tudo!
- A todos os que, de uma maneira ou outra, se sentiram envolvidos neste trabalho.

Muito Obrigada!

Resumo

O conhecimento sobre o ciclo reprodutivo do berbigão na Lagoa de Óbidos é necessário e essencial para a gestão da população de modo a que as práticas das colheitas, como as temporadas fechadas, possam ser estabelecidas. Assim, o presente estudo caracteriza o ciclo reprodutivo da espécie *Cerastoderma edule* na Lagoa de Óbidos (Portugal) através da análise histológica das fases de desenvolvimento das gónadas, a composição bioquímica (proteínas, glicogénio e lípidos totais) e índice de condição, durante dez meses (de setembro de 2016 a junho de 2017). Para além destes parâmetros, monitorizou-se a temperatura da água, a clorofila *a* e a matéria orgânica em suspensão. O ciclo reprodutivo do berbigão teve início em setembro, seguido de uma fase madura de fevereiro até abril e ocorreram dois períodos de desova, um que começa março/abril e o outro em maio/junho. O índice de condição permaneceu estável ao longo do período estudado, observa-se um aumento significativo que coincidiu com o início da gametogénese e com o maior valor da matéria orgânica em suspensão. Os ciclos de armazenamento e utilização de nutrientes traduzem-se num padrão de composição bioquímica, em que a energia acumulada é armazenada antes da gametogénese na forma de proteínas, glicogénio e lípidos totais. As proteínas foram o constituinte maioritário do tecido seco do berbigão. No glicogénio, *C. edule* apresentou valores elevados entre setembro e dezembro, necessários para o processo da gametogénese apresentando valores mais baixos depois das desovas. Os valores dos lípidos totais foram superiores nos meses de fevereiro e abril, que coincidiu com o início da maturação e início da desova, respetivamente. Esta população segue uma estratégia conservadora, que lhes permite uma rápida recuperação gonadal após a desova, possivelmente devido à disponibilidade de alimento. O conhecimento obtido neste estudo pode ser um contributo importantíssimo para a gestão da população de berbigão da Lagoa de Óbidos e também para o desenvolvimento futuro do cultivo desta espécie.

Palavras-chave: Berbigão; *Cerastoderma edule*; Ciclo reprodutivo; Composição bioquímica; Índice de Condição; Lagoa de Óbidos.

Abstract

Knowing about the reproductive cycle of the cockle species in Lagoa de Óbidos is important and essential for the population management, so that the collecting pattern, such as the closed season, may be established. Thus, the present study describes the reproductive cycle of the *Cerastoderma edule* species in Lagoa de Óbidos (Portugal), through the histological analysis of the gonad development, biochemical composition (protein, glycogen and total lipids) as well as condition rate, along the period of ten months (September 2016 to June 2017). Besides these parameters, water temperature, chlorophyll *a* and organic matter suspension were monitored. The reproductive cycle of cockles started with gametogenesis in September, followed by a mature stage in February through April and March/April and May/June. The condition index remained stable along this period except for a significant rise at the beginning of gametogenesis and also a higher level of suspended organic matter. Cycles of nutrients storage and usage have shown that the accumulated energy is stored as proteins, glycogen and total lipids before gametogenesis. Being proteins the predominant dry tissue constituent of the cockles. The glycogen has shown the higher values between September and December, which were needed for the gametogenesis process. And that showed the lowest levels after the spawning. In the case of lipids, the highest values were in February and April matching with either the beginning of maturation and spawning, respectively. This population follows a conservative strategy, which allows them to quickly recover the gonadal levels after spawning, possibly because they have enough food. The insight gained by this study may be an extremely important contribution for the management of cockle population in Lagoa de Óbidos and contributing to the aquaculture development of this species.

Keywords: Cockle; *Cerastoderma edule*; Reproductive cycle; Biochemical composition; Condition index; Lagoa de Óbidos.

Índice

Agradecimentos	v
Resumo	vii
Abstract.....	ix
Índice	xi
Índice de Figuras	xiii
Índice de Tabelas	xv
Lista de Siglas.....	xvii
1. Introdução.....	1
2. Material e Métodos.....	7
2.1. Área de estudo e Amostragem	7
2.2. Parâmetros analíticos	8
2.2.1. Análises da água:	8
2.2.2. Análises aos bivalves:.....	9
2.3. Métodos analíticos	10
2.3.1. Análise histológica	10
2.3.2. Índice de Condição	14
2.3.3. Composição Bioquímica	14
2.4. Análise estatística	15
3. Resultados.....	17
3.1. Temperatura da água, Clorofila a e Matéria Orgânica em Suspensão.....	17
3.2. Análise Histológica.....	19
3.3. Índice de Condição	22
3.4. Composição Bioquímica.....	23
3.5. Análise de Componentes Principais (ACP).....	27
4. Discussão de Resultados.....	29
Referências Bibliográficas.....	35
Anexos	43

Índice de Figuras

Figura 1.1 – População em estudo, Berbigão <i>Cerastoderma edule</i>	3
Figura 2.1 – Localização da Lagoa de Óbidos onde foram recolhidos os berbigões, <i>Cerastoderma edule</i>	8
Figura 2.2 – Fotomicrografia das fases de desenvolvimento da gónada feminina de <i>Cerastoderma edule</i> . (A) Descanso sexual; (B) Início da gametogénese; (C) Gametogénese avançada, Og - Oogónia, Oo- Oócito, Po- Oócito com pedúnculo; (D) Maduro; (E) Pós-desova; (F) Reorganização das gónadas, Fo- Formação de novos oócitos; (G) Reabsorção.	12
Figura 2.3 – Fotomicrografia das fases de desenvolvimento da gónada masculina de <i>Cerastoderma edule</i> . (A) Descanso sexual; (B) Início da gametogénese, Eg- Espermatogónias (C) Gametogénese avançada; (D) Maduro; (E) Pós-desova, Ez- Espermatozoides; (F) Reorganização das gónadas, Fe- Formação de novos espermatozoides; (G) Reabsorção.	13
Figura 3.1 – Valores mensais da temperatura do mar na Lagoa de Óbidos durante o período de amostragem, setembro 2016 a junho 2017.	17
Figura 3.2 – Valores mensais da clorofila <i>a</i> (média±DP, n=2) na Lagoa de Óbidos durante o período de amostragem, setembro 2016 a junho 2017.	18
Figura 3.3 – Valores mensais da matéria orgânica em suspensão (média±DP, n=2) na Lagoa de Óbidos durante o período de amostragem, setembro 2016 a junho 2017).	18
Figura 3.4 – Valores mensais no desenvolvimento gonadal da população de <i>Cerastoderma edule</i> na Lagoa de Óbidos durante o período de amostragem, setembro de 2016 a junho de 2017. a) Fêmeas e b) Machos.	19
Figura 3.5 – Valores mensais médios do índice gonadal (IG) (n=20) da população <i>Cerastoderma edule</i> na Lagoa de Óbidos durante o período de amostragem, setembro de 2016 a junho de 2017.	21
Figura 3.6 – Valores mensais do Índice de Condição da população <i>Cerastoderma edule</i> . Valores apresentados na forma (média±DP, n=10) para a Lagoa de Óbidos, durante o período de amostragem (setembro 2016 a junho 2017).	23
Figura 3.7 – Análise de componentes principais (ACP) nos parâmetros utilizados para caracterizar o ciclo reprodutivo da população <i>Cerastoderma edule</i> da Lagoa de Óbidos.	

Cada vetor representa um dos parâmetros estudados (TEMP - Temperatura; LIPT - Lípidos totais; Cl *a* - Clorofila *a*; IG - Índice gonadal; GLIC - Glicogénio; IC - Índice de condição; MOS - Matéria orgânica em suspensão; ENT - Energia total; PROT - Proteínas e cada ponto representa o mês de amostragem. Círculo verde representa mês de verão; Círculo cor-de-rosa representa meses da primavera; Círculo castanho meses do outono e círculo cinzento meses de inverno..... 28

Índice de Tabelas

Tabela 2.1 – Escala reprodutiva para <i>Cerastoderma edule</i> , proposto por Iglesias (2006) e adaptado por Martínez-Castro & Vázquez (2012).	11
Tabela 3.1 – Valores mensais médios do índice gonadal (IG) (n=20) da população <i>Cerastoderma edule</i> na Lagoa de Óbidos durante o período de amostragem, setembro de 2016 a junho de 2017.	21
Tabela 3.2 – Valores de proteínas, glicogénio, lípidos totais ($\mu\text{g mg}^{-1}$ PSLC) e energia total (kJ mg^{-1} PSLC) da população <i>Cerastoderma edule</i> durante o período de amostragem, setembro de 2016 a junho de 2017. Os valores são apresentados na forma (média \pm DP)...	25
Tabela 3.3 – Resultados da correlação de Pearson entre os parâmetros analisados (r - coeficiente de correlação; n.s– correlação não significativa).	26

Lista de Siglas

FAO	Food and Agriculture Organization
DGRM	Direcção Geral de Recursos Naturais, Segurança e Serviços Marítimos
Cl <i>a</i>	Clorofila <i>a</i>
C₃H₆O	Acetona
HCL	Ácido Clorídrico
MOS	Matéria Orgânica em Suspensão
T^a	Temperatura
IC	Índice de Condição
C₂H₆O	Etanol
IG	Índice Gonadal
PSLC	Peso Livre de Cinzas
DP	Desvio-Padrão
ANOVA	Método de análise de variância entre grupos
ACP	Análise de componentes principais
r	Coefficiente de correlação

1. Introdução

Hoje em dia, cada vez mais as pessoas dependem da pesca e da aquacultura para a sua alimentação e rendimento (Chopin *et al.*, 2008). Assim, a aquacultura, é o setor que mais tem crescido nos últimos anos e a sua importância tem aumentado e complementado a disponibilidade limitada dos mananciais pesqueiros que se encontram sobre explorados (FAO, 2016).

A produção pesqueira e de aquacultura a nível mundial foi de 158 milhões de toneladas em 2012, cerca de 10 milhões de toneladas a mais do que em 2010. A origem deste aumento está no rápido crescimento da aquacultura, incluindo as atividades dos pequenos produtores. E a aquacultura oferece um enorme potencial para responder à procura por alimentos associados ao crescimento da população global. Ao mesmo tempo, desde que sejam geridos de forma sustentável, os oceanos do mundo têm um papel importante a desempenhar na criação de empregos e na alimentação mundial (FAO, 2016). De acordo com estudos da FAO prevê-se que a produção de pescado ultrapasse, em 2030, 187 milhões de toneladas, um aumento de aproximadamente 30 milhões de toneladas em relação ao que se verificou em 2012. Ora, estes valores devem-se, essencialmente, ao aumento da produção aquícola, no entanto, a um ritmo de crescimento inferior ao que se tem verificado ao longo dos últimos anos. Perspetiva-se também que o consumo deste género alimentício aumente, atingindo, em 2022, um consumo médio mundial *per capita* de 20,7 kg ano⁻¹, um valor que se encontra consideravelmente acima do valor atual, ou seja, 19,2 kg ano⁻¹ (FAO, 2016). Face a estes dados, é possível afirmar que a produção de pescado será uma das principais soluções para suportar o aumento do consumo de pescado previsto, devido ao declínio irreversível da pesca extrativa (Amparo, 2003; Martínez-Espiñeira *et al.*, 2015), com o objetivo de poder fornecer à população humana alimento com proteína de elevada qualidade (Sarà *et al.*, 2012; Fang *et al.*, 2016).

Por outro lado, os moluscos bivalves são uma parte importante da produção mundial pesqueira, representando o segundo grupo mais produzido em aquacultura, depois dos peixes de água doce, produzindo-se anualmente 14,2 milhões de toneladas (FAO, 2016). Com efeito, a sua completa composição nutricional conduz ao aumento da procura destes animais por parte do consumidor e, conseqüentemente, os moluscos apresentam um valor

económico elevado, pois estimulam o interesse do desenvolvimento tecnológico de cultivos intensivos, levando ao crescimento dos mercados (Pronker *et al.*, 2015).

Em Portugal, a produção de moluscos e crustáceos corresponde a 45% do total de pescado produzido em aquacultura, mantendo-se as amêijoas como a espécie mais relevante (2.251 toneladas), seguida dos mexilhões (1.547 toneladas) que registaram reduções de produção de 3,3% e 19,6%, respetivamente. Já a produção de ostras (1.085 toneladas produzidas) aumentou 36,6% em 2014, devido a um novo paradigma de investimentos, os quais se têm vindo a verificar, de norte a sul do país, em viveiros e em espaços que anteriormente estavam a ser utilizados para a produção de peixe (DGRM, 2016). Na verdade, os bivalves são um grupo bem-sucedido e diversificado, constituindo a segunda maior classe do filo Mollusca, com aproximadamente 7500 espécies. Por um lado, são animais exclusivamente aquáticos, podendo ocorrer em ambientes de salinidade diversa, desde água salgada, a água doce e salobra. Por outro, são filtradores e caracterizam-se por serem comprimidos lateralmente e possuem uma concha composta por duas valvas que se articulam dorsalmente, envolvendo todo o corpo do animal (Gosling, 2004; Pronker *et al.*, 2015).

O molusco bivalve, berbigão, *Cerastoderma edule* (*C. edule*) (Linnaeus, 1758) (Fig. 1.1), é um molusco da família Cardiidae, encontrado ao longo da Costa Atlântica Europeia e na África Ocidental (Derbali *et al.*, 2009; Nilin *et al.*, 2012; Pronker *et al.*, 2015). Tem uma concha esférica, pouca alongada no bordo posterior, uma coloração variável, esbranquiçada, amarelada ou cinza com zonas mais escuras. No interior, é branco e, na zona do músculo posterior, apresenta cor castanha ou violeta (Docapesca, 2017). É considerada uma espécie euritérmica e eurialina, permitindo-lhe habitar numa grande variedade de locais (Boyden, 1971; Seed & Brown, 1977; Quayle, 1980), habitando nas zonas intertidal e subtidal com densidades até 60000 juvenis m², tendo uma dimensão máxima de 5 cm (Cardoso *et al.*, 2009; Malham *et al.*, 2012; Pronker *et al.*, 2015). Estes bivalves são comercializados frescos, representando uma produção total de 12822 toneladas (DGRM, 2016).



Figura 1.1 – População em estudo, Berbigão *Cerastoderma edule*.

(http://www.dorsetshellfishcompany.co.uk/cockles_dorset.html. Acesso 5 de fevereiro de 2017).

Em Portugal, os berbigões são recolhidos e comercializados durante todo o ano e têm o tamanho legal de captura permitida acima de 2,5 cm (Nilin *et al.*, 2012). Em Portugal registaram-se 4963 toneladas de berbigão capturados, em 2015, nos portos comerciais. O preço médio anual de descarga em 2014 registou, em termos nacionais, uma subida de 0,32€ em relação a 2013, o que corresponde a um aumento de 19,1%, passando de 1,70 €/kg para 2,02 €/kg. O preço médio dos “moluscos” apresentou, igualmente, um aumento de 19,1%, sendo que o berbigão tem um preço médio anual de 0,91 €/kg (DGRM, 2016).

Estes organismos alimentam-se de fitoplâncton e de matéria orgânica em suspensão na coluna de água (Iglesias *et al.*, 1996; Dupuy *et al.*, 2000; Burdon *et al.*, 2014). Vivem logo abaixo da superfície do sedimento e usam os sifões curtos para extrair o seu alimento que se encontra logo acima da interface da água-sedimento. Na cadeia alimentar, os berbigões são uma ligação entre produtores primários (fitoplâncton, fitobentos) e consumidores como caranguejos, camarões, peixes e aves (Mohammad *et al.*, 2006; Malham *et al.*, 2012; Burdon *et al.*, 2014).

A Lagoa de Óbidos, conhecida pela sua riqueza em bivalves, nomeadamente em berbigão e amêijoas, é um local de elevada importância devido ao seu inegável valor ecológico e paisagístico. É também um ecossistema importante para a economia da região, tanto pela exploração dos seus recursos naturais, como pela utilização recreativa, principalmente na época de verão, quando a população aumenta significativamente. Ao longo do tempo, estes bivalves constituem grande fonte de rendimento dos pescadores locais, os quais, utilizando artes de pesca artesanais, retiravam das areias da lagoa o seu sustento. Devido a fatores como a poluição e a falta de vigilância por parte das autoridades, este tipo de ativida-

de encontra-se ameaçado, porquanto estas espécies tendem a tornar-se cada vez menos frequentes (Correia, 1995; Vieira & Foster, 1995; Fonseca *et al.*, 2002).

Alguns estudos foram efetuados no género *Cerastoderma*, na espécie *C. edule* (Navarro *et al.*, 1989; Malham *et al.*, 2012; Martínez-Castro & Vázquez, 2012) e na espécie *C. glaucum* (Kandeel *et al.*, 2013; Karray *et al.*, 2015), onde o ciclo gametogénico varia entre as populações devido às interações com fatores endógenos e exógenos, observando-se taxas de mortalidade elevadas durante as fases larvares. Na fase seguinte, os berbigões tornam-se organismos bentónicos e a sua sobrevivência e posterior recrutamento para a população adulta podem ser influenciados por vários fatores fisiológicos: endógenos, tais como doenças e condições corporais precárias; exógenos, como as mudanças climáticas; fatores físico-químicos; e bióticos, competição por alimento e espaço, qualidade ambiental baixa ou predação. Por conseguinte, estes fatores fisiológicos podem resultar num declínio gradual da população de berbigão ao longo do tempo (Chávez-Villalba *et al.*, 2002; Martínez-Castro & Vázquez, 2012; Burdon *et al.*, 2014; Karray *et al.*, 2015).

Em relação à reprodução, estes bivalves libertam os gâmetas masculinos (espermatóides) e femininos (ovócitos), diretamente para a água, sendo a fecundação externa (Joaquim *et al.*, 2008; Guerra *et al.*, 2011). São espécies que apresentam sexos separados, embora hajam estudos que reportam casos de hermafroditismo no género *Cerastoderma* (Machreki-Ajmi *et al.*, 2013). O aparelho reprodutor dos bivalves forma uma estrutura difusa, que ocupa os tecidos conjuntivos e que em repouso sexual desaparece quase por completo. A estrutura da gónada organiza-se de forma dendrítica e é composta por um gonoducto, pelos canais genitais principais e por numerosos canais menores, que formam uma rede de folículos. O ciclo reprodutivo pode-se dividir em várias fases: acumulação de nutrientes, crescimento das gónadas, gametogénese, maturação de gâmetas, desova e período de repouso (Seed, 1976). A gametogénese é um processo pelo qual há formação de gâmetas, e as células germinais ou gonócitos constituem a primeira etapa de desenvolvimento gonadal, são células que se encontram unidas ao tecido conjuntivo e não se distinguem entre machos e fêmeas. Através de diversas divisões dão lugar às primeiras células diferenciadas, conhecidas como ovogónias (em fêmeas) e espermatogónias primárias (em machos). Estas células estruturam-se em folículos tubulares e dão lugar a dois processos diferentes segundo o sexo: a ovogénese e a espermatogénese (Joaquim *et al.*, 2008; Guerra *et al.*, 2011).

Na ovogénese, as ovogónias primárias, tal como as espermatogónias, dividem-se por mitose, dando lugar às ovogónias secundárias, que se conseguem distinguir através da presença de um núcleo mais claro e um único nucléolo. Algumas ovogónias primárias permanecem em repouso para se desenvolverem mais tarde ao longo do ciclo reprodutivo. Há novamente divisão nas ovogónias secundárias, dando origem aos ovócitos, que se distinguem em duas etapas: a previtelogénese, em que os ovócitos aumentam de tamanho e sofrem uma divisão meiótica e a vitelogénese que origina os ovócitos já maduros, nos quais produz um aumento de tamanho considerável por acumulação de matéria no citoplasma e ficam com aspeto periforme unidos às paredes do folículo por um pedúnculo. Na espermatogénese, as espermatogónias formam uma ou duas capas concêntricas que revestem a parede do folículo e as sucessivas fases podem observar-se estratificadas em capas dirigidas à luz do túbulo, compostas por células de menor tamanho em cada fase. Sofrem mitose, e as espermatogónias primárias convertem-se em espermatócitos secundários que se transformam rapidamente em espermatídeos ocupando assim uma estreita camada do folículo. Os espermatídeos posicionam-se com o flagelo na direção do lúmen e ficam unidos às paredes pela cabeça (Boyden, 1971; Bayne, 1976; Joaquim *et al.*, 2008 (b); Guerra *et al.*, 2011). As suas larvas são pelágicas e desenvolvem-se no plâncton por três a cinco semanas antes de se estabelecerem no sedimento, com um comprimento de concha de aproximadamente 280 μm (Malham *et al.*, 2012; Burdon *et al.*, 2014).

Os ciclos de armazenamento e a utilização de energia traduzem-se num padrão sazonal de composição bioquímica que pode variar de acordo com as espécies e a origem geográfica (Ojea *et al.*, 2004). As reservas de energia são de importância considerável na reprodução, o armazenamento sazonal de energia e a utilização em bivalves estão intimamente correlacionadas com as condições ambientais e com os ciclos gametogénicos anuais. Os alimentos e a temperatura são os principais fatores que regulam o tempo e a taxa de armazenamento de energia em bivalves. Assim, o efeito dessas variáveis é complexo e depende especificamente no armazenamento e consumo de energia. O modelo mais comum consiste numa acumulação de energia durante os períodos em que a comida é abundante. Esta energia é então utilizada para a síntese gametogénica e posteriormente libertada durante o processo de reprodução (Matias *et al.*, 2013; Joaquim *et al.*, 2014). A acumulação da energia antes da gametogénese durante o período quando há elevada disponibilidade de alimento, chamado de estratégia conservadora. Em contraste, na estratégia oportunista, a gametogénese ocorre ao mesmo tempo que o armazenamento da energia, quando a dis-

ponibilidade de alimentos é suficiente para suportar a energia necessária para o processo (Joaquim *et al.*, 2014).

Em geral, nos bivalves marinhos, as reservas acumulam-se antes da gametogénese na forma de substratos de glicogénio, lípidos e proteínas e são usados na produção de gâmetas, quando a exigência metabólica é alta (Ojea *et al.*, 2004; Joaquim *et al.*, 2011). As proteínas são utilizadas principalmente em funções estruturais e representam uma reserva de energia em bivalves adultos, particularmente durante a gametogénese e em situações de baixos níveis de glicogénio ou equilíbrio de energia severa. Acredita-se que os hidratos de carbono constituem a reserva de energia mais importante e disponível em adultos bivalves e, devido à sua hidrossolubilidade, encontram-se disponíveis para uso imediato, constituindo o glicogénio o principal componente para o fornecimento de energia e sendo, particularmente, usado no ciclo reprodutivo. Os lípidos desempenham um papel importante na formação de gâmetas e são a principal reserva de oócitos e de larvas (Matias *et al.*, 2013; Joaquim *et al.*, 2014).

O índice de condição é considerado uma medida útil do estado fisiológico de um organismo em determinadas condições ambientais. (Baird, 1958, Rebelo *et al.*, 2005; Martínez-Castro & Vázquez, 2012). Também é definido como a capacidade de os bivalves suportarem stress ambiental adverso, seja este físico, químico ou biológico, ou seja, trata-se de um bom indicador da atividade gametogénica (Mann, 1978). Este índice também fornece informações significativas sobre a maturidade sexual da população em estudo (Walne & Mann, 1975; Martínez-Castro & Vázquez, 2012).

Estudos sobre o ciclo reprodutivo desta espécie de berbigão da Lagoa de Óbidos são necessários porque não existe informação prévia desta região. O conhecimento da biologia reprodutiva de *C. edule* é essencial para a gestão da população de modo a que as práticas das colheitas, como as temporadas fechadas, possam ser estabelecidas, tendo assim uma importância decisiva e crucial. O presente estudo tem como objetivo estudar o ciclo reprodutivo da população de berbigão, *Cerastoderma edule*, da Lagoa de Óbidos.

2. *Material e Métodos*

2.1. *Área de estudo e Amostragem*

As amostras foram recolhidas entre setembro de 2016 e junho de 2017, consistiam em cerca de oitenta indivíduos adultos da espécie *C. edule*, com comprimento ($25,73 \pm 1,49$ mm) e peso ($7,82 \pm 1,30$ g), na Aldeia da Lapinha, Lagoa de Óbidos ($39^{\circ}24'58''N$ $9^{\circ}13'15''W$) (Fig. 2.1). Também foi recolhida mensalmente uma amostra de água, volume de 2L, para determinar a clorofila *a* e a matéria orgânica em suspensão. A temperatura (T^a) da água foi medida no local utilizando uma sonda multiparamétrica (Professional series YSI) a uma profundidade de 50 cm. As amostras, os organismos e a água, foram transportadas para o laboratório numa arca refrigerada.

A Lagoa de Óbidos é uma lagoa localizada na costa Oeste de Portugal (Carvalho *et al.*, 2005; Malhadas *et al.*, 2009). É um sistema pouco profundo, com uma profundidade média de 1,5 a 2 m e é considerada a maior lagoa costeira da costa portuguesa, sendo o seu comprimento máximo é de cerca de 4,5 Km, com largura de 1,8 Km, o seu perímetro de 22 Km e cobre uma área de 7 Km² (Gordo & Cabral, 2001; Carvalho *et al.*, 2006; Pereira *et al.*, 2009; Velez *et al.*, 2016) e está permanentemente ligada ao mar através de uma entrada estreita (da ordem dos 100 m), a posição da entrada e a configuração dos canais na parte interior da lagoa tem mudado naturalmente nas últimas décadas. A lagoa é também caracterizada por ter marés semi-diurnas (duas vezes por dias) com variação de maré de 0,5 a 4 m dependendo da localização e da fase da maré. Na lagoa pode-se identificar duas áreas principais, com características distintas: a lagoa inferior, com vários bancos de areia e canais estreitos com fortes correntes, e a lagoa superior, descrita por ter velocidades mais fracas e sedimentos de fundo lamacento (Oliveira *et al.*, 2006; Pereira *et al.*, 2009). A lagoa superior (onde o estudo foi realizado) abrange uma bacia grande e superficial, com uma profundidade média de 0,6 m, com duas baías alongadas, Braço da Barrosa e o Braço do Bom Sucesso e uma pequena margem a sul (Poça das Ferrarias). O braço da Barrosa é uma área rasa (profundidade de 0,5 a 1m) e o braço do Bom Sucesso com uma profundidade de 2 a 3 m. No geral, as marés variam entre 2 a 4 m na costa e entre 1 a 2 m dentro da lagoa. O regime de ondas em frente à lagoa é muito energético, com alturas de ondas significativas superior a 1m durante 88% do tempo e as direções de ondas dominantes são quase perpendiculares à

praia, que fica em frente ao 315°N, e os períodos de onda variam de 5 a 20 s (Oliveira *et al.*, 2006; Carvalho *et al.*, 2011).



Figura 2.1 – Localização da Lagoa de Óbidos onde foram recolhidos os berbigões, *Cerastoderma edule*.

2.2. Parâmetros analíticos

2.2.1. Análises da água:

2.2.1.1. Clorofila *a*

Através do método espectrofotométrico proposto por Jeffrey & Lorenzen (1980), determinou-se a concentração de clorofila *a* (Cl *a*), presente na amostra de água proveniente da Lagoa de Óbidos. As amostras de água (500 mL, em duplicado) foram filtradas através de filtros de vidro (Filtres RS, FV340 47 mm c/100), e depois adicionou-se 10 mL de acetona a 90% (C₃H₆O) e colocaram-se os filtros, durante 24 horas a 4°C. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas a 4000 rpm durante 10 minutos. De seguida, no espectrofotómetro (Evolution 201 UV-Visible Spectrophotometer) foram lidas absorvâncias das amostras a 665 nm e 750 nm, seguidamente as amostras são acidificadas com ácido clorídrico diluído (HCL) e voltou-se a ler novamente as absorvâncias. A concentração da Cl *a* é determinada de acordo com a equação seguinte proposta por Jeffrey & Lorenzen (1980):

$$Cl\ a\ (mg\ m^{-3}) = \frac{A \times K \times [(665_0 - 750_0) - (665^a - 750^a)] \times v}{V \times L}$$

A – Coeficiente de absorção de clorofila a = 11

K – Fator a equacionar a redução da absorção da concentração inicial da clorofila = 2,43

665₀ – Absorvância a 665 antes da adição de HCl

750₀ – Absorvância a 750 antes da adição de HCl

665_a – Absorvância a 665 após da adição de HCl

750_a – Absorvância a 750 após da adição de HCl

v – Volume de acetona utilizado para a extração = 10 mL

V – Litros de água filtrada = 1 L

L – Comprimento da cuvete = 1 cm

2.2.1.2. Matéria Orgânica em Suspensão

Através do método gravimétrico de Strickland & Parsons (1972), determina-se a matéria orgânica em suspensão (MOS). As amostras de água (500 mL, em duplicado) são filtradas através de filtros de papel de vidro (Filtres RS, FV340 47 mm c/100), previamente incinerados num forno de mufla durante 2h a 450°C e pesados. Após a filtração colocaram-se os filtros de vidro na estufa (Binder 10°C a 300°C) a 80°C durante 24 horas e posteriormente foram pesados e assim determinou-se o peso da matéria total. De seguida, os filtros foram incinerados num forno de mufla (Nabertherm 30°C a 3000°C) a uma temperatura de 450°C durante 24 horas, permitindo assim determinar o peso das cinzas, numa balança (Sartorius) com precisão às 0,0000 g. A MOS é determinada de acordo com a equação seguinte proposta por Strickland & Parsons (1972):

$$\text{MOS (mg l}^{-1}\text{)} = \frac{\text{Peso matéria total (g)} - \text{Peso cinzas (g)}}{\text{Volume da água filtrada (L)}} \times 1000$$

2.2.2. Análises aos bivalves:

No laboratório, após a recolha dos organismos da amostragem de cada mês, colocaram-se em água do mar filtrada a 20°C durante 24 horas para remoção da areia e da sujidade que possam influenciar as análises histológicas, bioquímicas e índice de condição. As amostragens consistem na medição, aleatória, do comprimento, espessura e largura com auxílio

de uma craveira e na pesagem de sessenta organismos, numa balança (Sartorius) com precisão às 0,0000 g.

Após as amostragens, dividiram-se os organismos para as diversas análises. Para a análise índice de condição (IC) foram necessários 10 organismos, para as análises bioquímicas (proteínas, glicogénio e lípidos totais) 10 organismos e para a análise histológica foram necessários 20 organismos (quando era possível identificar, 10 fêmeas e 10 machos).

Os organismos separados para a análise bioquímica e índice de condição foram congelados e armazenados a -20°C , até à realização das determinações. Para a análise histológica, abriram-se 20 organismos e identificaram-se os machos e as fêmeas, quando era possível essa distinção, que posteriormente serão examinados para determinar as fases de maturação das gónadas. Após abrir os organismos, retirou-se a massa visceral separando-se dos sifões e das brânquias e fixaram-se em solução Davidson durante 48 horas, seguidamente foram conservados em etanol a 70% ($\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$) até ao processamento.

2.3. Métodos analíticos

2.3.1. Análise histológica

Os tecidos das amostras dos organismos foram colocados no processador de tecidos (Leica-TP 1020) onde sofreram um processo de desidratação com uma série de passagem em álcool ($\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$) de concentrações crescente para remoção da água dos tecidos, de seguida os tecidos passaram pelo xilol para remoção do álcool presente e finalmente foram incorporados na parafina. Os cortes histológicos foram realizados no micrótomo (Sakura® Accu-Cut® SRM™ 200), com uma espessura entre 5 a 7 μm , as lâminas com os cortes foram colocadas na estufa (Binder) a 35°C durante pelo menos 24 horas. Após este tempo as lâminas estavam preparadas para a coloração, com os corantes hematoxilina-eosina e observou-se cada preparação ao microscópico com câmara fotográfica (Leica DM 2000 LED + Leica MC 170 HD) para determinar as fases de maturação da gónada, utilizando-se a escala proposta por Iglesias (2006) e adaptada por Martínez-Castro & Vázquez (2012) (Tabela 2.1 e Fig. 2.2 e 2.3). Quando mais de uma fase de desenvolvimento ocorreu simultaneamente num indivíduo, a decisão de atribuição de fase teve como critério de base a condição da maioria da secção.

Tabela 2.1 – Escala reprodutiva para *Cerastoderma edule*, proposto por Iglesias (2006) e adaptado por Martínez-Castro & Vázquez (2012).

Fase	Descrição Histológica
Fase 0 – Repouso sexual	Os folículos são escassos, isolados e pequenos. Os sexos são difíceis de distinguir nesta fase.
Fase I – Início da gametogênese	Os folículos tornam-se evidentes, aumentando de tamanho e em número. As paredes estão cobertas com células germinativas, oócitos na fase de crescimento nas fêmeas e com gâmetas imaturos, espermatogônias e espermátocitos primários em machos.
Fase II – Gametogênese avançada	Os folículos ocupam maior parte da massa visceral e as células germinativas estão presentes em todas as fases da gametogênese. No final desta etapa, caracteriza-se por intenso crescimento celular nas fêmeas, os oócitos sobressaem no centro do lúmen e os oócitos imaturos ligados à membrana basal. Nos machos, estão presentes espermatogônias, espermátocitos, espermátides e alguns espermatozoides dispostos radialmente.
Fase III – Maduro	Os folículos estão quase cheios de gâmetas maduros. Nas fêmeas, os oócitos maduros, livres no lúmen, são poligonais. Nos machos, os espermatozoides são distribuídos com as caudas apontadas para o centro do folículo.
Fase IV A – Pós-desova	Como resultado parcial da libertação dos gâmetas, a pressão no interior do folículo diminui. Nas fêmeas, observam-se espaços vazios no lúmen folicular, embora existam alguns oócitos maduros. Nos machos, os espermatozoides perdem a disposição radial e os folículos estão parcialmente vazios.
Fase IV B – Reorganização das gónadas	Após a desova, um novo ciclo gametogénico começa os folículos e novas células germinativas a aparecerem nas paredes foliculares. Esta fase é semelhante à gametogênese avançada, mas os folículos são maiores e as novas células germinativas com gâmetas maduros. Nas fêmeas, observam-se oogónias em divisão nas paredes foliculares, numerosos oócitos e escassos ovócitos livres no lúmen. Nos machos, o número de espermatozoides aumenta novamente, em contraste com o número pequeno de espermatozoides.
Fase V – Reabsorção	A citólise começa na gónada (as células fagocíticas são comuns) e os folículos tornam-se muito pequenos e praticamente vazios. Nas fêmeas, alguns oócitos, mostrando sinais claros de citólise, estão presentes, e nos machos permanecem alguns espermatozoides.

O índice gonadal (IG) foi determinado usando o método proposto por Seed (1976), com adaptação à escala reprodutiva:

$$IG = \frac{(\sum \text{Indivíduo em cada fase maturação} \times \text{posição numérica})}{\text{Total indivíduos por mês}}$$

Para cada fase de maturação da gónada foi atribuído uma posição numérica da seguinte forma: Período de repouso sexual = 0, Início da gametogênese = 3, Gametogênese avançada = 4, Maduro = 5, Parcialmente desovado = 2, Desovado = 1. O IG entre 0 (quando todos os indivíduos estão em repouso sexual) e 5 (quando todos os indivíduos estão na fase madura).

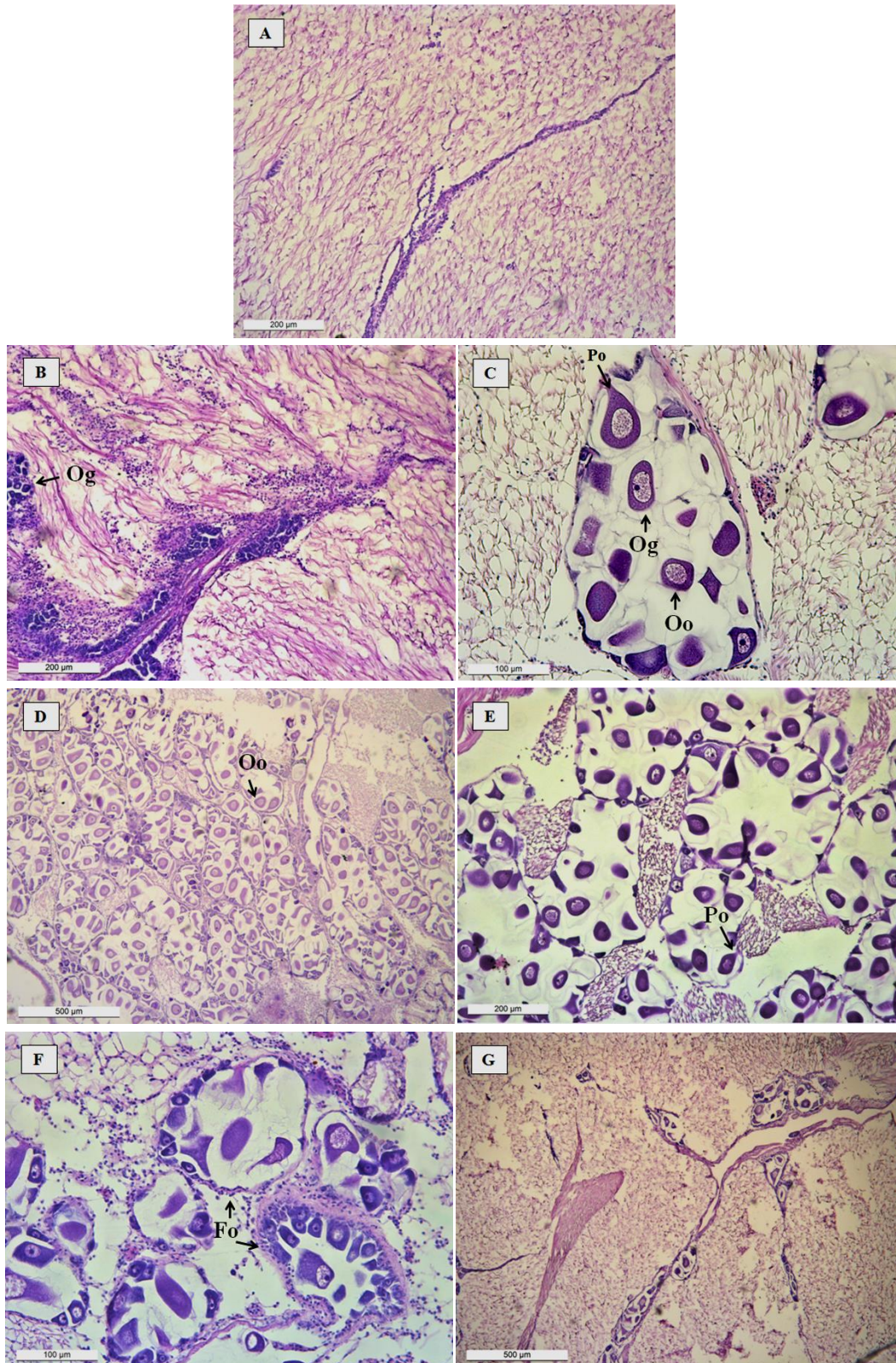


Figura 2.2 – Fotomicrografia das fases de desenvolvimento da gónada feminina de *Cerastoderma edule*. (A) Descanso sexual; (B) Início da gametogénese; (C) Gametogénese avançada, Og - Oogónia, Oo- Oócito, Po- Oócito com pedúnculo; (D) Maduro; (E) Pós-desova; (F) Reorganização das gónadas, Fo- Formação de novos oócitos; (G) Reabsorção.

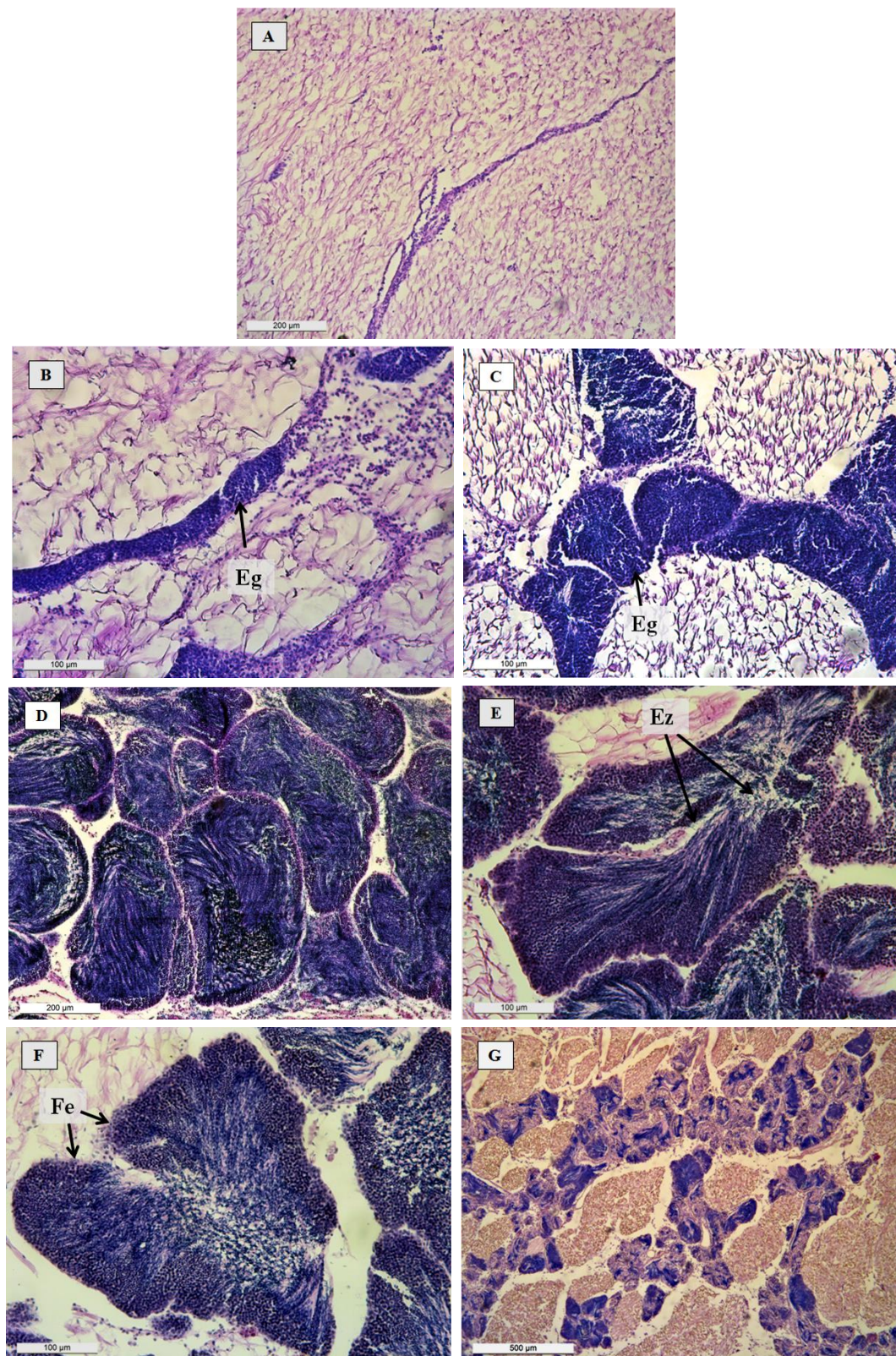


Figura 2.3 – Fotomicrografia das fases de desenvolvimento da gónada masculina de *Cerastoderma edule*. (A) Descanso sexual; (B) Início da gametogénese, Eg- Espermatogónias (C) Gametogénese avançada; (D) Maduro; (E) Pós-desova, Ez- Espermatozóides; (F) Reorganização das gónadas, Fe- Formação de novos espermatozóides; (G) Reabsorção.

2.3.2. Índice de Condição

O IC foi determinado mensalmente, tendo-se utilizado dez indivíduos. Após descongelamento das amostras, separou-se a carne das valvas, e esta carne foi colocada em papel absorvente durante alguns minutos e de seguida, por pesagem foi determinado o peso húmido da carne. O peso seco da carne e da concha, foi determinado após a secagem em estufa (Binder 10°C a 300°C) a 80°C durante 24 horas, seguido de incineração num forno de mufla (Nabertherm 30°C a 3000°C) a 450°C durante 24 horas, permitindo assim determinar o peso das cinzas e o peso da matéria orgânica calculado como o peso da carne sem cinzas. As pesagens foram efetuadas numa balança (Sartorius) de precisão (0,0000g). O IC foi calculado de acordo com Walne & Mann (1975) segundo a fórmula:

$$IC = \frac{\text{Peso seco da carne (g)} - \text{Peso das cinzas (g)}}{\text{Peso seco da concha (g)}} \times 100$$

2.3.3. Composição Bioquímica

Para as análises bioquímicas (proteínas, glicogénio e lípidos totais) utilizaram-se 10 indivíduos por mês. Depois de descongelados retirou-se cuidadosamente o tecido mole da concha para de seguida se proceder à sua homogeneização, através do homogeneizador (IKA T18 digital Ultra Turrax, Scansci), num banho de gelo, para evitar a deterioração das amostras. As proteínas foram determinadas através do método de Lowry modificado (Shakir *et al.*, 1994), o teor do glicogénio foi determinado a partir do homogeneizado seco a 80°C durante 24 horas utilizando o reagente antrona (Viles & Silverman, 1949) e os lípidos totais a partir do homogeneizado utilizando o reagente clorofórmio/metanol (Folch *et al.*, 1957) e foram estimados por espectrometria após carbonizar com ácido sulfúrico concentrado (Marsh & Weinstein, 1966). As amostras foram realizadas em duplicado e os valores estimados nas leituras no espectrofotómetro (Evolution 201 UV-Visible Spectrophotometer). O teor calórico de proteínas, lípidos e hidratos de carbono nos tecidos foram calculados utilizando os fatores 17,9 KJ g⁻¹ (Beukema & De Bruin, 1979), 33 KJ g⁻¹ (Beninger & Lucas, 1984) e 17,2 KJ g⁻¹ (Paine, 1971), respetivamente (Joaquim *et al.*, 2014).

2.4. Análise estatística

As variações observadas entre os meses de amostragem para o índice de condição (IC) e composição bioquímica (proteínas, glicogénio, lípidos totais e energia total) foram analisadas mediante uma análise de variância paramétrica unidirecional não-paramétrica (nomeadamente, pelo teste de Kruskal-Wallis) (Zar, 2010). A opção por recorrer a um teste não-paramétrico, justifica-se pelo facto de não serem cumpridas as premissas inerentes à realização do método paramétrico (nomeadamente, a normalidade dos dados e a homogeneidade das variâncias), isto é, a análise de variância (ANOVA) (Zar, 2010). Sempre que aplicável, foi realizado o teste de comparações múltiplas de Games-Howell de forma a detetar diferenças estatisticamente significativas entre as amostras mensais. O coeficiente de correlação de Pearson foi realizado de forma a determinar o grau de associação linear entre os parâmetros em análise (T^a , Cl a , MOS, IG, IC, proteínas, glicogénio, lípidos totais e energia total). Os resultados foram considerados estatisticamente significativos ao nível de significância de 5% (ou seja, sempre que $p\text{-value} < 0,05$). Sempre que aplicável, os valores são apresentados na forma média±desvio-padrão (DP). Todos os cálculos foram realizados com recurso ao software IBM SPSS Statistics 23.

A análise de componentes principais (ACP) (Ter-Braak & Smilauer, 2002) foi realizada para avaliar os padrões de distribuição de sazonalidade com base no comportamento registado para proteínas, energia total, MOS, IC, glicogénio, IG, Cl a , lípidos totais e temperatura. Este método tem como objetivo reduzir a dimensionalidade dos dados em análise, mas mantendo a maior informação neles contida (Veja *et al.*, 1998; Helena *et al.*, 2000; Bednárová *et al.*, 2013). As componentes principais (CP) são calculadas por combinação linear de variáveis originais e representam adequadamente os dados originais (Bro & Smilde, 2014). As posições das variáveis originais no diagrama resultante da ACP representam de forma relevante as suas inter-relações. Neste sentido, sempre que as variáveis se observam em posição, significa que se correlacionam de forma negativa. Por outro lado, sempre que as variáveis se posicionam com a mesma direção, a sua correlação é forte e positiva. Assim sendo, a representação gráfica dos objetos estudados evidencia-se como sendo muito útil para detetar possíveis associações, bem como padrões de comportamento relevantes entre as variáveis e os meses em análise (Bednárová *et al.*, 2013). Todos os cálculos associados à ACP foram realizados com recurso ao software Canoco for Windows 4.5 (Ter-Braak & Smilauer, 2002).

3. Resultados

3.1. Temperatura da água, Clorofila *a* e Matéria Orgânica em Suspensão

A variação dos valores mensais da T^a , Cl *a* e da MOS durante o período de amostragem (setembro de 2016 a junho de 2017), na Lagoa de Óbidos, é representada nas Fig. 3.1, 3.2 e 3.3, respetivamente.

A temperatura da água ao longo dos dez meses de amostragem, variou entre os valores de 11°C e 24°C (Fig. 3.1). O valor de temperatura mais baixo foi registado em janeiro e o valor mais elevado em maio.

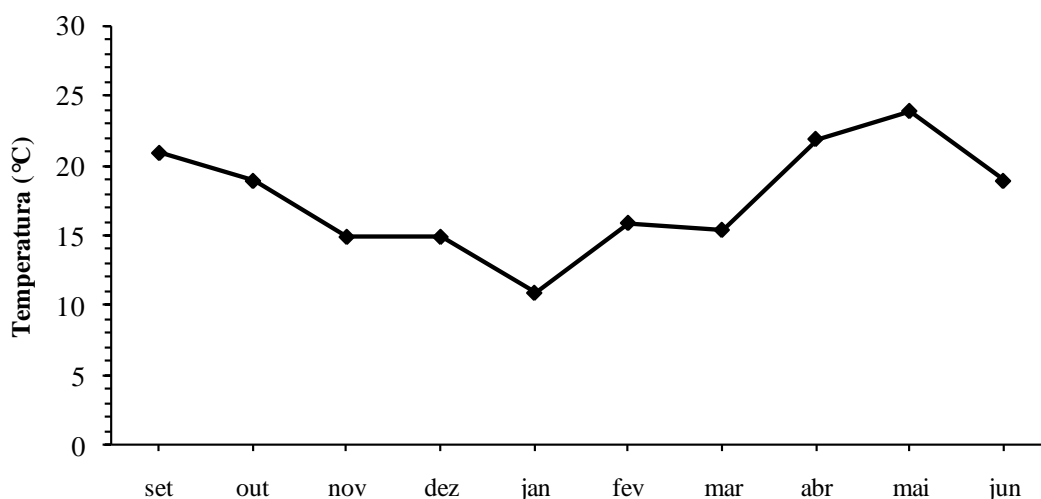


Figura 3.1 – Valores mensais da temperatura do mar na Lagoa de Óbidos durante o período de amostragem, setembro 2016 a junho 2017.

Os valores mensais da Cl *a* variaram entre $2,67 \pm 0,76 \text{ mg m}^{-3}$ e $25,39 \pm 0,37 \text{ mg m}^{-3}$, sendo o valor mais baixo registado em setembro e o valor mais elevado em junho (Fig. 3.2). Adicionalmente, foram observados três picos de fitoplâncton nos meses dezembro, março e junho.

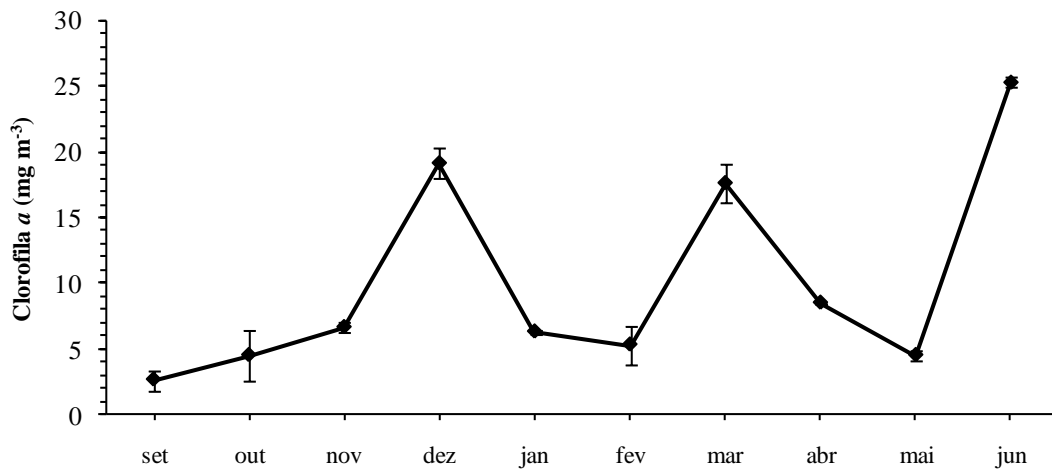


Figura 3.2 – Valores mensais da clorofila *a* (média±DP, n=2) na Lagoa de Óbidos durante o período de amostragem, setembro 2016 a junho 2017.

Os valores mensais da MOS variaram entre $4,30 \pm 0,14 \text{ mg l}^{-1}$ e $22,00 \pm 1,13 \text{ mg l}^{-1}$, sendo o valor mais baixo registado em março e em outubro o valor mais elevado (Fig. 3.3).

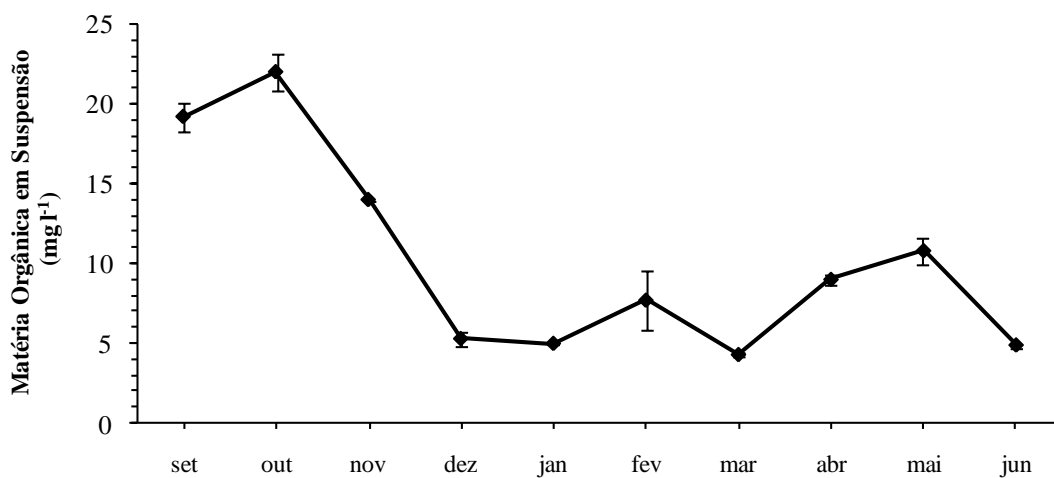


Figura 3.3 – Valores mensais da matéria orgânica em suspensão (média±DP, n=2) na Lagoa de Óbidos durante o período de amostragem, setembro 2016 a junho 2017).

3.2. Análise Histológica

Entre setembro e dezembro observou-se um ligeiro atraso no desenvolvimento gonadal, nos machos, comparativamente com as fêmeas (Fig. 3.4).

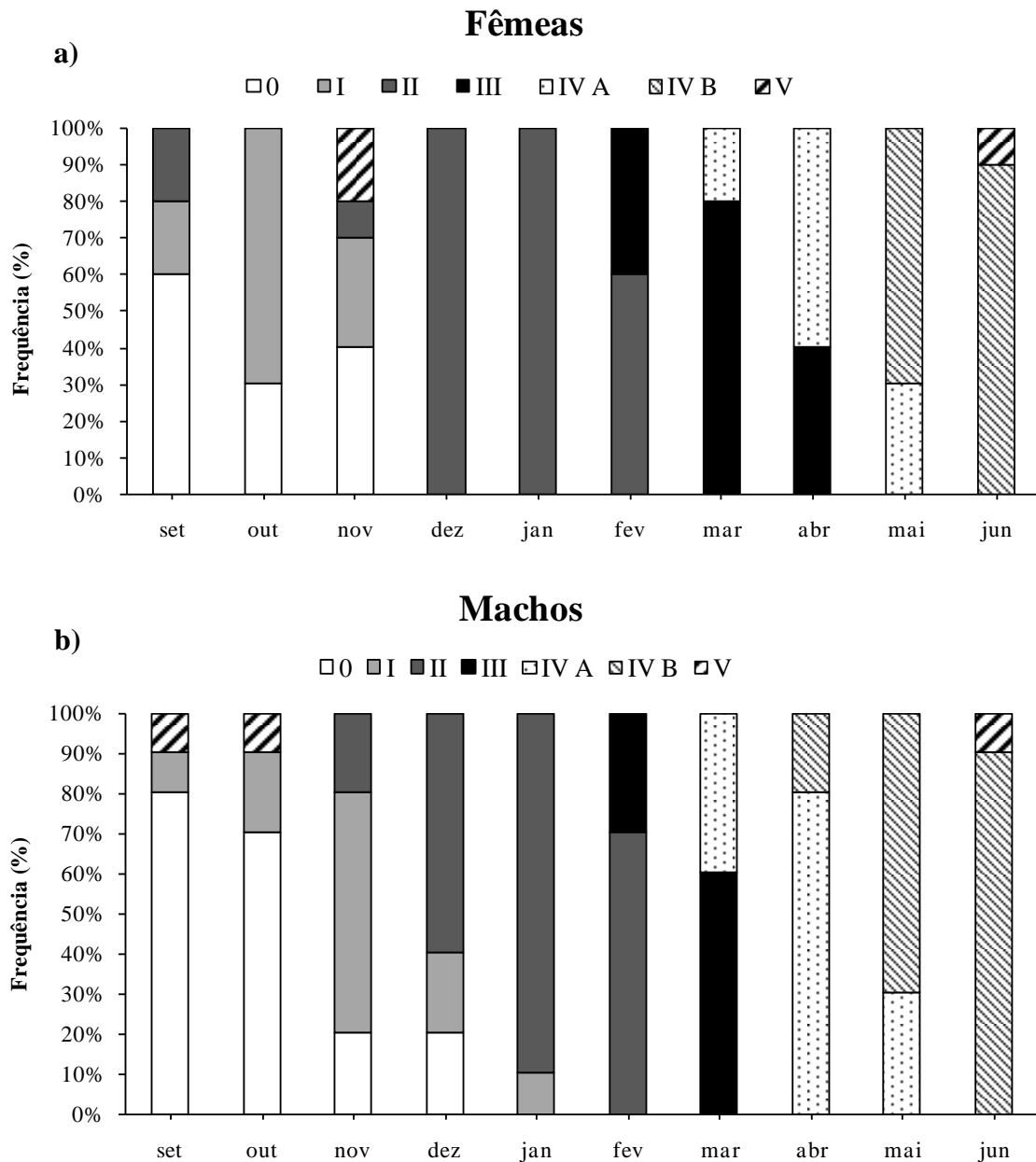


Figura 3.4 – Valores mensais no desenvolvimento gonadal da população de *Cerastoderma edule* na Lagoa de Óbidos durante o período de amostragem, setembro de 2016 a junho de 2017. a) Fêmeas e b) Machos.

Ao observar os resultados obtidos verifica-se que em setembro: as fêmeas apresentavam 60% dos organismos no período de repouso sexual (Fase 0), 20% no início da gametogênese (Fase I) e 20% em gametogênese avançada (Fase 2) (Fig. 3.4 (a)) com IG foi de 1,4 (Tabela 3.1). No que concerne aos machos, observa-se 80% dos organismos no período de repouso sexual (Fase 0), 10% no início da gametogênese (Fase I) e 10% em reabsorção (Fase V) (machos $IG=0,3$, sendo o valor mais baixo obtido no estudo) (Fig. 3.4 (b) e Tabela 3.1). Em outubro: as fêmeas apresentaram 70% dos organismos no início da gametogênese (Fase I) e 30% em repouso sexual (Fase 0), observou-se um aumento considerável do IG para 2,1 (Tabela 3.1), os machos apresentaram-se 70% em repouso sexual (Fase 0), 20% no início da gametogênese e 10% em reabsorção (Fase V) com IG de 0,6. Em novembro, as fêmeas: 40% em repouso sexual (Fase 0), 30% no início da gametogênese (Fase I), 10% em gametogênese avançada (II) e 20% em reabsorção (Fase V), o IG das fêmeas teve um decréscimo acentuado ($IG=1,3$), sendo o valor mais baixo obtido durante o estudo. Nos machos, 20% em repouso sexual (Fase 0), 60% no início da gametogênese (Fase I) e 20% em gametogênese avançada (Fase II), tendo um acréscimo acentuado ($IG=2,6$). Nas fêmeas, durante os meses de dezembro e janeiro, todos os berbigões estão na Fase II, gametogênese avançada ($IG=4$). Os machos: em dezembro ainda apresentam 20% de organismos em repouso sexual (Fase 0), 20% em Fase I e 60% na gametogênese avançada (Fase II) ($IG=3$), em janeiro, 10% estão na Fase I e 90% em gametogênese avançada (Fase II) ($IG=3,9$). No mês de fevereiro, as fêmeas apresentam 60% em gametogênese avançada (Fase II) e 40% dos organismos maduros (Fase III). Os machos apresentam 70% em gametogênese avançada (Fase II) e 30% começam a ficar maduros (Fase III), sendo estes os maiores valores registrados de IG tanto para os machos como para as fêmeas (IG fêmeas=4,4; IG machos=4,3) (Tabela 3.1). Entre março e maio, tanto as fêmeas, como os machos, começaram a desovar (Fase IV A). No mês de março, o IG das fêmeas é de 4,2 e o dos IG machos de 3,4. No mês de abril, o IG tem um decréscimo acentuado, (IG fêmeas=2,6; IG machos=1,2) e no mês de maio, tanto as fêmeas e os machos apresentam $IG=1,7$ (Tabela 3.1). As fêmeas entram na fase de reorganização das gónadas (Fase IV B), ou seja, aparecem novas células germinativas onde ocorreu formação de novos gâmetas nas paredes foliculares, tendo início um novo ciclo gametogénico, nos meses de maio e junho. Os machos, entram na Fase IV B mais cedo, ou seja, desde o mês de abril e até junho. Em junho, tanto os machos como as fêmeas, apresentam 10% de organismos em reabsorção (Fase V), aumentando um pouco o $IG=1,8$ (Fig. 3.5; Tabela 3.1). Em suma, o desenvolvimento do ciclo gonadal, progrediu desde o

início da gametogénese (Fase I) nos meses de setembro, outubro e novembro. Durante os meses de novembro, dezembro, janeiro e fevereiro observou-se a gametogénese avançada (fase II), nos meses fevereiro, março e abril os organismos começaram a ficar maduros (Fase III). A primeira desova ocorreu entre março e maio, depois da reorganização das gónadas (Fase IV B), ocorre outra desova entre abril e junho. Em junho observaram-se organismos na fase de reabsorção (Fase V), apresentando sinais de exaustão das gónadas, ou seja, evidenciam sinais claros de citólise tornando-se muito pequenos e praticamente vazios.

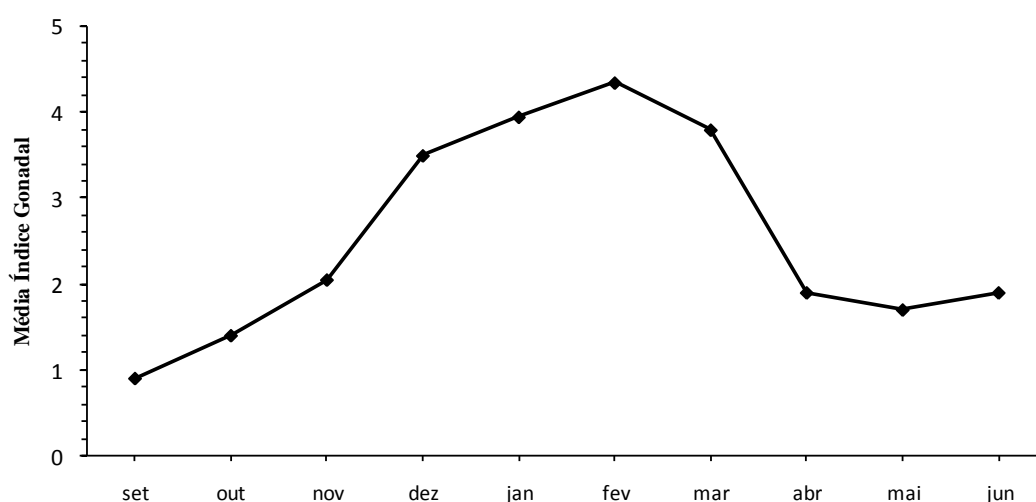


Figura 3.5– Valores mensais médios do índice gonadal (IG) (n=20) da população *Cerastoderma edule* na Lagoa de Óbidos durante o período de amostragem, setembro de 2016 a junho de 2017.

Tabela 3.1 – Valores mensais médios do índice gonadal (IG) (n=20) da população *Cerastoderma edule* na Lagoa de Óbidos durante o período de amostragem, setembro de 2016 a junho de 2017.

IG	set	out	nov	dez	jan	fev	mar	abr	mai	jun
Fêmeas	1,4	2,1	1,3	4	4	4,4	4,2	2,6	1,7	1,8
Machos	0,3	0,6	2,6	3	3,9	4,3	3,4	1,2	1,7	1,8

3.3. Índice de Condição

Os valores mensais relativos ao IC variaram entre $3,82 \pm 0,71$ e $6,96 \pm 0,59$, sendo o valor mais baixo registado em junho e em outubro o valor mais elevado (Fig. 3.6). Observou-se o valor mais elevado do IC coincidente com o valor maior de MOS (outubro), sendo que esses dois parâmetros estão positivamente correlacionados ($r_{\text{Pearson}} = 0,692$, $p\text{-value} < 0,05$) (Tabela 3.3). No entanto, não foram encontradas correlações estatisticamente significativas entre o IC e temperatura, IC e Cl_a, IC e IG. Contudo, o valor mais elevado de IC coincidiu com o início da gametogénese (Fase I), sendo que o valor mais baixo correspondeu à reorganização das gónadas (Fase IV B), ou seja, após a desova, recomeça um novo ciclo de gametogénese (Fig. 3.4). Em novembro, o valor de IC diminui assim como o valor de MOS. Ao analisar os resultados para o IC, quando comparados os meses de amostragem, verificou-se a existência de diferenças estatisticamente significativas (Kruskal-Wallis, $p\text{-value} < 0,05$). Mais concretamente, observa-se que tais diferenças são significativas ao comparar os meses de junho e outubro com o de setembro (Games-Howell, $p\text{-value} < 0,05$, ver anexo 1). Por outro lado, verifica-se que o mês de outubro apresenta diferenças estatisticamente significativas quando comparados com os meses de inverno (dezembro, janeiro e fevereiro (Games-Howell, $p\text{-value} < 0,05$, ver anexo 1). Os meses de dezembro e fevereiro apresentaram diferenças estatisticamente significativas quando comparados com os meses de março, junho e outubro (Games-Howell, $p\text{-value} < 0,05$, ver anexo 1). Os resultados para o mês de janeiro evidenciaram diferenças estatisticamente significativas quando comparadas com o mês de outubro (Games-Howell, $p\text{-value} < 0,05$, ver anexo 1). No que concerne ao mês de março, este apresentou diferenças estatisticamente significativas quando comparados com os meses de outubro e novembro e com os meses de dezembro e fevereiro (Games-Howell, $p\text{-value} < 0,05$, ver anexo 1). Para o mês de abril observaram-se diferenças estatisticamente significativas quando comparado com os meses de outubro e junho (Games-Howell, $p\text{-value} < 0,05$, ver anexo 1). Relativamente a maio, os resultados indicaram a existência de diferenças estatisticamente significativas quando comparado com os meses de outubro e novembro (Games-Howell, $p\text{-value} < 0,05$, ver anexo 1). Em junho as diferenças foram significativas quando comparado com os meses de janeiro e fevereiro, abril e setembro, outubro e novembro (Games-Howell, $p\text{-value} < 0,05$, ver anexo 1).

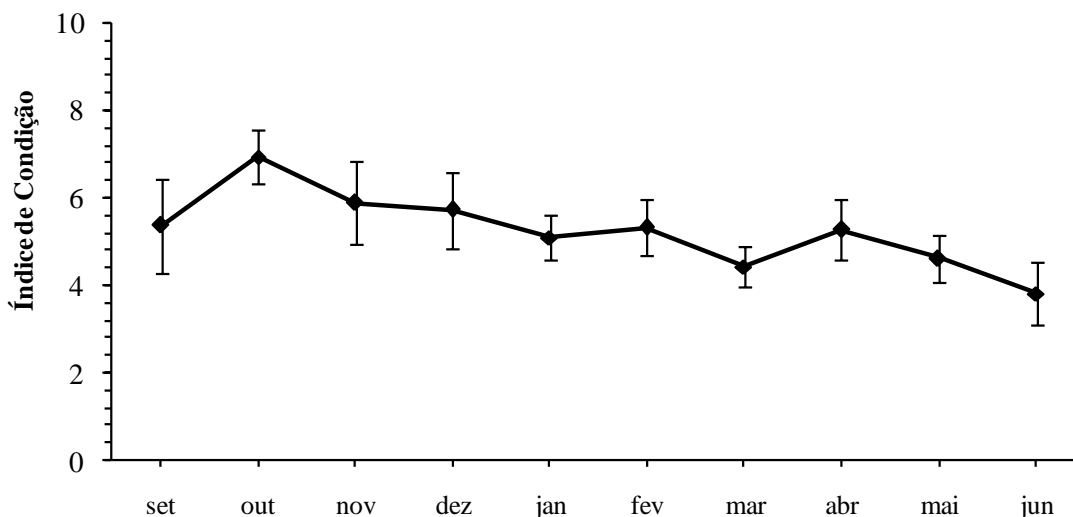


Figura 3.6 – Valores mensais do Índice de Condição da população *Cerastoderma edule*. Valores apresentados na forma (média±DP, n=10) para a Lagoa de Óbidos, durante o período de amostragem (setembro 2016 a junho 2017).

3.4. Composição Bioquímica

O teor em proteínas foi o componente de tecido seco maioritário dos berbigões seguido pelos lípidos totais e glicogénio (Tabela 3.2). O maior valor proteico foi observado em abril ($211,91 \pm 59,26 \mu\text{g mg}^{-1}$ PSLC) e o menor em março ($115,84 \pm 28,28 \mu\text{g mg}^{-1}$ PSLC). As proteínas contribuíram mais para o teor de energia total, o que está evidenciado pela correlação linear positiva observada entre esses parâmetros ($r_{\text{Pearson}} = 0,864$, $p\text{-value} < 0,05$) (Tabela 3.3). Em oposição observa-se uma correlação negativa entre o teor proteico e o IG ($r_{\text{Pearson}} = -0,724$, $p\text{-value} < 0,05$) (Tabela 3.3). Ao observar os resultados do teor proteico, quando comparados os meses da amostragem, verifica-se a existência de diferenças estatisticamente significativas (Kruskal-Wallis, $p\text{-value} < 0,05$, ver anexo 2). O maior valor de glicogénio foi observado em dezembro ($139,23 \pm 40,72 \mu\text{g mg}^{-1}$ PSLC), o que coincide com o segundo maior pico de *Cl a* (fitoplâncton) (Fig. 3.2). O teor de glicogénio até à pós-desova (Fase IV A) que começa no mês de março decresce, observando-se o menor valor no último mês do estudo, isto é, em junho ($21,28 \pm 6,76 \mu\text{g mg}^{-1}$ PSLC). Tal facto é concordante com o menor valor do IC (Fig. 3.6), tendo estes dois parâmetros (glicogénio e IC) uma correlação positiva ($r_{\text{Pearson}} = 0,763$, $p\text{-value} < 0,05$) (Tabela 3.3). Ao observar os resultados para o teor de glicogénio, verifica-se diferenças estatisticamente significativas entre os meses (Kruska-

Wallis, *p-value* < 0,05, ver anexo 2). Em relação aos lípidos totais, o maior valor foi observado em abril ($109,97 \pm 27,91 \mu\text{g mg}^{-1}$ PSLC), coincidente com o maior valor proteico e com a pós-desova (Fase IV A) (Fig. 3.4). O menor valor de lípidos foi registado para o mês de novembro ($63,71 \pm 14,64 \mu\text{g mg}^{-1}$ PSLC). Não foram encontradas correlações entre os lípidos totais e os outros parâmetros analisados (Tabela 3.3). Adicionalmente, foram detetadas diferenças estatisticamente significativas nos lípidos totais, quando comparados os meses de amostragem (Games-Howell, *p-value* < 0,05, ver anexo 2). Contudo, é de salientar que para todos os meses em análise, exceto para o mês de fevereiro, foram detetadas diferenças estatisticamente significativas quando comparados com o mês de abril (Games-Howell, *p-value* < 0,05, ver anexo 2), onde se registou o maior valor de lípidos totais. Relativamente, à energia total obteve-se o valor mais elevado no mês de abril ($8,06 \text{ kJ mg}^{-1}$ PSLC) e o menor valor no mês de março ($4,86 \text{ kJ mg}^{-1}$ PSLC). No que respeita à comparação entre meses, foram encontradas diferenças estatisticamente significativas na energia total.

Tabela 3.2 – Valores de proteínas, glicogénio, lípidos totais ($\mu\text{g mg}^{-1}$ PSLC) e energia total (kJ mg^{-1} PSLC) da população *Cerastoderma edule* durante o período de amostragem, setembro de 2016 a junho de 2017. Os valores são apresentados na forma (média \pm DP).

	Proteínas	Glicogénio	Lípidos Totais	Energia Total
Meses	($\mu\text{g mg}^{-1}$ PSLC)	($\mu\text{g mg}^{-1}$ PSLC)	($\mu\text{g mg}^{-1}$ PSLC)	(kJ mg^{-1} PSLC)
setembro	201,96 \pm 43,83	104,38 \pm 38,58	74,10 \pm 19,52	7,86
outubro	178,22 \pm 71,22	104,34 \pm 41,79	68,82 \pm 26,48	7,26
novembro	188,20 \pm 58,83	97,08 \pm 35,54	63,71 \pm 14,64	7,14
dezembro	143,00 \pm 20,16	139,23 \pm 40,72	66,06 \pm 12,63	7,13
janeiro	141,00 \pm 21,23	65,97 \pm 30,38	67,26 \pm 11,94	5,88
fevereiro	149,63 \pm 36,77	59,83 \pm 34,16	84,60 \pm 21,16	6,50
março	115,84 \pm 28,28	29,39 \pm 27,99	69,25 \pm 15,52	4,86
abril	211,91 \pm 59,26	36,84 \pm 17,18	109,97 \pm 27,91	8,06
maio	139,52 \pm 19,23	21,99 \pm 15,09	75,80 \pm 22,05	5,38
junho	186,38 \pm 16,57	21,28 \pm 6,76	84,45 \pm 14,65	6,49

Tabela 3.3 – Resultados da correlação de Pearson entre os parâmetros analisados (r - coeficiente de correlação; n.s– correlação não significativa).

	T^a	Cl^a	MOS	IG	IC	Proteínas	Glicogénio	Lípidos Totais	Energia Total
T^a	n.s	n.s	r = -0,744 P-value < 0,05	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s
Cl^a		r = -0,650 P-value < 0,05	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s
MOS			r = -0,726 P-value < 0,05	r = 0,692 P-value < 0,05	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s
IG				n.s	r = -0,724 P-value < 0,05	n.s	n.s	n.s	n.s
IC					n.s	r = 0,763 P-value < 0,05	n.s	n.s	n.s
Proteínas						n.s	n.s	r = 0,864 P-value < 0,05	n.s
Glicogénio							n.s	n.s	n.s
Lípidos Totais									n.s

3.5. Análise de Componentes Principais (ACP)

Os resultados obtidos pela ACP estão em consonância com os resultados obtidos pela análise de correlação linear de Pearson realizada. No entanto, mediante a observação do diagrama ACP é possível identificar relações adicionais que complementam os resultados anteriormente analisados. Assim, pelos resultados obtidos verifica-se que os dois componentes principais representaram conjuntamente 74,5% da variabilidade total dos dados (PC1= 46,3% e PC2=28,2%) (Fig. 3.7). Adicionalmente, observa-se que a MOS e a energia total estão positivamente correlacionadas, bem como os lípidos, temperatura e proteínas. Também existem correlações positivas entre a energia total e as proteínas, o IC e a MOS, o IG e a Cl *a*, o IC e o glicogénio e entre energia total e o IC (ângulo formado entre os vetores inferior a 90°, ou seja, o ângulo formado entre os parâmetros em estudo é agudo). Em oposição, o IG e a temperatura estão negativamente correlacionadas, bem como as proteínas e o IG, a MOS e a Cl *a*, a MOS e o IG, entre os lípidos com IC, glicogénio e IG e a temperatura e o glicogénio (ângulo formado entre os vetores superior a 90°, ou seja, o ângulo formado entre os parâmetros em estudo é obtuso). Foram observadas correlações nulas entre os lípidos e Cl *a* e entre lípidos e MOS (ângulo formado entre os vetores igual a 90°, ou seja, o ângulo formado entre os parâmetros em estudo é reto). Nos meses de março, abril, maio (ou seja, associado à primavera) e junho (verão) os valores da temperatura são elevados, bem como lípidos totais e proteínas. Para os meses de setembro, outubro e novembro (isto é, associado ao outono) os valores da energia total, MOS, IC e o glicogénio evidenciam-se por apresentarem valores mais elevados. No que respeita aos meses de dezembro, janeiro e fevereiro (isto é, associado ao inverno), o IG apresentou valores mais elevados. Em geral, no outono (setembro, outubro e novembro) e no inverno (dezembro, janeiro e fevereiro) os valores dos parâmetros são mais elevados com a diminuição da temperatura e ao observar o padrão de distribuição da Cl *a*, verifica-se que esta aumenta nos meses de março, maio e junho, em oposição (principalmente) aos meses de setembro, outubro e novembro, onde o seu valor decresce.

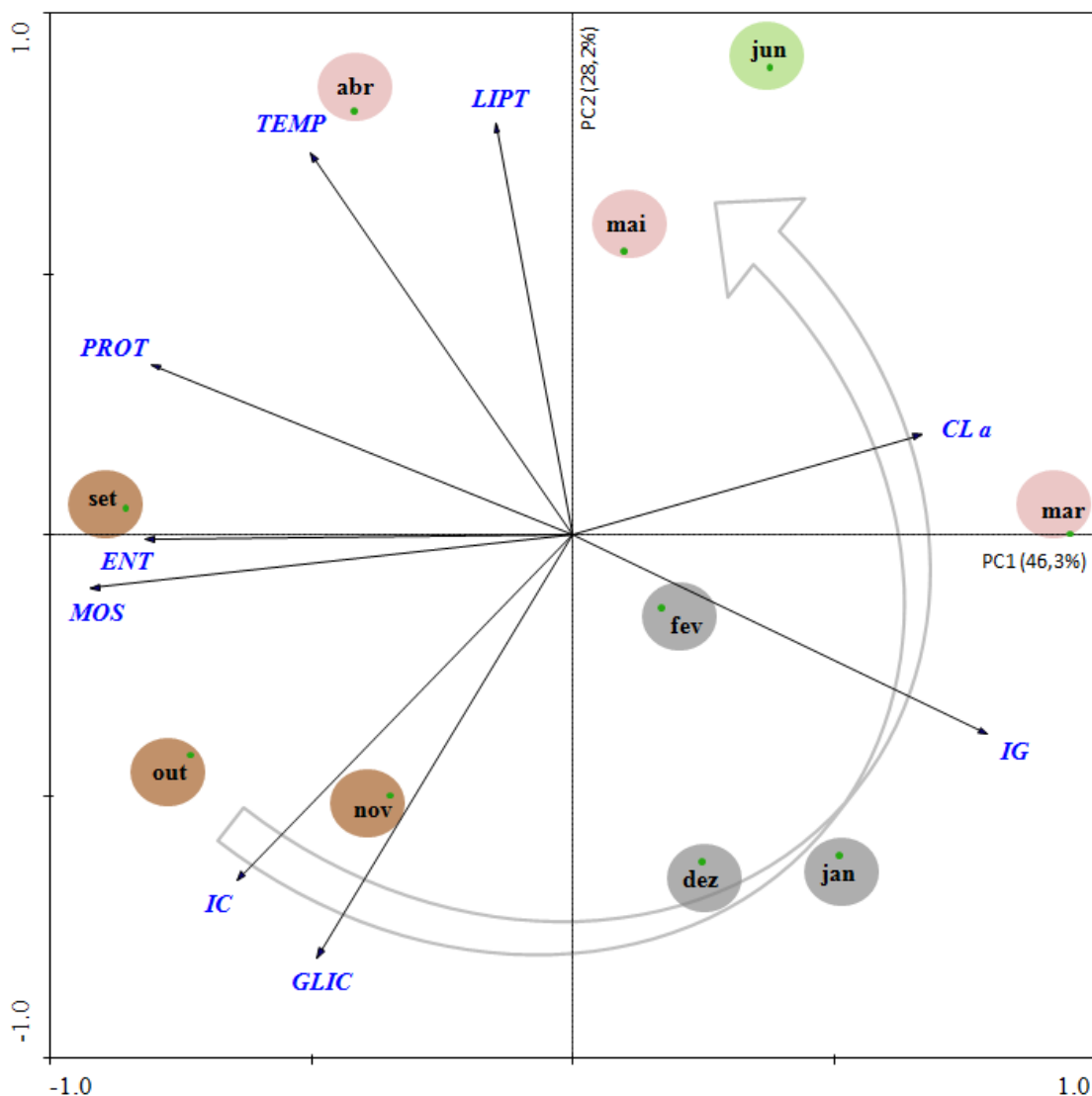


Figura 3.7 – Análise de componentes principais (ACP) nos parâmetros utilizados para caracterizar o ciclo reprodutivo da população *Cerastoderma edule* da Lagoa de Óbidos. Cada vetor representa um dos parâmetros estudados (TEMP - Temperatura; LIPT - Lípidos totais; Cl *a* - Clorofila *a*; IG - Índice gonadal; GLIC - Glicogénio; IC - Índice de condição; MOS - Matéria orgânica em suspensão; ENT - Energia total; PROT - Proteínas e cada ponto representa o mês de amostragem. Círculo verde representa mês de verão; Círculo cor-de-rosa representa meses da primavera; Círculo castanho meses do outono e círculo cinzento meses de inverno.

4. Discussão de Resultados

Os ciclos gametogénicos são influenciados por fatores endógenos, como a energia necessária para a reprodução (Joaquim *et al.*, 2008; Enríquez-Díaz *et al.*, 2009; Park *et al.*, 2011) e fatores exógenos, principalmente a temperatura e a disponibilidade de alimento (Serdar & Lök, 2009; Tirado *et al.*, 2017). O tempo e a duração do ciclo reprodutivo, bem como o número de indivíduos por ano, são influenciados pela disponibilidade de alimento e temperatura consoante o local geográfico (Martínez-Castro & Vázquez, 2012; Matias *et al.*, 2013; Tirado *et al.*, 2017). Na Lagoa de Óbidos, os valores obtidos para a Cl *a* e a MOS, demonstram a disponibilidade de alimento, mostrando que na Cl *a* são observados vários picos de fitoplâncton (dezembro, março e junho). Relativamente à MOS, pelo contrário nestes meses é quando se observaram valores inferiores, o que é demonstrado pela correlação negativa entre estes dois parâmetros. Em relação à temperatura, este parâmetro diminui desde o primeiro mês de amostragem (setembro) até atingir o valor mais baixo em janeiro, aumentando de seguida até atingir o valor mais elevado em maio e volta a diminuir em junho. A temperatura é um dos fatores que influencia o desenvolvimento gametogénico dos bivalves (Machreki-Ajmi *et al.*, 2013). Nos resultados obtidos, encontrou-se uma correlação negativa entre a temperatura e o IG, entre os meses de setembro a janeiro, os valores da temperatura mantêm-se baixos e durante estes meses encontram-se organismos nas fases de desenvolvimento iniciais (Fase I e II). No mês de fevereiro, pode-se observar pela análise histológica que os organismos ficam maduros (Fase III) que coincidiu com uma pequena variação da temperatura da água. De seguida, obtém-se outro pico na temperatura atingido assim os valores mais elevados (meses março e abril) e pelos resultados a variação da temperatura pode ser um dos estímulos para os organismos começarem a desovar. Um ciclo reprodutivo semelhante foi descrito por Machreki-Ajmi *et al.* (2013) para a espécie *Cerastoderma glaucum* (*C. glaucum*). A população de *C. edule* no presente estudo apresentou um ciclo reprodutivo que iniciou a gametogénese em setembro, seguido de uma fase madura de fevereiro até abril e ocorreram dois períodos de desovas: março e abril, maio e junho, e começando a entrar na última fase reprodutiva (reabsorção) em junho e possivelmente entra na fase de repouso sexual em julho e agosto. Este ciclo reprodutivo está de acordo com o estudo feito por Martínez-Castro & Vázquez (2012) e Iglesias (2006) para a mesma espécie na Ria de Vigo, Galiza. Embora outros autores tenham mostrado a ocorrência para a mesma espécie, de dois períodos de desova en-

tre abril e maio, maio e junho no Mar de Wadden, Holanda (Cardoso *et al.*, 2009) e no Reino Unido (Kingston, 1974). Para outra espécie do mesmo género, *C. glaucum*, existem estudos de ocorrência de três desovas na Tunísia (Machreki-Ajmi *et al.*, 2013) e duas desovas no Egípto (Kandeel *et al.*, 2013). Estas diferenças entre os estudos podem ser explicadas pela influência da localização geográfica e, portanto, pelos fatores ambientais, como a temperatura e disponibilidade de alimento (Malham *et al.*, 2012; Matias *et al.*, 2013; Karray *et al.*, 2015). Neste estudo, foi revelado algum sincronismo no desenvolvimento gonadal, embora os machos tivessem demonstrado um ligeiro atraso em comparação às fêmeas, especialmente nos meses de setembro a dezembro. Isso é fundamental para o sucesso reprodutivo da espécie porque os espermatozoides e os oócitos são expulsos para a coluna de água simultaneamente durante o período de reprodução, aumentando assim a probabilidade de fertilização (Joaquim *et al.*, 2011; Matias *et al.*, 2013). Este sincronismo foi relatado para a espécie *C. glaucum* (Karray *et al.*, 2015).

O índice de condição é geralmente refletido pela atividade reprodutiva (Joaquim *et al.*, 2014) e pelas mudanças no processo fisiológico dos bivalves em relação aos fatores ambientais (temperatura e nutrientes) (Karray *et al.*, 2015). Esta relação tem sido observada em várias espécies de bivalves da costa portuguesa (Moura *et al.*, 2008; Joaquim *et al.*, 2011). No entanto, neste estudo, não foram encontradas correlações entre IC e IG, mas apesar disso o IC seguiu a mesma tendência que MOS, que assim explica a correlação positiva entre estes dois parâmetros (o maior valor de IC foi observado em outubro quando foi observado o maior valor de MOS também). O IC também apresentou algumas diferenças estatisticamente significativas (ANOVA, $p\text{-value} < 0,05$) entre os meses do estudo, embora os resultados mostrassem que o IC permaneceu estável ao longo do período estudado, observou-se um aumento significativo em outubro que coincidiu com o início da gametogénese. Depois há outro aumento em abril, que coincide com a altura em que os organismos estão maduros e começam a desovar e o IC volta a diminuir até ao último mês do estudo (junho), tendo sido o valor mais baixo registado, reforçando mais uma vez que o IC reflete a atividade reprodutiva. Mas também em estudos anteriores, foi relatado que o IC é altamente influenciado pela estratégia de armazenamento e exploração de energia de espécies de bivalves (Delgado & Camacho, 2005; Joaquim *et al.*, 2011; Matias *et al.*, 2013). Os berbigões da Lagoa de Óbidos, parecem recuperar rapidamente as reservas após as desovas, quando a temperatura e a disponibilidade de alimento (CI *a*) ainda são elevados (maio e junho). Estas reservas parecem ser aproveitadas para manter o seu estado fisiológico.

co durante setembro e outubro para iniciarem a gametogénese. O mesmo foi verificado para a população de *Ruditapes decussatus* da Lagoa de Óbidos (Machado, 2015) e na Ria de Aveiro (Matias *et al.*, 2013).

Existe uma relação entre o ciclo reprodutivo e os ciclos de armazenamento e utilização de energia, já relatada por vários autores, no que diz respeito a uma grande variedade de bivalves (Ojea *et al.*, 2004; Joaquim *et al.*, 2011; Azpeitia *et al.*, 2016). A mesma população de berbigão pode seguir diferentes estratégias reprodutivas em anos consecutivos, em resposta a vários fatores ambientais (Li *et al.*, 2006; Martínez-Castro & Vázquez, 2012), como a disponibilidade de alimento e a temperatura, que regulam principalmente a taxa e o tempo de armazenamento de energia (Camanho *et al.*, 2003; Joaquim *et al.*, 2011). Geralmente, a energia é acumulada quando os alimentos são abundantes sendo usada para sintetizar os gâmetas, que são libertados durante os períodos de desova (Joaquim *et al.*, 2011). Estes ciclos de armazenamento e utilização de energia traduzem-se num padrão de composição bioquímica, em que a energia é armazenada antes da gametogénese na forma de proteínas, glicogénio e lípidos, que pode variar entre populações e espécies (Albentosa *et al.*, 2007; Matias *et al.*, 2013; Tirado *et al.*, 2017).

As proteínas são utilizadas como reserva de energia em situações de stress nutricional e desequilíbrio energético ou durante a maturação gonadal. Além disso, também serve como reserva de energia, quando as reservas de hidratos de carbono já foram esgotadas (Serdar & Lök, 2009; Matias *et al.*, 2013). No presente estudo, existe uma correlação positiva entre proteínas e a energia total, isto deve-se ao facto de as proteínas serem o constituinte maioritário do tecido seco dos berbigões. O mesmo resultado foi registado para a população de amêijoia boa *R. decussatus* da Lagoa de Óbidos (Machado, 2015), em que se observaram valores para a quantidade relativa de proteínas ($237,02 \pm 28,38$ a $370,77 \pm 29,15 \mu\text{g mg}^{-1}$ PSLC), mais elevados do que os obtidos para a espécie em estudo, *C. edule* da Lagoa de Óbidos ($115,84 \pm 28,28$ a $211,91 \pm 59,26 \mu\text{g mg}^{-1}$ PSLC), esta diferença de valores pode ser explicada pelo facto da espécie ser diferente.

O glicogénio é a principal reserva de energia em bivalves adultos, pode ser fonte de energia para o crescimento, e ao mesmo tempo, armazenada em células específicas como uma reserva energética para a gametogénese e desenvolvimento gonadal (Li *et al.*, 2009; Matias *et al.*, 2013). Neste estudo a quantidade de glicogénio variou entre ($21,28 \pm 6,76$ e $139,23 \pm 40,72 \mu\text{g mg}^{-1}$ PSLC). No estudo realizado por Machado (2015) para a espécie *R. decussatus*, observaram-se valores de glicogénio mais elevados ($92,03 \pm 32,94$ a $169,05 \pm$

15,62 $\mu\text{g mg}^{-1}$ PSLC). *C. edule* apresentou valores elevados de glicogénio entre setembro e dezembro ($104,38 \pm 38,58 \mu\text{g mg}^{-1}$ PSLC e $139,23 \pm 40,72 \mu\text{g mg}^{-1}$ PSLC, respetivamente) necessários para o processo de gametogénese apresentando valores mais baixos depois das desovas (março/abril e maio/junho). Este padrão de glicogénio foi também observado para as espécies *R. decussatus* (Ojea *et al.*, 2004) e *C. glaucum* (Karray *et al.*, 2015). Assim pode-se considerar que a população *C. edule* da Lagoa de Óbidos é uma espécie conservadora (Ojea *et al.*, 2004; Karray *et al.*, 2015). Existe uma correlação positiva do conteúdo de glicogénio e do IC, esta relação revela que IC reflete a acumulação de reservas de glicogénio. E não obtendo nenhuma correlação entre o glicogénio e a Cl *a*, observa-se o valor mais elevado de glicogénio no mês de dezembro coincidente com o maior pico de Cl *a*.

Os lípidos desempenham um papel importante na formação de gâmetas, garantindo a viabilidade das larvas (Li *et al.*, 2006; Joaquim *et al.*, 2014; Tirado *et al.*, 2017). São formados devido à conversão de glicogénio em lípidos biosintetizados durante a formação dos gâmetas (Gabbott, 1975), provavelmente deve-se a este facto a existência de alguns estudos que descrevem uma correlação negativa entre estes dois parâmetros, glicogénio e lípidos totais (Ojea *et al.*, 2004; Mouneyrac *et al.*, 2008). Neste estudo não se observou nenhuma correlação entre os lípidos e os outros parâmetros estudados. A quantidade de lípidos totais variou entre $63,71 \pm 14,64$ e $109,97 \pm 27,91 \mu\text{g mg}^{-1}$ PSLC. Estes resultados foram mais elevados do que na espécie *R. decussatus* da Lagoa de Óbidos ($34,60 \pm 5,32$ a $77,56 \pm 22,60 \mu\text{g mg}^{-1}$ PSLC) (Machado, 2015). Em geral, os valores de lípidos totais foram superiores nos meses de fevereiro e abril. Em fevereiro coincide com o início da maturação, diminuindo o valor lipídico no mês de março porque os organismos começam a desovar, libertando os gâmetas. Em abril, observa-se o maior valor de lípidos que é coincidente com o início da desova, este valor pode ser explicado, porque no mês de março houve um pico na Cl *a*, permitindo assim aos organismos a acumulação de energia para gastar no período de desova que começou em março/abril. O teor em lípidos totais também reflete o processo de acumulação de energia e o seu consumo durante o desenvolvimento somático dos bivalves (Albentosa *et al.*, 2007; Joaquim *et al.*, 2008; Matias *et al.*, 2013).

O estudo do ciclo reprodutivo da população de *C. edule* da Lagoa de Óbidos fornece um conhecimento da biologia reprodutiva desta espécie que ainda era desconhecida nesta zona geográfica. Os resultados deste estudo mostram que a espécie *C. edule* é uma espécie conservadora, uma vez que a gametogénese depende em grande parte da quantidade de glicogénio armazenado, ou seja, a gametogénese inicia-se no mês de setembro até feverei-

ro, onde neste mês começa a aparecer organismos maduros, à custa das reservas acumuladas. Além disso, esta espécie tem uma época de reprodução prolongada, tendo dois períodos de desova que começa nos meses março/abril e maio/junho.

O conhecimento obtido neste estudo fornece uma visão valiosa da biologia reprodutiva desta espécie e é um contributo importantíssimo para a gestão desta população na Lagoa de Óbidos. Esta informação pode ser útil para o estabelecimento de medidas de gestão da pesca e assim estabelecer épocas da apanha fechadas, tamanho mínimo ou regulação do volume de capturas. Também é importante para um futuro desenvolvimento desta espécie em aquacultura conhecer os períodos de desova e qual a altura ideal para a indução artificial dos organismos. Com a criação de uma aquacultura sustentável de berbigão, onde não é necessário a captura de juvenis no seu habitat natural vai permitir restabelecer os stocks selvagens.

Referências Bibliográficas

- Albentosa, M., Fernández-Reiriz, M.J., Labarta, U., Camacho, A. P, 2007. Response of two species of clams, *Ruditapes decussatus* and *Venerupis pullastra*, to starvation: Physiological and biochemical parameters. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part B, Biochemistry & Molecular Biology* 146: 241-249.
- Amparo. R.M., 2003. Poliploidia em mariscos comercialmente importantes (clam *Argopecten ventricosus* Sowerby II de 1842; molusco *Nodipecten subnodosus* leão mão Sowerby 1835; e abalone Red *Haliotis rufescens* Swainson 1822). Centro de investigaciones biológicas del Noroeste, S.C.
- Azpeitia, K., Ferrer, L., Revilla, M., Pagaldai, J., Mendiola, D., 2016. Growth, biochemical profile, and fatty acid composition of mussel (*Mytilus galloprovincialis* Lmk.) cultured in the open ocean of the Bay of Biscay (northern Spain). *Aquaculture* 454: 95-108
- Baird, R.H., 1958. Measurement of condition in mussels and oysters. *Journal du Conseil Permanent International pour l'Exploration de la Mer.* 23: 249–257.
- Bayne, B. L., 1976. Aspects of reproduction in bivalve molluscs. In: Wiley, M. (ed.) *Estuarine processes. Vol. 1. Uses, stresses and adaptation to the estuary.* Academic Press, London 432-448
- Bednářová, A., Mocák, J., Gössler, W., Velik, M., Kaufmann, J., Staruch, L., 2013. Effect of animal age and gender on fatty acid and elemental composition in Austrian beef applicable for authentication purposes. *Chemical Papers* 67 (3): 374-283.
- Beninger, P.G. & Lucas, A., 1984. Seasonal variations in condition, reproductive activity, and gross biochemical composition of two species of adult clam reared in a common habitat: *Tapes decussatus* (L.) (Jeffreys) and *Tapes philippinarum* (Adam & Reeve). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology.* 79: 19-37.
- Beukema, J.J. & De Bruin, W., 1979. Calorific values of the soft parts of the tellinid bivalve *Macoma balthica* (L.) as determined by two methods. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology.* 37: 19-30.
- Boyden, C.R., 1971. A comparative study of the reproductive cycles of the cockles *Cerastoderma edule* and *C. glaucum*. *J. mar. biol. Ass. U.K.* 51: 605-622.
- Bro, R., Smilde, A.K., 2014. Principal component analysis. *Royal Society of Chemistry. Analytical Methods* 6: 2812-2831.
- Burdon, D., Callaway, R., Elliott, M., Smith, T., Wither, A., 2014. Mass mortalities in bivalve populations: A review of the edible cockle *Cerastoderma edule* (L.). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 150: 271-280.

- Burdon, D., Callaway, R., Elliott, M., Smith, T., Wither, A., 2014. Mass mortalities in bivalve populations: A review of the edible cockle *Cerastoderma edule* (L.). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 150: 271-280
- Camacho, A. P., Delgado, M., Fernández-Reiriz, M.J., Labarta, U., 2003. Energy balance, gonad development and biochemical composition in the clam *Ruditapes decussatus*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 258: 133-145.
- Cardoso, J.F.M.F., Witte, J., I.J., Veer, H.W.V.D., 2009. Differential reproductive strategies of two bivalves in the Dutch Wadden Sea. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 84:37-44.
- Carvalho, S., Gaspar, M.B., Moura, A., Vale, C., Antunes, P., Gil, O., Fonseca, L.C., Falcão, M., 2006. The use of the marine biotic index AMBI in the assessment of the ecological status of the Óbidos lagoon (Portugal). *Marine Pollution Bulletin* 52:1414-1424.
- Carvalho, S., Moura, A., Gaspar, M.B., Pereira, P., Fonseca, L.C., Falcão, M., Drago, T., Leitão, F., Regala, J., 2005. Spatial and inter-annual variability of the macrobenthic communities within a coastal lagoon (Óbidos lagoon) and its relationship with environmental parameters. *Acta Oecologica* 27: 143-159.
- Carvalho, S., Pereira, P., Pereira, F., Pablo, H. Vale, C., Gaspar, M.B., 2011. Factors structuring temporal and spatial Dynamics of macrobenthic communities in a eutrophic coastal lagoon (Óbidos lagoon, Portugal). *Marine Environmental Research* 71: 97-110.
- Chávez-Villalba, J., Pommier, J., Andriamiseza, J., Pouvreau, S., Barret, J., Cochard, J-C., Pennec, M.L., 2002. Broodstock conditioning of the oyster *Crassostrea gigas*: origin and temperature effect. *Aquaculture* 214: 115-130.
- Chopin, T., Robinson, S.M.C., Troell, M., Neori, A., Buschmann, A.H., Fang, J., 2008. Multitrophic Integration for Sustainable Marine Aquaculture. *Ecological Engineering* 2463-2474.
- Correia, M.J., 1995. Estudo das relações tróficas entre as espécies ictiológicas mais abundantes na Lagoa de Óbidos. Relatório de estágio FCUL. Lisboa 47 p.
- Delgado, M., Camacho, A.P., 2005. Histological study of the gonadal development of *Ruditapes decussatus* (L.) (Mollusca Bivalvia) and its relationship with available food. *Scientia Marina*. 69(1): 87-97.
- Derbali, A., Jarboui, O., Ghorbel, M., 2009. Reproductive biology of the cockle *Cerastoderma glaucum* (Mollusca: Bivalvia) from the north coast of Sfax (Gulf of Gabes, Tunisia). *Ciencias Marinas* 35 (2): 141-152.
- DGRM, 2016. Estatísticas da Pesca 2015. Direcção-Geral de Recursos Naturais, Segurança e Serviços Marítimos. Edição de 2016. Lisboa. 146.
- Docapesca, Portos e lotas, 2017. Ficha produto Berbigão, *Cerastoderma edule*. Departamento de Segurança Alimentar e Certificação.

- Dupuy, C., Vaquer, A., Lam-Hoai, T., Rougier, C., Mazouni, N., Lautier, J., Collos, Y. e Gall, S. L., 2000. Feeding rate of the oyster *Crassostrea gigas* in a natural planktonic community of the Mediterranean Thau Lagoon. *Marine Ecology Progress Series*. Vol. 205: 171-184.
- Enríquez-Díaz, M., Pouvreau, S., Chávez-Villalba, J., Le Pennec, M., 2009. Gametogenesis, reproductive investment, and spawning behavior of the Pacific giant oyster *Crassostrea gigas*: evidence of an environment-dependent strategy. *Aquaculture International* 17: 491–506.
- Fang, J., Zhang, J., Xiao, T., Huang, D., Liu, S., 2016. Integrated multi-trophic aquaculture (IMTA) in Sanggou Bay, China. *Aquacult Environ Interact* 8: 201-205.
- FAO, 2016. Cultured Aquatic Species Information Programme. *Crassostrea gigas*. Cultured Aquatic Species Information Programme. FAO Fisheries and Aquaculture Department. Rome.
- Folch, J., Less, M., Stanley, G.H., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *The Journal of Biological Chemistry*. 226: 497-509.
- Fonseca, L.C., Gil, O., Micaelo, C., Pereira, P., Gaspar, M., Antunes, P., Quintans, M., Falcão, M., Vale, C., Moura, A., Carvalho, S., Leitão, F., Santos, I., Drago, T., Santos, J. e Raimundo, J., 2002. Caracterização ambiental da Lagoa de Óbidos. Relatório do IPIMAR, 102 p.
- Gabbott, P.A., 1975. Storage cycles in marine bivalve molluscs: an hypothesis concerning the relation between glycogen and gametogenesis. In: Barnes H. (ed.) *Proceedings of the Ninth European Marine Biology Symposium*, Aberdeen 645 University Press, Aberdeen, Scotland, pp 191-211.
- Gordo, L.S., Cabral, H.N., 2001. The fish assemblage structure of a hydrologically altered coastal lagoon: the Óbidos lagoon (Portugal). *Hydrobiologia* 459: 125-133.
- Gosling, E., 2004. *Bivalve Molluscs - Biology, Ecology and Culture*, (Gosling, ed). Blackwell Publishing. Cornwall, United Kingdom.
- Guerra, A., Lodeiros, C., Gaspar, M., da Costa, F., 2011. *Razor clams: Biology, Aquaculture and Fisheries*. Xunta de Galicia, Consellería do Mar. 428 pp.
- Helena, B., Pardo, R., Vega, M., Barrado, E., Fernández, L., 2000. Temporal evolution of groundwater composition in an alluvial aquifer (Pisuerga River, Spain) by principal component analysis. *Water Research* 34: 807-816.
- Iglesias, D. 2006. Estudio patológico de las poblaciones de berberecho *Cerastoderma edule*(L.) de Galicia. PhD diss., University of Vigo. 266 pp.
- Iglesias, J.I.P., Urrutia, M.B., Navarro, E., Alvarez-Jorna, P., Larretxea, X., Bougrier, S., Heral, H., 1996. Variability of feeding processes in the cockle *Cerastoderma edule* (L.) in response to changes in seston concentration and composition. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 197: 121-143.

- Jeffrey, S.W., Lorenzen, C.J., 1980. Determination of chlorophyll in seawater – report of intercalibration tests. UNESCO Tech. Pap. In Marine Science 35, 20pp.
- Joaquim, S., Matias, D., Lopes, B., Arnold, W.S., Gaspar, M.B., 2008. The reproductive cycle of white clam *Spisula solida* (L.) (Mollusca: Bivalvia): Implications for aquaculture and wild stock management. *Aquaculture* 281: 43-48
- Joaquim, S., Matias, D., Matias, A.M., Moura, P., Arnold, W., Chícharo, L., Gaspar, M.B., 2011. Reproductive activity and biochemical composition of the pullet carpet shell *Venerupis senegalensis* (Gmelin, 1791) (Mollusca: Bivalvia) from Ria de Aveiro (northwestern coast of Portugal). *Scientia Marina* 75 (2): 217-226.
- Joaquim, S., Matias, D., Matias, A.M., Moura, P., Roque, C., Chícharo, Gaspar, M.B., 2014. Biochemical and energy Dynamics throughout the reproductive cycle of the striped Vénus *Chamelea gallina* (Mollusca, Bivalvia). *Invertebrate Reproductive & Development* 58 (4): 284-293.
- Joaquim, S., Matias, D., Moreno, Ó., 2008 (b). Cultivo de bivalvos en criadeiro/Cultivo de bivalves em maternidade. Pesca y acuicultura. Recursos pesqueros. Junta de Andalucía. Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera. Consejería de Agricultura y Pesca. 84 pp.
- Kandeel, K.E., Mohammed, S.Z., Mostafa, A.M., Abd-Alla, M.E., 2013. Reproductive biology of the cockle *Cerastoderma glaucum* (Bivalvia: Cardiidae) from Lake Qarun, Egypt. *Egyptian Journal of Aquatic Research* 39: 249-260.
- Karray, S., Smaoui-Damak, W., Rebai, T., Hamza-Chaffai, A., 2015. The reproductive cycle, condition index, and glycogen reserves of the cockles *Cerastoderma glaucum* from the Gulf of Gabès (Tunisia). *Environ Sci Pollut Res*.
- Kingston, P.F., 1974. Studies on the reproductive cycles of *Cardium edule* and *C. glaucum*. *Marine Biology* 28: 317-323.
- Li, Q., Liu, W., Chen, W., Jiang, S., 2006. Reproductive cycle and biochemical composition of the the Zhe oyster *Crassostrea plicatula* Gmelin in na eastern coastal Bay of China. *Aquaculture* 261: 752-759
- Li, Y., Qin, J.G., Li, X., Benkendorff, K., 2009. Monthly variation of condition index, energy reserves and antibacterial activity in Pacific oysters, *Crassostrea gigas*, in Stansbury (South Australia). *Aquaculture* 286: 64-71.
- Machado, D.T.S., 2015. Reproductive cycle of the population of European clam, *Ruditapes decussatus*, from Lagoa de Óbidos, Leiria, Portugal. Tese de mestrado da Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar. Instituto Politécnico de Leiria 74 pp
- Machreki-Ajmi, M., Rebai, T., Hamza-Chaffai, A., 2013. Reproductive strategy in a littoral population of the cockle *Cerastoderma glaucum* from the Gulf of Gabès área (Southeastern Tunisia). *Journal of Shellfish Research* 32 (3):733-738
- Malhadas, M.S., Leitão, P.C., Silva, A., Neves, R., 2009. Effect of coastal waves on sea level in Óbidos Lagoon, Portugal. *Continental Shelf Research* 29: 1240-1250

- Malham, S.K., Hutchinson, T.H., Longshaw, M., 2012. A review of the biology of European cockles (*Cerastoderma* spp.). *Journal of the Marine Biological Association of the Kingdom* 92: 1563-1577.
- Mann, R., 1978. A comparison of morphometric, biochemical and physiological indexes of condition in marine bivalve molluscs. In: Thorpe, J.H. & Gibbons, J.W. (Eds.), *Energy 35 and Environmental Stress in Aquatic System*. Technical Information Center, U.S. Department of Energy, Oak Ridge, TN. 484–497.
- Marsh, J.B., Weinstein, D.B., 1966. Simple charring method for determination of lipids. *Journal of Lipid Research*. 7: 574-576.
- Martínez-Castro, C., Vázquez, E., 2012. Reproductive cycle of the cockle *Cerastoderma edule* (Linnaeus 1758) in the Ría de Vigo (Galicia, Northwest Spain). *Journal of Shellfish Research* 31 (3): 757-767.
- Martínez-Espiñeira, R.M., Chopin, T., Robinson, S., Noce, A., Knowler, D., Yip, W., 2015. Estimating the biomitigation benefits of Integrated Multi-Trophic Aquaculture: A contingent behavior analysis. *Aquaculture* 437: 182-194.
- Matias, D. Joaquim, S. Matias, A.M. Moura, P. Teixeira de Sousa, J. Sobral, P.; Leitão, A., 2013. The reproductive cycle of the European clam *Ruditapes decussatus* (L., 1758) in two Portuguese populations: Implications for management and aquaculture programs. *Aquaculture*. 406–407: 52–61.
- Mohammad, S.H., Mohallal, M.E., Mohammed, S.Z., Attia, M.N., 2006. Growth of the cockles *Cerastoderma glaucum* and *Papyridea papyracea* in Lake Timsah, Suez Canal. *CATRINA* 1 (1): 25-32
- Mouneyrac C., Linot S., Amiard J.C., Amiard-Triquet C., Métais I., Durou C., Minier C., Pellerin J., 2008. Biological indices, energy reserves, steroid hormones and sexual maturity in the infaunal bivalve *Scrobicularia plana* from three sites differing by their level of contamination. *General and Comparative Endocrinology* 157:133-141.
- Moura, P., Gaspar, M.B., Monteiro, C.C., 2008. Gametogenic cycle of the smooth clam *Callista chione* on the southwestern coast of Portugal. *Journal of the Marine Biological Association of the UK*. 88: 161-167.
- Navarro, E., Iglesias, J.I.P., Larrañaga, A., 1989. Interannual variation in the reproductive cycle and biochemical composition of the cockle *Cerastoderma edule* from Mundaca Estuary (Biscay, North Spain). *Marine Biology* 101: 503-511.
- Nilin, J., Pestana, J.L.T., Ferreira, N.G., Loureiro, S., Costa-Lotufo, L.V., Soares, A.M.V.M., 2012. Physiological responses of the European cockle *Cerastoderma edule* (Bivalvia: Cardidae) as indicators of coastal lagoon pollution. *Science of the Total Environment* 435-436: 44-52.
- Ojea, J., Pazos, A.J., Martínez, D., Novoa, S., Sánchez, J.L., Abad, M., 2004. Seasonal variation in weight and biochemical composition of the tissues of *Ruditapes decussatus* in relation to the gametogenic cycle. *Aquaculture* 238: 451-468.

- Oliveira, A., Fortunato, A.B., Rego, J.R.L., 2006. Effect of morphological changes on the hydrodynamics and flushing properties of the Óbidos lagoon (Portugal). *Continental Shelf Research* 26: 917-942.
- Paine, R.T., 1971. The measurement and application of the calorie to ecological problems. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*. 2: 145-164.
- Park, H.J., Lee, W.C., Choy, E.J., Choi, K-S., Kang, C-K., 2011. Reproductive cycle and gross biochemical composition of the ark shell *Scapharca subcrenata* (Lischke, 1869) reared on subtidal mudflats in a temperate bay of Korea. *Aquaculture* 322-323: 149-157.
- Pereira, P., Pablo, H., Franco, V., Nogueira, M., 2009. Spatial and seasonal variation of quality in na impacted coastal lagoon (Óbidos Lagoon, Portugal). *Environ Monit Assess* 153: 281-292.
- Pronker, A.E., Peene, F., Donner, S., Wijnhoven, S., Geijssen, P., Bossier, P., Nevejan, N.M., 2015. Hatchery cultivation of the common cockle (*Cerastoderma edule* L.): from conditioning to grow-out. *Aquaculture Research* 46: 302-312.
- Quayle, D. B., 1980. Tropical oysters: culture and methods. International Research Center. Ottawa. pp. 80.
- Rebelo, M.F., Amaral, M.C.R., Pfeiffer, W.C., 2005. Oyster condition index in *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) from a heavy-metal polluted coastal lagoon. *Braz. J. Biol.* 65 (2): 345-351.
- Sarà, G., Reid, G.K., Rinaldi, A., Palmeri, V., Troell, M., Kooijman, S.A.L.M., 2012. Growth and reproductive simulation of candidate shellfish species at fish cages in the Southern Mediterranean: Dynamic Energy Budget (DEB) modelling for integrated multi-trophic aquaculture. *Aquaculture* 324-325:259-266.
- Seed, R., 1976. Ecology. In Bayne B.L. (eds.), *Marine mussels: Their ecology and Physiology*. Cambridge University Press: 13-65.
- Seed, R., Brown, R.A., 1977. A Comparison of the Reproductive cycles of *Modiolus modiolus* (L.) *Cerastoderma* (= *Cardium*) *edule* (L.), and *Mytilus edulis* L. in Strangford Lough, Northern Ireland. *Oecologia (Berl.)* 30: 173-188
- Serdar, S., Lök, A., 2009. Gametogenic cycle and biochemical composition of the transplanted carpet shell clam *Tapes decussatus*, Linnaeus 1758 in Sufa (Homa) Lagoon, Izmir, Turkey. *Aquaculture* 293: 81-88
- Shakir, F.K., Audilet, D., Drake III, A.J., Shakir, M.M., 1994. A rapid protein determination by modification of the Lowry Procedure. *Analytical Biochemistry*. 216: 232–233.
- Strickland, J.D.H., Parsons, T.R., 1972. *A Practical Handbook of Seawater Analysis*, 2nd edition. Fisheries Research Board of Canada. 167. 310 pp.

- Ter-Braak, C.J.F., Šmilauer, P. C., 2002. Reference manual and CanoDraw for Windows User's guide: Software for Canonical Community Ordination (version 4.5). Micro-computer Power
- Tirado, C., Marina, P., Urra, J., Antit, M., Salas, C., 2017. Reproduction and population structure of *Acanthocardia tuberculata* (Linnaeus, 1758) (Bivalvia: Cardiidae) in southern Spain: implications for stock management. *Journal of Shellfish Research* Vol.36 1:61-68
- Veja, M., Pardo, R., Barrado, E., Debán, L., 1998. Assessment of seasonal and polluting effects on the quality of river water by exploratory data analysis. *Water Research*, 32 (12): 3581-3592.
- Velez, C., Pires, A., Sampaio, L., Cardoso, P., Moreira, A., Leandro, S., Figueira, E., Soares, A.N.V.M., Freitas, R., 2016. The use of *Cerastoderma glaucum* as a sentinel and bioindicator species: Take-home message. *Ecological Indicators* 62: 228-241
- Vieira, J. R., Foster, T., 1995. Recovering the Óbidos Lagoon. An integrated management approach. Danish Hydraulic Institute, Denmark, Proceedings of the Mediterranean Coastal Environment, MEDCOAST 95, Tarragona, Espanha.
- Viles, F.J., Silverman, L., 1949. Determination of starch and cellulose with anthrone. *Journal Analytical Chemistry*. 21: 950-953.
- Walne, P.R., Mann R., 1975. Growth and biochemical composition of *Ostrea edulis* and *Crassostrea gigas*. In Barnes H. (ed) Proceedings of the 9th European Marine Biology Symposium Oban (Scotland), pp 587-607.
- Zar, J.H., 2010. Biostatistical Analysis. Northern Illinois University 5th Edition
- Dorset shellfish company, 2012. Cockles
http://www.dorsetshellfishcompany.co.uk/cockles_dorset.html [5 de fevereiro de 2017]

Anexos

Anexo 1:

Teste de Comparações Múltiplas						
Variável dependente: Índice de Condição						
Games-Howell						
(I) Mês	(J) Mês	Diferença média (I-J)	Erro Padrão	Sig.	Intervalo de Confiança 95%	
					Limite inferior	Limite superior
jan	fev	-0,2332136	0,2574388	0,994	-1,162960	0,696533
	mar	0,6633641	0,2104368	0,114	-0,092835	1,419563
	abr	-0,1722506	0,2728031	1,000	-1,163252	0,818751
	mai	0,4770589	0,2368136	0,601	-0,373152	1,327270
	jun	1,2908386*	0,2769594	0,007	0,283056	2,298621
	set	-0,2681786	0,3719609	0,999	-1,670563	1,134206
	out	-1,8459293*	0,2455986	0,000	-2,729551	-0,962308
	nov	-0,7968648	0,3320105	0,392	-2,031782	0,438052
fev	dez	-0,6230866	0,3155379	0,626	-1,789376	0,543203
	Jan	0,2332136	0,2574388	0,994	-0,696533	1,162960
	mar	0,8965777*	0,2455847	0,049	0,001410	1,791745
	abr	0,0609630	0,3007486	1,000	-1,018425	1,140351
	mai	0,7102725	0,2685310	0,267	-0,254908	1,675453
	jun	1,5240523*	0,3045237	0,003	0,430499	2,617606
	set	-0,0349650	0,3929161	1,000	-1,482342	1,412412
	out	-1,6127157*	0,2763094	0,001	-2,604142	-0,621290
mar	nov	-0,5636512	0,3553296	0,837	-1,856958	0,729656
	dez	-0,3898729	0,3399887	0,971	-1,621482	0,841736
	jan	-0,6633641	0,2104368	0,114	-1,419563	0,092835
	fev	-0,8965777*	0,2455847	0,049	-1,791745	-0,001410
	abr	-0,8356147	0,2616460	0,116	-1,796550	0,125321
	mai	-0,1863052	0,2238700	0,997	-0,994508	0,621897
	jun	0,6274746	0,2659767	0,409	-0,351335	1,606284
	set	-0,9315427	0,3638571	0,327	-2,320337	0,457251
abr	out	-2,5092934*	0,2331433	0,000	-3,354283	-1,664304
	nov	-1,4602289*	0,3229057	0,014	-2,676831	-0,243626
	dez	-1,2864507*	0,3059432	0,023	-2,431858	-0,141043
	jan	0,1722506	0,2728031	1,000	-0,818751	1,163252
	fev	-0,0609630	0,3007486	1,000	-1,140351	1,018425
	mar	0,8356147	0,2616460	0,116	-0,125321	1,796550
	mai	0,6493096	0,2832943	0,439	-0,373019	1,671638
	jun	1,4630893*	0,3176184	0,006	0,324231	2,601948
mai	set	-0,0959280	0,4031499	1,000	-1,569403	1,377547
	out	-1,6736787*	0,2906779	0,001	-2,719484	-0,627873
	nov	-0,6246142	0,3666142	0,780	-1,950705	0,701476
	dez	-0,4508359	0,3517657	0,945	-1,718536	0,816864
	jan	-0,4770589	0,2368136	0,601	-1,327270	0,373152
jun	fev	-0,7102725	0,2685310	0,267	-1,675453	0,254908
	mar	0,1863052	0,2238700	0,997	-0,621897	0,994508
	abr	-0,6493096	0,2832943	0,439	-1,671638	0,373019
	mai	0,8137797	0,2872988	0,201	-0,224316	1,851875

	set	-0,7452375	0,3797223	0,634	-2,162782	0,672307
	out	-2,3229882*	0,2572019	0,000	-3,245628	-1,400349
	nov	-1,2739237*	0,3406833	0,045	-2,528842	-0,019005
	dez	-1,1001455	0,3246510	0,082	-2,288993	0,088702
jun	jan	-1,2908386*	0,2769594	0,007	-2,298621	-0,283056
	fev	-1,5240523*	0,3045237	0,003	-2,617606	-0,430499
	mar	-0,6274746	0,2659767	0,409	-1,606284	0,351335
	abr	-1,4630893*	0,3176184	0,006	-2,601948	-0,324231
	mai	-0,8137797	0,2872988	0,201	-1,851875	0,224316
	set	-1,5590172*	0,4059739	0,035	-3,040089	-0,077946
	out	-3,1367679*	0,2945821	0,000	-4,197648	-2,075888
	nov	-2,0877034*	0,3697173	0,001	-3,423222	-0,752185
	dez	-1,9139252*	0,3549987	0,001	-3,191944	-0,635906
	set	jan	0,2681786	0,3719609	0,999	-1,134206
fev		0,0349650	0,3929161	1,000	-1,412412	1,482342
mar		0,9315427	0,3638571	0,327	-0,457251	2,320337
abr		0,0959280	0,4031499	1,000	-1,377547	1,569403
mai		0,7452375	0,3797223	0,634	-0,672307	2,162782
jun		1,5590172*	0,4059739	0,035	0,077946	3,040089
out		-1,5777507*	0,3852623	0,025	-3,007245	-0,148256
nov		-0,5286862	0,4453530	0,965	-2,129443	1,072070
dez	-0,3549080	0,4332118	0,997	-1,916403	1,206587	
out	jan	1,8459293*	0,2455986	0,000	0,962308	2,729551
	fev	1,6127157*	0,2763094	0,001	0,621290	2,604142
	mar	2,5092934*	0,2331433	0,000	1,664304	3,354283
	abr	1,6736787*	0,2906779	0,001	0,627873	2,719484
	mai	2,3229882*	0,2572019	0,000	1,400349	3,245628
	jun	3,1367679*	0,2945821	0,000	2,075888	4,197648
	set	1,5777507*	0,3852623	0,025	0,148256	3,007245
	nov	1,0490645	0,3468474	0,152	-0,221368	2,319497
dez	1,2228427*	0,3311137	0,046	0,016639	2,429046	
nov	jan	0,7968648	0,3320105	0,392	-0,438052	2,031782
	fev	0,5636512	0,3553296	0,837	-0,729656	1,856958
	mar	1,4602289*	0,3229057	0,014	0,243626	2,676831
	abr	0,6246142	0,3666142	0,780	-0,701476	1,950705
	mai	1,2739237*	0,3406833	0,045	0,019005	2,528842
	jun	2,0877034*	0,3697173	0,001	0,752185	3,423222
	set	0,5286862	0,4453530	0,965	-1,072070	2,129443
	out	-1,0490645	0,3468474	0,152	-2,319497	0,221368
dez	0,1737782	0,3994353	1,000	-1,259148	1,606705	
dez	jan	0,6230866	0,3155379	0,626	-0,543203	1,789376
	fev	0,3898729	0,3399887	0,971	-0,841736	1,621482
	mar	1,2864507*	0,3059432	0,023	0,141043	2,431858
	abr	0,4508359	0,3517657	0,945	-0,816864	1,718536
	mai	1,1001455	0,3246510	0,082	-0,088702	2,288993
	jun	1,9139252*	0,3549987	0,001	0,635906	3,191944
	set	0,3549080	0,4332118	0,997	-1,206587	1,916403
	out	-1,2228427*	0,3311137	0,046	-2,429046	-0,016639
nov	-0,1737782	0,3994353	1,000	-1,606705	1,259148	

* A diferença média é significativa no nível 0,05.

Anexo 2:

Teste de Comparações Múltiplas							
Games-Howell							
Variável dependente			Diferença média (I-J)	Erro Padrão	Sig.	Intervalo de Confiança 95%	
	(I) Mês	(J) Mês				Limite inf.	Limite sup.
Proteínas	jan	fev	-8,67000	9,48155	0,995	-40,9796	23,6396
		mar	23,17500	8,28725	0,178	-4,8475	51,1975
		abr	-70,91000*	14,07484	0,001	-119,8681	-21,9519
		mai	1,48500	6,40388	1,000	-20,0299	22,9999
		jun	-45,38000*	6,02207	0,000	-65,6708	-25,0892
		set	-59,95500*	10,51967	0,000	-96,0204	-23,8896
		out	-50,72000	23,72263	0,524	-134,4593	33,0193
		nov	-47,20500	13,98385	0,062	-95,8334	1,4234
	fev	jan	8,67000	9,48155	0,995	-23,6396	40,9796
		mar	31,84500	10,65559	0,118	-4,0079	67,6979
		abr	-62,24000*	15,58731	0,011	-115,1966	-9,2834
		mai	10,15500	9,26676	0,981	-21,5632	41,8732
		jun	-36,71000*	9,00713	0,011	-67,7460	-5,6740
		set	-51,28500*	12,47103	0,007	-93,2038	-9,3662
		out	-42,05000	24,65007	0,782	-127,8367	43,7367
		nov	-38,53500	15,50520	0,314	-91,1964	14,1264
	dez	6,67000	9,36360	0,999	-25,3121	38,6521	
	mar	jan	-23,17500	8,28725	0,178	-51,1975	4,8475
		fev	-31,84500	10,65559	0,118	-67,6979	4,0079
		abr	-94,08500*	14,89104	0,000	-145,1038	-43,0662
		mai	-21,69000	8,04062	0,217	-48,9828	5,6028
		jun	-68,55500*	7,73997	0,000	-94,9982	-42,1118
		set	-83,13000*	11,58901	0,000	-122,2689	-43,9911
		out	-73,89500	24,21580	0,124	-158,6905	10,9005
		nov	-70,38000*	14,80506	0,002	-121,0873	-19,6727
	dez	-25,17500	8,15204	0,098	-52,7942	2,4442	
	abr	jan	70,91000*	14,07484	0,001	21,9519	119,8681
		fev	62,24000*	15,58731	0,011	9,2834	115,1966
		mar	94,08500*	14,89104	0,000	43,0662	145,1038
		mai	72,39500*	13,93105	0,001	23,7704	121,0196
		jun	25,53000	13,75972	0,696	-22,7108	73,7708
		set	10,95500	16,23970	1,000	-43,9301	65,8401
		out	20,19000	26,75496	0,999	-71,0375	111,4175
		nov	23,70500	18,67117	0,954	-38,9882	86,3982
	dez	68,91000*	13,99566	0,002	20,1368	117,6832	
	mai	jan	-1,48500	6,40388	1,000	-22,9999	20,0299
		fev	-10,15500	9,26676	0,981	-41,8732	21,5632
		mar	21,69000	8,04062	0,217	-5,6028	48,9828
		abr	-72,39500*	13,93105	0,001	-121,0196	-23,7704
		jun	-46,86500*	5,67789	0,000	-65,9544	-27,7756
		set	-61,44000*	10,32649	0,000	-97,0003	-25,8797

		out	-52,20500	23,63760	0,482	-135,7703	31,3603
		nov	-48,69000*	13,83911	0,047	-96,9820	-0,3980
		dez	-3,48500	6,22792	1,000	-24,3994	17,4294
	jun	jan	45,38000*	6,02207	0,000	25,0892	65,6708
		fev	36,71000*	9,00713	0,011	5,6740	67,7460
		mar	68,55500*	7,73997	0,000	42,1118	94,9982
		abr	-25,53000	13,75972	0,696	-73,7708	22,7108
		mai	46,86500*	5,67789	0,000	27,7756	65,9544
		set	-14,57500	10,09416	0,901	-49,5545	20,4045
		out	-5,34000	23,53703	1,000	-88,7029	78,0229
		nov	-1,82500	13,66663	1,000	-49,7298	46,0798
		dez	43,38000*	5,83460	0,000	23,7459	63,0141
		set	jan	59,95500*	10,51967	0,000	23,8896
	fev		51,28500*	12,47103	0,007	9,3662	93,2038
	mar		83,13000*	11,58901	0,000	43,9911	122,2689
	abr		-10,95500	16,23970	1,000	-65,8401	43,9301
	mai		61,44000*	10,32649	0,000	25,8797	97,0003
	jun		14,57500	10,09416	0,901	-20,4045	49,5545
	out		9,23500	25,06771	1,000	-77,5532	96,0232
	nov		12,75000	16,16090	0,998	-41,8549	67,3549
	dez		57,95500*	10,41348	0,000	22,1696	93,7404
	out	jan	50,72000	23,72263	0,524	-33,0193	134,4593
		fev	42,05000	24,65007	0,782	-43,7367	127,8367
		mar	73,89500	24,21580	0,124	-10,9005	158,6905
		abr	-20,19000	26,75496	0,999	-111,4175	71,0375
		mai	52,20500	23,63760	0,482	-31,3603	135,7703
		jun	5,34000	23,53703	1,000	-78,0229	88,7029
		set	-9,23500	25,06771	1,000	-96,0232	77,5532
		nov	3,51500	26,70720	1,000	-87,5794	94,6094
		dez	48,72000	23,67573	0,573	-34,9230	132,3630
	nov	jan	47,20500	13,98385	0,062	-1,4234	95,8334
		fev	38,53500	15,50520	0,314	-14,1264	91,1964
		mar	70,38000*	14,80506	0,002	19,6727	121,0873
		abr	-23,70500	18,67117	0,954	-86,3982	38,9882
		mai	48,69000*	13,83911	0,047	0,3980	96,9820
		jun	1,82500	13,66663	1,000	-46,0798	49,7298
		set	-12,75000	16,16090	0,998	-67,3549	41,8549
		out	-3,51500	26,70720	1,000	-94,6094	87,5794
		dez	45,20500	13,90414	0,081	-3,2369	93,6469
	dez	jan	2,00000	6,54323	1,000	-19,9740	23,9740
		fev	-6,67000	9,36360	0,999	-38,6521	25,3121
		mar	25,17500	8,15204	0,098	-2,4442	52,7942
abr		-68,91000*	13,99566	0,002	-117,6832	-20,1368	
mai		3,48500	6,22792	1,000	-17,4294	24,3994	
jun		-43,38000*	5,83460	0,000	-63,0141	-23,7459	
set		-57,95500*	10,41348	0,000	-93,7404	-22,1696	
out		-48,72000	23,67573	0,573	-132,3630	34,9230	
nov		-45,20500	13,90414	0,081	-93,6469	3,2369	
Glicogénio	jan	fev	6,14500	10,22098	1,000	-28,2021	40,4921
		mar	36,58000*	9,23733	0,011	5,5511	67,6089
		abr	29,11500*	7,80316	0,023	2,4979	55,7321
		mai	43,86500*	7,56953	0,000	17,8809	69,8491

		jun	44,69000*	6,95974	0,000	20,1609	69,2191	
		set	-37,24000	11,46941	0,068	-75,9551	1,4751	
		out	-38,38000	11,55027	0,057	-77,3817	0,6217	
		nov	-31,26000	10,45858	0,118	-66,4281	3,9081	
		dez	-73,28000*	11,36193	0,000	-111,6146	-34,9454	
	fev	jan	-6,14500	10,22098	1,000	-40,4921	28,2021	
		mar	30,43500	9,87420	0,096	-2,7959	63,6659	
		abr	22,97000	8,54757	0,227	-6,3414	52,2814	
		mai	37,72000*	8,33483	0,004	8,9598	66,4802	
		jun	38,54500*	7,78522	0,002	11,0503	66,0397	
		set	-43,38500*	11,98829	0,027	-83,7234	-3,0466	
		out	-44,52500*	12,06567	0,022	-85,1334	-3,9166	
		nov	-37,40500*	11,02513	0,046	-74,4282	-0,3818	
		dez	-79,42500*	11,88549	0,000	-119,4054	-39,4446	
		mar	jan	-36,58000*	9,23733	0,011	-67,6089	-5,5511
			fev	-30,43500	9,87420	0,096	-63,6659	2,7959
			abr	-7,46500	7,34308	0,989	-32,4230	17,4930
	mai		7,28500	7,09431	0,988	-16,9774	31,5474	
	jun		8,11000	6,43968	0,952	-14,5481	30,7681	
	set		-73,82000*	11,16149	0,000	-111,6043	-36,0357	
	out		-74,96000*	11,24457	0,000	-113,0412	-36,8788	
	nov		-67,84000*	10,11995	0,000	-101,9315	-33,7485	
	dez	-109,86000*	11,05101	0,000	-147,2499	-72,4701		
	abr	jan	-29,11500*	7,80316	0,023	-55,7321	-2,4979	
		fev	-22,97000	8,54757	0,227	-52,2814	6,3414	
		mar	7,46500	7,34308	0,989	-17,4930	32,4230	
		mai	14,75000	5,08826	0,142	-2,3546	31,8546	
		jun	15,57500*	4,12681	0,025	1,2731	29,8769	
		set	-66,35500*	10,00700	0,000	-100,9603	-31,7497	
		out	-67,49500*	10,09958	0,000	-102,4362	-32,5538	
		nov	-60,37500*	8,83032	0,000	-90,7115	-30,0385	
	dez	-102,39500*	9,88362	0,000	-136,5527	-68,2373		
	mai	jan	-43,86500*	7,56953	0,000	-69,8491	-17,8809	
		fev	-37,72000*	8,33483	0,004	-66,4802	-8,9598	
		mar	-7,28500	7,09431	0,988	-31,5474	16,9774	
		abr	-14,75000	5,08826	0,142	-31,8546	2,3546	
		jun	0,82500	3,66592	1,000	-11,8049	13,4549	
		set	-81,10500*	9,82591	0,000	-115,2723	-46,9377	
		out	-82,24500*	9,92017	0,000	-116,7538	-47,7362	
		nov	-75,12500*	8,62455	0,000	-104,9364	-45,3136	
	dez	-117,14500*	9,70022	0,000	-150,8569	-83,4331		
	jun	jan	-44,69000*	6,95974	0,000	-69,2191	-20,1609	
		fev	-38,54500*	7,78522	0,002	-66,0397	-11,0503	
		mar	-8,11000	6,43968	0,952	-30,7681	14,5481	
		abr	-15,57500*	4,12681	0,025	-29,8769	-1,2731	
		mai	-0,82500	3,66592	1,000	-13,4549	11,8049	
		set	-81,93000*	9,36422	0,000	-115,0864	-48,7736	
		out	-83,07000*	9,46309	0,000	-116,5805	-49,5595	
		nov	-75,95000*	8,09464	0,000	-104,5551	-47,3449	
	dez	-117,97000*	9,23226	0,000	-150,6536	-85,2864		
	set	jan	37,24000	11,46941	0,068	-1,4751	75,9551	
		fev	43,38500*	11,98829	0,027	3,0466	83,7234	

		mar	73,82000*	11,16149	0,000	36,0357	111,6043	
		abr	66,35500*	10,00700	0,000	31,7497	100,9603	
		mai	81,10500*	9,82591	0,000	46,9377	115,2723	
		jun	81,93000*	9,36422	0,000	48,7736	115,0864	
		out	-1,14000	13,14000	1,000	-45,2611	42,9811	
		nov	5,98000	12,19150	1,000	-35,0099	46,9699	
		dez	-36,04000	12,97475	0,181	-79,6064	7,5264	
	out	jan	38,38000	11,55027	0,057	-0,6217	77,3817	
		fev	44,52500*	12,06567	0,022	3,9166	85,1334	
		mar	74,96000*	11,24457	0,000	36,8788	113,0412	
		abr	67,49500*	10,09958	0,000	32,5538	102,4362	
		mai	82,24500*	9,92017	0,000	47,7362	116,7538	
		jun	83,07000*	9,46309	0,000	49,5595	116,5805	
		set	1,14000	13,14000	1,000	-42,9811	45,2611	
		nov	7,12000	12,26760	1,000	-34,1337	48,3737	
	dez	-34,90000	13,04628	0,220	-78,7077	8,9077		
	nov	jan	31,26000	10,45858	0,118	-3,9081	66,4281	
		fev	37,40500*	11,02513	0,046	0,3818	74,4282	
		mar	67,84000*	10,11995	0,000	33,7485	101,9315	
		abr	60,37500*	8,83032	0,000	30,0385	90,7115	
		mai	75,12500*	8,62455	0,000	45,3136	104,9364	
		jun	75,95000*	8,09464	0,000	47,3449	104,5551	
		set	-5,98000	12,19150	1,000	-46,9699	35,0099	
		out	-7,12000	12,26760	1,000	-48,3737	34,1337	
		dez	-42,02000*	12,09043	0,038	-82,6604	-1,3796	
	dez	jan	73,28000*	11,36193	0,000	34,9454	111,6146	
		fev	79,42500*	11,88549	0,000	39,4446	119,4054	
		mar	109,86000*	11,05101	0,000	72,4701	147,2499	
		abr	102,39500*	9,88362	0,000	68,2373	136,5527	
		mai	117,14500*	9,70022	0,000	83,4331	150,8569	
		jun	117,97000*	9,23226	0,000	85,2864	150,6536	
		set	36,04000	12,97475	0,181	-7,5264	79,6064	
		out	34,90000	13,04628	0,220	-8,9077	78,7077	
		nov	42,02000*	12,09043	0,038	1,3796	82,6604	
	Lípidos totais	jan	fev	-17,34000	5,43386	0,082	-35,8765	1,1965
			mar	-2,00000	4,37759	1,000	-16,7559	12,7559
abr			-44,21000*	7,24999	0,000	-69,3302	-19,0898	
mai			-8,53500	5,60810	0,873	-27,7015	10,6315	
jun			-17,18500*	4,22654	0,008	-31,4108	-2,9592	
set			-6,73000	5,16071	0,945	-24,2811	10,8211	
out			-1,55500	6,49500	1,000	-23,9363	20,8263	
nov			3,56000	4,22368	0,997	-10,6558	17,7758	
dez			1,19500	3,88703	1,000	-11,8591	14,2491	
fev		jan	17,34000	5,43386	0,082	-1,1965	35,8765	
		mar	15,34000	5,86743	0,249	-4,4674	35,1474	
		abr	-26,87000	8,23564	0,066	-54,7128	0,9728	
		mai	8,80500	6,83477	0,950	-14,1467	31,7567	
		jun	0,15500	5,75561	1,000	-19,3133	19,6233	
		set	10,61000	6,47274	0,821	-11,1299	32,3499	
		out	15,78500	7,57947	0,550	-9,7383	41,3083	
		nov	20,90000*	5,75351	0,027	1,4380	40,3620	
		dez	18,53500	5,51112	0,055	-0,2185	37,2885	

	mar	jan	2,00000	4,37759	1,000	-12,7559	16,7559
		fev	-15,34000	5,86743	0,249	-35,1474	4,4674
		abr	-42,21000*	7,58038	0,000	-68,1771	-16,2429
		mai	-6,53500	6,02915	0,983	-26,9168	13,8468
		jun	-15,18500	4,77111	0,076	-31,2083	0,8383
		set	-4,73000	5,61541	0,997	-23,6479	14,1879
		out	0,44500	6,86185	1,000	-22,9238	23,8138
		nov	5,56000	4,76858	0,973	-10,4549	21,5749
	dez	3,19500	4,47313	0,999	-11,8612	18,2512	
	abr	jan	44,21000*	7,24999	0,000	19,0898	69,3302
		fev	26,87000	8,23564	0,066	-0,9728	54,7128
		mar	42,21000*	7,58038	0,000	16,2429	68,1771
		mai	35,67500*	8,35162	0,005	7,4797	63,8703
		jun	27,02500*	7,49416	0,034	1,2866	52,7634
		set	37,48000*	8,05803	0,002	10,1664	64,7936
		out	42,65500*	8,97128	0,001	12,5020	72,8080
		nov	47,77000*	7,49255	0,000	22,0358	73,5042
	dez	45,40500*	7,30807	0,000	20,1419	70,6681	
	mai	jan	8,53500	5,60810	0,873	-10,6315	27,7015
		fev	-8,80500	6,83477	0,950	-31,7567	14,1467
		mar	6,53500	6,02915	0,983	-13,8468	26,9168
		abr	-35,67500*	8,35162	0,005	-63,8703	-7,4797
		jun	-8,65000	5,92038	0,898	-28,7069	11,4069
		set	1,80500	6,61969	1,000	-20,4381	24,0481
		out	6,98000	7,70535	0,995	-18,9428	32,9028
		nov	12,09500	5,91834	0,577	-7,9558	32,1458
	dez	9,73000	5,68299	0,780	-9,6435	29,1035	
	jun	jan	17,18500*	4,22654	0,008	2,9592	31,4108
		fev	-0,15500	5,75561	1,000	-19,6233	19,3133
		mar	15,18500	4,77111	0,076	-0,8383	31,2083
		abr	-27,02500*	7,49416	0,034	-52,7634	-1,2866
		mai	8,65000	5,92038	0,898	-11,4069	28,7069
		set	10,45500	5,49847	0,668	-8,0997	29,0097
		out	15,63000	6,76648	0,412	-7,4729	38,7329
		nov	20,74500*	4,63030	0,002	5,1976	36,2924
		dez	18,38000*	4,32542	0,005	3,8377	32,9223
set	jan	6,73000	5,16071	0,945	-10,8211	24,2811	
	fev	-10,61000	6,47274	0,821	-32,3499	11,1299	
	mar	4,73000	5,61541	0,997	-14,1879	23,6479	
	abr	-37,48000*	8,05803	0,002	-64,7936	-10,1664	
	mai	-1,80500	6,61969	1,000	-24,0481	20,4381	
	jun	-10,45500	5,49847	0,668	-29,0097	8,0997	
	out	5,17500	7,38610	0,999	-19,7454	30,0954	
	nov	10,29000	5,49627	0,687	-8,2579	28,8379	
	dez	7,92500	5,24200	0,878	-9,8606	25,7106	
out	jan	1,55500	6,49500	1,000	-20,8263	23,9363	
	fev	-15,78500	7,57947	0,550	-41,3083	9,7383	
	mar	-0,44500	6,86185	1,000	-23,8138	22,9238	
	abr	-42,65500*	8,97128	0,001	-72,8080	-12,5020	
	mai	-6,98000	7,70535	0,995	-32,9028	18,9428	
	jun	-15,63000	6,76648	0,412	-38,7329	7,4729	
	set	-5,17500	7,38610	0,999	-30,0954	19,7454	

		nov	5,11500	6,76469	0,999	-17,9830	28,2130	
		dez	2,75000	6,55978	1,000	-19,7983	25,2983	
	nov	jan	-3,56000	4,22368	0,997	-17,7758	10,6558	
		fev	-20,90000*	5,75351	0,027	-40,3620	-1,4380	
		mar	-5,56000	4,76858	0,973	-21,5749	10,4549	
		abr	-47,77000*	7,49255	0,000	-73,5042	-22,0358	
		mai	-12,09500	5,91834	0,577	-32,1458	7,9558	
		jun	-20,74500*	4,63030	0,002	-36,2924	-5,1976	
		set	-10,29000	5,49627	0,687	-28,8379	8,2579	
		out	-5,11500	6,76469	0,999	-28,2130	17,9830	
		dez	-2,36500	4,32262	1,000	-16,8976	12,1676	
		jan	-1,19500	3,88703	1,000	-14,2491	11,8591	
	dez	fev	-18,53500	5,51112	0,055	-37,2885	0,2185	
		mar	-3,19500	4,47313	0,999	-18,2512	11,8612	
		abr	-45,40500*	7,30807	0,000	-70,6681	-20,1419	
		mai	-9,73000	5,68299	0,780	-29,1035	9,6435	
		jun	-18,38000*	4,32542	0,005	-32,9223	-3,8377	
		set	-7,92500	5,24200	0,878	-25,7106	9,8606	
		out	-2,75000	6,55978	1,000	-25,2983	19,7983	
		nov	2,36500	4,32262	1,000	-12,1676	16,8976	
Energia total		jan	fev	-0,62172	0,30560	0,582	-1,6502	0,4068
			mar	0,97801*	0,26493	0,022	0,0882	1,8678
	abr		-2,22744*	0,29524	0,000	-3,2199	-1,2350	
	mai		0,49940	0,26375	0,673	-0,3865	1,3854	
	jun		-0,61074	0,22770	0,224	-1,3844	,1630	
	set		-1,93581*	0,30648	0,000	-2,9674	-0,9043	
	out		-1,61934	0,57175	0,181	-3,6077	0,3690	
	nov		-1,26516*	0,32485	0,013	-2,3613	-0,1690	
	dez		-1,25678*	0,27641	0,002	-2,1849	-0,3287	
	jan		0,62172	0,30560	0,582	-0,4068	1,6502	
	fev	mar	1,59973*	0,29750	0,000	0,5967	2,6027	
		abr	-1,60572*	0,32478	0,001	-2,6965	-0,5150	
		mai	1,12112*	0,29645	0,018	0,1214	2,1209	
		jun	0,01098	0,26489	1,000	-0,8971	0,9191	
		set	-1,31409*	0,33504	0,012	-2,4391	-0,1891	
		out	-0,99762	0,58755	0,787	-3,0246	1,0294	
		nov	-0,64344	0,35192	0,714	-1,8258	0,5389	
		dez	-0,63506	0,30776	0,563	-1,6704	0,4003	
	mar	jan	-0,97801*	0,26493	0,022	-1,8678	-0,0882	
		fev	-1,59973*	0,29750	0,000	-2,6027	-0,5967	
abr		-3,20545*	0,28683	0,000	-4,1710	-2,2399		
mai		-0,47860	0,25431	0,680	-1,3325	0,3753		
jun		-1,58875*	0,21669	0,000	-2,3229	-0,8545		
set		-2,91382*	0,29840	0,000	-3,9200	-1,9076		
out		-2,59735*	0,56746	0,004	-4,5757	-0,6190		
nov		-2,24317*	0,31724	0,000	-3,3162	-1,1702		
abr	dez	-2,23479*	0,26741	0,000	-3,1331	-1,3365		
	jan	2,22744*	0,29524	0,000	1,2350	3,2199		
	fev	1,60572*	0,32478	0,001	0,5150	2,6965		
	mar	3,20545*	0,28683	0,000	2,2399	4,1710		
	mai	2,72685*	0,28575	0,000	1,7647	3,6890		
		jun	1,61670*	0,25285	0,000	0,7522	2,4812	

		set	0,29163	0,32561	0,996	-0,8019	1,3852
		out	0,60810	0,58223	0,986	-1,4056	2,6218
		nov	0,96228	0,34295	0,172	-0,1909	2,1155
		dez	0,97066	0,29747	0,063	-0,0290	1,9704
mai	jan	-0,49940	0,26375	0,673	-1,3854	0,3865	
	fev	-1,12112*	0,29645	0,018	-2,1209	-0,1214	
	mar	0,47860	0,25431	0,680	-0,3753	1,3325	
	abr	-2,72685*	0,28575	0,000	-3,6890	-1,7647	
	jun	-1,11014*	0,21526	0,000	-1,8392	-0,3811	
	set	-2,43522*	0,29736	0,000	-3,4382	-1,4323	
	out	-2,11874*	0,56691	0,029	-4,0958	-0,1417	
	nov	-1,76457*	0,31626	0,000	-2,8346	-0,6945	
	dez	-1,75619*	0,26625	0,000	-2,6507	-0,8617	
	jun	jan	0,61074	0,22770	0,224	-0,1630	1,3844
		fev	-0,01098	0,26489	1,000	-0,9191	0,8971
		mar	1,58875*	0,21669	0,000	0,8545	2,3229
abr		-1,61670*	0,25285	0,000	-2,4812	-0,7522	
mai		1,11014*	0,21526	0,000	0,3811	1,8392	
set		-1,32507*	0,26590	0,001	-2,2368	-0,4133	
out		-1,00860	0,55106	0,711	-2,9508	0,9336	
nov		-0,65442	0,28688	0,432	-1,6422	0,3334	
dez	-0,64604	0,23059	0,179	-1,4301	0,1381		
set	jan	1,93581*	0,30648	0,000	0,9043	2,9674	
	fev	1,31409*	0,33504	0,012	0,1891	2,4391	
	mar	2,91382*	0,29840	0,000	1,9076	3,9200	
	abr	-0,29163	0,32561	0,996	-1,3852	0,8019	
	mai	2,43522*	0,29736	0,000	1,4323	3,4382	
	jun	1,32507*	0,26590	0,001	0,4133	2,2368	
	out	0,31647	0,58801	1,000	-1,7117	2,3446	
	nov	0,67065	0,35268	0,668	-0,5142	1,8555	
dez	0,67903	0,30864	0,475	-0,3594	1,7174		
out	jan	1,61934	0,57175	0,181	-0,3690	3,6077	
	fev	0,99762	0,58755	0,787	-1,0294	3,0246	
	mar	2,59735*	0,56746	0,004	0,6190	4,5757	
	abr	-0,60810	0,58223	0,986	-2,6218	1,4056	
	mai	2,11874*	0,56691	0,029	0,1417	4,0958	
	jun	1,00860	0,55106	0,711	-0,9336	2,9508	
	set	-0,31647	0,58801	1,000	-2,3446	1,7117	
	nov	0,35418	0,59779	1,000	-1,6992	2,4075	
dez	0,36256	0,57291	1,000	-1,6285	2,3537		
nov	jan	1,26516*	0,32485	0,013	0,1690	2,3613	
	fev	0,64344	0,35192	0,714	-0,5389	1,8258	
	mar	2,24317*	0,31724	0,000	1,1702	3,3162	
	abr	-0,96228	0,34295	0,172	-2,1155	0,1909	
	mai	1,76457*	0,31626	0,000	0,6945	2,8346	
	jun	0,65442	0,28688	0,432	-0,3334	1,6422	
	set	-0,67065	0,35268	0,668	-1,8555	0,5142	
	out	-0,35418	0,59779	1,000	-2,4075	1,6992	
dez	0,00838	0,32688	1,000	-1,0941	1,1108		
dez	jan	1,25678*	0,27641	0,002	0,3287	2,1849	
	fev	0,63506	0,30776	0,563	-0,4003	1,6704	
	mar	2,23479*	0,26741	0,000	1,3365	3,1331	

		abr	-0,97066	0,29747	0,063	-1,9704	0,0290
		mai	1,75619*	0,26625	0,000	0,8617	2,6507
		jun	0,64604	0,23059	0,179	-0,1381	1,4301
		set	-0,67903	0,30864	0,475	-1,7174	0,3594
		out	-0,36256	0,57291	1,000	-2,3537	1,6285
		nov	-0,00838	0,32688	1,000	-1,1108	1,0941

* A diferença média é significativa no nível 0,05.