

PROXECTO	Establecemento das bases para a restauración dos bancos naturais de ostra plana (<i>Ostrea edulis</i> , Linnaeus 1758) na enseada de San Simón (Ría de Vigo). PreOSTREARES
SOCIOS	CENTRO DE INVESTIGACIÓNS MARIÑAS – CIMA FEDERACIÓN DE CONFRARÍAS DE PESCADORES DE PONTEVEDRA

PARTICIPANTES NO PROXECTO, ENTIDADES

Carlos Gabín Sánchez (CIMA)
 Ana Cerviño Otero (CIMA)
 Ana Isabel González Fontela (CIMA)
 David Iglesias Estepa (CIMA)
 María Ortega Iñarrea (CIMA)
 Antonio Villalba García (CIMA)
 José Manuel Rosas Otero (Federación de Confrarías de Pescadores de Pontevedra)

ANTECEDENTES

Os bancos naturais de ostra plana (*Ostrea edulis*, Linnaeus 1758) comezaron a desaparecer das rías galegas a mediados do século pasado. A causa principal desta desaparición foi a sobreexplotación pesqueira, pero tamén enfermidades introducidas, como a bonamiose, que provocaron mortalidades masivas dende os anos 80. Unha das zonas de Galicia con maior produción de ostra plana no pasado era a enseada de San Simón, onde se localizaban importantes bancos naturais desta especie que sostían unha intensa actividade pesqueira que xa non existe. A confraría de Arcade iniciou en 2019 un ensaio intuitivo que consistiu na introdución de ostras adultas nun sistema artesanal de cultivo co fin de que actuasen como reprodutores. Estas ostras non puideron ser adecuadamente mantidas debido á crise da COVID pero, sorprendentemente, presentaron unha taxa de supervivencia moi prometedora que levou a contemplar a posibilidade de emprender un proxecto serio de restauración dos bancos de ostra na zona.

Por Orde do 27 de xuño de 2022, creouse a Rede entre o sector pesqueiro e os organismos científicos da Comunidade Autónoma de Galicia, coa finalidade de fomentar o intercambio e a transferencia de coñecementos entre organismos científicos, o sector pesqueiro e a administración pesqueira de Galicia. Ao abeiro deste marco estableceuse unha colaboración entre o Centro de Investigacións Mariñas (CIMA) e a Federación Provincial de Confrarías de Pescadores de Pontevedra e presentouse unha proposta de proxecto que pretendía establecer as bases para o proceso de restauración dos bancos naturais de ostra plana (*Ostrea edulis*, Linnaeus 1758) na enseada de San Simón. Para alcanzar este obxectivo propúñase a realización dunha serie de tarefas dirixidas a incrementar o número de reprodutores de ostra plana na zona, a localizar os bancos naturais (tanto actuais como históricos) e á instalación dun sistema de estabulación de reprodutores desta especie. Todo elo coa implicación da asistencia técnica e dos colectivos de mariscadores/as da Confraría de Pescadores de Arcade. Así mesmo, abordaríase por parte do CIMA un programa de vixilancia epidemiolóxica dirixido a determinar a presenza de parasitos do xénero *Bonamia* e doutros problemas patolóxicos nas ostras da zona ou que, de ser o caso, pretendesen introducirse nela. O INTECMAR daría tamén apoio coa instalación dunha sonda para o rexistro de variables ambientais na zona. Tratábase en definitiva do desenvolvemento dun estudo de viabilidade que sentara as bases para o deseño dun proxecto piloto de restauración de bancos a maior escala; e todo co fin último de recuperar a captura sostible de ostra nesta zona e fortalecer os beneficios para o ecosistema que brinda esta especie.

Todos estes obxectivos e tarefas propostas atopábanse aliñadas coa Prioridade 1, do Reto 1 da



RIS3 21-27, en concreto co ámbito de intervención: "Mellora, preservación, xestión sustentable e posta en valor da biodiversidade", polo que a proposta foi aprobada por Resolución da Dirección Xeral de Desenvolvemento Pesqueiro con data do 21 de xuño de 2023. O prazo de execución da actuación establecíase como data límite o 30 de novembro de 2023. Transcorrido este prazo preséntase a continuación a memoria de desenvolvemento do proxecto dando conta das tarefas realizadas e os resultados alcanzados.

OBXECTIVOS DO PROXECTO

O obxectivo principal deste proxecto era establecer as bases para o proceso de restauración dos bancos naturais de ostra plana na enseada de San Simón. Para acadalo definíronse un total de 7 obxectivos máis concretos:

- 1.- Localizar e delimitar os bancos naturais de ostra plana existentes ou históricos.
- 2.- Instalar sistemas de mantemento de reprodutores de ostra plana.
- 3.- Incrementar a poboación de reprodutores de *Ostrea edulis*.
- 4.- Instalar unha sonda multiparamétrica para o rexistro dos parámetros físicos na zona de estabulación dos reprodutores.
- 5.- Dispor de datos sobre o comportamento destes reprodutores.
- 6.- Coñecer o estado patolóxico da poboación de reprodutores procedentes de bancos naturais da Enseada de San Simón.
- 7.- Divulgar o proxecto entre os colectivos de mariscadoras e mariscadores a pé e dende embarcación.

ACTIVIDADES E RESULTADOS ACADADOS

3.1.- Localización e delimitación dos bancos naturais de ostra plana existentes ou históricos

A ostra plana é unha especie que ten uns requisitos ambientais determinados, especialmente no que se refire á necesidade de substratos duros sobre os que se fixan as larvas, e que limitan o desenvolvemento das poboacións e a constitución de bancos de ostra. Co obxectivo de atopar a mellor localización para a instalación do sistema de mantemento de ostras reprodutoras e das estruturas colectoras de semente, considerouse importante determinar cal era a localización e o estado actual das poboacións de ostra plana, e coñecer onde se atopaban no pasado os principais bancos de ostra da zona. Para isto, programáronse unha serie de visitas de campo á área de estudo, no ámbito territorial das concesións da confraría de Arcade, nas que se tomaron medidas dos principais parámetros fisicoquímicos da auga e se recoñeceu visualmente o tipo de substrato presente en diferentes puntos ao longo dos bancos naturais. As observacións e tarefas máis relevantes efectuadas nestas visitas foron rexistradas nun diario de campo.

Ademais, deseñouse unha enquisa que se distribuíu entre as persoas do sector pesqueiro da zona para a recollida de información sobre os bancos naturais de ostra plana. En total realizouse a enquisa a 30 persoas.

Os datos recollidos nas enquisas amosaron que só as persoas con máis de 5 de anos de experiencia lembraban ter observado algún exemplar de ostra plana nos bancos marisqueiros da confraría de Arcade. De acordo con esta información, as zonas onde foi visto algún exemplar indícanse cun "X" na figura 1. Esta información resulta moi valiosa para o deseño de futuras actuacións nas que se leve a cabo a instalación de colectores para a captación de semente de ostra.



Figura 1.- Zonas nas que se observaron exemplares de ostra plana no pasado (X).

3.2.- Instalación dun sistema de mantemento de reprodutores de ostra plana

Partindo dun estado de práctico esgotamento das poboacións naturais de ostra na zona -tal e como se puido constatar nos resultados das enquisas comentadas no apartado anterior-, está claro que a única posibilidade de recuperación pasa necesariamente polo aporte de ostras adultas que actúen como reprodutoras e que, coas súas desovas, poidan dar lugar á fixación de individuos xuvenís na zona. Os stocks de individuos reprodutores disporanse nun sistema de estabulación en condicións o máis axeitadas posibles para maximizar o benestar das ostras. Para isto, resulta fundamental o propio deseño do sistema de mantemento e tamén o seu asentamento nun lugar que reúna unhas condicións óptimas para o crecemento e supervivencia dos individuos. Tendo en conta os resultados das saídas de campo, así como os coñecementos prácticos da zona proporcionados pola asistencia técnica da confraría e polo persoal técnico da Consellería do Mar, decidiuse que a zona ideal para a estabulación das ostras reprodutoras se localizaría no banco intermareal Río Alvedosas VI172 (figura 2).

Tendo en conta as características da zona e os resultados obtidos no pasado deseñouse a instalación de dúas liñas dobres nas coordenadas que se indican na táboa 1, con capacidade para suspender 200 cestos en total. A empresa seleccionada para a instalación do sistema de mantemento foi a empresa Eurored, S.A. con sede en Redondela.



Figura 2.- Localización da zona de establecemento (frecha).

Táboa 1.- Coordenadas das dúas liñas.

V.	USO	UTM Y	UTM X	LAT	long	
A	29N	468685	53108	42° 19' 59,91" N	8° 37' 21.87" W	Linea 1
B	29N	468685	53114	42° 19' 59,96" N	8° 37' 19.25" W	
C	29N	468684	53108	42° 19' 59,44" N	8° 37' 21.86" W	Linea 2
D	29N	468684	53114	42° 19' 59,50" N	8° 37' 19.24" W	

A instalación das dúas liñas realizouse entre os días 2 e 3 de outubro. O deseño da estrutura mostrase na seguinte figura.

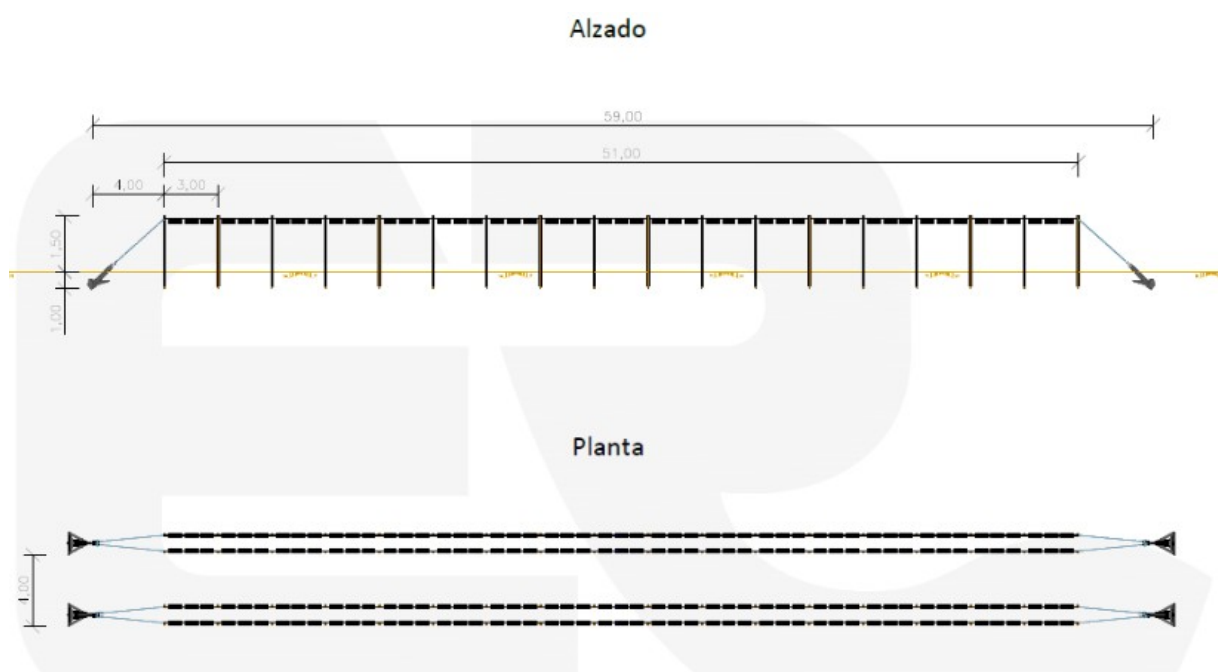


Figura 3.- Sistema de mantemento de ostras reprodutoras.

3.3.- Reforzo da poboación de reprodutores de *Ostrea edulis*

Para a restauración dos bancos naturais de ostra plana é indispensable contar cun stock de ostras de idade adulta que poidan contribuír coas súas desovas ao incremento da captación natural na zona. Tendo en conta que se verificou que nos bancos naturais da zona non existían ostras, a única alternativa foi a de introducir ostras procedentes doutras zonas. Durante a realización deste proxecto xurdiu a oportunidade de utilizar ostras producidas nas instalacións do Instituto Galego de Formación en Acuicultura (en adiante IGafa). Así, no día 20 de xullo retiráronse cerca de 1.500 ostras dunha batea que o IGafa ten no polígono Cambados-C1 (Ría de Arousa) e onde se atopaban estabuladas (figura 4), e se introduciron nos cestos que logo foron levados ao intermareal de Arcade.

Como a nova estrutura non estaba aínda instalada, estes cestos foron colocados provisionalmente nunha antiga estrutura de construción artesanal na que a Confraría de Arcade xa dispuxera en 2019 outro lote de reprodutores procedentes igualmente do IGafa.



Figura 4.-Recollida de ostras no IGafa e distribución das mesmas en cestos para a súa disposición na estrutura situada no intermareal de Arcade.

Estaba previsto trasladar outros 1.000 individuos do IGafa no mes de outubro, pero as condicións meteorolóxicas adversas non o permitiron. Estes reprodutores serán introducidos no sistema en canto resulte posible, aínda que sexa fóra do ámbito temporal deste proxecto.

3.4.- Instalación dunha sonda multiparamétrica para o rexistro dos parámetros físicos na zona de estabulación das ostras reprodutoras

Coa finalidade de ter información sobre as variacións estacionais dos valores dos principais parámetros físicos da zona (temperatura e salinidade) adquiriuse unha sonda INFINITY-CT. A adquisición desta sonda foi realizada coa axuda do persoal técnico do INTECMAR responsables polo proxecto REDECOS (Modernización da REDE de monitorización COSTeira de parámetros ambientais).

Esta sonda INFINITY-CT (figura 5) é un rexistrador autónomo, dotado cunha carcasa de titanio de alta resistencia, que permite o rexistro de temperatura e condutividade ata unha profundidade máxima de 2000 m. Os rangos e a precisión de medida son: temperatura $-5\sim 45 \pm 0,01$ °C e condutividade $0,5\sim 70 \pm 0,01$ mS/cm. A súa memoria interna permite o rexistro de datos cada 10 minutos durante 4 meses consecutivos.



Figura 5.-Sonda INFINITY-CT empregada no proxecto para o rexistro continuo de temperatura e salinidade na zona de Arcade.

A sonda foi programada e instalada na estrutura ao final do mes de outubro, polo que durante a realización deste informe non se contaban aínda con ningunha serie de datos.

3.5.- Determinación do comportamento das ostras reprodutoras

Para a restauración do banco de ostra plana na enseada de Arcade é importante coñecer o comportamento das ostras reprodutoras que actualmente constitúen o xermolo deste proxecto e que son os individuos de *Ostrea edulis* que foron estabulados na zona en 2019 e en 2023.

Ao longo deste proxecto rexistráronse datos referentes ao comportamento destas ostras reprodutoras no que se refire a tres aspectos diferentes:

1. Estado reprodutivo

Avaliouse a través da determinación do estado de madurez da gónada empregando técnicas histolóxicas.

Para isto, analizáronse as mesmas preparacións histolóxicas que se empregaron para a análise patolóxica, conforme se describe no apartado 3.6. Así, en xullo de 2023 examináronse ao microscopio óptico 30 preparacións histolóxicas correspondentes ás ostras estabuladas en 2019 e 60 preparacións correspondentes aos lotes de ostras cedidos polo IGafa en 2023, constatándose que a maioría dos individuos se atopaban na fase de reabsorción gonadal (figura 6) non observándose ningún embrión ou larva na cavidade paleal.

Este estudo será necesario efectualo ao longo de períodos completos dun ano para poder determinar o ciclo de desenvolvemento gonadal e tratar de establecer correlacións coas variables ambientais rexistradas na zona.

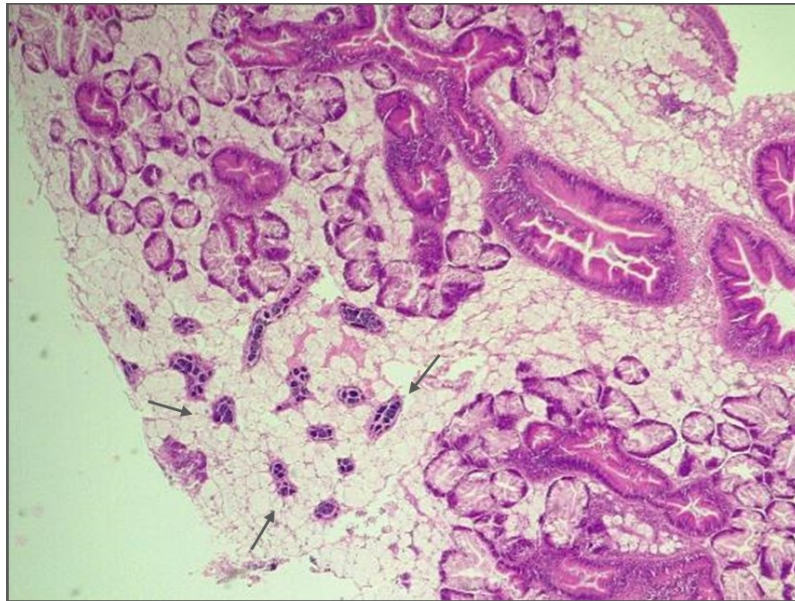


Figura 6.- Imaxe dun corte histolóxico onde se observan folículos gonadais residuais sinalados polas frechas.

2. Supervivencia

Para comprobar a viabilidade da restauración do banco de ostra plana na enseada de San Simón, é imprescindible determinar a taxa de supervivencia das ostras nas condicións ambientais da zona. Con este fin, realizouse un control de supervivencia das ostras reprodutoras ao longo dos catro meses do proxecto. Das 1000 ostras estabuladas en 2019, a supervivencia acumulada con data do 30 de outubro de 2023 foi do 18%. Con respecto as ostras estabuladas en xullo de 2023, a supervivencia foi do 82% na mesma data.



Figura 7.- Tarefas para a realización do control de supervivencia.

É necesario ter en conta que debido ao parón da pandemia, o estado das estruturas colocadas en 2019 non era o óptimo e algúns dos cestos estaban descolgados e había ostras que estaban en contacto coa lama do fondo. Coa colocación das novas estruturas e o traslado das ostras sobreviventes agardamos incrementar estas porcentaxes de supervivencia.

3. Recrutamento

Un dos feitos primordiais para a recuperación dun banco de ostras é que haxa fixación de larvas que conduza á incorporación de individuos xuvenís á poboación, é dicir que exista recrutamento. Cando comezou este proxecto coa visita á zona onde estaban estabuladas as ostras dende 2019, observouse que tanto nos cestos como nas estruturas de captación, que foran introducidas de xeito simultáneo (sombreiriños chineses e tubos de PVC), había fixación de ostras. O seu pequeno tamaño non permitiu determinar a que especie correspondían, só mediante a observación das características morfolóxicas.



Figura 8.- Estruturas de captación, sombreiriños chineses, con ostras fixadas.

Como alternativa, recorreuse á aplicación de técnicas de bioloxía molecular para a identificación de especies. Para isto recolléronse ao azar 30 individuos xuvenís fixados sobre colectores e, unha vez no laboratorio, fixéronse extraccións de ADN a partires de anacos de branquia. A amplificación de secuencias específicas do ADN ribosómico 5S de cada unha das especies de ostra potencialmente presentes na zona (*Ostrea edulis*, *O. stentina* e *Magallana gigas*) levouse a cabo mediante unha PCR multiplex. Para este ensaio se utilizan tres pares de cebadores deseñados por Cross et al. (2006). O seu uso conxunto nunha única PCR permite a amplificación específica dunha rexión de 800 pares de bases (pb) de *Ostrea edulis* (ostra plana), dunha rexión de 400 pb de *Magallana gigas* (ostra rizada) e doutra de 596 pb de *Ostrea stentina* (ostra anana ou morruncho).

O resultado que se obtivo nestas análises (figura 9) amosou que todos os individuos analizados correspondían á especie *O. stentina*.

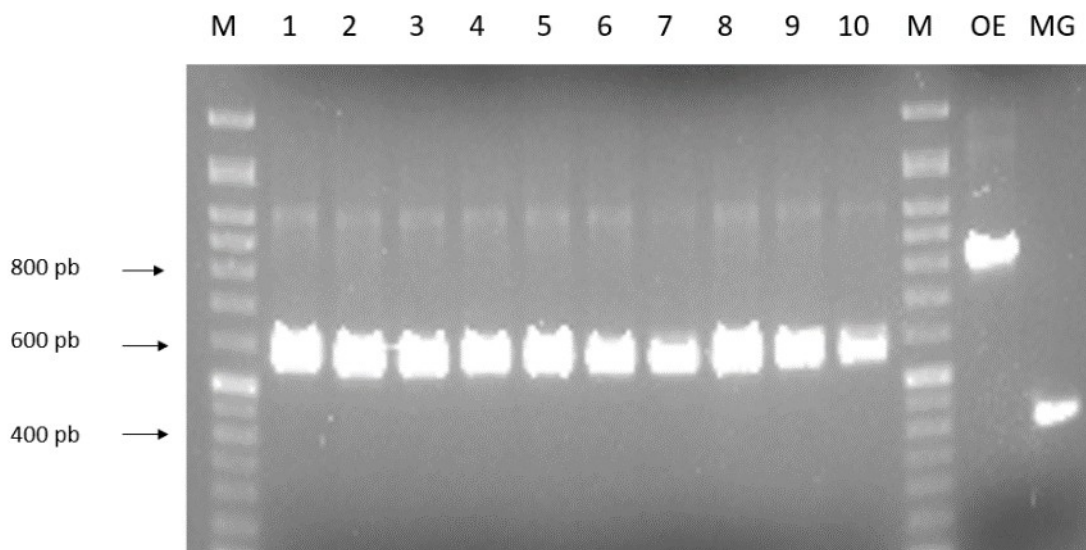


Figura 11.- Análise por electroforese dos produtos obtidos da amplificación do ADNr 5S das ostras fixadas na enseada de San Simón mediante PCR multiplex. Liña M: Marcador de peso molecular. Liñas 1-10 produtos da amplificación das mostras. Liña OE: produto da amplificación do ADN de *Ostrea edulis* utilizado como control positivo. Liña MG: produto da amplificación de ADN de *Magallana gigas* utilizado como control positivo.

Este resultado pode explicarse polo escaso número de reprodutores de ostra plana na zona, xa que os bancos naturais desapareceron por completo. Necesítanse novos estudos para coñecer o desprazamento das larvas dende que son liberadas ata que se fixan. Estas permanecen na columna de auga durante uns 10-12 días e son levadas polas correntes ata que atopan un lugar idóneo para a súa fixación. O estudo dunha estratexia de colocación de colectores que faciliten a captación de ostra plana terá que ser abordada nun futuro proxecto.

3.6.- Estado patolóxico da poboación de reprodutores procedentes de bancos naturais da Enseada de San Simón

A bonamiose é unha enfermidade da ostra plana causada por infeccións dos parasitos protozoos *Bonamia ostreae* e *B. exitiosa* (WOAH, 2023). Esta enfermidade orixinou mortalidades catastróficas durante os anos 1980, contribuíndo ao declive das poboacións de ostra plana a nivel europeo (Sas et al., 2020). Na actualidade estes parasitos están presentes en gran parte do rango xeográfico desta especie e condicionan a viabilidade dos programas de restauración emprendidos. Por elo, resulta fundamental efectuar controles sanitarios dos lotes de ostra introducidos e desenvolver programas de seguimento do estado patolóxico nas poboacións naturais.

No caso de Galicia ámbalas dúas especies de parasitos, *B. ostreae* e *B. exitiosa*, están presentes nas augas das rías (Abollo et al., 2008; informes patolóxicos anuais do INTECMAR: <http://www.intecmar.gal/Informacion/Patoloxia/>), orixinando mortalidades importantes tanto nos bancos naturais como nas instalacións de cultivo. No presente proxecto contemplouse a realización de controles patolóxicos tanto dos reprodutores xa presentes na zona como dos lotes introducidos para reforzar o stock reprodutor, co fin de axudar á toma de decisións e valorar a viabilidade de futuros proxectos de restauración.

En xullo de 2023, programouse a introdución de dous lotes de ostras reprodutoras cedidas polo Instituto Galego de Formación en Acuicultura (IGAFA) e procedentes dun sistema de cultivo suspendido (batea) situado no polígono Cambados-C1 (Ría de Arousa). Previamente ao

movemento das ostras realizouse un exame do estado patolóxico destas ostras e, co fin de valorar o risco que supuña a súa introdución, incluíuse tamén unha mostra correspondente aos reprodutores introducidos en Arcade (Ría de Vigo) en 2019 e que sobreviven na zona aínda a día de hoxe.

Para isto recolléronse mostras de 30 individuos de cada lote e procesáronse mediante técnicas histolóxicas e moleculares, segundo os procedementos que se describen brevemente a continuación.

Unha vez recibidas as ostras no laboratorio e previamente ao seu procesamento rexistrouse a lonxitude dorso-ventral e o peso total de cada exemplar. Para a realización das análises histolóxicas, abríronse as ostras, examinouse o aspecto exterior da carne e do interior da cuncha e retirouse, de cada un dos individuos, un fragmento de vianda duns 5 mm de grosor que contiña lóbulos do manto, masa visceral e branquias. Este fragmento foi fixado con solución de Davidson, deshidratado con alcohois de graduación crecente, aclarado con xileno e incluído en parafina. Realizáronse cortes de 5 micras que foron tinguidos con hematoxilina-eosina de Harris e examinados ao microscopio óptico á busca de parasitos e outras alteracións patolóxicas. Tamén se determinou o sexo de cada individuo e se avaliou o grao de desenvolvemento gonadal.

Por tratarse da principal ameaza sanitaria para as poboacións de ostra plana, o diagnóstico das infeccións por parasitos do xénero *Bonamia* realizado mediante histoloxía (figuras 10 e 11) reforzouse empregando ademais técnicas de bioloxía molecular. Para isto, aproveitando o procesamento histolóxico, extraeuse unha porción de branquia e outra da masa visceral que foron conservadas en etanol de 95°. Posteriormente extraeuse o seu ADN empregando o kit comercial Nucleospin® Tissue Kit (Macherey-Nagel), seguindo as instrucións do fabricante. Realizáronse reaccións en cadea da polimerasa (PCR, nas súas siglas en inglés) empregando cebadores para a amplificación de zonas específicas de *B. ostreae* e *B. exitiosa*, seguindo a metodoloxía descrita por Ramilo e col. (2013). Os produtos da PCR foron analizados mediante electroforese en xeles de agarosa (figura 12).

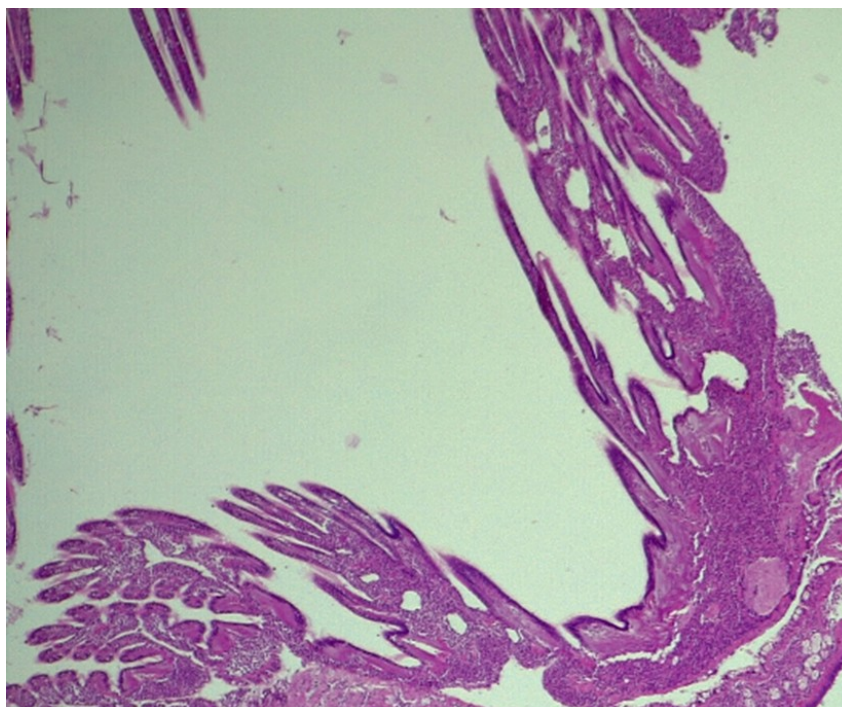


Figura 10.- Imaxe dun corte histolóxico (50x) de branquia de *Ostrea edulis* cunha inflamación producida pola presenza de *Bonamia* sp.

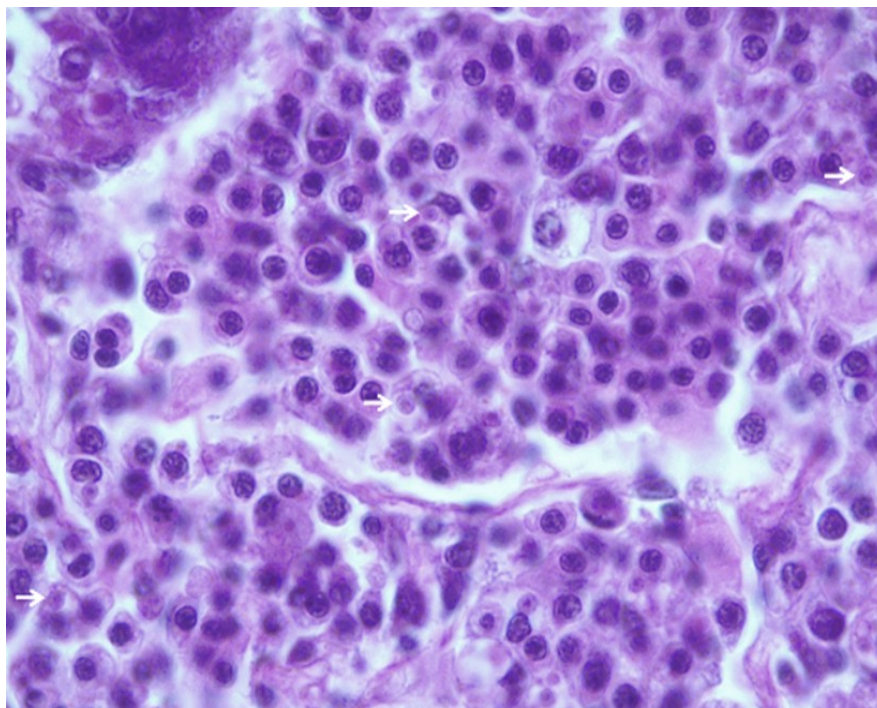


Figura 11.- Imaxe a maior aumento do mesmo corte histolóxico da figura 12 (1000x) no que se observa que a inflamación corresponde a unha infiltración hemocitaria en resposta á presenza de microcélulas de *Bonamia* sp. (frechas).

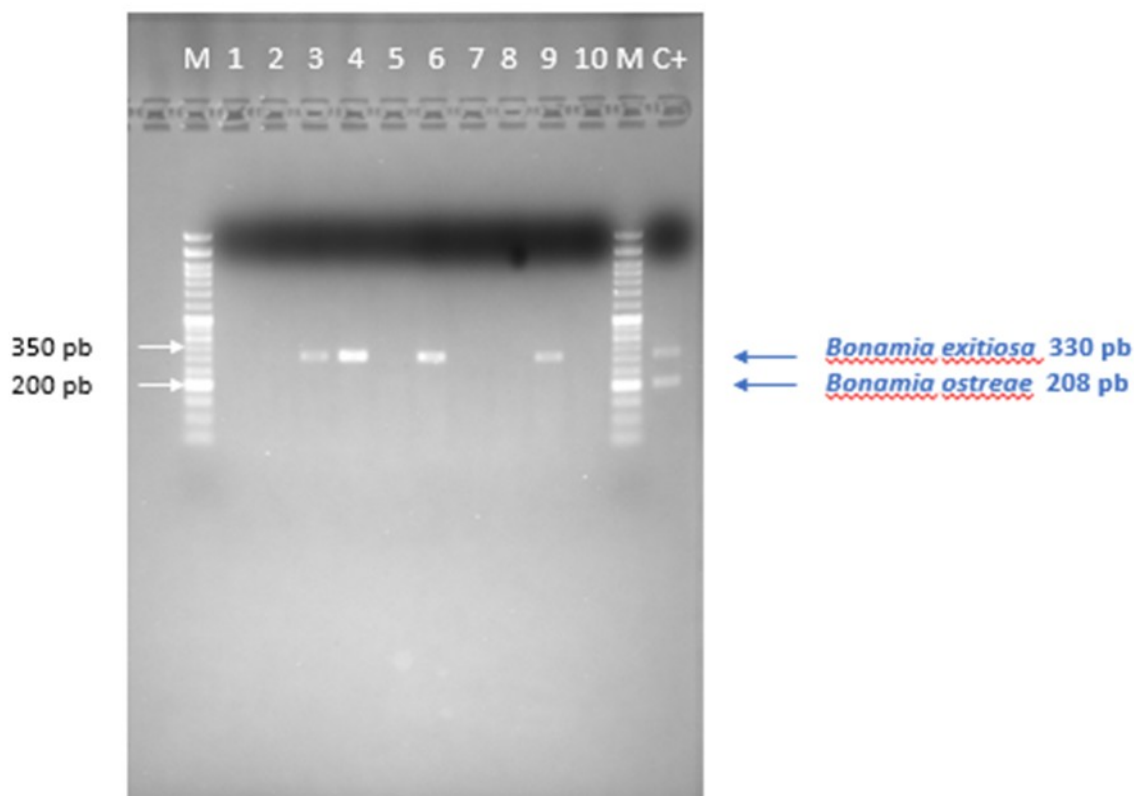


Figura 12.- Análise por electroforese dos produtos obtidos da amplificación do ADN extraído de 10 mostras de *Ostrea edulis* mediante PCR multiplex para a detección de *Bonamia* sp. Liña M: Marcador de peso molecular. Liñas 1-10 produtos da amplificación das mostras. Liña C+: produto da amplificación do ADN de *Ostrea edulis* infectada con *B. ostreae* e *B. exitiosa* utilizado como control positivo.

Resultados dos controis patolóxicos

No recoñecemento macroscópico das ostras non se detectou ningunha anormalidade especialmente destacable. Na táboa 2 móstranse para cada mostra os valores medios das variables biométricas e os resultados diagnósticos referidos á bonamiose, que corresponderon unicamente a infeccións do parasito *Bonamia exitiosa*. Non se detectaron outros parasitos ou alteracións patolóxicas relevantes.

Táboa 2.- Caracterización biométrica e diagnósticos de infeccións por parasitos do xénero *Bonamia* nas mostras analizadas en xullo de 2023 antes da introdución de novos lotes de reprodutores.

Mostra	Lonxitude (mm)	Peso (g)	Histoloxía:	PCR:	Frecuencia
			Frecuencia <i>Bonamia</i> sp. (%)	Frecuencia <i>Bonamia exitiosa</i> (%)	global (%)
Reprodutores Arcade (2019)	77,1 ± 1,4	67,13 ± 4,05	23	23	30
Lote IGafa (2021)	69,4 ± 1,6	24,33 ± 1,68	7	7	10
Lote IGafa (2022)	64,9 ± 1,5	27,10 ± 1,52	3	3	3

A lonxitude e o peso indican a media ± erro estándar.

Mediante histoloxía non resulta posible concluír a especie de *Bonamia* detectada.

A frecuencia global calcúlase considerando como infectados os exemplares diagnosticados como positivos por algunha das dúas técnicas (histoloxía e PCR).

Conclusións

- Os tres lotes analizados presentaban infeccións por parasitos do xénero *Bonamia*.
- Todos os casos positivos correspondían a infeccións por *Bonamia exitiosa*.
- As maiores frecuencias (>20 %) detectáronse nas ostras reprodutoras presentes en Arcade (Ría de Vigo) dende o ano 2019. Os lotes procedentes da batea do IGafa (Ría de Arousa) presentaban frecuencias máis baixas (< 10 %).
- A frecuencia de *Bonamia* sp. nas ostras cedidas polo IGafa resultou ser inferior á das ostras estabuladas en Arcade dende 2019, e como as primeiras non presentaban ningunha outra patoloxía digna de mención, procedeuse a súa instalación na enseada de San Simón en xullo de 2023.
- Nun futuro proxecto cómpre seguir controlando todas as ostras que se introduzan no sistema, pero tamén verificando a mortalidade e a evolución do estado sanitario das ostras xa presentes na enseada de San Simón.
- En caso de que presenten unha taxa de supervivencia elevada as ostras superviventes poden constituír un stock reprodutor axeitado para o seu emprego no criadeiro de cara a producir ostras que se poidan transplantar ás zonas que se pretenden restaurar.

3.7.- Divulgación do proxecto entre os colectivos de mariscadoras e mariscadores a pé e dende embarcación

Un dos obxectivos principais do proxecto era o da súa divulgación entre os colectivos de profesionais do marisqueo a pé e á frote. Para iso realizáronse dúas xornadas, unha primeira xuntanza que se realizou no inicio do período de execución do proxecto e outra ao seu remate. Ámbalas dúas tiveron lugar no salón de actos da Federación Provincial de Confrarías de Pescadores de Pontevedra.

Na xornada de presentación do proxecto amosáronse os traballos que se ían a realizar por parte da Confraría de Pescadores de Arcade, a cargo da asistencia técnica da entidade, e as

actividades de asesoramento científico por parte do persoal investigador do CIMA. Na xornada final presentáronse os resultados alcanzados así como unha achega de ideas para a elaboración dun novo proxecto que dese continuidade a PreOSTREARES durante o período 2024-2027. Nas dúas xornadas o tempo de debate posterior ás presentacións foi moi enriquecedor, constatándose que existe un grande interese por parte dos colectivos de profesionais e que o proxecto obtivo a difusión que se esperaba entre eles. Na seguinte figura amósanse varias fotografías do evento.

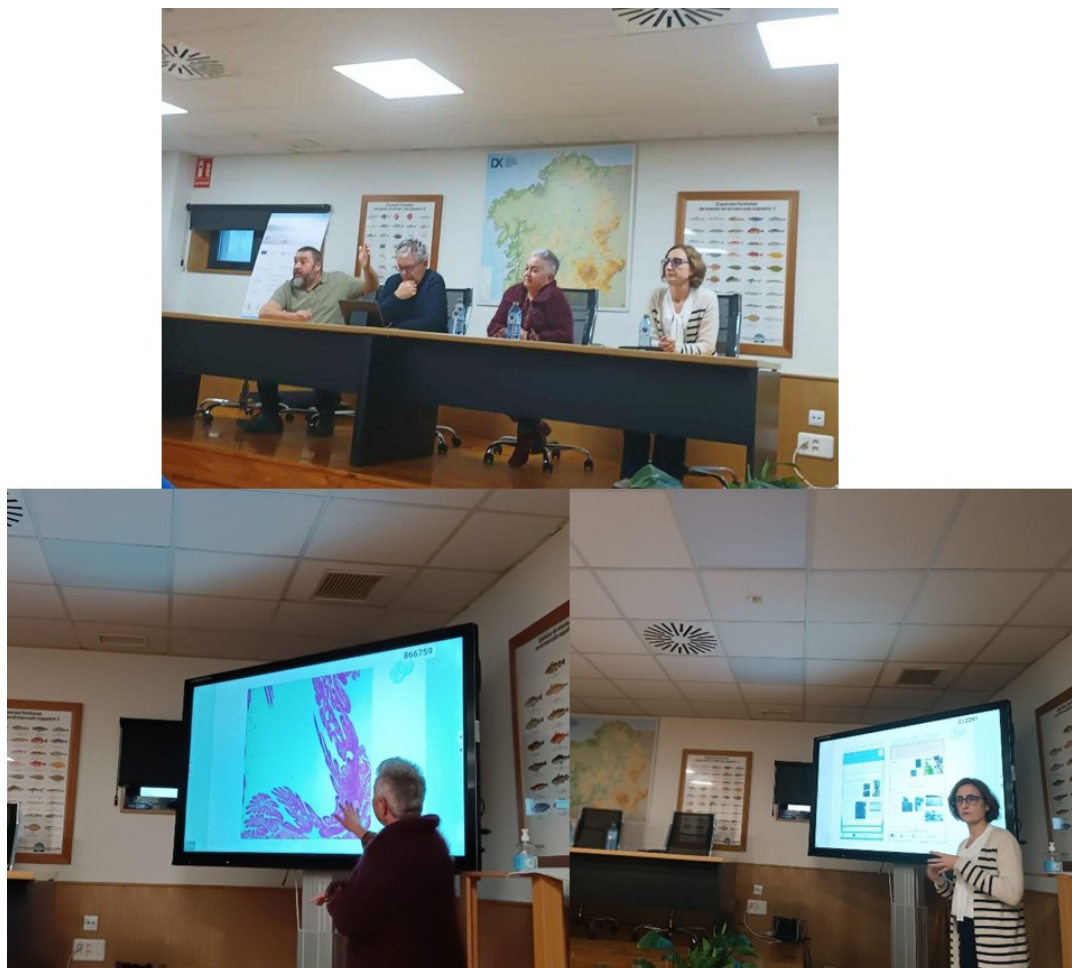


Figura 13.- Fotografías da xornada final de divulgación de resultados.

Ademais destas dúas xornadas de divulgación, o proxecto tamén se presentou no I Simposio de Técnicos de Marisqueo (SITEM) que tivo lugar en Santiago o 22 de Xuño de 2023. A presentación foi realizada pola asistencia técnica de Confraría de Arcade (figura 14).



SiTeM Simposio de Técnicos de Marisqueo

Establecemento das bases para a restauración dos bancos naturais de ostra plana (*Ostrea edulis*, Linnaeus 1758) na enseada de San Simón (Ría de Vigo).
PreOSTREARES

Autoría da presentación: Eduardo Pérez Corbacho. Cofradía Pescadores Arcade

XUNTA DE GALICIA | UNIÓN EUROPEA | CIMA | REDEMAR

Figura 14.- Presentación do proxecto no SITEM.

No mes de outubro, o persoal técnico do CIMA participou no Foro dos Recursos Mariños e da Acuicultura da Rías Galegas coa presentación do traballo "Estudo preliminar para a execución dun proxecto de restauración de ostra plana na enseada de San Simón" (figura 15).

No mes de novembro asistíuse á V Conferencia da Alianza para a Restauración da Ostra Nativa (en adiante NORA) que tivo lugar en Middelburg (Países Baixos), coa presentación do traballo "Pilot project for the restoration of native flat oyster beds in San Simón inlet (Galicia, NW Spain)" (figura 16). O proxecto PreOSTREARES foi convidado para facer unha presentación oral.

NORA apoia a protección e a restauración ecolóxica da ostra nativa europea, *Ostrea edulis*, e o seu hábitat en áreas da súa distribución actual ou histórica. NORA busca apoiar prácticas de restauración responsable, cumprindo coa bioseguridade e a sustentabilidade, proporcionando unha plataforma para que a comunidade colabore e participe no intercambio de coñecementos.

Ademais de coñecer varios equipos internacionais, durante o congreso tívose a oportunidade de intercambiar opinións co persoal doutro proxecto de restauración que está actualmente en marcha en España, concretamente no Mar Menor en Murcia, abríndose o camiño para futuras colaboracións.

Estudo preliminar para a execución dun proxecto de restauración de ostra plana na enseada de San Simón



Cervino-Otero A.¹ Pérez E.² González-Fontenla A.¹ Ortega M.¹ Iglesias D.¹ Villalba A.¹ e Gabín-Sánchez C.¹

¹ Centro de Investigacións Mariñas (Xunta de Galicia). Pedras de Corón, s/n. 36620 Vilanova de Arousa. ana.cervino.otero@xunta.gal

² Confraría de Pescadores Virxe do Carme de Arcade. Rúa do Peirao s/n 36690 Arcade

INTRODUCCIÓN

Os bancos naturais de ostra plana (*Ostrea edulis*, Linnaeus 1758) das rías galegas amosaron sinais alarmantes de esgotamento xa dende mediados do século pasado. A causa principal foi a sobreexplotación, pero tamén contribuíron as enfermidades introducidas, como a bonamiose, que provocou mortalidades catastróficas, como ocorreu en toda a costa atlántica europea. Co fin de recuperar os bancos naturais de ostra plana da enseada de San Simón, unha das zonas con maior produción de ostra plana de Galicia no pasado, iniciouse un proxecto de restauración que ten como obxectivo final recuperar a captura sostible de ostra plana nesta zona e fortalecer os beneficios para o ecosistema que brinda esta especie.

OBXECTIVOS

- Localizar e delimitar en mapas da zona os bancos naturais existentes ou históricos
- Verificar a existencia ou non de captación natural en colectores que foran instalados previamente
- Localizar e delimitar a zona máis adecuada para a instalación dun sistema de establecemento de reprodutores

MATERIAIS E MÉTODOS

Realizáronse 30 enquisas entre as persoas do sector pesqueiro da zona para a recollida de información sobre os bancos naturais de ostra plana (Fig. 1).

Para determinar a mellor zona para a instalación do sistema de establecemento de reprodutores realizouse unha saída de campo onde se tomaron os principais parámetros fisicoquímicos en varios puntos dos bancos naturais da enseada de San Simón. Ademais, recolléronse 30 exemplares xuvenís de ostra de antigos colectores co fin de caracterizar a especie con técnicas moleculares (Fig. 2). A amplificación de secuencias específicas para cada unha das especies levouse a cabo mediante PCR multiplex. Neste ensaio utilizáronse tres pares de primers deseñados por Cross *et al.*, (2006). O seu uso conxunto nunha única PCR permite a amplificación específica dunha secuencia de 800 pb de *O. edulis*, dunha de 400 bp da ostra rizada *Magallana gigas* e doutra de 596 pb da ostra anana ou morruncho *Ostrea stentina*.

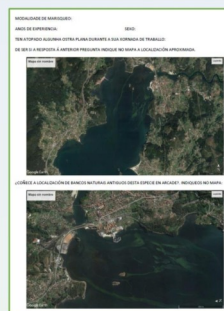


Fig. 1: Enquisa

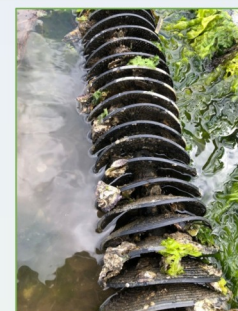


Fig. 2: Colectores

RESULTADOS E CONCLUSIÓNS

Os datos recollidos nas enquisas amosan que só as persoas con máis de 5 de anos de experiencia lembran observar algún exemplar de ostra plana nos bancos marisqueiros da confraría de Arcade. De acordo con esta información, as zonas onde foi visto algún exemplar indícanse cun "X" na figura 3. Esta información terase en conta en futuras actuacións nas que se leve a cabo a instalación de colectores.

Mediante PCR con primers específicos das especies *O. edulis*, *O. stentina* e *M. gigas*, comprobouse que o 100% dos individuos recollidos nos antigos colectores pertencían á especie *O. stentina* (Fig. 4).



Fig. 3: Localización da zona de establecemento de reprodutores (frecha amarela). Zonas nas que se observaron exemplares de ostra plana no pasado (X).

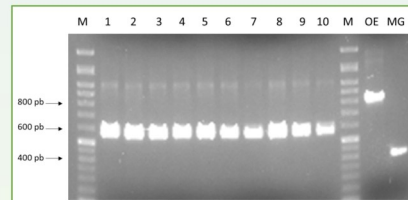


Fig. 4: Análise por electroforese dos produtos obtidos da amplificación do ADN das ostras fixadas nos colectores na enseada de San Simón mediante PCR multiplex. Liña M: Marcador de peso molecular. Liñas 1-10 produtos da amplificación das mostras. Liña OE: produto da amplificación do ADN de *O. edulis* utilizado como control positivo. Liña MG: produto da amplificación de ADN de *M. gigas* utilizado como control positivo.

Tendo en conta os resultados da saída de campo, así como os coñecementos da zona proporcionados pola asistencia técnica da confraría e polo persoal técnico da Consellería, decidiuse que a zona de establecemento de reprodutores será no banco Río Alvedosas VI172 (Fig. 3).

BIBLIOGRAFÍA

Cross, I., Rebordinos, L. e Diaz, E. (2006). Species Identification of Crassostrea and Ostrea Oysters by Polymerase Chain Reaction Amplification of the 5S rRNA Gene. *J. AOAC Int.* Vol. 89, Nº 1, 144-148



Pilot project for the restoration of native flat oyster beds in San Simón inlet (Galicia, NW Spain)

Cervino-Otero A.¹, Pérez E.², González-Fontela A.¹, Iglesias D.¹, Villalba A.¹, Ortega M.¹ and Gabín-Sánchez C.¹

¹ Centro de Investigacións Mariñas (Xunta de Galicia). Pedras de Corón, s/n. 36620 Vilanova de Arousa (Galicia, Spain). ana.cervino.otero@xunta.gal

² Confraría de Pescadores Virxe do Carme de Arcade. Rúa do Peirao s/n 36690 Arcade (Galicia, Spain)

INTRODUCTION

Natural beds of flat oyster (*Ostrea edulis*, Linnaeus 1758) began to disappear from Galician (NW Spain) rias (local name for estuaries) in the middle of the last century due to overfishing, which was heightened by introduced diseases. Bonamiosis caused catastrophic mortalities, contributing to the decline of this species since 1980s, as it occurred throughout the Atlantic European coast.



Location of the San Simón inlet (NW of Spain)



Structure and oysters in 2023

In 2019, the oyster producers began an intuitive restoration trial by which they introduced some adult oysters in a homemade system. These oysters were not monitored due to COVID and also they suffered from severe floods during 2021. Surprisingly, numerous oysters are still alive.

Promising previous results + Interest of shellfishers + Funding opportunities from research agencies

FEASIBILITY STUDY (June-November 2023)

OBJECTIVES

To acquire knowledge about the state of the natural oyster beds: location and health/demographic condition.
To reinforce the oyster broodstock by introducing adult oysters, which are deployed in manageable structures.
To disseminate information on the project among shellfish harvesters to involve them in the restoration activities.

ACTIVITIES

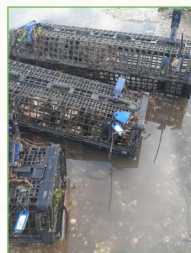
A survey searching for information on oyster bed location involved 30 shellfishers. The area was visited several times to assess oyster occurrence.

No natural oyster beds were found and only those harvesters with more than 5 years of activity remember any oysters in the area.

Histological and molecular (PCR) analyses were performed in a sample of the oyster batch introduced in 2019. *Bonamia exitiosa* was detected in 23% of the oysters, by both diagnostic techniques.



Oysters produced in the IGFA



Oysters in the baskets



Longline system



Shellfish harvesters working with the oysters

An intertidal system with a capacity to suspend 200 baskets from a longline was installed. 1500 adult oysters produced in the Galician Aquaculture Training Institute (IGFA, Illa de Arousa) were set in the baskets as a first trial to test the validity of the structure. A new deployment of 5000 oysters will be performed soon.

Natural beds information + Broodstock maintaining system + Encouraging and involving shellfishers in the project + Funding from research agencies

PILOT PROJECT DESIGNING (3 years, 2024-2026)



Cofunded by the EMFF in a 75%. Spanish P.O. 2014ES14MFOP001 (Priority 1 – OE1.e) – measure1.5.2.). MIB: D.X. Desenvolvemento Pesqueiro"

Figura 16.- Comunicación presentada na V Conferencia NORA en Middelburg.



BIBLIOGRAFÍA

Abollo, E., Ramilo, A., Casas, S. M., Comesaña, P., Cao, A., Carballal, M. J., Villalba, A., 2008. First detection of the protozoan parasite *Bonamia exitiosa* (Haplosporidia) infecting flat oyster *Ostrea edulis* grown in European waters. *Aquaculture*, 274: 201-207. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.11.037>

Cross, I., Rebordinos, L., Diaz, E., 2006. Species Identification of *Crassostrea* and *Ostrea* Oysters by Polymerase Chain Reaction Amplification of the 5S rRNA Gene. *Journal of AOAC INTERNATIONAL*, 89: 144-148. <https://doi.org/10.1093/jaoac/89.1.144>.

Ramilo, A., Navas, J. I., Villalba, A., Abollo, E., 2013. Species-specific diagnostic assays for *Bonamia ostreae* and *B. exitiosa* in European flat oyster *Ostrea edulis*: conventional, real-time and multiplex PCR. *Diseases of Aquatic Organisms*, 104: 149-61. <https://doi.org/10.3354/dao02597>

Sas, H., Deden, B., Kamermans, P., zu Ermgassen, P. S. E., Pogoda, B., Preston, J., Helmer, L., Holbrook, Z., Arzul, I., Have, T., Villalba, A., Colsoul, B., Lown, A., Merk, V., Zwerschke, N., Reuchlin, E., 2020. *Bonamia* infection in native oysters (*Ostrea edulis*) in relation to European restoration projects. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 30: 2150-2162. <https://doi.org/10.1002/aqc.3430>

WOAH, 2023. World Organisation for Animal Health Aquatic Manual. <https://www.woah.org/en/what-we-do/standards/codes-and-manuals/aquatic-manual-online-access/>