

Universidad Nacional

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Escuela de Ciencias Biológicas

**Licenciatura en Biología con Énfasis en Manejo de Recursos Marinos y
Dulceacuícolas**

Informe Escrito Final

**Comprobación taxonómica de la Familia Urotrygonidae en el Pacífico
Norte de Costa Rica utilizando herramientas morfológicas y genéticas**

**Tesis de grado presentada como requisito parcial para optar al
grado de Licenciatura en Biología con Énfasis en Manejo de Recursos
Marinos y Dulceacuícolas**

B.Sc. Debbie López Núñez

Campus Omar Dengo

Heredia, 2020

Este trabajo de graduación fue _____ por el Tribunal Examinador de la Escuela de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional como requisito parcial para optar por el grado de Licenciatura en Biología con énfasis en Manejo de Recursos Marinos y Dulceacuícolas.

Grado Académico, nombre

Presidente del Tribunal

Grado Académico, nombre

Director de la Escuela de Ciencias Biológicas

Grado Académico, nombre

Tutor(a)

Grado Académico, nombre

Asesor(a)

Grado Académico, nombre

Invitado(a) especial

Agradecimientos

Quisiera agradecer a cada una de las personas y organizaciones que me han apoyado y acompañado de una u otra manera durante este proceso.

En primer lugar, a mi madre por ese respaldo incondicional, la ayuda y confianza depositada en mí para cumplir con los propósitos y sueños. A Alonso Alvarado y Erick Díaz, por mostrar su apoyo incondicional, animarme en los momentos difíciles, permanecer siempre a mi lado en cada etapa y ayudarme cuando lo requería. También a José Andrés Vargas, principalmente por el apoyo técnico brindado para realizar las giras de campo.

A Rodolfo Umaña, quien se convirtió en un tutor más que un asesor, por ser la guía que necesitaba para terminar este proyecto, por la constancia, entrega y tiempo invertido. A Bernal Moreira y Sebastián Hernández por el tiempo invertido.

A la Universidad Veritas y Alejandra Barahona por facilitarme las instalaciones y suministros del Laboratorio de biología molecular para procesar las muestras. A José Luis Molina, por todos esos días llenos de emoción, alegría y paciencia al enseñarme todo lo referente al laboratorio. A Sebastián Guardia, quien ha sido una pieza fundamental en este camino, gracias por todos esos días de campo y resistir hasta el final, fortaleciendo cada día nuestra amistad. A Roy Saravia, por esos días de “lacayo” (junto con Gianmarco Bettoni) en campo, los mapitas y el apoyo.

Finalmente, agradecer al Museo de Zoología de la UCR y a Mario Espinoza por la disposición a ayudar y conceder la aprobación para utilizar los datos del museo para robustecer este estudio.

Dedicatoria

En memoria de mí abuelo, quien me hizo la persona que soy hoy en día. Ese entusiasmo mostrado con cada cosa que te mostraba, me inspira cada día a perseguir y alcanzar mis sueños, sin importar lo lejos que parezcan, Infinitas gracias.

Índice

Miembros del tribunal.....	I
Agradecimientos	II
Dedicatoria.....	III
Índice.....	IV
Índice de cuadros	V
Índice de figuras.....	VI
Abreviaturas o acrónimos	VII
Resumen.....	VIII
1. Introducción	1
1.1. Antecedentes	1
1.2. Justificación.....	5
1.3. Planteamiento del problema a investigar	6
1.4. Objetivos	6
1.4.1. Objetivo general	6
1.4.2. Objetivos específicos.....	7
2. Marco teórico	7
3. Marco metodológico	15
4. Resultados	24
5. Discusión.....	41
6. Conclusiones	49
7. Recomendaciones	49
8. Referencias bibliográficas.....	50
9. Anexos	62

Índice de cuadros

Cuadro 1.....	22
Cuadro 2.....	23
Cuadro 3.....	36

Índice de figuras

Figura 1	16
Figura 2	17
Figura 3	18
Figura 4	20
Figura 5	25
Figura 6	25
Figura 7	30
Figura 8	32
Figura 9	32
Figura 10	34
Figura 11	35
Figura 12	37
Figura 13	38
Figura 14	41
Figura 15	44

Abreviaturas o acrónimos

COI	Subunidad 1 del Citocromo Oxidasa
NADH ₂	Nicotinamida Adenina Dinucleótido
FACA	Fauna acompañante
UICN	Lista Roja de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza
BIOMOL	Laboratorio de Biología Molecular
CPIES	Centro de Programas Internacionales y Estudios de Sostenibilidad
ACG	Área de Conservación Guanacaste

Resumen

Para establecer medidas de manejo y protección eficaces es primordial identificar de manera correcta las especies. Clasificar erróneamente las especies, podría generar datos incorrectos sobre el estado actual de sus poblaciones y su vulnerabilidad. Algunas especies de la Familia Urotrygonidae presentan características morfológicas muy similares, lo cual dificulta su identificación taxonómica. En el Pacífico Norte de Costa Rica, se estudiaron 8 morfotipos diferentes de rayas pertenecientes a la familia Urotrygonidae, donde la presencia de características morfológicas, como la forma de su disco y presencia/ausencia de manchas y espinas, ha puesto en duda su identificación visual. Para confirmar la identificación de éstas, se realizaron análisis morfométricos y genéticos basados en la región mitocondrial NADH2 (ADN Barcoding). Asimismo, se generó una clave dicotómica y una guía de identificación basada en fotografías y principales características morfológicas, con el propósito de crear una herramienta que ayude a identificar las especies que se distribuyen en el Pacífico de Costa Rica. Se identificaron cuatro especies del género *Urotrygon* (*U. chilensis*, *U. rogersi*, *U. cimar* y *U. aspidura*) y una especie del género *Urobatis* (*U. pardalis*). Además, se confirmó que existen diferentes patrones de coloración entre individuos de la misma especie; por ejemplo, en *U. chilensis* y *U. rogersi* es posible observar una coloración dorsal café oscuro o café pálido. De manera similar, *U. chilensis* puede presentar manchas o lunares en la parte dorsal del disco, que van desde café oscuro hasta amarillo. Descripciones ambiguas como “hocico largo” o “disco relativamente ancho” en claves dicotómicas, creó controversia al distinguir entre especies que compartían características y relaciones morfométricas muy similares. Por esta razón, la identificación taxonómica basada en análisis genéticos puede ser clave. Por lo tanto, se recomienda utilizar de manera complementaria las técnicas moleculares y los análisis morfológicos para identificar especies.

1. Introducción

1.1. Antecedentes

La clase Chondrichthyes está dividida en dos subclases: Holocephalii, comprendida por las quimeras o tiburones fantasma y Elasmobranchii, conformada por las rayas y tiburones (Carrier, Musick, & Heithaus, 2012; Del Moral & Pérez, 2013). A su vez, la subclase Elasmobranchii se divide en los superórdenes Squalomorphi y Batoidea, que corresponden a tiburones y rayas, respectivamente (Bustamante, Bennett, & Ovenden, 2016; Last et al., 2016).

Durante muchos años, las investigaciones científicas sobre los batoideos, han sido escasas, lo cual se debe principalmente a que éstas se han centrado en tiburones (Ferretti, Worm, Britten, Heithaus, & Lotze, 2010). La falta de información sobre aspectos básicos de biología y ecología de los batoideos, ha dificultado la gestión de planes de manejo eficaces (Vaudo, 2011; White, Simpfendorfer, Tobin, & Heupel, 2014). Aunado a esto, la inexactitud con respecto a la identificación taxonómica de especies, ha obstaculizado la correcta recopilación de información acerca de ciertas especies (Cerutti-Pereyra et al., 2012).

Un ejemplo de lo mencionado anteriormente es lo ocurrido con algunas familias de tiburones de profundidad (Centrophoridae, Somniosidae, Etmopteridae, Oxynotidae, Dalatiidae, Scyliorhinidae, Mitsukurinidae, Chlamydoselachidae y Hexanchidae), quienes han mostrado la presencia de características morfológicas similares y, añadido a esto, las descripciones ambiguas de especies, ha dificultado su identificación taxonómica (Moura, Silva, & Figueiredo, 2015). De igual manera, rayas pertenecientes a familias como Rajidae, Rhinopteridae, Mobulidae y Aetobatidae, han presentado dificultad para identificarlas, debido a su similar morfología, incluso, en algunos casos se les ha llamado “complejo de especies”, tal es el caso de *Manta bancroft*, *Aetobatus blainville* y *Rhinoptera cuvier* (Jones et al., 2017; Serra-Pereira, Moura, Griffiths, Serrano Gordo, & Figueiredo, 2011).

Es importante de destacar que, en el grupo de los Condrictios (tiburones, rayas y quimeras), gran parte de los estudios se centraron en análisis morfológicos, dirigidos a especies de interés comercial o capturadas por diferentes métodos de pesca de manera incidental (Stobutzki, Miller, Heales, & Brewer, 2002). Por ejemplo, Milessi, Vögler y Bazzino (2001) realizaron la identificación de especies del género *Squatina* distribuidas en aguas Uruguayas, debido a que *Squatina guggenheim*, *Squatina argentina* y *Squatina occulta* eran confundidas por la gran

similitud morfológica entre ellas, lo cual ocasionó que estas tres especies fueran identificadas como una sola, es decir, como *S. argentina*. Para esto, se tomaron en cuenta caracteres morfológicos externos tales como: a) la presencia o ausencia de una fila medio-dorsal de espinas, b) forma y tamaño de la aleta pectoral, y c) patrón de coloración de la superficie dorsal. En este estudio se confirmó la presencia de las tres especies antes mencionadas dentro de la Zona Común de Pesca Argentino-Uruguaya (ZCPAU), con lo que se realiza el primer registro de *S. occulta* para la zona. Debido a los problemas generados por la mala identificación de especies, no es posible determinar cuál especie posee una mayor vulnerabilidad ante la presión pesquera dentro de esta zona.

Similar a lo anterior, en la Familia Urotrygonidae, se han realizado reportes de especies nuevas basado únicamente en características morfológicas, tal es el caso de Miyake y McEachran (1988), quienes describieron tres especies nuevas del género *Urotrygon* (*Urotrygon nana*, *Urotrygon reticulata* y *Urotrygon simulatrix*) en la costa Pacífica de Panamá. Mientras que Del Moral-Flores, Angulo, López y Bussing (2015) reportaron una nueva especie del género *Urobatis* (*Urobatis pardalis*) en el Pacífico Oriental Tropical (Costa Rica). Adicionalmente, Mejía-Mercado (2006) realizó un estudio sobre los aspectos taxonómicos y biológicos de las rayas *Urotrygon rogersi* y *Urotrygon aspidura*, basados en análisis morfológicos en el Pacífico vallecaucano (Colombia). Los especímenes fueron colectados directamente de faenas de pesca, los cuales fueron identificados basados en caracteres morfológicos y mediciones morfométricas. Este estudio determinó que la mayoría de medidas morfométricas no son útiles para identificar especies pertenecientes al género *Urotrygon*, contrario a lo que ocurre con los caracteres morfológicos. Diferencias en coloración, ángulo rostral, forma de la aleta caudal, aguijones, y espina de la cola, entre otras, son caracteres diagnósticos para identificar entre las especies (Last et al., 2016; Mejía-Mercado, 2006).

A pesar de que tradicionalmente se ha utilizado la morfología para identificar especies, esto ha generado controversias a nivel taxonómico (Pampoulie & Daniélsdóttir, 2008). Last y colaboradores (2016) menciona que las descripciones de algunas especies son muy breves o ambiguas e incluso, otros solo cuentan con descripciones a nivel de familia, lo cual tiene un valor muy limitado a nivel taxonómico. Es por esta razón que, en los estudios más recientes se utiliza una combinación entre técnicas moleculares y morfológicas para identificar especies, con el fin de resolver conflictos taxonómicos y así, abordar temas de gestión y conservación de especies (Ferrette et al., 2019; Last et al., 2016).

Varios estudios realizados con técnicas moleculares en elasmobranquios, utilizaron el gen mitocondrial de la subunidad I de Citocromo Oxidasa (COI) por ser un efectivo marcador molecular para la identificación de muchas especies de diversos taxones (Borsa, 2017; Cariani et al., 2017; Moura et al., 2008; Ruocco, Lucifora, Díaz De Astarloa, Mabragaña, & Delpiani, 2012). Por ejemplo, Roucco y colaboradores (2012) describieron una nueva especie de raya en el Atlántico occidental: *Myliobatis ridens sp. nov.* (Myliobatidae, Myliobatiformes) utilizando mediciones morfométricas y análisis moleculares (COI).

Sin embargo, se ha determinado que la región mitocondrial Nicotinamida Adenina Dinucleótido (NADH2) es la más adecuada para los condriictios (Henderson, Reeve, Jabado, & Naylor, 2016). Naylor y colaboradores (2012) realizaron uno de los estudios de mayor relevancia sobre la identificación taxonómica de elasmobranquios, a través del análisis de secuencias del gen NADH2. Se analizaron 4283 especímenes, representando 574 especies, de los cuales 269 corresponden a batoideos. Las secuencias de cada una de las 574 especies fueron ingresadas en la base de datos de GenBank, además se ingresaron 11 secuencias pertenecientes al género *Bathyraja* spp. el cual es considerado como un complejo problemático, debido a que la identificación taxonómica no está clara. Los resultados obtenidos mostraron una cantidad sustancial de diversidad genética previamente no documentada en elasmobranquios, lo que sugiere 79 taxones potencialmente nuevos, de los cuales 38 corresponden a tiburones y 41 a batoideos. Además, se realizó una comparación general de la variación promediada entre especies y géneros utilizando las regiones NADH2 y COI, las cuales sugieren que dentro del taxón las divergencias son comparables para los dos genes, ya que ambos son de origen mitocondrial.

Asimismo, Henderson, Reeve, Jabado y Naylor (2016) realizaron una evaluación taxonómica de 1487 especímenes de elasmobranquios, representando 52 especies. Utilizaron un fragmento de 829 pares de bases del gen NADH2. La mayoría de los taxones exhiben grandes distancias genéticas con respecto a sus congéneres. No obstante, especies como *Mobula kuhii* y *Mobula eregoodootenke* mostraron distancias genéticas muy bajas, y el análisis filogenético no pudo distinguir entre las especies, lo cual se creyó que pudo deberse a eventos de hibridación. Además, se evidencia la existencia de dos especies de peces guitarra previamente reportadas, pero sin describir (*Acroteriobatus* sp. y *Rhinobatos* sp.). También, los autores revelaron una fuerte especiación críptica dentro de *Rhynchobatus djiddensis* y una formación de dos grupos geográficamente distintos en *Himantura gerradi*. Con este estudio se refuerza la existencia de divisiones taxonómicas según la distribución geográfica, lo cual puede

ser producto de una especiación críptica o bien, divisiones de una población dentro de una misma especie.

Por otra parte, Last, Naylor y Manjaji-Matsumoto (2016) desarrollaron una revisión de la Familia Dasyatidae basada en caracteres morfológicos y análisis genéticos. Esta investigación formó parte del proyecto "Tree of Life for Chondrichthyan fishes" (<https://sharksrays.org/>), donde se compiló información morfológica, incluyendo fotografías de 89 especies. Adicionalmente, se tomaron muestras de tejido de diversos géneros con el fin de secuenciar la región NADH2. Se establecen géneros nuevos como *Megatrygon*, *Telatrygon*, *Brevitrygon*, *Fluvitrygon*, *Fontitrygon*, *Maculabatis*, *Pateobatis*, *Bathytoshia*, *Hemitrygon* e *Hypanus*. Por lo tanto, se proporciona una reclasificación de la Familia Dasyatidae.

Cabe resaltar que los estudios dirigidos a rayas en Costa Rica son escasos, alcanzando aproximadamente el 12% (Espinoza, Díaz, Angulo, Hernández, & Clarke, 2018). Los principales enfoques que han tenido dichas investigaciones han sido en la elaboración de catálogos de las especies (Cortés et al., 2012), ecología espacial (Sibaja-Cordero, 2008), descripción de especies nuevas (Concha, Ebert, & Long, 2016; Del Moral-Flores et al., 2015) y pesquerías (Arauz, Lopez, & Zanella, 2010; Benavides, Brenes R, & Márquez A, 2014; Clarke, Espinoza, Ahrens, & Wehrtmann, 2016; Clarke, Espinoza, & Wehrtmann, 2014; Dapp, Arauz, Spotila, & O'Connor, 2013; Espinoza, Clarke, Villalobos-Rojas, & Wehrtmann, 2013; López-Garro, Arauz, Zanella, & Le Foulgo, 2009; López-Garro & Zanella, 2015).

En Costa Rica, las rayas son parte de la fauna acompañante de algunas pesquerías (Benavides et al., 2014; Clarke et al., 2016; Espinoza et al., 2018). Sin embargo, la mayoría de estas capturas no son reportadas a nivel de especie (Last, et al., 2016). La presencia de características morfológicas similares entre algunas especies, hace difícil la identificación taxonómica en campo. Por lo tanto, con este estudio se pretende clarificar el estado taxonómico de los batoideos de la Familia Urotrygonidae presentes en el Pacífico Norte de Costa Rica, por medio de análisis morfológicos y genéticos. Al generar este tipo de información, se espera contribuir con la gestión y conservación de rayas en nuestro país y a su vez, brindar un aporte útil para identificación de rayas redondas de manera rápida y precisa en campo, lo cual podría ser una herramienta valiosa durante los desembarques pesqueros.

1.2. Justificación

Los elasmobranchios (rayas y tiburones) son organismos sumamente vulnerables a cambios que ocurren en su entorno, debido principalmente características de historia de vida como maduración tardía y baja tasa de fecundidad (Shepherd & Myers, 2005). Es por esta razón, que se ha observado una drástica disminución en las poblaciones de rayas y tiburones a nivel mundial durante los últimos años, siendo la presión pesquera, la degradación del hábitat y el cambio climático los principales factores que han contribuido a que muchas de estas especies se encuentren al borde de la extinción (Dulvy et al., 2014).

En Costa Rica, se considera que la pesca es quizá el factor más importante que afecta estas poblaciones, al ser miembros frecuentes de la fauna acompañante (Benavides et al., 2014; Espinoza et al., 2018). Se ha estimado que las pesquerías a pequeña escala y las pesquerías de arrastre en las zonas costeras (menos de 50 metros de profundidad) son las que más capturan rayas (Espinoza et al., 2018). Esto se ve reflejado en un estudio realizado por Clarke y colaboradores (2016), donde identifican que el 33.41% de las rayas capturadas de manera incidental por pesquerías de arrastre en la costa Pacífica pertenecen a la familia Urotrygonidae.

De acuerdo a la Lista Roja de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN), una cuarta parte de todas las especies de rayas y tiburones están amenazadas de extinción y, tan solo el 37.4% se consideran “a salvo” (Dulvy et al., 2014). Incluso, algunas especies que conforman la fauna acompañante aún no se encuentra evaluada por la UICN o bien, no hay datos suficientes para evaluar el estado de sus poblaciones, tal es el caso de la familia Urotrygonidae.

La escasa protección de muchas especies de rayas ha preocupado a la comunidad científica, tanto a nivel nacional e internacional. La reducción y posible desaparición de las poblaciones de estos meso-depredadores, es decir depredadores medios de la cadena trófica, puede provocar un desequilibrio ecosistémico (Vaudo, 2011). Un declive en la biomasa de estos animales podría tener consecuencias ecológicas considerables, como la alteración en el equilibrio y salud del ecosistema. Asimismo, puede afectar la economía de algunas comunidades costeras, ya que se ha observado que el turismo enfocado en la observación de rayas y tiburones ha tomado gran auge durante los últimos años, dejando ingresos económicos considerables donde es bien implementada esta actividad (Anderson & Waheed, 2001; Anderson, Adam, Kitchen-Wheeler, & Stevens, 2011; Del Moral & Pérez, 2013).

Es indispensable diseñar medidas de conservación y protección para las diferentes especies de batoideos. Para esto, es primordial identificar de manera correcta las especies que se intentan proteger, debido a que se podrían agrupar erróneamente a varias especies dentro de una sola, reflejando datos incorrectos sobre el estado actual de poblaciones específicas y la vulnerabilidad de cada especie. Muchos batoideos presentan características morfológicas muy similares entre sí, por lo que su identificación en campo se vuelve complicada, lo cual puede tener implicaciones relevantes en cuanto a manejo y conservación.

En el Pacífico Norte de Costa Rica, por medio de muestreos previos en la zona, de mi persona y otros investigadores de la Universidad Veritas, se identificaron al menos 5 morfotipos diferentes de rayas pertenecientes a la Familia Urotrygonidae. Diferencias en la forma del disco, el patrón de coloración, la presencia de puntos claros u oscuros, así como también ausencia de puntos en la parte dorsal de su disco, han puesto en duda si se trata de una sola especie con ciertas variaciones morfológicas o bien, se trata de especies diferentes. Esta investigación pretende realizar una identificación taxonómica por medio de análisis morfológicos y genéticos (*ADN Barcoding*) de los batoideos de la Familia Urotrygonidae presentes en el Pacífico Norte de Costa Rica, con el fin de realizar una corroboración de las especies. Además, se espera contribuir con la gestión y conservación de rayas en nuestro país al ofrecer una herramienta útil que facilite la identificación taxonómica de rayas redondas.

1.3. Planteamiento del problema a investigar

¿Hay concordancia entre la identificación morfológica y genética de los batoideos de la Familia Urotrygonidae ubicados en el Pacífico Norte de Costa Rica?

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo general

Corroborar el estado taxonómico de los batoideos de la Familia Urotrygonidae presentes en el Pacífico Norte de Costa Rica, por medio de análisis genéticos y morfológicos

1.4.2. Objetivos específicos

1. Identificar morfológicamente los batoideos de la Familia Urotrygonidae basada en características distintivas y mediciones morfométricas.
2. Confirmar la identificación morfológica asignada a los individuos estudiados de la Familia Urotrygonidae con respecto a la identificación genética basada en la región NADH2 del ADN mitocondrial.

2. Marco teórico

El superorden Batoidea engloba a las rayas, mantas gigantes, móbulas, peces guitarra, peces sierra y torpedos o rayas eléctricas (Del Moral & Pérez, 2013). Está conformado por cuatro órdenes: Rajiformes, Myliobatiformes, Torpediniformes y Rhinopristiformes (Carrier et al., 2012; Last et al., 2016). Este superorden es considerado como el subgrupo más diverso de los condriictios (Carrier et al., 2012; Del Moral & Pérez, 2013; Guisande-González et al., 2013; Last et al., 2016), ya que abarca 26 familias y aproximadamente 633 especies, mientras que los tiburones están conformados por 34 familias y aproximadamente 516 especies, y las quimeras por 3 familias y 51 especies a nivel mundial (Last et al., 2016).

En el Pacífico Oriental Tropical, se han registrado 111 especies de rayas y tiburones (Cortés et al., 2017), de las cuales 61 especies, representadas en 17 familias, corresponden al superorden Batoidea (Last et al., 2016). En la costa Pacífica de Costa Rica, se han reportado 37 especies de batoideos, representadas por las familias Rajidae, Gymnuridae, Dasyatidae, Potamotrygonidae, Rhinopteridae, Urotrygonidae, Myliobatidae, Aetobatidae, Mobulidae, Narcinidae, Pristidae, Rhinobatidae y Trygonorhinidae (Last et al., 2016).

Los batoideos, al igual que los tiburones y las quimeras, se distinguen del resto de peces al poseer un esqueleto cartilaginoso y la modificación de las aletas pélvicas en los machos (mixopterigios o cláspers), los cuales son utilizados con fines reproductivos (Carrier et al., 2012; Del Moral & Pérez, 2013). También, sus tasas de crecimiento son relativamente largas, alcanzando su madurez sexual a edades avanzadas y poseen largos períodos de gestación (Carrier et al., 2012; Dulvy et al., 2014). Sin embargo, las rayas presentan una serie de características morfológicas que las diferencian del resto de los condriictios (Carrier et al., 2012;

Coller, 2012; Del Moral & Pérez, 2013; Guisande González et al., 2013; Larouche, Zelditch, & Cloutier, 2017; Navarro, 2011; Vaudo, 2011). Por ejemplo:

- Cuerpo comprimido dorso-ventralmente, es decir poseen un cuerpo plano.
- La cabeza y el tronco pueden estar parcial o completamente fusionadas a las aletas pectorales, formando el disco.
- Las aletas pectorales son anchas y alargadas, brindando la posibilidad de movilizarse de diferentes maneras.
- En su región dorsal, tienen un pequeño orificio, situado detrás de cada uno de sus ojos, utilizado para su respiración.
- Ojos sin membrana nictitante.
- Generalmente poseen cinco aberturas branquiales, las cuales se encuentran en posición ventral, debajo de las aletas pectorales y cumplen una función respiratoria y alimenticia.
- Su boca se encuentra en posición ventral y la mayoría de especies, tienen sus dientes modificados en placas para triturar presas duras.
- No poseen aleta anal.
- Aleta caudal es reducida o ausente dependiendo de la especie y sus hábitos

Otras características de los batoideos es que su longitud total o su longitud del disco, varía entre los 25 centímetros y 6.5 metros (Last et al., 2016). Su cola presenta una gran variedad de formas, ya que puede ser como un látigo (Familia Dasyatidae), morfológicamente similar a la de un tiburón (Familia Glaucostegidae), presentarse de manera reducida (Familias Mobulidae y Gymnuridae) o bien, como un de aguijón venenoso (Familia Urotrygonidae) (Last et al., 2016).

Las rayas que pertenecen a la familia Urotrygonidae son conocidas como rayas redondas, lo que se debe a que su disco presenta una forma oval a circular (Last et al., 2016; Nelson, Grande, & Wilson, 2016). Su longitud total varía entre 16 y 80 centímetros en adultos, mientras que el ancho de su disco no es más de 1.3 veces de longitud total, con un peso mínimo de 2.2 kilogramos (Anislado-Tolentino, Medina-Lerma, & Del Moral-Flores, 2016; Last et al., 2016). Su hocico puede ser corto y obtuso o bien, largo y puntiagudo (Last et al., 2016; Mejía-Mercado, 2006). La boca está en posición ventral, provista de dientes en forma de placa y papilas colocadas por lo general en el piso de la boca (Last et al., 2016). Las aletas pélvicas se encuentran en la base de la cola. La cola no presenta aleta dorsal y anal (Anislado-Tolentino et al., 2016), pero sí una aleta caudal bien desarrollada compuesta por lóbulos dorsales cortos y

lóbulo ventral más largos. La piel en la superficie dorsal es lisa o cubierta por espinas o dentículos, por lo general de color café a grisáceo, con o sin manchas, mientras que su parte ventral posee una coloración blanquecina (Mejía-Mercado, 2006). La cola es amplia y por lo general, posee modificaciones en sus dentículos dérmicos para formar una estructura venenosa y aserrada (aguijón) en su parte dorsal (Last et al., 2016). Este aguijón, posee dos surcos en la parte ventral, donde se encuentra una proteína hidrosoluble que se rompe a altas temperaturas y es utilizada como mecanismo de defensa ya que produce efectos paralizantes (Last et al., 2016; Mejía-Mercado, 2006; Vaudo, 2011).

La familia Urotrygonidae está compuesta por dos géneros (*Urobatis* y *Urotrygon*) y 16 especies, de las cuales 8 (*Urotrygon chilensis*, *Urotrygon munda*, *Urotrygon rogersi*, *Urotrygon aspidura*, *Urotrygon cimar*, *Urotrygon nana*, *Urobatis halleri* y *Urobatis pardalis*) se encuentran reportadas en el Pacífico de Costa Rica (Del Moral-Flores et al., 2015; Espinoza et al., 2018; Last et al., 2016). Se distribuyen en aguas tropicales del Atlántico Occidental y Pacífico Oriental (Nelson et al., 2016) y tienen una preferencia a habitar en aguas cálidas someras, ya que por lo general son observadas a menos de 90 metros de profundidad (Last, et al., 2016). La mayoría de las especies de rayas son de hábitos bentónicos y suelen encontrarse sobre hábitats costeros de fondo suave, donde las densidades de invertebrados son relativamente altas (Del Moral & Pérez, 2013; Vaudo, 2011).

En cuanto a la reproducción de la familia Urotrygonidae, la fertilización es interna y son vivíparos aplacentados, es decir, no hay conexión entre la madre y los embriones, pero sí trofonemas (extensiones uterinas filamentosas que secretan un líquido nutritivo denominado “leche uterina”, el cual es absorbido por los embriones de manera directa o pasiva ayudan a absorber el vitelo, al igual que el estómago y el intestino) (Camhi, Valenti, Fordham, Fowler, & Gibson, 2009; Del Moral-Flores et al., 2015; Last et al., 2016; Mejía-Mercado, 2006). Los períodos de gestación y la cantidad de neonatos, varía según la especie y el tamaño de la hembra (Last, et al., 2016). Por ejemplo, *U. rogersi* presenta un ciclo reproductivo trianual, con períodos de gestación entre 4 y 5 meses y una fecundidad de 1-4 embriones (Mejía-Falla, Navia, & Cortés, 2012; Mejía-Mercado, 2006). *U. chilensis*, tiene un ciclo reproductivo bianual, con períodos de gestación entre 4 a 5 meses, pero con una fecundidad máxima de 5 embriones (Guzmán-Castellanos, 2015; Vásquez, 2015), mientras que *U. halleri* experimenta un ciclo reproductivo anual, con períodos de aproximadamente tres meses y una fecundidad máxima de 6 embriones (Last et al., 2016; Mull, Lowe, & Young, 2010).

Por otra parte, los batoideos son considerados como mesodepredadores de los ecosistemas (Vaudo, 2011), es decir son depredadores de rango intermedio dentro de la cadena alimenticia (Thomson, 2014). Todas son de hábitos alimenticios carnívoros o carroñeros (Last et al., 2016), alimentándose principalmente de crustáceos (carcinófagos), moluscos (malacófagos), peces (ictiófagos) o plancton (planctófagos) (Del Moral & Pérez, 2013). La preferencia por sus presas depende de varios factores como la talla, morfología y posición de la boca de cada especie (Flores-Ortega, Godínez-Domínguez, & González-Sansón, 2015). Por lo general, las especies bentónicas más grandes se alimentan principalmente de crustáceos de caparzones duros, mientras que las de menor tamaño, ingieren crustáceos de cuerpo suave y poliquetos (Last, et al., 2016). Por ejemplo, se ha observado que las especies del género *Urotrygon* poseen una preferencia a consumir crustáceos y poliquetos, mientras especies de mayor tamaño como *Rhinoptera steindachneri* se alimentan de crustáceos y moluscos (Navarro-González, 2012). No obstante, también se han registrado especies de rayas que se pueden alimentar de peces pequeños, tal es el caso de *Rhinobatos percellens* (Polo-Silva & Grijalba-Bendeck, 2008). Finalmente, las rayas pelágicas como *Manta alfredi* se alimentan básicamente de zooplancton (Couturier et al., 2013; Last et al., 2016). Debido a esto, las rayas desempeñan un importante rol ecológico dentro de los ecosistemas.

La función de estos organismos radica en mantener el equilibrio y el buen funcionamiento de los ecosistemas donde habitan (López, 2012; Vaudo, 2011). Asimismo, las rayas pueden provocar efectos indirectos sobre depredadores superiores, debido a que forman parte de la dieta de grandes tiburones (Vaudo, 2011). Se ha relacionado la caída de algunas poblaciones de grandes depredadores, con cambios en la estructura de mesodepredadores de los que se alimentan (Heithaus, Frid, Vaudo, Worm, & Wirsing, 2010).

Al ser consumidores de otros organismos, las rayas evitan que éstos proliferen y se conviertan en plagas, ya que pueden causar un gran desequilibrio a nivel ecosistémico (Guisande-González et al., 2013). Se ha comprobado que los batoideos pueden tener impactos considerables en la distribución de especies, el reclutamiento y la estructura de las comunidades de invertebrados en lechos de pastos marinos y hábitats de fondos blandos (Vaudo, 2011). Por ejemplo, en Oscar Shoal, Carolina del Norte, el declive de la población de *Argopecten irradians concentricus* durante el verano, está asociada con el paso migratorio de *Rhinoptera bonasus*, promoviendo la creación de sumideros de la población (Peterson, Fodrie, Summerson, & Powers, 2001).

De igual manera, las rayas contribuyen en la dinámica de nutrientes por medio del transporte de nutrientes durante las migraciones, muerte, bioperturbación (Vaudo, 2011) o alteración de un hábitat por organismos vivos, como por ejemplo la remoción de sedimento durante la alimentación (Boqué, 2006). Algunas rayas como *Rhinoptera bonasus*, revuelven el sedimento mientras escarban el suelo en busca de presas para alimentarse y a su vez, pueden formar pozos de alimentación, donde pueden alcanzar una profundidad de hasta 40 cm, contribuyendo en la re-suspensión de sedimentos en el ecosistema (Smith & Merriner, 1985; Vaudo, 2011).

Adicional a la importancia ecológica de los batoideos descrita anteriormente, también se ha demostrado que estos organismos han tomado gran importancia en términos económicos, ya que han sido utilizados como atractivo turístico por varias comunidades costeras, promoviendo el desarrollo económico de estas comunidades (Del Moral & Pérez, 2013). Los operadores de buceo han implementado tours de buceo y buceo autónomo o esnórquel, para observar elasmobranquios en su hábitat natural, como una nueva alternativa de ecoturismo (Anderson & Waheed, 2001). Estos tours han impulsado la protección de varios elasmobranquios ya que se ha demostrado que las rayas y los tiburones tienen mayor valor económico vivos en su hábitat natural, que muertos en una embarcación de pesca (Anderson & Waheed, 2001; Anderson et al., 2011). Estos tours han incrementado los ingresos a las comunidades, de manera directa a tour operadores y de forma indirecta, debido a los ingresos generados por alimentación y hospedaje de los turistas (Anderson & Waheed, 2001).

Sin embargo, a pesar de la gran importancia ecológica y económica de los batoideos, estos organismos han sido los menos estudiados y protegidos de los elasmobranquios (Dulvy et al., 2014). Durante los últimos años, las poblaciones de rayas y tiburones han disminuido de manera acelerada a nivel mundial (Dulvy et al., 2014; Heithaus et al., 2010; López, 2012). Según un estudio realizado por Dulvy y colaboradores (2014), basado en los datos obtenidos de la Lista Roja de la UICN, 1014 especies de elasmobranquios fueron evaluadas y determinaron que el 17.4% (181 especies) están incluidas dentro de una categoría de amenaza a la extinción, representando el 2.4% (25 especies) a especies que se encuentran en “Peligro Crítico” (CR). El 4.1% (43 especies) están en peligro (EN), el 10.9 % (113 especies) vulnerables (VU), el 12.7% (132 especies) están categorizadas como casi amenazadas (NT) y el 37% (375 especies) como preocupación menor (LC). Este estudio, también revela que de las 7 familias de rayas y tiburones catalogadas como en peligro crítico de extinción (especies potenciales a extinguirse en estado silvestre), 5 de estas pertenecen al grupo de los batoideos. Cabe destacar que los datos anteriores no toman en cuenta el 46.8% (487 especies) de estas

especies, ya que han sido categorizadas como datos deficientes (DD), es decir, la UICN no cuenta con información suficiente para incluir a estas especies dentro de una categoría (Dulvy et al., 2014).

Debido a que varias especies de elasmobranquios se encuentran dentro de la categoría “Deficiente de Datos” o aún no han sido evaluadas, es posible que el número de especies amenazadas sea mayor a lo que estimamos en la actualidad y, éstas estén siendo afectadas por las pesquerías (Espinoza et al., 2018). Se ha identificado que la pesca, la destrucción del hábitat y el cambio climático han contribuido no sólo con la disminución de muchas de sus poblaciones a nivel mundial, sino que también se prevé que puedan modificar la distribución de estos organismos (Anderson et al., 2011; Daap et al., 2013; Dulvy et al., 2014; Heithaus et al., 2010; Last et al., 2016)

La demanda por aletas, piel, aceite de hígado, carne, cartílago y otras partes del cuerpo utilizadas como “trofeos” o adornos, ha impulsado aún más el declive de muchas poblaciones de elasmobranquios (Anderson & Waheed, 2001; Anderson et al., 2011; Davidson, Krawchuk, & Dulvy, 2016; Dulvy et al., 2014; Heithaus et al., 2010; Last et al., 2016; Vaudo, 2011). Además de esto, las rayas y los tiburones forman parte de la FACA de pesquerías dirigidas a la captura de peces óseos y crustáceos (Benavides et al., 2014; Clarke et al., 2016). En algunas ocasiones, principalmente en países en vías de desarrollo, la FACA no está regulada y puede ser descartada directamente al mar, sin dejar ningún tipo de registro sobre las especies que se han capturado (Clarke et al., 2016; Last et al., 2016).

Davidson y colaboradores (2015), al recopilar información de la FAO sobre desembarques pesqueros en diferentes países, mencionan que aproximadamente el 27% de los países no tienen registros y, alrededor del 73% informan tan solo una cuarta parte de sus descargas. Una pequeña parte de las pesquerías registran las capturas hasta el nivel taxonómico más bajo, ya que la mayoría de los animales se agrupan en categorías más generales, debido a que algunas especies son difíciles de distinguir morfológicamente (Ferrette et al., 2019; Last et al., 2016). No tener registros precisos de las especies capturadas, identificarlas de manera errónea o utilizar nombres comunes (puede variar de región en región) ha dificultado los esfuerzos de gestión y conservación de la biodiversidad (Bineesh et al., 2017; Ferrette et al., 2019b; Heithaus et al., 2010; Vaudo, 2011; Ward, Holmes, White, & Last, 2008; White, Simpfendorfer, Tobin, & Heupel, 2014)

A pesar de contar con una serie de claves taxonómicas y guías, identificar organismos en el campo resulta complicado. La presencia de características morfológicas similares entre especies y variaciones morfológicas dentro de una misma especie, según su estado de desarrollo, sexo y área geográfica, vuelve complicado realizar una correcta identificación taxonómica. Esto puede comprometer la veracidad de las investigaciones y planes de manejo para la conservación de muchas especies (Cerutti-Pereyra et al., 2012), especialmente las que no han sido evaluadas por la IUCN. Por ejemplo, una recopilación de artículos científicos a nivel mundial, enfocados en temáticas ecológicas demuestran que de 80 artículos científicos publicados entre 2005-2007, el 62.5% de estos no proporcionan información necesaria que garantice una correcta identificación de las especies en estudio (Bortolus, 2008).

La identificación taxonómica en el campo muchas veces se dificulta debido a la presencia de morfologías similares dentro de un género. Además, no siempre podemos contar con la presencia de un taxónomo especialista, herramientas taxonómicas o bien, el tiempo suficiente para examinar de manera detallada características morfológicas distintivas de una especie, ya que esto puede resultar peligroso o inapropiado por razones éticas, lo cual se debe a que exponer al animal por largos períodos de tiempo podría causar daños en su salud o incluso la muerte (Cerutti-Pereyra et al., 2012). Es decir, para examinar de manera detallada las características morfológicas de los animales vivos, es necesario mantenerlos fuera de su hábitat natural por varios minutos, lo cual podría resultar perjudicial a nivel fisiológico e incluso comprometer la supervivencia del animal, aunque se logre devolver a su hábitat.

En este contexto, para aumentar la resolución en la identificación de especies similares, en los últimos años se han incorporado herramientas moleculares en estudios de sistemática y conservación (Rubinoff, 2006). Estas herramientas genéticas han logrado corroborar la identificación taxonómica de las especies involucradas en la investigación científica (Cerutti-Pereyra et al., 2012), resolución de conflictos taxonómicos y descubrimiento de nuevas especies (Bineesh et al., 2017). Dentro de éstas, el ADN mitocondrial es una herramienta poderosa para identificar especies (Rubinoff, 2006). Esto se debe a que es una región conservativa, de herencia uniparental, de naturaleza no recombinante y posee un elevado índice de mutación en comparación con el ADN nuclear (Kerr et al., 2007; Rentarúa, 2000; Rubinoff, 2006; Ward et al., 2008). Adicionalmente, es importante para trazar historias filogeográficas y el estudio de genética poblacional (Rentarúa, 2000).

El ADN *Barcoding* o código de barras de ADN es un método rápido y eficaz para la identificación de especies (Sachithanandam et al., 2012). Este sistema de identificación y diferencias en secuencias nucleotídicas, provenientes de varias regiones específica del ADN mitocondrial (Kress & Erickson, 2007; Sachithanandam et al., 2012), han demostrado presentar suficientes polimorfismos para discriminar especies. Entre los genes mitocondriales utilizados en peces y elasmobranquios se encuentran: subunidad I Citocromo Oxidasa C (COI), Citocromo B (Cytb), subunidad 2 de NADH deshidrogenasa (NADH2) y el gen nuclear activador de recombinación (RAG1) (Palacios-Barreto et al., 2017).

La región COI del ADN mitocondrial es considerada como una valiosa herramienta para sistémicos y taxónomos (Levy, Garcia-Maruniak, & Maruniak, 2009; Morrison et al., 2002; Sunnucks & Hales, 1996). Ha sido utilizada en estudios filogeográficos, relaciones filogenéticas, genética de poblaciones, evolución, evaluaciones de biodiversidad e identificación de especies (Cerutti-Pereyra et al., 2012; Jose & Harikrishnan, 2020; Ward et al., 2008). Adicionalmente, se ha establecido como un marcador estándar para el código de barras en animales (Lv et al., 2014; Ward et al., 2008). Sin embargo, se ha determinado que este marcador no es el más apropiado para algunas especies, dado que puede presentar errores de secuenciación entre especies estrechamente relacionadas (Chen, Jiang, & Qiao, 2012; Lv et al., 2014; Ward et al., 2008).

Contrario a lo anterior, la región NADH2 ha sido ampliamente utilizada para distinguir entre especies estrechamente relacionadas, crípticas o con variantes geográficas (Naylor et al., 2012). Esto se debe a que NADH2 es más extenso en número de pares de bases en comparación con COI (1044 vs 650) y además, dentro de los genes mitocondriales codificantes, es quizá el que evoluciona más rápidamente (Broughton & Reneau, 2006; Henderson et al., 2016; Naylor et al., 2012). NADH2 ofrece una región informativa más amplia, con una mayor resolución de polimorfismos, lo que significa que las tasas de sustitución nucleotídica son mayores en NADH2 en comparación con COI (Bucklin, Steinke, & Blanco-Bercial, 2011), lo que favorece la distinción entre especies al utilizar la técnica de *Barcoding* (Naylor et al., 2012).

Para obtener las secuencias ADN *Barcoding* se requiere utilizar cebadores o *primers* universales o especie-específicos durante la reacción en cadena de polimerasa (PCR) (Holmes, Steinke, & Ward, 2009; Rubinoff, 2006). El propósito de esta reacción es amplificar una sección específica del ADN, con ayuda de la enzima Taq polimerasa y *primers* de una sola hebra (Bejarano & Bejarano, 2001; Paskewitz & Collins, 1990). Por lo general las secuencias

amplificadas se componen de 500 a 800 pares de bases del ADN mitocondrial (Schoch et al., 2012). Dicha secuencia debe de ser comparada con otras secuencias de “referencia”, es decir con secuencias previamente identificadas (Rubinoff, 2006), las cuales son depositadas por expertos en una biblioteca de secuencias de referencia de especies conocidas (Kress & Erickson, 2007; Schoch et al., 2012). Por esta razón, nació la iniciativa de crear una base de datos (GenBank) que contenga códigos de barras de diversas especies a nivel mundial, con sus respectivos marcadores específicos (Cerutti-Pereyra et al., 2012; Pavan-Kumar et al., 2013).

Estudios recientes, han utilizado ADN *Barcoding* y análisis basados en características morfológicas para identificar especies de manera simultánea, principalmente en grupos morfológicamente problemáticos (Jose & Harikrishnan, 2019). De esta manera, es posible complementar información de la taxonomía convencional con la información genética de la taxonomía molecular, lo cual ha ayudado a resolver discrepancias a nivel taxonómico de especies (Ferrette et al., 2019; Jose & Harikrishnan, 2019; Last et al., 2016). Por tanto, con esta investigación se pretende aclarar la incertidumbre taxonómica de las especies de rayas de la Familia Urotrygonidae que se encuentran en el Pacífico Norte de Costa Rica, a través de medidas morfométricas y análisis genéticos, lo cual podría contribuir en temas de gestión y conservación de la biodiversidad marina en el futuro.

3. Marco metodológico

Área de estudio

El Pacífico Norte de Costa Rica (Figura 1) se caracteriza por la existencia de gran cantidad de bahías y estuarios, que proporcionan refugio para neonatos, juveniles y adultos de varias especies de batoideos (Clarke et al., 2014). La productividad costera aumenta durante la época lluviosa (mayo-noviembre), como resultado del aporte de nutrientes proveniente de los ríos (Cortés & Wehrtmann, 2009). Además de esto, el Pacífico septentrional se caracteriza por un fuerte fenómeno de afloramiento estacional durante la época seca (diciembre-abril), donde los vientos alisios del noreste forman corrientes someras, la temperatura del agua cae hasta 10-12° C, aumentando la productividad local y generando el afloramiento costero más rico de Costa Rica (Cortés & Wehrtmann, 2009; May-Collado & Morales, 2005).

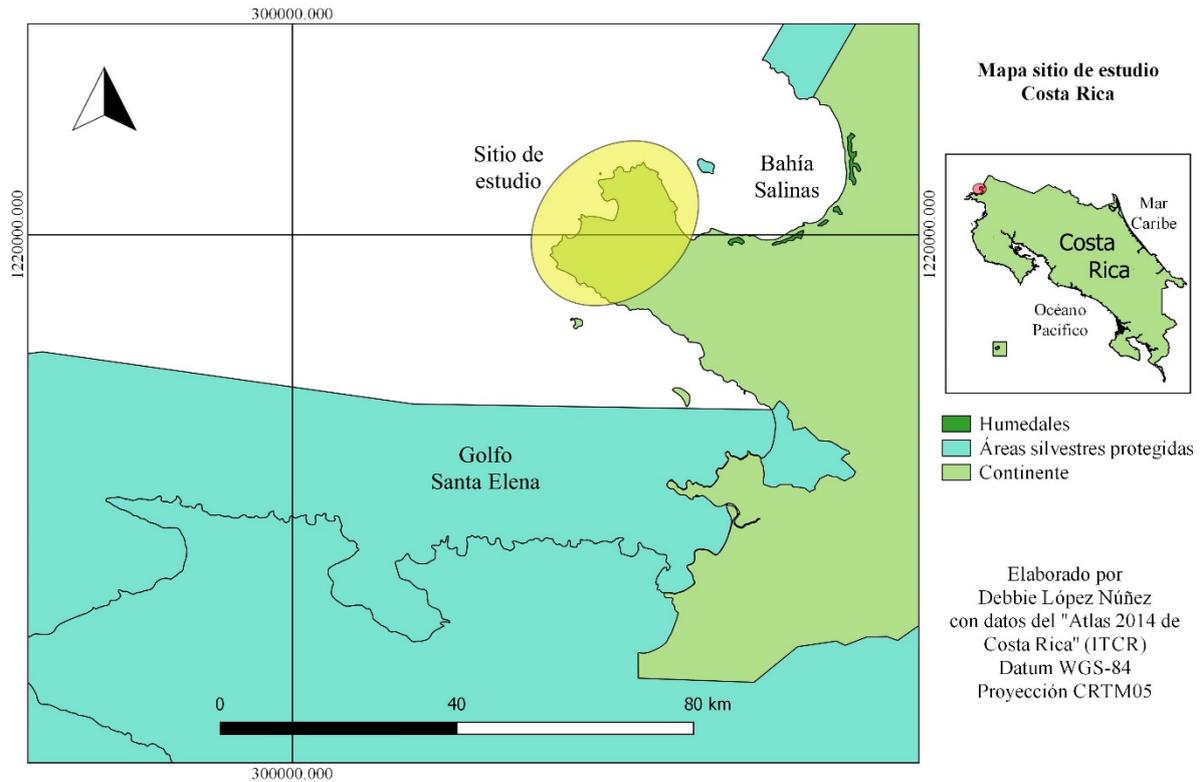


Figura 1. Representación gráfica de la ubicación geográfica del sitio de muestreo: Punta Descartes, La Cruz, Guanacaste, Pacífico Norte de Costa Rica.

A partir de muestreos preliminares en el área de estudio, se evidenció la presencia de rayas de la Familia Urotrygonidae, las cuales visualmente presentaban morfologías muy similares entre los individuos identificados dentro de una especie. En este contexto, y de manera de corroborar la identificación, el presente estudio está basado en análisis morfológicos y genéticos de varios individuos correspondiente a fenotipos establecidos, donde se comprobó el estado taxonómico de esta familia.

Se contó con un stock de varias muestras de tejido y fotografías, previamente recolectadas en Punta Descartes, costa Pacífica de Costa Rica (se elaboró un mapa con los puntos específicos donde se capturaron las rayas que se utilizaron para los análisis, con el programa R versión 3.5.0; Figura 2). Dichas rayas fueron capturadas por investigadores de la Universidad Nacional de Costa Rica (UNA), investigadores del Laboratorio de Biología Molecular (BIOMOL) del Centro de Programas Internacionales y Estudios de Sostenibilidad (CPIES) de la Universidad Veritas y, voluntarios de la ONG “Equipo Tora Carey”, siguiendo un protocolo diseñado por

en este estudio, específicamente para la captura de estos organismos (Anexo 1) para el muestreo colaborativo que se estaba realizando entre las instituciones anteriormente nombradas. Se contó con permisos de colecta del Área de Conservación Guanacaste (R-SINAG-ACG-026-2017, R-SINAG-ACG-008-2018). Cada raya capturada fue devuelta al mar, causando el menor impacto posible.

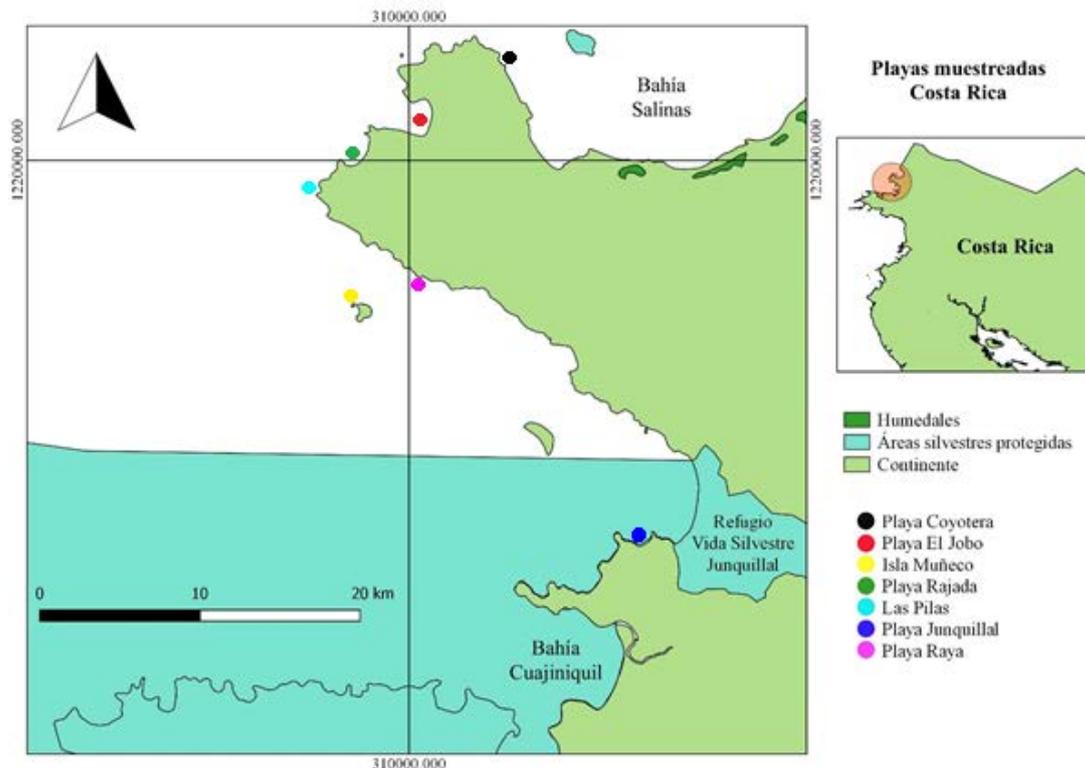


Figura 2. Mapa de los de los sitios de muestreo (playas) de las rayas utilizadas para los análisis morfológicos y genética en Punta Descartes, La Cruz, Guanacaste, Costa Rica.

Se utilizaron tres categorías para agrupar las rayas según la coloración de sus manchas y dorso (“normal”, “claro” u “oscuro”). Las rayas que presentaron un patrón de coloración muy similar a lo que describen las guías taxonómicas y sus respectivas ilustraciones, se agruparon como “normal”, mientras que las rayas que presentaron una variación en estas características fueron categorizadas como “claras” si eran dorsalmente más pálidas o contaban con la presencia de manchas color amarillo, u “oscuras” si su coloración dorsal era opaca o con manchas oscuras (Figura 3). Se les asignó el nombre científico de la especie más similar a ellas, con el fin de confirmar su identificación taxonómica con los análisis genéticos y morfológicos. Adicionalmente, con el propósito de ampliar la diversidad de especies en este estudio y así,

tener otra especie de referencia para futuras investigaciones, se decidió incluir en los análisis una especie adicional de la Familia Urotrygonidae: *Urotrygon aspidura*, proveniente de la provincia de Puntarenas (Pacífico Central costarricense). Todas las muestras de tejido fueron colocadas en alcohol al 99% y trasladadas al BIOMOL.

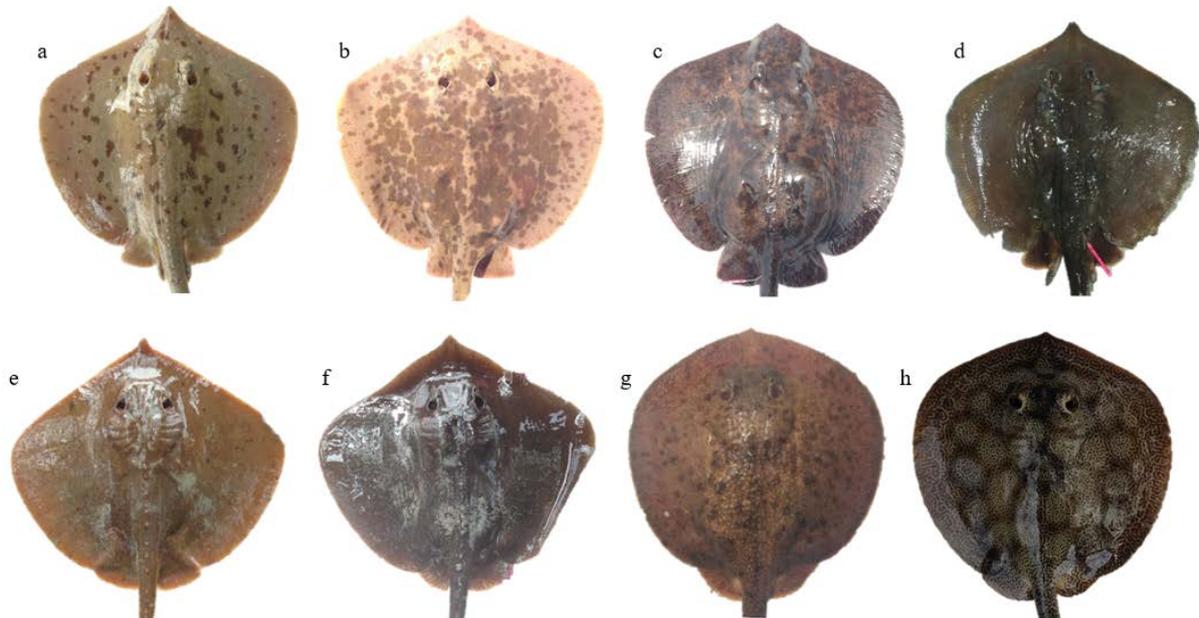


Figura 3. Representación de las diferentes morfologías y fenotipos de rayas de la Familia Urotrygonidae encontradas en el Pacífico Norte, Costa Rica. Las rayas “a”, “d”, “e”, “g” y “h” se agruparon dentro de la categoría “normal”, mientras que “b” se categorizó como “claro” y “c” y “f” como “oscuro”

Identificación morfológica

La identificación morfológica de las rayas provenientes del Pacífico Norte y Central se basó en lo descrito por Last y colaboradores (2016). Para esto, se utilizaron fotografías que fueron tomadas en el campo y se realizaron las mediciones morfométricas con el programa “Fiji” (Schindelin et al., 2012). A cada raya se le midió: longitud total (LT), ancho del disco (AD), longitud del disco (LD), longitud del ojo (LO), longitud pre-orbital (LPO), longitud pre-cloacal (LPRE), distancia interorbital (DIO) y longitud de la cola (LCOLA). Estas mediciones se tomaron según la metodología utilizada por Mejía-Mercado (2006) (Figura 4). Dichos datos se

utilizaron para crear las relaciones y proporciones morfométricas descritas en la literatura consultada.

Utilizando la misma metodología descrita anteriormente, se utilizaron fotografías de las rayas muestreadas en el campo, en conjunto con las rayas colectadas en el Museo de Zoología de la Universidad de Costa Rica (UCR) para más mediciones. A cada raya se le midió: longitud total (LT), ancho del disco (AD), longitud del disco (LD), longitud del ojo (LO), ancho del ojo (AO), longitud preorbital (LPO), distancia interorbital (DIO), longitud espiráculo (LE), ancho del espiráculo (AE), longitud pre-espina (LPE), longitud de la espina (LE1), ancho de aleta caudal (AAC), longitud de aleta caudal (LAC), longitud cola (LCOLA), longitud pre-oral (LPOR), ancho de la boca (AB), distancia entre las primeras hendiduras branquiales (DPHB), distancia entre las últimas hendiduras branquiales (DUHB), longitud entre la primera y última hendiduras branquial (LHB) y longitud pre-cloacal (LPRE). Cada una de estas mediciones fue transformada a proporciones, tomando como base la longitud total (LT). Además, estos datos fueron utilizados para un análisis de componentes principales con el programa R versión 3.5.0, con el propósito de dilucidar una potencial discriminación entre especies, basándose en estas mediciones.

En adición, se utilizaron los registros de colecta del Museo de Zoología para crear un mapa de distribución de especies. Para esto, sólo se tomaron en cuenta las rayas que contaban con datos GPS completos (latitud y longitud) de la Familia Urotrygonidae, registradas en la colección entre 1964 y 2013. Para tales efectos, se utilizó el programa estadístico R versión 3.5.0.

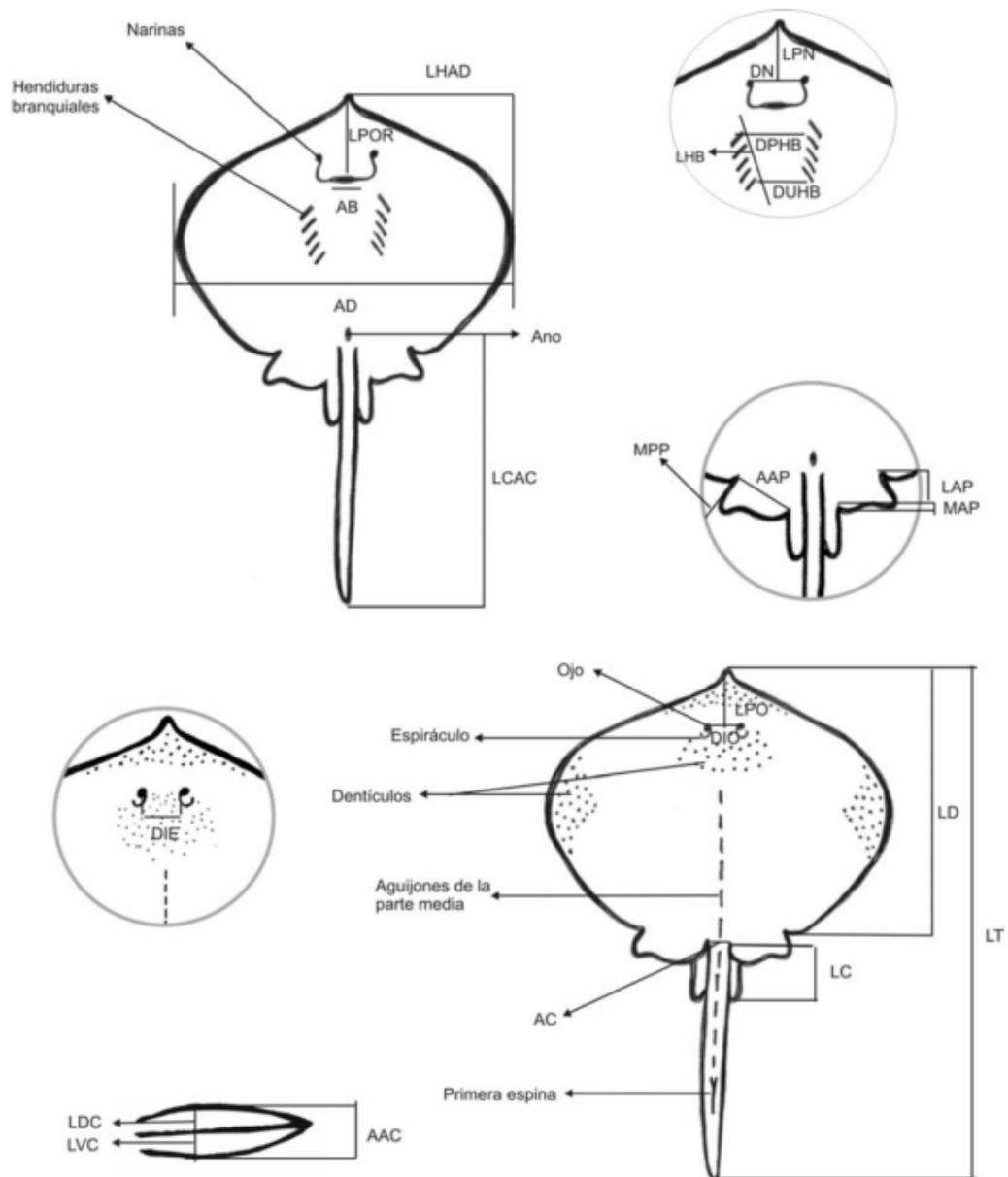


Figura 4. Esquema de las medidas morfométricas que serán analizadas en las fotografías de cada espécimen. Tomado de Mejía-Mercado (2006).

Identificación genética

Extracción de ADN, PCR y secuenciación

El ADN de cada muestra de tejido fue extraído según el protocolo brindado por el kit de extracción “Wizard® Genomic DNA Purification Kit” (Promega). Se extrajo la región NADH2 del ADN mitocondrial, para realizar la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de las

muestras. Se utilizó el primer M-NADH F (5'-GGCCCATACCCCAAACAT-3' y M-NADH R (5'-AGCTTTGAAGGCTTTTGGT-3') el cual fue diseñado en este estudio para amplificar la región NADH2 de *Myliobatis chilensis* en el BIOMOL, a una temperatura entre 55-55.5°C. Las amplificaciones fueron llevadas a cabo en un PCR de 15 µL de volumen con 10X de Buffer PCR, 25 mM MgCl₂, 20 mM dNTPs, 10 µM de cada primer, 5 unidades de TAQ Polimerasa (Fermentas) y 1 µL de ADN. Los PCR fueron realizados en un Simply Amplify Thermal Block (Applied Biosystem, USA). Las condiciones del ciclo de PCR fueron 2 minutos a 94°C, seguido de 30 ciclos de 30 segundos a 94°C, 30 segundos a 55.5°C, 1 minuto a 72°C y finalmente 2 minutos a 72°C. Los productos PCR fueron observados en una cámara de luz UV con un gel de agarosa de 1% teñido con Gel Red. Estos productos PCR fueron enviados a Molecular Cloning Laboratory (MCLAB) en EE.UU. para la purificación y determinación de las secuencias “forward” y “reverse” de la región NADH2.

Análisis de secuencias mitocondriales

Las 22 secuencias obtenidas del Pacífico Norte y Central de Costa Rica (Cuadro 1) fueron editadas con el software Bioinformático Geneious 10.2.3. Adicionalmente, se descargaron 21 secuencias del gen NADH2 disponibles en la base de datos GenBank de todas las especies pertenecientes a la familia Urotrygonidae y Urolophidae (Cuadro 2) las cuales fueron utilizadas como secuencias de “referencia” en contraste a las 22 secuencias obtenidas de las muestras de Costa Rica.

Para la creación de árboles filogenéticos, todas las secuencias fueron alineadas con los programas MUSCLE (disponible en <https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/muscle/>) y MAFFT 7.0 (disponible en <http://mafft.cbrc.jp/alignment/server>) y se utilizó el método iterativo de refinamiento FFT-NS-i (1PAM/k=2). Se determinó el modelo de sustitución nucleotídica de mejor ajuste, para lo cual se usó el programa jModelTest v2.1.10 (Darriba et al., 2012) bajo el criterio de información de Akaike (AIC). Se aplicó el modelo de sustitución GTR+I+G tanto para MAFFT. Los árboles filogenéticos fueron elaborados con base a los algoritmos de máxima verosimilitud con el programa raxmlGUI v.7.4.2 (Stamatakis et al., 2005). Se empleó el modelo reversible en tiempo real (GTR-GAMMA), con 5000 repeticiones para obtener el valor de “bootstrap” de soporte de los nodos. Se realizó un análisis bayesiano con el programa MrBayes v.3.2.6 (Huelsenbeck y Ronquist, 2001), para lo cual se aplicó: nst= 6, rates= gamma, ngen=

300000, samplefreq= 100, nchains= 4 y sumt burnin= 10000. Finalmente, los árboles filogenéticos resultantes fueron editados con el programa FigTree v1.4 (Rambaut, 2009).

Cuadro 1. Lista de los especímenes analizados de Punta Descartes y Puntarenas. Cada uno con su posible clasificación taxonómica, categoría a la cual pertenece según su fenotipo y código asignado en esta investigación. En el caso de los especímenes en que no se estaba seguro de su identidad, se brindaron dos posibles especies, separado cada acrónimo con un “/”

Especie	Fenotipo	Código
<i>Urotrygon chilensis</i>	Claro	UC16
<i>Urotrygon chilensis</i>	Normal	UC20
<i>Urotrygon chilensis</i>	Oscuro	US21
<i>Urotrygon chilensis</i>	Normal	UC14
<i>Urotrygon chilensis</i>	Desconocido	UCR182
<i>Urotrygon chilensis</i>	Normal	UC17
<i>Urotrygon chilensis</i>	Claro	UC19
<i>Urotrygon chilensis</i>	Oscuro	UCR310
<i>Urotrygon chilensis</i>	Oscuro	US06
<i>Urotrygon chilensis</i>	Claro	UCR312
<i>Urotrygon rogersi</i>	Oscuro	URG044
<i>Urotrygon rogersi</i>	Claro	UC13
<i>Urotrygon rogersi</i>	Claro	US04
<i>Urotrygon aspidura</i>	Normal	USP009
<i>Urotrygon aspidura</i>	Normal	USP010
<i>Urotrygon aspidura</i>	Normal	USP013
<i>Urotrygon cimar /Urotrygon munda</i>	Normal	UM017
<i>Urotrygon cimar /Urotrygon munda</i>	Normal	UM002
<i>Urotrygon cimar /Urotrygon munda</i>	Normal	UM06
<i>Urobatis halleri / Urobatis pardalis</i>	Normal	MV2103
<i>Urobatis halleri / Urobatis pardalis</i>	Normal	UBH167
<i>Urobatis halleri / Urobatis pardalis</i>	Normal	UBH218

Cuadro 2. Lista de especies utilizadas para el análisis genético. Cada una contiene el nombre científico que se encuentra registrado en GenBank, el nombre científico actualizado y el código de la secuencia mitocondrial (NADH2, *partial cds*)

Nombre científico actual	Código de GenBank	Localidad
<i>Urotrygon cf. simulatrix</i>	JQ518942	Baja California Sur, Golfo de California, México, Océano Pacífico
<i>Urotrygon rogersi</i>	JQ519162	Baja California Sur, Golfo de California, México, Océano Pacífico
<i>Urobatis jamaicensis</i>	JQ518941	Islas Caimán, Océano Atlántico
<i>Urobatis halleri</i>	JQ518939	Baja California Sur, Golfo de California, México, Océano Pacífico
<i>Urobatis maculatus</i>	JQ518940	Baja California Sur, Golfo de California, México, Océano Pacífico
<i>Urobatis concentricus</i>	JQ519167	Baja California Sur, Golfo de California, México, Océano Pacífico
<i>Pateobatis fai</i>	JQ518799	Sarawak, Malasia, Océano Pacífico
<i>Dasysatis centrooura</i>	JQ518781	Virginia, Estados Unidos, Océano Atlántico
<i>Dasysatis marmorata</i>	JQ518783	Senegal, Océano Atlántico
<i>Taeniurops grabata</i>	JQ518821	Senegal, Océano Atlántico
<i>Urolophus cruciatus</i>	JQ518937	Nueva Gales del Sur, Mar de Tasmania, Australia, Océano Pacífico
<i>Urolophus lobatus</i>	JQ519026	Australia Occidental, Océano Índico
<i>Urolophus paucimaculatus</i>	JQ518938	Nueva Gales del Sur, Mar de Tasman, Australia, Océano Pacífico
<i>Urolophus kapalensis</i>	JQ519018	Queensland, Australia, Océano Pacífico
<i>Urolophus viridis</i>	JQ518994	Mar de Tasmania, Australia, Océano Pacífico
<i>Urolophus expansus</i>	JQ519040	Australia Occidental, Océano Índico
<i>Urolophus westraliensis</i>	JQ519004	Australia Occidental, Océano Índico
<i>Urolophus aurantiacus</i>	KFF927988	Taiwan, Océano Pacífico
<i>Urolophus flavomosaicus</i>	JQ518991	Australia Occidental, Océano Índico
<i>Urolophus bucculentus</i>	JQ518992	Nueva Gales del Sur, Mar de Tasman, Australia, Océano Pacífico
<i>Raja velezi</i>	JQ518818	Baja California Sur, Golfo de California, México, Océano Pacífico

Por último, los resultados obtenidos a través de los análisis genéticos (ADN Barcoding), fueron comparados con los resultados provenientes de los análisis basados en características morfológicas y mediciones morfométricas. Esto para confirmar la identificación de cada una de las rayas muestreadas en el presente estudio.

4. Resultados

Identificación morfológica

Se utilizaron fotografías de veintinueve rayas provenientes de Punta Descartes y Puntarenas, para identificarlas morfológicamente a través de características diagnósticas y mediciones morfométricas (Anexo 2). Además, tomando en cuenta la información recopilada en diferentes guías taxonómicas y publicaciones científicas (Amezcu-Linares, 1996; Chirichigno & Cornejo, 2001; Del Moral-Flores et al., 2015; Fischer et al., 1995; M. López & Busing, 1998; Mejía-Mercado, 2006; Miyake & McEachran, 1988), se elaboró una clave dicotómica y una guía de identificación basada en fotografías (Anexo 3) para ayudar a identificar las rayas de la Familia Urotrygonidae distribuidas en el Pacífico de Costa Rica.

Longitud de la cola (LCOLA) es mayor o igual a la mitad de la longitud total (LT) (Figura 5a).
Lóbulo dorsal y ventral de la aleta caudal no son confluentes, es decir, no están unidos (Figura 6b).
El alto del lóbulo dorsal de la aleta caudal (ADC) es menor de 1/6 de la longitud del lóbulo dorsal de la aleta caudal (LDC) *Urotrygon*

Longitud de la cola (LCOLA) es menor o igual a la mitad de la longitud total (LT) (Figura 5b).
Lóbulo dorsal y ventral de la aleta caudal son confluentes, es decir, están unidos (Figura 6a).
El alto del lóbulo dorsal de la aleta caudal (ADC) es aproximadamente 1/4 de la longitud del lóbulo dorsal de la aleta caudal (LDC) *Urobatis*

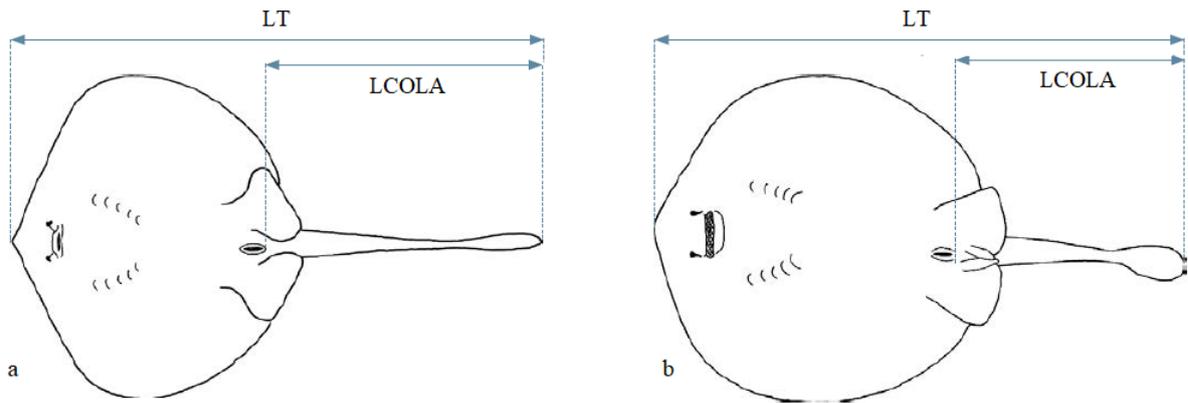


Figura 5. Representación gráfica de la proporción entre la longitud de la cola (LCOLA) y la longitud total (LT). “a” corresponde a la representación del género *Urotrygon*, mientras que “b” al género *Urobatis*. Tomado y modificado de Last y colaboradores (2016).

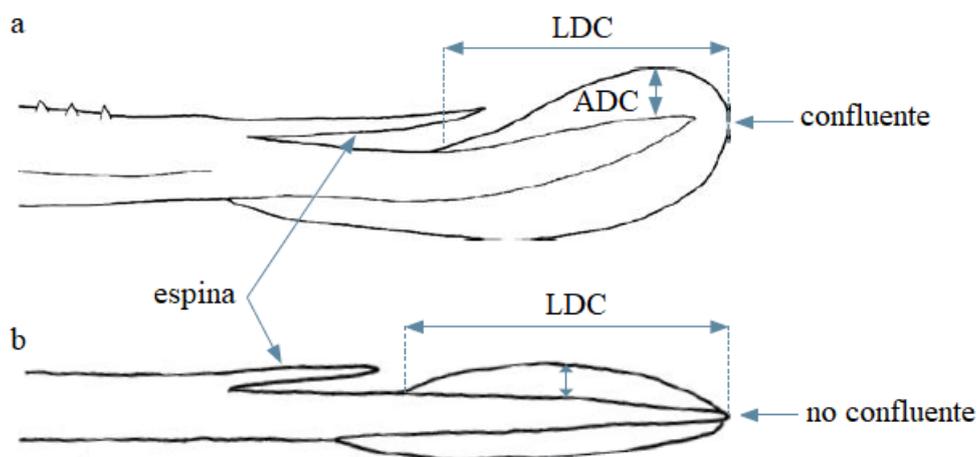


Figura 6. Representación gráfica de la anatomía y proporciones del alto (ADC) y longitud (LDC) de la aleta caudal. “a” representa al género *Urobatis* y “b” al género *Urotrygon*. Tomado y modificado de Last y colaboradores (2016).

Urotrygon

1.1. Coloración dorsal de pálido a café medio, sin ninguna mancha sobresaliente o prominente. Dentículos dérmicos no evidentes, distribuidos de manera espaciada. Espinas a lo largo de la línea media del disco y cola. Coloración ventral blancuzca. Disco con forma casi circular, con un margen anterior agudo (hocico muy pronunciado y moderadamente largo). El ancho del disco (AD) es 49–50% de LT y 1–1.1 veces su longitud (LD). Longitud del ojo (LO) 5-

6.3 de la longitud de hocico. LPO es de 11.76 a 15.61% de su LT. Distancia interorbital (DIO) entre 1.9 y 2.7 veces LO. Opérculo pupilar en forma triangular pequeña (Figura 7). Fosas nasales ovaladas y una boca muy arqueada con 28- 46 hileras de dientes en la mandíbula superior. Aletas pélvicas con forma triangular y ápices puntiagudos. Cola moderadamente larga (LCOLA 56–59% de LT) con 2-7 espinas (alargadas y en forma de quilla) antes de llegar al aguijón (LE1 menor que la longitud de la aleta caudal: LAC). Aleta caudal con forma de pluma (alargada y angosta) con una franja media negra. Talla máxima de 42,1 cm de LT (machos alcanzan la madurez sexual aproximadamente a los 24 cm) y 23,3 cm de AD *Urotrygon aspidura*

- 1.2. Coloración dorsal de café grisáceo a amarillo, con puntos o lunares más oscuros. Parte dorsal del cuerpo cubierto densamente de dentículos dérmicos, con o sin espinas en la línea media del disco y cola.... 2
2. Disco circular, con longitud aproximadamente igual al ancho. Ojos pequeños. Boca ligeramente arqueada. Aletas pélvicas ampliamente triangulares y con ápices redondeados; márgenes amplios de color grisáceo u oscuros. Aguijón largo y delgado, ubicado en la parte posterior de la cola. LE1 es más largo que el lóbulo dorsal de la aleta caudal (LDC). Aleta caudal con coloración negruzca tanto arriba como abajo 3
- 3.1. Coloración dorsal de grisáceo a café. Dentículos dérmicos relativamente grandes y encorvados; siendo más agrandados los que se sitúan justo en la línea media. Margen anterior del disco forma un ángulo obtuso, evidenciando un hocico corto y poco puntiagudo. LPO mide entre 28-30% de LD. AD 51–54% de LT y 1–1.1 veces de LD. LO igual o mayor que la longitud del espiráculo (LE) y de 5–6.7 veces de la longitud del hocico. El opérculo pupilar tiene una forma convexa y grande (Figura 7). DIO es 1.9 a 2.7 veces de LO. Fosas nasales pequeñas y con forma ovalada. LCOLA entre 52–56% de LT. Aleta caudal corta y robusta; LDC de 11-12% de LT, aproximadamente 8-10 veces su altura; la punta posterior va de forma truncada a bruscamente puntiaguda. Talla máxima 28,8 cm LT y 16 cm AD *Urotrygon munda*
- 3.2. Coloración dorsal amarillo - café. Piel rugosa, presenta dentículos dérmicos punzantes (altos) y ampliamente espaciados; más grandes hacia el medio del disco y con bases estrelladas. Sin espinas en la línea media del disco y cola. El margen anterior del disco es puntiagudo, lo cual muestra un hocico moderadamente largo (28–29% de LD). AD es 55-59% de LT y aproximadamente 1 a 1.1 veces LD. LO es de 7.1 a 9.4 veces la longitud del hocico. El opérculo pupilar tiene una forma triangular (Figura 7). DIO es de 1.4 a 2.3 veces LO. LE es de 1.4 a 2.3 veces la DIO. Fosas nasales pequeñas y con forma de falda. LCOLA

- entre 52–54% de LT. LDC entre 12–14% de LT, es aproximadamente 6–9 veces su altura y es un poco más pequeño que el lóbulo inferior. Punta posterior de aleta caudal estrechamente redondeada. Talla máxima 38 cm de LT (machos maduran aproximadamente a los 22 cm) *Urotrygon cimar*
- 3.3. Coloración café grisáceo a café pardo. Aleta caudal delgada con o sin punta cónica; LDC de 12.44 a 23.53% de LT. Dentículos dérmicos relativamente escasos, pequeños y encorvados en la línea media 4
- 4.1. Coloración dorsal uniformemente café chocolate a café pálido, ocasionalmente ligeramente moteado. Disco relativamente ancho. Espinas o agujones ausentes en el disco y la cola. Margen anterior forma un ángulo entre 110 ° - 130 ° en machos y entre 120 ° - 133 ° en hembras. AD 55–57% de LT y ~ 1–1.1 veces su longitud (LD). LPO de 30–31% de LD. Ojos pequeños, con LO entre 6.6–7.9 de la distancia pre-cloacal (LPRE). LO menor que LE. DIO de 2.4 a 2.9 veces la órbita (LO). Boca ligeramente arqueada. Mandíbula superior provista de 29–36 hileras de dientes. Fosas nasales pequeñas. Aletas pélvicas con forma triangular, con márgenes laterales ampliamente redondeados. Anchos de las aletas pélvicas (AAP) 1.21 veces la longitud (LAP). Cola de base ancha (LCOLA 53–55% LT), delgada, aplanada dorsalmente, pero, ligeramente convexa ventralmente. Aleta caudal esbelta pero no cónica; LDC de 14–16% LT y ~ 8–10 veces su altura; lóbulo dorsal más corto que el lóbulo ventral. ADC entre 17.89 y 38.89% de la LDC. Talla máxima 25 cm LT (machos maduran entre los 15 – 17 cm) y 15 cm AD *Urotrygon nana*
- 4.2. Coloración dorsal café oscuro a grisáceo con de manchas o lunares bien definidos en el disco. Coloración ventral blanca. Dentículos dérmicos erguidos a levemente encorvados y agujones irregularmente espaciados a lo largo de la línea media, en forma de quilla con base oval. Espinas agrandadas en la línea media dorsal del disco y la cola, dispuestas de manera continua o discontinua. Borde anterior del espiráculo color blanco. Disco ampliamente ovalado. Boca ligeramente arqueada. Ojos relativamente grandes, LO entre 2.66 a 6.58% de LPRE y entre 2.52 a 4.74% de LT. LO mayor que un tercio del espacio interorbital (DIO). LPO entre 9.82 y 13.59% de LT. Ángulo del hocico entre 113° y 140° en hembras. Aletas pélvicas ampliamente triangulares, con ápices redondeados y a menudo más oscuros 5
- 5.1 Coloración dorsal café-grisáceo oscuro con anchas o lunares color de café oscuro en la parte dorsal del disco. Piel casi lisa, solo con dentículos dérmicos dispuestos en hileras de forma paralelas a la línea media dorsal y sobre la cavidad visceral y, en hileras radiales en

los bordes del disco. Fila de espinas, completa o incompleta, a lo largo de la línea media del disco y la cola hasta llegar al agujijón. AD 62–64% de LT y 1.1–1.3 veces su longitud (LD). Margen anterior del disco puntiagudo, evidenciando un hocico largo. Ángulo rostral entre 100 y 121° en los machos y entre 114 y 128° en hembras. LO de 4.2 a 4.7 de la longitud del hocico. El opérculo pupilar tiene una forma convexa pequeña (Figura 7). DIO 1.5–1.8 veces su órbita (LO). Mandíbula superior provista de 32 -46 hileras de dientes. Fosas nasales pequeñas. Longitud de la cola 52–55% LT, por lo general presenta una franja oscura a lo largo de la cola media y un agujijón robusto, de base amplia y con una longitud menor que el lóbulo superior de la aleta caudal (LDC de 16–17% LT y aproximadamente 12–19 veces ADC, mucho más corto que el lóbulo inferior). Aleta caudal casi negra, con un margen pálido. Talla máxima de 46,2 cm LT (alcanza la madurez sexual a los 29 cm los machos) y 27,8 cm AD*Urotrygon rogersi*

5.2. Coloración dorsal café con manchas o lunares color de café oscuro a amarillos en la parte dorsal del disco. Dentículos dérmicos espaciados sobre el disco, no se encuentran dispuestos en hileras. AD 57–59% de LT. Disco más ancho que largo; AD 1.1–1.2 veces LD. Hocico moderadamente largo, más extendido en machos adultos. Ángulo rostral entre 112 y 132° en los machos y entre 123 a 134° en hembras. LO muy similar a LE. LO es de 3.6 - 4.3 veces de la longitud del hocico. DIO es de 1.5 a 1.8 veces que LO. Opérculo pupilar con forma convexa (Figura 7). Las fosas nasales son estrechamente ovaladas. Mandíbula superior provista de 32 - 48 hileras de dientes. LCOLA 53–56% de LT; con una espina delgada, generalmente más corta que el lóbulo superior de la aleta caudal. LDC es de 15 a 18% LT y aproximadamente 14–19 veces de ADC. El color del extremo de la aleta caudal es completamente negro. Talla máxima de 41,9 cm LT (machos alcanzan madurez sexual aproximadamente a los 24 cm) y 26 cm AD *Urotrygon chilensis*

Urobotis

1. Ojos muy separados y pequeños. Boca apenas arqueada. Fosas nasales en forma de hendidura. Agujijón corto (más largo que el lóbulo superior de la aleta caudal) y se encuentra ubicado cerca del final de la cola. Aleta caudal ligeramente robusta y ovalada, donde el lóbulo dorsal es grueso, con una punta ampliamente redondeada..... 2

2. Coloración dorsal café - amarillo a blanco, con reticulaciones muy finas de color café o anaranjado en adultos; en juveniles se presentan anillos gruesos y oscuros en el disco central y líneas discontinuas concéntricas alrededor de su margen (se vuelve más delgado y más numeroso con la edad). Coloración ventral blanca o con matices rosados. Piel lisa, sin dentículos ni espinas. Disco circular, siendo AD (62.0-65.5% de LT) y LD (64.1-65.8% de LT) muy similares. LPO es de 6.6 a 8.5 veces en LT. LO de 3.2 a 4.2 veces la longitud del hocico. Opérculo pupilar con una forma distintiva, con tres “proyecciones” (Figura 7). LE es 1.3 a 1.6 veces más grande que LO (3.9 a 5.0% de LT). DIO aproximadamente 1.4 veces LO. Mandíbula superior provista de 27–33 hileras de dientes. Longitud pre-pélvica es 51.1-53.2% de LT. Longitud pre-caudal es de 78.5-86.0% de LT. Aletas pélvicas con forma trapezoidal; con ápices estrechamente redondeados y una longitud un poco más corta que el ancho (AAP 0.9 a 1.1 veces LAP). Cola robusta y muy corta (LCOLA entre 46 – 48% de LT). LDC es 7.5–8.9% de LT y aproximadamente 1.9 a 2.2 veces su altura (ADC). La longitud del lóbulo ventral de la aleta caudal (LVC) es 14.0-15.9% de LT. Talla máxima 38 cm de LT (machos alcanzan madurez sexual aproximadamente a los 30- 32 cm)

..... *Urobatis pardalis*

2.2. Color dorsal café pálido, verdoso o grisáceo; con grupos de pequeñas manchas oscuras o finas manchas blancas y vermiculaciones densas de color café más oscuro. Coloración ventral blanca. Disco casi circular, con un punto ligeramente redondeado en el hocico; AD (56–60% de LT) y LD (54-58% de LT) muy similares. Margen anterior del disco casi recto, formando un hocico moderadamente largo. LO de 2.7 a 3.5% de la longitud del hocico. El opérculo pupilar tiene una forma convexa grande (Figura 7). LE es 0.6–1.9 veces LO. Mandíbula superior provista de 26–35 hileras de dientes. Longitud pre-pélvica es 44-48% de LT. Longitud pre-caudal 85-88% de LT. LAP mayor que AAP. Cola corta (LCOLA 49–52% LT). LAC 13% de LT y aproximadamente 6–7 veces AAC. Talla máxima 55 cm LT (ambos sexos maduran aproximadamente a los 24 cm) y 30.8 cm de AD

..... *Urobatis halleri*

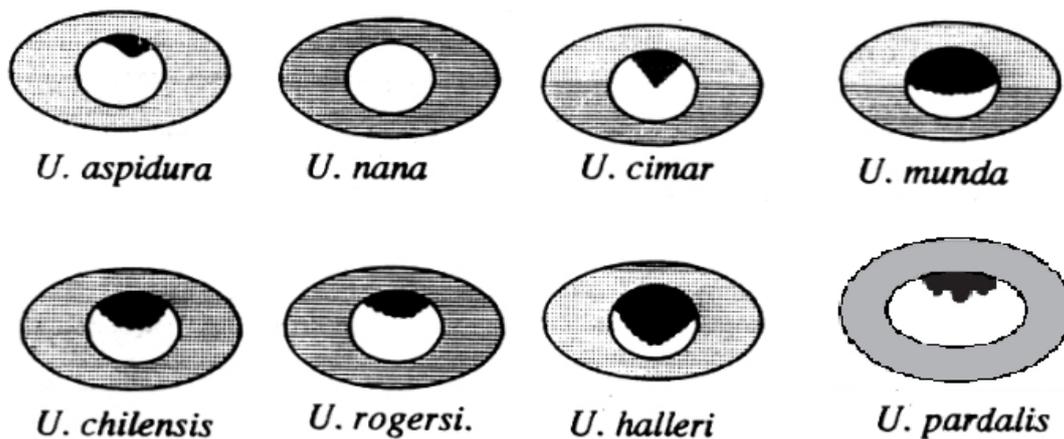


Figura 7. Comparación del opérculo pupilar de especies de la Familia Urotrygonidae. Modificación del diagrama elaborado por López-Sánchez & Bussing-Burhaus, 1998 y Del Moral-Flores et al., 2015

Al analizar las fotografías de las rayas muestreadas y, basándose en las características y proporciones descritas en la clave dicotómica mostrada anteriormente, se logró identificar 5 especies. Cuatro de estas pertenecen al género *Urotrygon* (*Urotrygon chilensis*, *Urotrygon rogersi*, *Urotrygon aspidura* y *Urotrygon cimmar*) y solo una al género *Urobatia* (*Urobatia pardalis*).

Urotrygon chilensis (Figura 8a)

Las fotografías de los doce especímenes (Cuadro 1) incluidos en el análisis provenían de “Playa Jobo”, “Las Pilas” y “Playa Rajada” (Figura 2). Las rayas presentaron diferentes fenotipos, siendo estos: manchas o lunares café oscuro bien definidos (Figura 3a); manchas o lunares color amarillo-café claro aglomeradas (Figura 3b); manchas o lunares o café oscuro aglomerados en la parte dorsal del disco (Figura 3c). La longitud total de estas rayas se mantuvo en un rango entre 21.83 cm y 45.52 cm.

Urotrygon rogersi (Figura 8b)

Se procesaron fotografías de cinco especímenes (Cuadro 1) procedentes de “Playa Junquillal”, “Playa Raya” y “Playa Jobo” (Figura 2). Al igual al caso anterior, estas rayas presentaron dos coloraciones distintas, siendo una café claro (Figura 3e) y otra café oscuro (Figura 3f). Para estas rayas, se reportó una longitud total entre 36.65 cm y 45.45 cm.

Urotrygon aspidura (Figura 8c)

Se utilizaron especímenes congelados y fotografías de tres rayas, provenientes de una pesca de arrastre del sector de Puntarenas. Todos mostraron cambio en su coloración y algunos de ellos no estaban completos. A pesar de esto, fue posible obtener ciertas mediciones como la longitud total, la cual se encontró entre 28.91 cm y 42.98 cm.

Urotrygon cimar (Figura 8d)

Se analizaron fotografías de tres rayas originarias de “Playa Coyotera” en el Pacífico Norte (Figura 2). Se presentaron dificultades a la hora de identificar los especímenes, ya que hubo una disputa entre *Urotrygon cimar* y *Urotrygon munda* debido a las semejanzas morfológicas entre ellas. No obstante, se definió que la descripción y mediciones morfométricas se ajustaban mejor a *U. cimar*. Dichas rayas presentaron una longitud total entre 22.67 cm y 26.88 cm.

Urobatris pardalis (Figura 8e)

Se procesaron fotografías de seis rayas procedentes de “Isla Muñeco”, “Playa Jobo” y “Las pilas” (Figura 2). Con estos especímenes también se tuvo cierta duda al identificarlos morfológicamente, esto ya que las imágenes alusivas que contiene la guía de identificación “Rays of the World”, arrojaban una similitud mayor a la especie identificada como *Urobatris halleri*. Sin embargo, al estudiar detenidamente cada una de las características descritas y relaciones morfométricas, se logra identificar como *U. pardalis*. Además, también se realiza una comparación entre fotografías de *U. halleri* provenientes de México (Figura 9) y *U. pardalis* en Costa Rica, las cuales tuvieron una longitud total entre 23.67 cm y 41.26 cm.



Figura 8. Especies identificadas en el Pacífico Norte y Central de Costa Rica, por medio de análisis morfológicos. a. *Urotrygon chilensis*; b. *Urotrygon rogersi*; c. *Urotrygon aspidura*; d. *Urotrygon cimar* y d. *Urobatis pardalis*

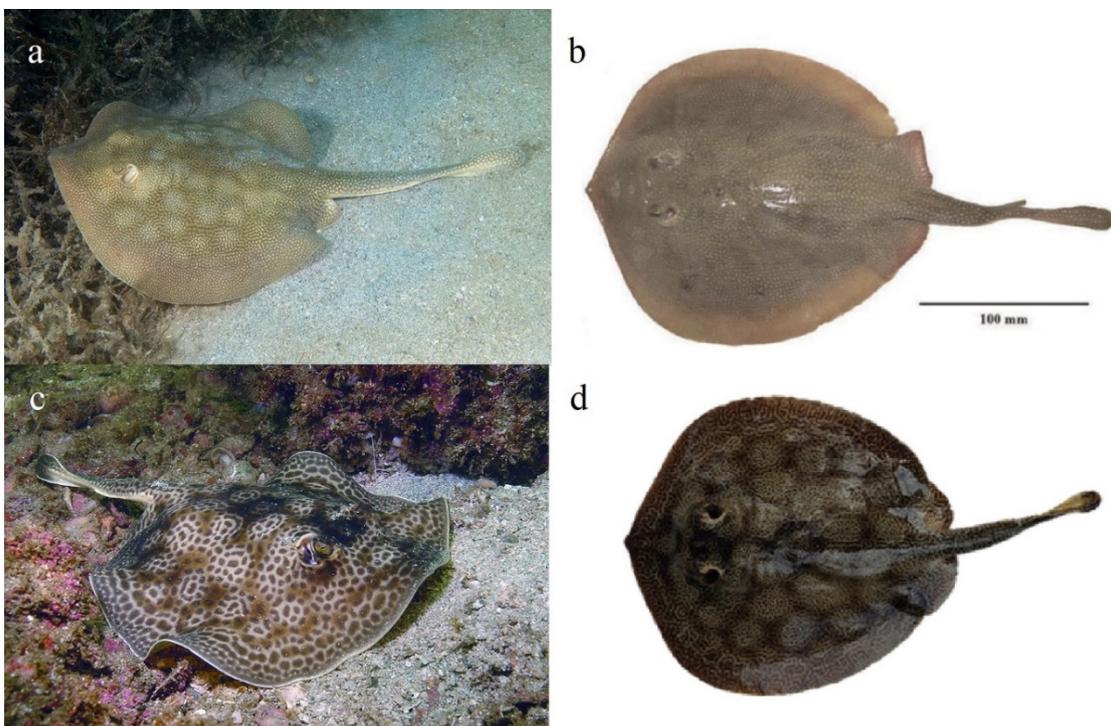


Figura 9. Comparación entre *U. halleri* y *U. pardalis*. “a” corresponde a una fotografía de *U. halleri* tomada en México por Andy Murch de Elasmodiver; “b” representa un espécimen de *U. halleri* en el Golfo de California, México (tomada de Rubio-Rodríguez, Navarro-González, & Vergara-Solana, 2010); “c” corresponde a una fotografía de *U. pardalis* tomada en Montezuma, Costa Rica por Andy Murch de Elasmodiver; “d” representa un espécimen de *U. pardalis* en El Jobo, Costa Rica.

Por otra parte, en la colección del Museo de Zoología, se registran 9 especies en el Pacífico de Costa Rica (Figura 10): *Urotrygon chilensis*, *Urotrygon rogersi*, *Urotrygon aspidura*, *Urotrygon cimar*, *Urotrygon munda*, *Urotrygon nana*, *Urotrygon concentricus*, *Urotrygon sp* y *Urobatis halleri*. Se tomaron en cuenta 74 rayas para realizar el mapa de distribución, donde se reportó a *Urotrygon chilensis* como la especie más abundante (24 especímenes) distribuida en el Pacífico Central y Sur (Figura 11a), seguido por *Urotrygon nana* (22 especímenes) en el Pacífico Central (Figura 11e) y *Urotrygon aspidura* (11 especímenes) en el Pacífico Central (Figura 11b). En la categoría de *Urotrygon sp* se encasillan 9 especímenes distribuidos en el Pacífico Central (Figura 11c). Posteriormente, entre las especies menos abundantes se reportó a *Urobatis halleri* (4 especímenes) en el Pacífico Norte y Central (Figura 11f), *Urotrygon rogersi* (2 especímenes) en Pacífico Central (Figura 11d) y por último, con un espécimen cada uno, se encuentra *Urotrygon cimar* (Figura 11g) y *Urotrygon concentricus* (Figura 11h) en el Pacífico Central y Sur respectivamente. La especie *U. munda* no fue incluida durante este análisis ya que carecía de puntos GPS completos.

Es importante mencionar que se encontraron varias discrepancias en cuanto a la identificación taxonómica de las rayas. Algunas de ellas se encontraron identificadas de manera errónea e incluso otras están identificadas como *Urotrygon sp*. Por lo tanto, se sugiere realizar una re-identificación de especies. Debido a esto y, al mal estado en el que se encontraron algunas de las rayas, sólo se utilizaron las fotografías de 76 especímenes del museo (8 *U. chilensis*, 10 *U. halleri*, 9 *U. aspidura*, 13 *U. cimar*, 9 *U. munda*, 19 *U. nana* y 8 *U. rogersi*) para realizarles mediciones morfométricas.

Para el análisis de componentes principales, se incluyeron en total 105 especímenes (Cuadro 3). Se mostró que el 86.02% de la variación estuvo explicada en los componentes 1, 2, 3, 4, 5, 6, y 7 (45.68%, 11.38%, 8.92%, 6.94%, 5.44%, 4.82% y 2.84% respectivamente). Las variables más importantes que contribuyeron en el componente principal 1 y 2 fueron LO, LPRE, AAC, DUHB, LHB, LD, AD, LCOLA y DPHB (Figura 12); esto quiere decir que fueron las variables más importantes que nos permiten distinguir 8 grupos: *U. chilensis*, *U. rogersi*, *U. aspidura*, *U. nana*, *U. munda*, *U. cimar*, *U. pardalis* y *U. halleri* (Figura 13).

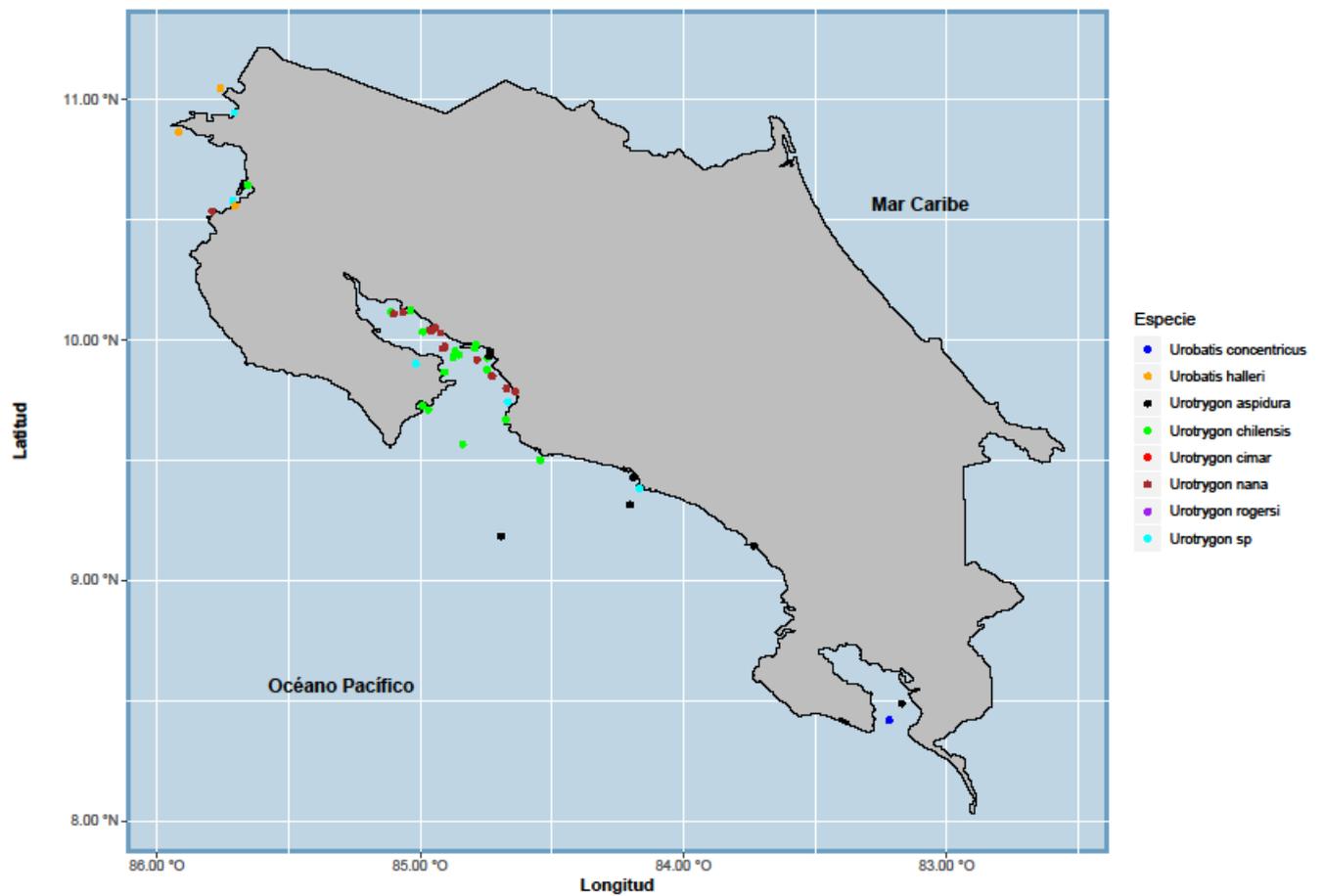


Figura 10. Representación general de la distribución de todas las especies de rayas de la Familia Urotrygonidae que se encontraban en la colección del Museo de Zoología de la Universidad de Costa Rica (UCR) entre 1964-2013

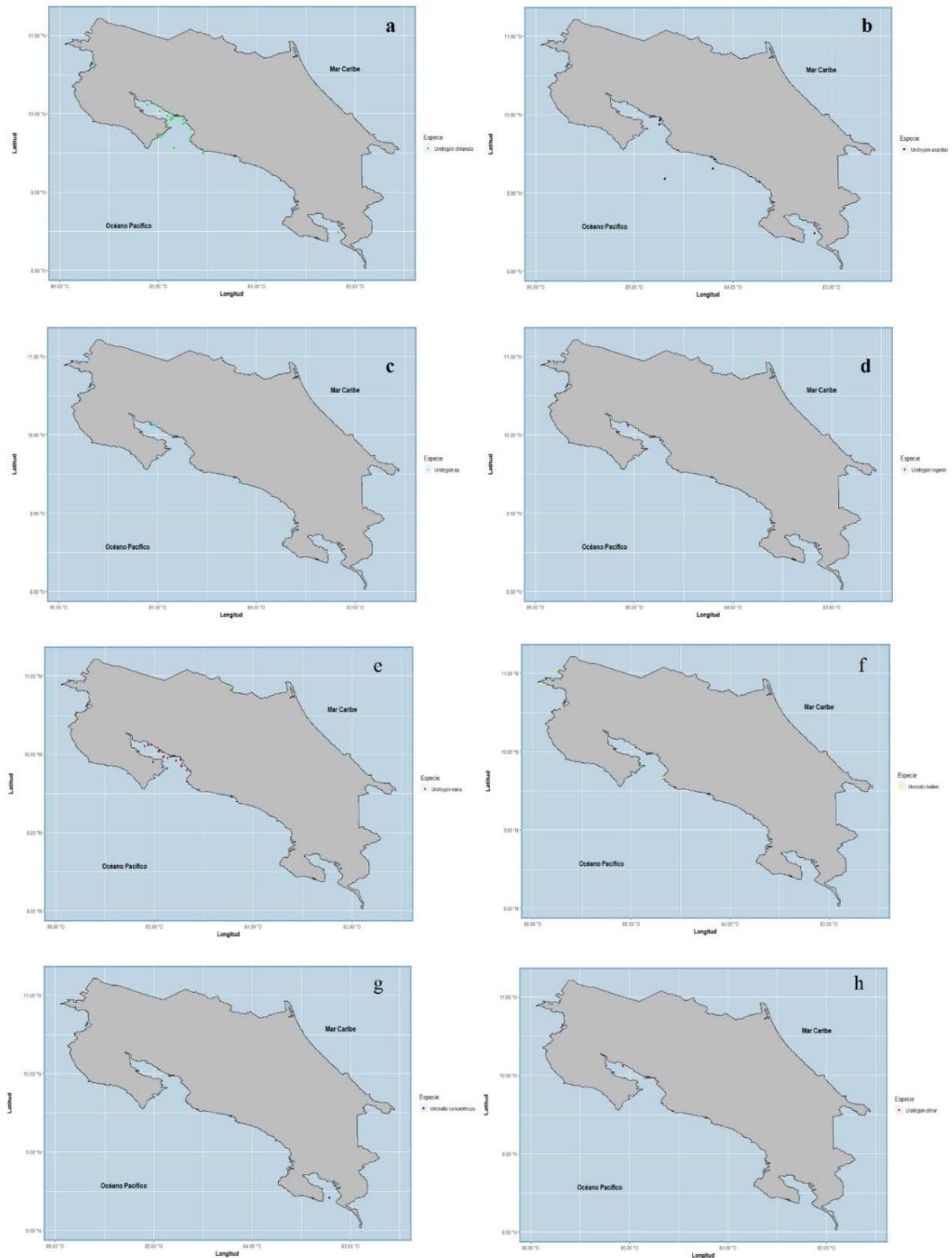


Figura 11. Representación por especie de la distribución de rayas de la Familia Urotrygonidae que se encontraban en la colección del Museo de Zoología de la Universidad de Costa Rica

(UCR) entre 1964-2013. a. *Urotrygon chilensis*; b. *Urotrygon aspidura*; c. *Urotrygon sp*; d. *Urotrygon rogersi*; e. *Urotrygon nana*; f. *Urobatis halleri*; g. *Urotrygon concentricus*; h. *Urotrygon cimar*

Es importante destacar que el 52.94% de las especies de la Familia Urotrygonidae están categorizadas como “Datos Deficientes”, el 23.53% en categorías de bajo riesgo, el 11.76% bajo una categoría de amenaza y el 11.76% no han sido evaluados. En este estudio, se analizaron rayas distribuidas a lo largo de la costa Pacífica de Costa Rica, donde el 62.5% de las especies (*U. rogersi*, *U. munda*, *U. nana*, *U. aspidura* y *U. chilensis*) están categorizadas como “Datos Deficientes”, el 25% (*U. pardalis* y *U. cimar*) no han sido evaluadas y el 12.5% (*U. halleri*) como preocupación menor.

Cuadro 3. Lista de especies utilizadas durante el análisis de componentes principales, incluye la cantidad total de especímenes por especie, procedencia (colección del Museo de zoología: Museo, Pacífico Norte: PN y Puntarenas: PC) y estado de conservación según la Lista Roja de la UICN

Nombre científico	Cantidad especímenes		Total	Estado conservación UICN
	Museo	PN / PC		
<i>Urotrygon chilensis</i>	8	12	20	Deficiente de Datos
<i>Urotrygon aspidura</i>	9	3	12	Deficiente de Datos
<i>Urotrygon cimar</i>	13	3	13	No Evaluado
<i>Urotrygon munda</i>	9	0	9	Deficiente de Datos
<i>Urotrygon rogersi</i>	8	5	13	Deficiente de Datos
<i>Urotrygon nana</i>	19	0	19	Deficiente de Datos
<i>Urobatis halleri</i>	10	0	10	Preocupación menor
<i>Urobatis pardalis</i>	0	6	6	No Evaluado

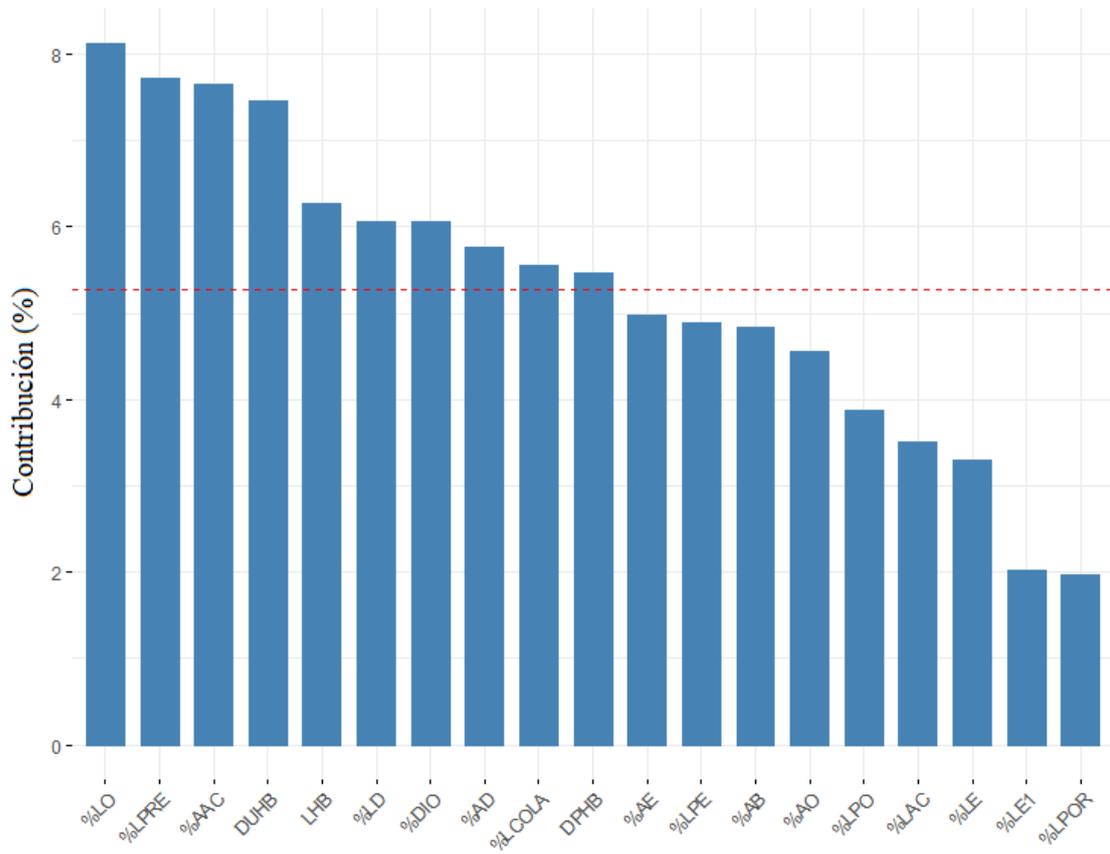


Figura 12. Representación gráfica de la contribución aportada por cada una de las variables más importantes. La línea roja discontinua en el gráfico indica la contribución promedio esperada. Una variable con una contribución mayor que este límite podría considerarse importante para contribuir al componente.

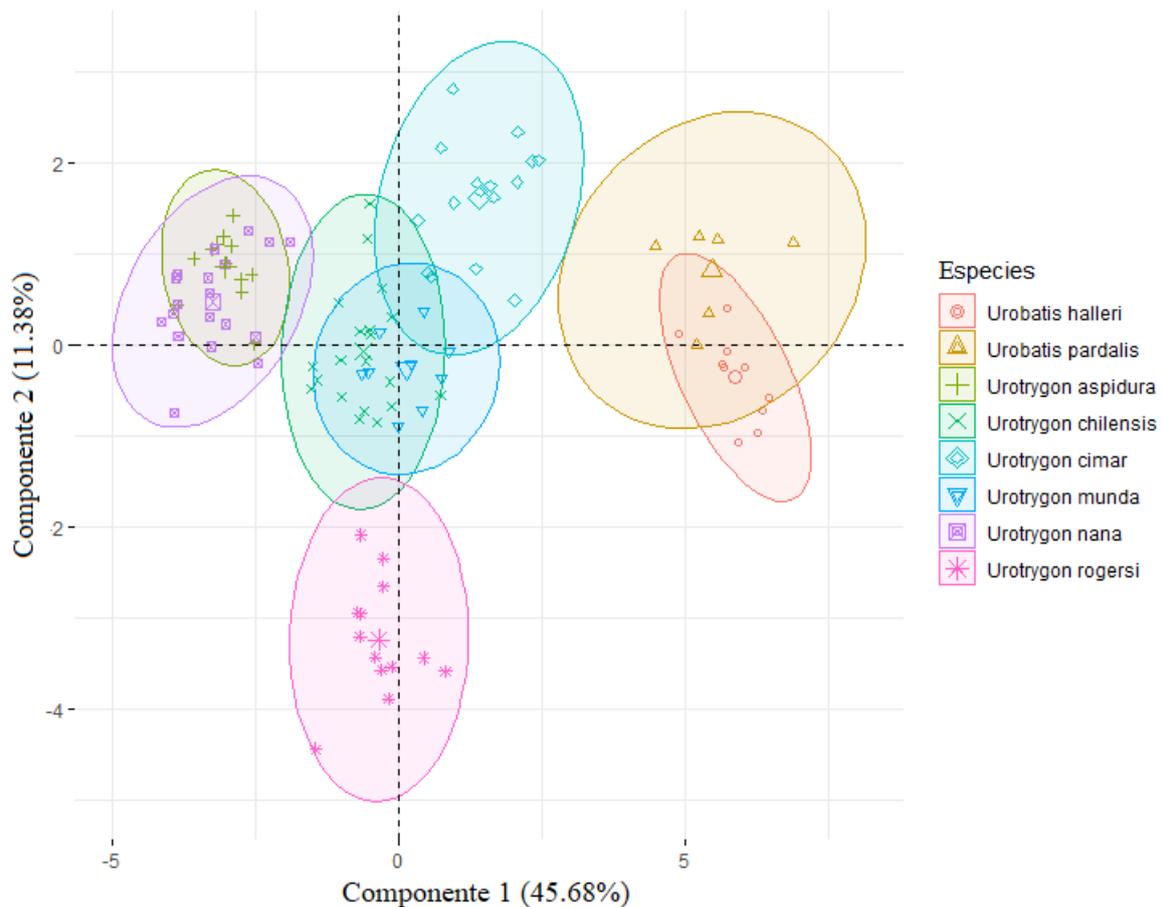


Figura 13. Representación gráfica de la dispersión de datos según el componente principal 1 y 2. Separación de datos en ocho grupos (especies).

Confirmación taxonómica

Los análisis filogenéticos incluyeron un total de 43 secuencias mitocondriales para el gen NADH2, con una longitud total de 864 pb cada una. Al realizar la alineación de las secuencias con los programas MAFT y MUSCLE y, utilizar los análisis de ML e IB, se obtuvo la presencia de topologías idénticas bien soportadas, donde se observaron dos clados. Se hizo la distinción de una distribución antiamericana, la cual diverge a la familia Urolophidae en Oceanía y la familia Urotrygonidae con dos géneros: *Urotrygon* y *Urobatis* en ambos océanos del continente americano (Figura 14).

De los 8 diferentes morfos y fenotipos encontrados en el Pacífico Norte de Costa Rica, se identificó la presencia de cuatro especies del género *Urotrygon*, siendo estas *U. chilensis*, *U. rogersi*, *U. aspidura* y *U. cimar*. Se comprobó genéticamente que a pesar de que especies como *U. chilensis* y *U. rogersi* presentaban una coloración diferente entre individuos, se trataba

de la misma especie, esto ya que agruparon por especie y se separaron de sus congéneres (Figura 8).

Por otra parte, con respecto al género *Urobatris*, se determinó que las secuencias obtenidas de las rayas que estaban catalogadas con *U. halleri*, no coinciden con las secuencias de *U. halleri* de México, es decir, son sustancialmente divergentes por lo que no se agrupan como una sola especie. Por lo tanto, tomando en cuenta las características morfológicas y la separación que existe en los árboles filogenéticos obtenidos, se sugiere que se trata de *U. pardalis*, en lugar de *U. halleri* como se pensaba al inicio de esta investigación.

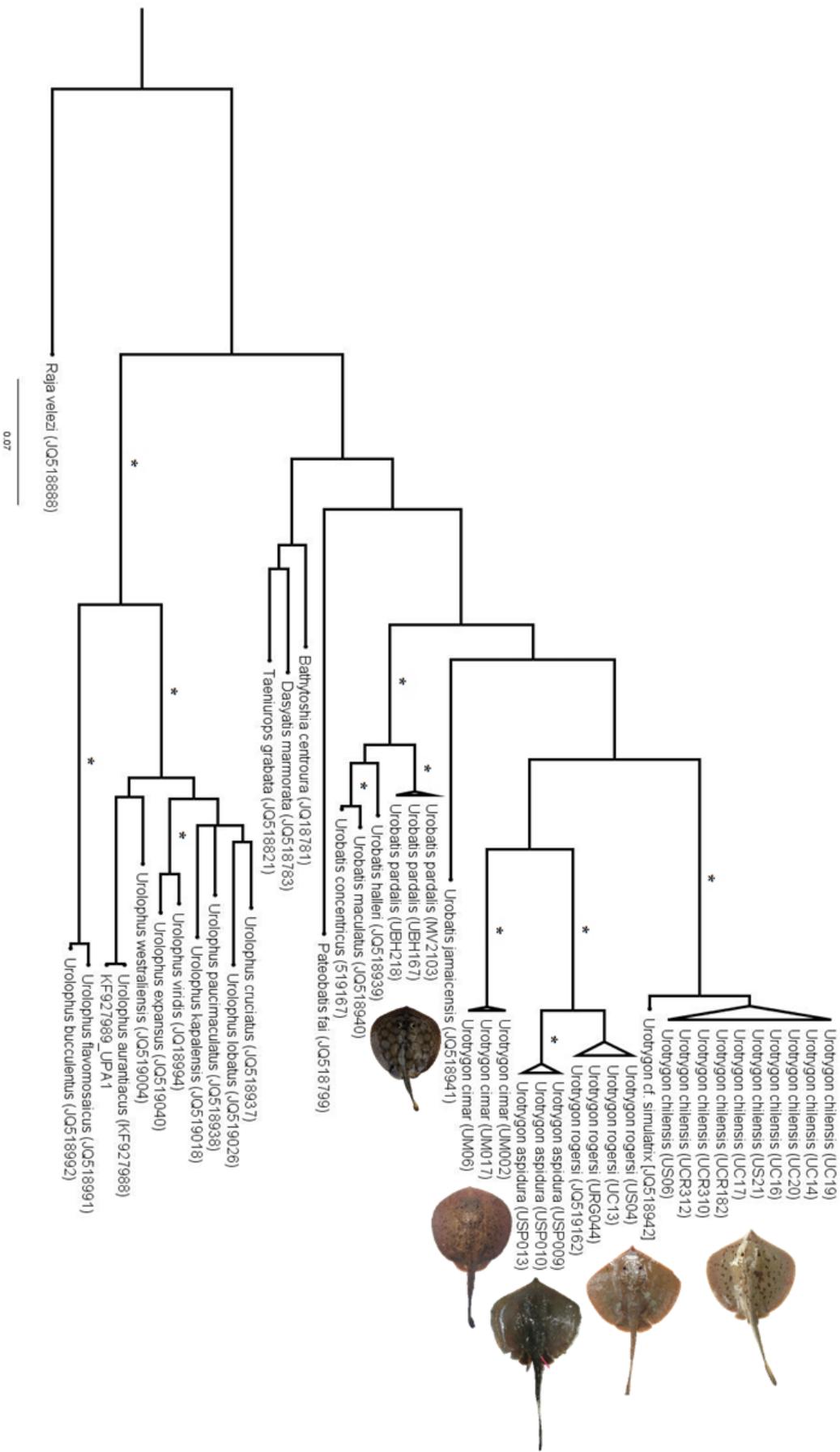


Figura 14. Posicionamiento taxonómico obtenido a partir de los análisis de ML e IB al utilizar las secuencias de la subunidad 2 del NADH de información obtenida en el genbank y secuencias de este estudio. * representa los valores de booststraps de 100 para ML y valores de probabilidad posterior de 1 para IB.

5. Discusión

Las poblaciones de elasmobranquios han disminuido drásticamente durante los últimos años, lo que los ha convertido en uno de los grupos más amenazados a nivel mundial dentro de las especies marinas (Cortes, 2002; Bräutigam et al., 2015). A su vez, son catalogados como el grupo animal vertebrado con mayor deficiencia de datos biológicos, en comparación con los demás grupos evaluados. Esto se demuestra al observar que actualmente, el 41,74% de las especies de elasmobranquios se encuentran bajo la categoría de “Datos Deficientes” o “DD” de acuerdo con la Lista Roja de la UICN (Dulvy et al., 2014).

Se desconoce el estado de amenaza global del 67.5% de las especies de la Familia Urotrygonidae, reportadas en Costa Rica; esto ya que se encuentran dentro de la categoría “Deficientes de datos” o no han sido evaluadas por la UICN. Lo más preocupante de esta cifra es que, se ha demostrado que las rayas de la Familia Urotrygonidae forman parte importante de las capturas incidentales en pesquerías a pequeña escala y pesquerías de camarón en Costa Rica (Clarke et al., 2016; Espinoza et al., 2018).

Sin embargo, a veces no es posible identificar hasta nivel de especie a las rayas provenientes de los desembarques pesqueros, debido a la similitud morfológica entre algunas especies y, a que algunas manchas y patrones sutiles de color se pueden perder después de su muerte, dificultando aún más su identificación (Last et al., 2016). Por esta razón, se creó una clave dicotómica y una guía de identificación (basada en fotografías y principales características) con el fin de facilitar la identificación taxonómica por medio de caracteres morfológicos y mediciones morfométricas. Asimismo, se espera que la guía de identificación pueda ser utilizada en distintas áreas y por cualquier persona que requiera identificar rayas de la Familia Urotrygonidae en el Pacífico de Costa Rica.

Identificación morfológica

Con respecto a las rayas muestreadas en el Pacífico Norte y Puntarenas, dentro del género *Urotrygon*, las especies *U. chilensis*, *U. aspidura* y *U. rogersi*, se lograron identificar fácilmente. Características morfológicas y relaciones morfométricas como la presencia/ ausencia de lunares en la parte dorsal del disco, presencia/ ausencia de espinas a lo largo de la línea media del disco y la cola, forma del opérculo pupilar, ancho del disco, longitud de la cola, ancho y longitud de aleta caudal, tamaño del ojo y longitud pre-caudal fueron claves para diferenciar entre especies (Del Moral-Flores et al., 2015; Fischer et al., 1995; Last, et al., 2016; Miyake & McEachran, 1988). Sin embargo, *U. cimar* presentó más dificultad en la identificación morfológica, debido a la semejanza con *U. munda*.

La primera diferencia que se encuentra entre *U. munda* y *U. cimar* es su longitud total, ya que la primera es catalogada como una raya áspera de tamaño pequeño (talla máxima de aproximadamente 25 cm), mientras que *U. cimar* es catalogada como una raya áspera de tamaño medio (talla máxima 38 cm LT) (Fischer et al., 1995; Last et al., 2016). En nuestro caso, las rayas sobrepasaron los 22 cm de LT y el mayor tamaño fue de 26.88 cm. Además, resulta de gran relevancia mencionar que se tienen datos de al menos 42 rayas más, donde la talla máxima reportada fue de 33 cm de LT.

Con respecto a su coloración, *U. cimar* presenta en su dorso un color amarillo - café con manchas marrones más oscuras sobre su disco; mientras que *U. munda* tiene una coloración café grisáceo con manchas negras; ventralmente, *U. cimar* es principalmente blanca y lisa y *U. munda* es mayormente blanca en la cola y parte central del disco (Fischer et al., 1995; Last et al., 2016; López & Busing, 1998). A pesar de que algunas de nuestras rayas solo presentaban en la parte ventral del disco una coloración blanca en el centro y parte de la cola, la descripción de coloración se ajusta más a *U. cimar*.

Por otro lado, el opérculo pupilar tiene una forma triangular (Figura 7) en *U. cimar*, mientras que en *U. munda* tiene una forma convexa y grande (Figura 7). En relación a esta última característica, las rayas muestreadas tienen un opérculo pupilar más similar al de *U. munda*, ya que este no es de forma triangular, sino que más bien es convexa (Figura 15d). Esta es una de las principales características que creó cierta confusión a la hora de poder identificar de manera correcta esta especie. Sin embargo, en otras especies también se observó cierta discrepancia en la forma del opérculo pupilar (*U. chilensis* y *U. aspidura*), por lo que se espera que en el futuro

se puedan realizar estudios comparativos de ojos entre individuos de diferentes regiones, tanto a nivel nacional como internacional para hallar una explicación para esta variación.

A pesar de que se observan ciertas diferencias morfológicas entre estas dos especies, también existen semejanzas entre ambas. Por ejemplo, la forma del disco es circular (ancho y longitud del disco similares), sus ojos son pequeños, el rango del espacio interorbital y longitud de la cola de *U. cimar* se encuentra dentro del rango de *U. munda*; así como la coloración de la aleta caudal y forma del agujón dorsal, son características que no se pudieron utilizar para diferenciar entre especies (Castro-Aguirre, Espinosa Pérez, & Schmitter-Soto, 1999; Lastet al., 2016; Mejía-Falla, Navia, & Muñoz, 2011; Torres-Huerta, Carrasco-Bautista, & Cruz-Martínez, 2013). Pese a que se logró identificar esta especie, la presencia de características similares complicó su identificación, razón por la cual la identificación genética tomó un rol importante.

De manera similar a la anterior, *Urobatis pardalis* también generó problemas de identificación. *U. pardalis* es una especie descrita recientemente (Del Moral-Flores et al., 2015) y probablemente ha sido identificada como *U. halleri* en múltiples ocasiones. *U. halleri* es de tamaño medio a grande, con una longitud de hasta 55 cm LT (ambos sexos maduran aproximadamente a los 24 cm); mientras que *U. pardalis* es de tamaño medio (puede alcanzar hasta los 38 cm de LT; machos alcanzan madurez sexual aproximadamente a los 30- 32 cm) (Last et al., 2016). Las rayas muestreadas presentaron tallas de hasta 41.26 cm de LT, lo que podría sugerir que en el Pacífico Norte de Costa Rica se registran mayores tamaños de *U. pardalis*, lo cual podría deberse a que esta zona es sumamente productiva.

La piel de *U. pardalis* es lisa, sin dentículos ni espinas. Su coloración dorsal es café - amarillo a blanquecino, con reticulaciones muy finas de color marrón o anaranjado en adultos; en juveniles se presentan anillos gruesos y oscuros en el disco central y líneas discontinuas concéntricas alrededor de su margen (se vuelve más delgado y más numeroso con la edad); ventralmente, es de color blanco o con matices rosados. Por otro lado, el color dorsal del disco en *U. halleri* es café pálido, verdoso o grisáceo, con pequeñas manchas oscuras y/o blanquecinas finas y vermiculaciones densas de color café más oscuro; mientras que ventralmente es de color pálido (Del Moral-Flores et al., 2015; Fischer et al., 1995; Last et al., 2016). Fenotípicamente, las rayas analizadas son más similares a *U. pardalis* ya que presentaron una coloración dorsal de café a anaranjado, con su parte ventral clara, algunas veces un poco amarilla o rosa.

Una de las principales características diagnósticas entre ambas especies es la forma del opérculo pupilar, ya que una de las especies tiene una forma distintiva con tres “proyecciones” tal y como la presentan las rayas muestradas (Figura 15e) y la otra (*U. halleri*), tiene una forma convexa grande. No obstante, estas dos especies comparten características como la forma del disco casi circular (AD y LD muy similares), boca apenas arqueada, fosas nasales en forma de hendidura, cola y aguijón caudal cortos y una aleta caudal ligeramente robusta y ovalada (Del Moral-Flores et al., 2015; Mejía-Falla, Navia y Puentes, 2011; Last et al., 2016). Finalmente, al analizar las similitudes y diferencias que existen entre ambas especies y compararlas con las fotografías que se obtuvieron de las rayas del Pacífico Norte, se apoya la idea que se trata de *U. pardalis* y no *U. halleri*, debido a que existe mayor coincidencia en la descripción de la primera especie mencionada. No obstante, al igual que en el caso anterior, la identificación a través de análisis genéticos tomó gran relevancia.



Figura 15 Fotografías de ojos de las rayas muestradas. a. *Urotrygon chilensis*; b. *Urotrygon aspidura*; c. *Urotrygon rogersi*; d. *Urotrygon cimar* y e. *Urobatis pardalis*. En *U. aspidura* no es posible observar la forma de su opérculo pupilar, al tratarse de un organismo muerto.

Por otra parte, al analizar los datos provenientes del museo y realizar los mapas de distribución, se reportó la presencia de *Urobatis concentricus* en el Pacífico Sur de Costa Rica. Sin embargo, esta especie se distribuye desde Baja California (incluyendo el Golfo) hasta el sur de México (Last et al., 2016). El reporte de esta especie, aunado a que algunas especies

están identificadas como “*Urotrygon* sp” y otros especímenes muestran discrepancias en su identificación taxonómica, se sugiere realizar una re-identificación de especies, con el fin de actualizar la base de datos del museo y así, poder usar esta colección como base de otras investigaciones.

Debido a lo anterior, la cantidad de rayas provenientes del museo para el análisis de componentes principales fue baja. A pesar de que este análisis separó los datos en 8 grupos (*U. chilensis*, *U. aspidura*, *U. nana*, *U. cimar*, *U. munda*, *U. rogersi*, *U. pardalis* y *U. halleri*), se generaron dudas con respecto al género *Urobatis*. Se cree que *U. halleri* del museo y *U. pardalis* del Pacífico Norte son la misma especie. Al estudiar detalladamente las relaciones morfométricas y las características morfológicas de estas dos especies, se determinó que morfológicamente son idénticas y, además, las proporciones calculadas para diferenciar entre especies (AD, LD, LCOLA, DIO, LO, AAC, LAC, LPRE, LDC, ADC, LPO y longitud precaudal), presentaron valores dentro de los mismos rangos y estos a su vez, coinciden con los rangos descritos en la literatura para *U. pardalis* (Del Moral-Flores et al., 2015; Last et al., 2016). Por lo tanto, se recomienda realizar una identificación taxonómica de los especímenes del museo y compararlo con las muestras del Pacífico Norte, con el fin de confirmar si se trata de la misma especie o no.

Comprobación taxonómica mediante aproximaciones moleculares

Al comparar los resultados obtenidos con ambos métodos, se confirmó de manera óptima la identificación taxonómica de *Urotrygon rogersi*, esto ya que al examinar las características morfológicas y las relaciones morfométricas descritas en la literatura, a pesar de tener enfrentarse a caracteres un poco confusos, se logró identificar correctamente esta especie. Entre las características diagnósticas utilizadas para su identificación, resalta la presencia de una piel casi lisa, una fila de espinas a lo largo de la línea media del disco y la cola hasta llegar al agujón, lunares pequeños, muy separados, bien definidos y de color oscuro en la parte dorsal del disco, opérculo pupilar en forma convexa pequeña, AD 62–64% de LT, LCOLA 52–55% LT y aleta caudal casi negra (Fischer et al., 1995; Hleap, Mejía-Falla, & Cárdenas, 2012; Last et al., 2016; Mejía-Falla et al., 2011). Paralelamente, esta fue la única especie que contó con una secuencia de referencia proveniente de Genbank (Naylor et al., 2012), donde se observa claramente que se agrupa con las secuencias obtenidas con las muestras del Pacífico Norte,

además los valores de soporte confirman que se trata de la misma especie. En consecuencia, la comprobación taxonómica de esta especie fue exitosa al comparar ambas metodologías.

De manera similar, *U. chilensis* también se pudo identificar correctamente. El patrón de manchas o pecas de color entre café oscuro y amarillas en la parte dorsal del disco la hacen evidentemente distinguible del resto de rayas. Además, un disco más ancho que largo (AD 1.1–1.2 veces LD), AD 57–59% de LT, la presencia de espinas a lo largo de su línea media hasta llegar a un aguijón caudal delgado y largo; un opérculo pupilar con forma convexa, LCOLA 53–56% de LT y el color del extremo de la aleta caudal completamente negro, se consideraron como características diagnósticas de esta especie (Fischer et al., 1995; Guzmán, 2015; Last et al., 2016).

Una de las principales dudas que se tuvo al inicio de esta investigación, fue si *U. chilensis* presentaba diferentes fenotipos o bien, se trataba de especies distintas. Al realizar los análisis morfológicos (mediciones morfométricas e identificación de caracteres), los resultados arrojaron que se trataba de la misma especie, lo cual también fue confirmado con los resultados obtenidos por medio de Barcoding, donde es evidente que todas las secuencias de *U. chilensis* se encuentran dentro del mismo clado, con valores más altos de soporte bootstrap y probabilidad posterior. Sin embargo, es relevante mencionar que para esta especie no existía una secuencia de referencia del gen NADH2 dentro de la base de Genbank, lo que no permitió comparar nuestras secuencias con las de otros países. Esta especie se distribuye desde el suroeste de Baja California (incluyendo el Golfo) en México hasta el norte de Chile (Last et al., 2016).

Al igual que en el caso anterior, *U. aspidura* y *U. cimar* se pudieron identificar morfológicamente utilizando claves dicotómicas y otras características descritas en la literatura consultada (Fischer et al., 1995; Flores-Ortega, 2011; Last et al., 2016; Miyake & McEachran, 1988; Torres, 2015). Ahora bien, con *U. cimar* se tuvo cierta confusión y dificultad para identificar la especie debido a que *U. munda* presentaba características muy similares, por lo que se esperaba que la identificación genética iba a jugar un papel muy importante. Sin embargo, *U. aspidura* y *U. cimar* no tuvieron una secuencia del gen NADH2 de referencia para poder compararlas con especímenes de otros países. En este caso, proponemos nuestros resultados morfológicos y moleculares, asignando taxonómicamente a *U. aspidura* y *U. cimar*.

Finalmente, al igual que con *U. cimar*, se tuvo cierto grado de incertidumbre al identificar *U. pardalis*, ya que ciertas características morfológicas resultaron un poco confusas. Adicionalmente, al basarnos en la representación gráfica que contenía el libro “Rays of the

World” (Last et al., 2016) de esta especie y compararlas con nuestras fotografías, era muy probable que se tratara de *U. halleri*. Pero, al estudiar detalladamente cada una de las características y relaciones morfométricas planteadas en diferentes artículos científicos y guías de identificación (Del Moral-Flores et al., 2015; Fischer et al., 1995; Last et al., 2016), se llegó a la conclusión de que los especímenes del Pacífico Norte compartían más características con *U. pardalis* que con *U. halleri*. De igual modo, al comprar nuestras fotografías con fotografías de especímenes de *U. halleri* de México, se pudieron observar diferencias en el patrón de coloración y manchas de las rayas. Estas características, sumadas a los resultados genéticos, nos confirmaron que se trataba de *U. pardalis*. Si bien es cierto, no se contaba con una secuencia de referencia de *U. pardalis*, si se tuvo a disposición varias secuencias de *U. halleri* provenientes de México y otros países. Al comparar ambas secuencias, se observó claramente que las secuencias del Norte de nuestro país estaban en un clado diferente al de *U. halleri*, lo cual indicó que se trataban de especies diferentes. Por lo tanto, se cree que la representación gráfica de *U. halleri* y *U. pardalis*, se pudo haber confundido en el libro de Last y colaboradores (2016) y que probablemente, *U. pardalis* tenga un mayor rango de distribución, ya que solo está reportada para Costa Rica (Last et al, 2016). Sin embargo, es necesario realizar una mayor cantidad de estudios que demuestren esta hipótesis.

Al comparar la identificación taxonómica basada en morfología con la identificación basada en técnicas moleculares (Barcoding), se confirma lo expuesto por autores como Riveros y colaboradores (2001), donde indican que la segunda es mucho más precisa, rápida, objetiva y aplicable a gran número de muestras. De hecho, la tasa de precisión es de un 98% o más, siendo esto imposible de lograr en la actualidad con métodos morfológicos tradicionales (Packer, Gibbs, Sheffield, & Hanner, 2009).

Otra ventaja de esta técnica es que solo se requiere una pequeña porción del animal, lo que significa que es posible devolver al animal vivo a su hábitat natural después de coleccionar la muestra (Packer et al., 2009). Una de las principales razones por la que se utilizó fotografías y Barcoding para identificar a las rayas, fue para devolverlas a su hábitat natural en el menor tiempo posible, esto para reducir el estrés del animal y reducir al máximo la mortalidad de organismos. Tal y como se mencionó anteriormente, algunas de estas especies ni siquiera han sido evaluadas y las otras, están categorizadas como “Datos deficientes”, por lo que no se quiso correr el riesgo de afectar de manera negativa o comprometer sus poblaciones.

Debido a lo anterior, se recomienda complementar la identificación taxonómica de las especies en estudio con técnicas moleculares. Se ha demostrado que el código de barras de ADN es más eficiente para identificar y reconocer especies en comparación con la taxonomía tradicional y, además, Barcoding promete resolver situaciones donde la taxonomía tradicional a menudo fracasa, incluso si los taxónomos tradicionales están dispuestos a realizar la tarea (Packer et al., 2009).

Se espera que esta investigación pueda ser utilizada como línea base para identificar especies de manera correcta, ya que lo principal que se requiere para crear o desarrollar planes de manejo eficaces, es la identificación correcta de los animales. Al no tener las especies bien identificadas, se puede cometer el error de encasillar a varias especies dentro de una misma, alterando los datos de estructura poblacional y el estado actual de sus poblaciones.

Además, el desconocimiento de la importancia ecológica y estado poblacional de los batoideos, podría ser una de las causas principales por las cuales son utilizados como carnada y no se protegen en las costas. Por esta razón, con el propósito de difundir el conocimiento adquirido a través de esta tesis, se realizaron varias charlas informativas a comunidades costeras y público en general (Anexo 4). De igual manera, en los anexos se encuentra un protocolo diseñado específicamente para capturar y procesar rayas de una manera efectiva y causando el menor estrés posible en cada una de las rayas, por lo que se espera que también pueda ser utilizado por la comunidad científica, con el fin de ampliar las investigaciones dirigidas a este importante grupo de meso-depredadores y así, velar por el bienestar y equilibrio de los ecosistemas.

6. Conclusiones

- Se desconoce el estado de amenaza de la mayoría de las especies de la familia Urotrygonidae, lo cual es alarmante ya que esta familia es de las más afectadas por la pesca incidental en Costa Rica.
- *Urotrygon chilensis* y *Urotrygon rogersi* presentan variación en la coloración dorsal y en las manchas o lunares de su disco. Sin embargo, se desconoce a qué se debe esta variación. Se puede suponer que se debe a cambios en alimentación o edad, pero se requieren mayores estudios para comprenderlo.
- Algunas especies de la Familia Urotrygonidae, como por ejemplo *U. cimar* y *U. munda*, presentan características morfológicas muy similares entre sí. Esto, aunado a que las descripciones de especies en claves dicotómicas pueden ser ambiguas, dificulta su identificación taxonómica.
- Para obtener una identificación taxonómica más precisa de los organismos, se deberían de complementar tanto las técnicas basadas en características morfológicas y mediciones morfométricas, como las técnicas moleculares.

7. Recomendaciones

- Confirmar o complementar genéticamente la identificación taxonómica de las especies en estudio, debido a su rápida resolución y precisión.
- Capacitar a funcionarios de Incopesca y otras entidades encargadas de analizar las faenas de pesca, para una correcta identificación de especies, evitando así el sesgo de datos.
- Ampliar los estudios de batoideos en la zona, principalmente enfocar esfuerzos a la resolución de la presencia de distintos fenotipos en *Urotrygon chilensis* y *Urotrygon rogersi*.
- Realizar una re-identificación de las rayas del museo de zoología, debido a errores de identificación detectados en algunos especímenes.

8. Referencias bibliográficas

- Amezcu-Linares, F. (1996). *Peces demersales de la plataforma continental del Pacífico Central de México* /. Retrieved from <http://www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=QUV.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mfn=003377>
- Anderson, C., & Waheed, A. (2001). The economics of shark and ray watching in the Maldives. *Shark News*, 13, 1–3.
- Anderson, R. C., Adam, M. S., Kitchen-Wheeler, A.-M., & Stevens, G. (2011). Extent and Economic Value of Manta Ray Watching in Maldives. *Tourism in Marine Environments*, 7(1), 15–27. <https://doi.org/10.3727/154427310X12826772784793>
- Anislado-Tolentino, V., Medina-Lerma, M. G., & Del Moral-Flores, L. F. (2016). Primer registro de albinismo en la raya redonda enana, *Urotrygon nana* (Urotrygonidae: Elasmobranchii), en el Pacífico oriental. *Revista Ciencias Marinas y Costeras*, 8(2), 93. <https://doi.org/10.15359/revmar.8-2.6>
- Arauz, P., Lopez, A., & Zanella, I. (2010). Informe Final: Análisis de la descarga anual de tiburones y rayas en la pesquería pelágica y costera del Pacífico de Costa Rica (Playas del Coco, Tárcoles y Golfito). San José, Costa Rica.
- Bejarano, E. E., & Bejarano, E. E. (2001). Nuevas herramientas para la clasificación taxonómica de los insectos vectores de leishmaniosis: utilidad de los genes mitocondriales. *Biomédica*, 21(2), 182. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v21i2.1107>
- Benavides, R., Brenes R, C. L., & Márquez A, A. (2014). Análisis de la población de condriactos (Vertebrata: Chondrichthyes) de aguas demersales y profundas del Caribe centroamericano, a partir de faenas de prospección pesquera con redes de arrastre. *Revista Ciencias Marinas y Costeras*, 6(0), 9–27. <https://doi.org/10.15359/revmar.6.1>
- Bineesh, K. K., Gopalakrishnan, A., Akhilesh, K. V., Sajeela, K. A., Abdussamad, E. M., Pillai, N. G. K., ... Ward, R. D. (2017). DNA barcoding reveals species composition of sharks and rays in the Indian commercial fishery. *Mitochondrial DNA Part A*, 28(4), 458–472. <https://doi.org/10.3109/19401736.2015.1137900>

- Boqué, G. (2006). *Bioperturbación del suelo por pequeños roedores excavadores del género Ctenomys, tuco tucos, en una estepa arbustiva del noreste Patagónico*. Universidad Nacional de la Patagonia San Juan de Bosco.
- Borsa, P. (2017). *Neotrygon vali* (Myliobatoidei: Dasyatidae), a new blue-spotted maskray from the Solomon archipelago described from its DNA barcode. *BioRxiv*, 106682. <https://doi.org/10.1101/106682>
- Bortolus, A. (2008). Error Cascades in the Biological Sciences: The Unwanted Consequences of Using Bad Taxonomy in Ecology. *AMBIO*, 37(2), 114-118. [https://doi.org/10.1579/0044-7447\(2008\)37\[114:ECITBS\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1579/0044-7447(2008)37[114:ECITBS]2.0.CO;2)
- Bräutigam, A., Callow, M., Campbell, I., Camhi, M. D., Cornish, A. ., Dulvy, N. K., Welch, D. (2015). Global Priorities for Conserving Sharks and Rays. A 2015–2025 strategy. *Global Sharks and Rays Initiative*, 28.
- Broughton, R. E., & Reneau, P. C. (2006). Spatial Covariation of Mutation and Nonsynonymous Substitution Rates in Vertebrate Mitochondrial Genomes. *Molecular Biology and Evolution*, 23(8), 1516–1524. <https://doi.org/10.1093/molbev/msl013>
- Bucklin, A., Steinke, D., & Blanco-Bercial, L. (2011). DNA Barcoding of Marine Metazoa. *Annual Review of Marine Science*, 3(1), 471–508. <https://doi.org/10.1146/annurev-marine-120308-080950>
- Bustamante, C., Bennett, M. B., & Ovenden, J. R. (2016). Genotype and phylogenomic position of the frilled shark *Chlamydoselachus anguineus* inferred from the mitochondrial genome. *Mitochondrial DNA Part B*, 1(1), 18–20. <https://doi.org/10.1080/23802359.2015.1137801>
- Camhi, M. D., Valenti, S. V., Fordham, S. V., Fowler, S. L., & Gibson, C. (2009). *The conservation status of pelagic sharks and rays*. IUCN Species Survival Commission's Shark Specialist Group. <https://doi.org/978-0-9561063-1-5>
- Cariani, A., Messinetti, S., Ferrari, A., Arculeo, M., Bonello, J. J., Bonnici, L., ... & Tinti, F. (2017). Improving the Conservation of Mediterranean Chondrichthyans: The ELASMOMED DNA Barcode Reference Library. *PLOS ONE*, 12(1), e0170244. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170244>
- Carrier, J. C., Musick, J. A., & Heithaus, M. R. (2012). *Biology of sharks and their relatives*.

- (C. Press, Ed.) (2nd ed.). New York.
- Castro-Aguirre, J., Espinosa Pérez, H., & Schmitter-Soto, J. (1999). *Ictiofauna estuarino-lagunar y vicaria de México* (Editorial). México: Limusa/Noriega.
- Cerutti-Pereyra, F., Meekan, M. G., Wei, N.-W. V., O'Shea, O., Bradshaw, C. J. A., & Austin, C. M. (2012). Identification of Rays through DNA Barcoding: An Application for Ecologists. *PLoS ONE*, 7(6), e36479. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0036479>
- Chen, R., Jiang, L.-Y., & Qiao, G.-X. (2012). The Effectiveness of Three Regions in Mitochondrial Genome for Aphid DNA Barcoding: A Case in Lachninae. *PLoS ONE*, 7(10), e46190. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0046190>
- Chirichigno, F., & Cornejo, U. (2001). *Catálogo comentado de los peces marinos del Perú*. Instituto del Mar del Perú.
- Clarke, T. M., Espinoza, M., Ahrens, R., & Wehrmann, I. S. (2016). Elasmobranch bycatch associated with the shrimp trawl fishery off the pacific coast of Costa Rica, Central America. *Fishery Bulletin*, 114(1), 1–17. <https://doi.org/10.7755/FB.114.1>
- Clarke, T. M., Espinoza, M., & Wehrmann, I. S. (2014). Reproductive ecology of demersal elasmobranchs from a data-deficient fishery, Pacific of Costa Rica, Central America. *Fisheries Research*, 157, 96–105. <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2014.04.003>
- Coller, N. M. (2012). Biología, ecología y explotación de la raya platana *Atlantoraja platana* (Günther, 1880), (Chondrichthyes, Rajidae), del golfo San Matías. Universidad Nacional de La Plata, Argentina
- Concha, F. J., Ebert, D. A., & Long, D. J. (2016, April 5). *Notoraja martinezi* sp. nov., a new species of deepwater skate and the first record of the genus *Notoraja* Ishiyama, 1958 (Rajiformes: Arhynchobatidae) from the eastern Pacific Ocean. *Zootaxa*, 4098(1), 179–190. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4098.1.9>
- Cortes, E. (2002). Incorporating Uncertainty into Demographic Modeling: Application to Shark Populations and Their Conservation. *Conservation Biology*, 16(4), 1048–1062. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.2002.00423.x>
- Cortés, J., Enochs, I., Sibaja-Cordero, J., Hernández, L., Alvarado, J. J., Breedy, O., ... Zapata, F. (2017). Marine Biodiversity of Eastern Tropical Pacific Coral Reefs. *Coral Reefs of the Eastern Tropical Pacific*, 203–250. https://doi.org/10.1007/978-94-017-7499-4_7

- Cortés, J., Sánchez-Jiménez, A., Rodríguez-Arrieta, J. A., González, P. C., & Blum, S. (2012). Elasmobranchs observed in deepwaters (45-330m) at Isla del Coco National Park , Costa Rica (Eastern Tropical Pacific). *Revista de Biología Tropical*, 60, 257–273.
- Cortés, J., & Wehrtmann, I. S. (2009). Diversity of Marine Habitats of the Caribbean and Pacific of Costa Rica. In *Marine Biodiversity of Costa Rica, Central America*, 1–45. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8278-8_1
- Couturier, L. I. E., Rohner, C. A., Richardson, A. J., Marshall, A. D., Jaine, F. R. A., Bennett, M. B., ... Nichols, P. D. (2013). Stable Isotope and Signature Fatty Acid Analyses Suggest Reef Manta Rays Feed on Demersal Zooplankton. *PLoS ONE*, 8(10), e77152. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0077152>
- Dapp, D., Arauz, R., Spotila, J. R., & O'Connor, M. P. (2013). Impact of Costa Rican longline fishery on its bycatch of sharks, stingrays, bony fish and olive ridley turtles (*Lepidochelys olivacea*). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 448, 228–239. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2013.07.014>
- Davidson, L. N. K., Krawchuk, M. A., & Dulvy, N. K. (2016). Why have global shark and ray landings declined: Improved management or overfishing? *Fish and Fisheries*, 17(2), 438–458. <https://doi.org/10.1111/faf.12119>
- Del Moral-Flores, L., Angulo, A., López, M. I., & Bussing, W. A. (2015). Nueva especie del género *Urobatis* (Myliobatiformes: Urotrygonidae) del Pacífico oriental tropical. *Revista de Biología Tropical*, 63(2), 501–514.
- Del Moral, L., & Pérez, G. (2013). Tiburones, rayas y quimeras de México. *Biodiversitas*, 111, 1–6.
- Dulvy, N. K., Fowler, S. L., Musick, J. A., Cavanagh, R. D., Kyne, P. M., Harrison, L. R., ... White, W. T. (2014). Extinction risk and conservation of the world's sharks and rays. *ELife*, 3, 1–34. <https://doi.org/10.7554/eLife.00590>
- Espinoza, M., Clarke, T. M., Villalobos-Rojas, F., & Wehrtmann, I. S. (2013). Diet composition and diel feeding behaviour of the banded guitarfish *Zapteryx xyster* along the Pacific coast of Costa Rica, Central America. *Journal of Fish Biology*, 82(1), 286–305. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2012.03488.x>
- Espinoza, M, Díaz, E., Angulo, A., Hernández, S., & Clarke, T. M. (2018). Chondrichthyan

- Diversity, Conservation Status, and Management Challenges in Costa Rica. *Frontiers in Marine Science*, 5, 85. <https://doi.org/10.3389/fmars.2018.00085>
- Ferrette, B. L. da S., Domingues, R. R., Rotundo, M. M., Miranda, M. P., Bunholi, I. V., De Biasi, J. B., & Mendonça, F. F. (2019). DNA Barcode Reveals the Bycatch of Endangered Batoids Species in the Southwest Atlantic: Implications for Sustainable Fisheries Management and Conservation Efforts. *Genes*, 10(4). <https://doi.org/10.3390/genes10040304>
- Ferretti, F., Worm, B., Britten, G. L., Heithaus, M. R., & Lotze, H. K. (2010). Patterns and ecosystem consequences of shark declines in the ocean. *Ecology Letters*, 13(8), 1055–1071. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2010.01489.x>
- Fischer, W., Krupp, F., Schneider, W., Sommer, C., Carpenter, K., & Niem, V. (1995). *Guía FAO para la Identificación de Especies para los Fines de la Pesca. Pacífico centro-oriental Volumen II. Vertebrados*
- Flores-Ortega, J. (2011). Feeding habits of three round stingrays (Rajiformes: Urotrygonidae) in the central Mexican Pacific. *Ciencias Marinas*, 37(3), 279–292. <https://doi.org/10.7773/cm.v37i3.1871>
- Flores-Ortega, J. R., Godínez-Domínguez, E., & González-Sansón, G. (2015). Ecología trófica de siete especies de batoideos (Batoidea) en el Pacífico Central Mexicano. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 50(3), 521–533. <https://doi.org/10.4067/S0718-19572015000400010>
- Guisande González, C., Pascual Alayón, P. J., Baro Dominguez, J., Granado Lorencio, C., Acuña Couñago, A., Manjarrés Hernández, A., & Pelayo Villamil, P. (2013). *Tiburones, rayas, quimeras, lampreas y mixínidos de la costa atlántica de la Península Ibérica y Canarias*. Ediciones Díaz de Santos, Madrid, España.
- Guzmán, A. B. (2015). Historia de vida de la raya chilena *Urotrygon chilensis* (Günther, 1872) en el sureste del Pacífico mexicano. (Tesis doctoral). Centro de investigaciones biológicas del noroeste S.C. Baja California, México.
- Heithaus, M. R., Frid, A., Vaudo, J. J., Worm, B., & Wirsing, A. J. (2010). Unraveling the Ecological Importance of Elasmobranchs. *Sharks and Their Relatives II: Biodiversity, Adaptive Physiology, and Conservation*, 283–307.

<https://doi.org/10.1201/9781420080483>

- Henderson, A. C., Reeve, A. J., Jabado, R. W., & Naylor, G. J. P. (2016). Taxonomic assessment of sharks, rays and guitarfishes (Chondrichthyes: Elasmobranchii) from south-eastern Arabia, using the NADH dehydrogenase subunit 2 (NADH2) gene. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 176(2), 399–442. <https://doi.org/10.1111/zoj.12309>
- Hleap, J., Mejía-Falla, P., & Cárdenas, H. (2012). Relaciones morfológicas de la raya redonda *urotrygon rogersi*: Implicaciones cuantitativas bajo modelos lineales. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 47(1), 35–50. <https://doi.org/10.4067/S0718-19572012000100004>
- Holmes, B. H., Steinke, D., & Ward, R. D. (2009). Identification of shark and ray fins using DNA barcoding. *Fisheries Research*, 95(2–3), 280–288. <https://doi.org/10.1016/J.FISHRES.2008.09.036>
- Jones, C. M., Hoffmayer, E. R., Hendon, J. M., Quattro, J. M., Lewandowski, J., Roberts, M. A., ... Márquez-Farías, J. F. (2017). Morphological conservation of rays in the genus *Rhinoptera* (Elasmobranchii, Rhinoptera) conceals the occurrence of a large batoid, *Rhinoptera brasiliensis* Müller, in the northern Gulf of Mexico. *Zootaxa*, 4286(4), 499–514. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4286.4.3>
- Jose, D., & Harikrishnan, M. (2020). Molecular Markers and Their Optimization: Addressing the Problems of Nonhomology Using Decapod COI Gene. In *Biochemical Analysis Tools - Methods for Bio-Molecules Studies*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.86993>
- Kerr, K. C. R., Stoeckle, M. Y., Dove, C. J., Weigt, L. A., Francis, C. M., & He, P. D. N. (2007). Comprehensive DNA barcode coverage of North American birds. *Molecular Ecology Notes*, 7(4), 535–543. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2007.01670.x>
- Kress, W. J., & Erickson, D. L. (2007). A two-locus global DNA barcode for land plants: the coding *rbcL* gene complements the non-coding *trnH-psbA* spacer region. *PloS One*, 2(6), 508. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000508>
- Larouche, O., Zelditch, M. L., & Cloutier, R. (2017). Fin modules: an evolutionary perspective on appendage disparity in basal vertebrates. *BMC Biology*, 15(1), 32. <https://doi.org/10.1186/s12915-017-0370-x>

- Last, P. R., Naylor, G. J. P., & Manjaji-Matsumoto, B. M. (2016). A revised classification of the family Dasyatidae (Chondrichthyes: Myliobatiformes) based on new morphological and molecular insights. *Zootaxa*, 4139(3), 345–368. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4139.3.2>
- Last, P. R., White, W. T., de Carvalho, M. R., Séret, B., Stehmann, M. F. W., & Naylor, G. J. P. (2016). *Rays of the world*. CSIRO publishing, Australia
- Levy, H. C., Garcia-Maruniak, A., & Maruniak, J. E. (2009). Strain identification of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) insects and cell line: PCR-RFLP of cytochrome oxidase C subunit I gene. *Florida Entomologist*, 85(1), 186–190. [https://doi.org/10.1653/0015-4040\(2002\)085\[0186:SIOSFL\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1653/0015-4040(2002)085[0186:SIOSFL]2.0.CO;2)
- López-Garro, A., Arauz, R., Zanella, I., & Le Foulgo, L. (2009). Análisis de las capturas de tiburones y rayas en las pesquerías artesanales de Tárcoles, Pacífico Central de Costa Rica. *Revista Ciencias Marinas y Costeras*, 1, 145–157. <https://doi.org/10.15359/revmar.1.8>
- López-Garro, A., & Zanella, I. (2015). Capturas de la raya *Dasyatis longa* (Myliobatiformes: Dasyatidae) en las pesquerías artesanales de Golfo Dulce, Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, 63(Suppl 1), 319–327.
- López-Garro, A. (2012). *Identificación, evaluación y manejo de hábitats críticos utilizados por el tiburón martillo (Sphyrna lewini) y otros elasmobranquios en Golfo Dulce, Costa Rica*. Universidad Nacional de Costa Rica.
- López, M., & Busing, W. (1998). *Urotrygon cimar*, a new eastern Pacific stingray (Pisces: Urolophidae). *Revista de Biología Tropical*, 46(6), 271–277. Retrieved from <https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/rbt/article/view/29887/29892>
- Lv, J., Wu, S., Zhang, Y., Chen, Y., Feng, C., Yuan, X., ... Lin, X. (2014). Assessment of four DNA fragments (COI, 16S rDNA, ITS2, 12S rDNA) for species identification of the Ixodida (Acari: Ixodida). *Parasites and Vectors*, 7(1), 93. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-93>
- May-Collado, L., & Morales, A. (2005). Presencia y patrones de comportamiento del delfín manchado costero, *Stenella attenuata* (Cetacea: Delphinidae) en el Golfo de Papagayo, Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, 53(1–2), 265–276.
- Mejía-Falla, P. A., Navia, A. F., & Cortés, E. (2012). Reproductive variables of *Urotrygon*

- rogersi* (Batoidea: Urotrygonidae): A species with a triannual reproductive cycle in the eastern tropical Pacific Ocean. *Journal of Fish Biology*, 80(5), 1246–1266. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2012.03237.x>
- Mejía-Falla, Paola A, Navia, A. F., & Muñoz, L. A. (2011). Primer registro de anomalía morfológica en embriones de *Urotrygon rogersi* (Jordan & Starks, 1895) (Myliobatiformes: Urotrygonidae) en el Pacífico oriental tropical. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 39(1), 184–188. <https://doi.org/10.4067/s0718-560x2011000100019>
- Mejía-Mercado, B. (2006). *Aspectos taxonómicos y biológicos de las rayas espinosas del género Urotrygon en el Pacífico Vallecaucano, Colombia*. (Tesis de bachillerato). Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano, Colombia.
- Milessi, A., Vögler, R., & Bazzino, G. (2001). Identificación De Tres Especies Del Género *Squatina* (Chondrichthyes, Squatinidae) En La Zona Comun De Pesca Argentino-Uruguay (Zcpau). *Gayana Concepción*, 65(2), 167–172. <https://doi.org/10.4067/10.4067/S0717-65382001000200008>
- Miyake, T., & McEachran, J. D. (1988). Three new species of the stingray genus *urotrygon* (Myliobatiformes: Urolophidae) from the eastern Pacific. *Bulletin of Marine Science*, 42(3), 366–375.
- Morrison, C. L., Harvey, A. W., Lavery, S., Tieu, K., Huang, Y., & Cunningham, C. W. (2002). Mitochondrial gene rearrangements confirm the parallel evolution of the crab-like form. *Proceedings. Biological Sciences*, 269(1489), 345–350. <https://doi.org/10.1098/rspb.2001.1886>
- Moura, T., Silva, M. C., & Figueiredo, I. (2015). Barcoding deep-water chondrichthyans from mainland Portugal. *Marine and Freshwater Research*, 66(6), 508–517. <https://doi.org/10.1071/MF14095>
- Moura, Teresa, Silva, M. C., Figueiredo, I., Neves, A., Muñoz, P. D., Coelho, M. M., & Gordo, L. S. (2008). Molecular barcoding of north-east Atlantic deep-water sharks: species identification and application to fisheries management and conservation. *Marine and Freshwater Research*, 59(3), 214. <https://doi.org/10.1071/MF07192>
- Mull, C. G., Lowe, C. G., & Young, K. A. (2010). Seasonal reproduction of female round

- stingrays (*Urobatis halleri*): Steroid hormone profiles and assessing reproductive state. *General and Comparative Endocrinology*, 166(2), 379–387. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2009.12.009>
- Navarro-González, J. (2012). Diet composition of batoids on the continental shelf off Nayarit and Sinaloa, Mexico. *Ciencias Marinas*, 38(2), 347–362. <https://doi.org/10.7773/cm.v38i2.1999>
- Navarro, J. (2011). *Ecomorfología del aparato mandibular de peces batoideos*. (Tesis doctoral). Instituto Politécnico Nacional, México
- Naylor, G. J. P., Caira, J. N., Jensen, K., Rosana, K. A. M., White, W. T., & Last, P. R. (2012). A DNA Sequence–Based Approach To the Identification of Shark and Ray Species and Its Implications for Global Elasmobranch Diversity and Parasitology. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 367, 1–262. <https://doi.org/10.1206/754.1>
- Nelson, J. S., Grande, T. C., & Wilson, M. V. H. (2016). *Fishes of the world*. Hoboken, New Jersey, John Wiley & Sons. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Packer, L., Gibbs, J., Sheffield, C., & Hanner, R. (2009). DNA barcoding and the mediocrity of morphology. *Molecular Ecology Resources*, 9, 42–50. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2009.02631.x>
- Palacios-Barreto, P., Cruz, V. P., Foresti, F., Rangel, B., Uribe-Alcoger, M., & Díaz-Jaimes, P. (2017). Molecular evidence supporting the expansion of the geographical distribution of the Brazilian cownose ray *Rhinoptera brasiliensis* (Myliobatiformes: Rhinopteridae) in the western Atlantic. *Zootaxa*, 4341(4), 593. <https://doi.org/10.11646/Zootaxa.4341.4.12>
- Pampoulie, C., & Daniélsdóttir, A. K. (2008). Resolving species identification problems in the genus *Sebastes* using nuclear genetic markers. *Fisheries Research*, 93(1–2), 54–63. <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2008.02.007>
- Paskewitz, S. M., & Collins, F. H. (1990). Use of the polymerase chain reaction to identify mosquito species of the *Anopheles gambiae* complex. *Medical and Veterinary Entomology*, 4(4), 367–373. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2915.1990.tb00453.x>
- Pavan-Kumar, a, Gireesh-Babu, P., Suresh Babu, P. P., Jaiswar, a K., Prasad, K. P., Chaudhari, A., ... Lakra, W. S. (2013). DNA barcoding of elasmobranchs from Indian Coast and its reliability in delineating geographically widespread specimens. *Mitochondrial DNA*,

1736(2001), 1–9. <https://doi.org/10.3109/19401736.2013.823174>

- Peterson, C. H., Fodrie, J. F., Summerson, H. C., & Powers, S. P. (2001). Site-specific and density-dependent extinction of prey by schooling rays: generation of a population sink in top-quality habitat for bay scallops. *Oecologia*, *129*(3), 349–356. <https://doi.org/10.1007/s004420100742>
- Polo-Silva, C. J., & Grijalba-Bendeck, M. (2008). Espectro trófico de la raya Guitarra *Rhinobatos percellens* Materiales y Métodos. *October*, 21–33.
- Rentaría, M. (2000). Breve revisión de los marcadores moleculares. In *Ecología molecular*, 113, 541–566. <https://doi.org/10.1007/s13398-014-0173-7.2>
- Riveros B., F., Muñoz, G., González, L., Rojas P., L., Alvarez A., M., & Hinrichsen R., P. (2001). Comparación entre análisis morfológicos y de ADN para la identificación de especies de *Fusarium* aislados de melón (*Cucumis melo* L.). *Agricultura Técnica*, *61*(3), 281–293. <https://doi.org/10.4067/S0365-28072001000300004>
- Rubinoff, D. (2006). Utility of mitochondrial DNA barcodes in species conservation. *Conservation Biology*, *20*(4), 1026–1033. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2006.00372.x>
- Rubio-Rodríguez, U., Navarro-González, J. A., & Vergara-Solana, F. J. (2010). First record of black mucus and ocular malformations in the round stingray *Urobatis halleri* (Rajiformes: Urotrygonidae) at the southern Gulf of California, Mexico. *Marine Biodiversity Records*, *3*, 17. <https://doi.org/10.1017/S1755267209990960>
- Ruocco, N. L., Lucifora, L. O., Díaz De Astarloa, J. M., Mabragaña, E., & Delpiani, S. M. (2012). Morphology and DNA Barcoding Reveal a New Species of Eagle Ray from the Southwestern Atlantic: *Myliobatis ridens* sp. nov. (Chondrichthyes: Myliobatiformes: Myliobatidae). *Zoological Studies*, *51*(6), 862–873
- Sachithanandam, V., Mohan, P. M., Muruganandam, N., Chaithanya, I. K., Dhivya, P., & Baskaran, R. (2012). DNA barcoding, phylogenetic study of *Epinephelus* spp. from Andaman coastal region, India. *Indian Journal of Marine Sciences*, *41*(3), 203–211.
- Schoch, C. L., Seifert, K. A., Huhndorf, S., Robert, V., Spouge, J. L., Levesque, C. A., ... Schindel, D. (2012). Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. *Proceedings of the National Academy of*

- Sciences of the United States of America*, 109(16), 6241–6246.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1117018109>
- Serra-Pereira, B., Moura, T., Griffiths, A. M., Serrano Gordo, L., & Figueiredo, I. (2011). Molecular barcoding of skates (Chondrichthyes: Rajidae) from the southern Northeast Atlantic. *Zoologica Scripta*, 40(1), 76–84. <https://doi.org/10.1111/j.1463-6409.2010.00461.x>
- Sibaja-Cordero, J. A. (2008). Tendencias espacio-temporales de los avistamientos de fauna marina en los buceos turísticos (Isla del Coco, Costa Rica). *Revista de Biología Tropical*, 56(2), 113–132. <https://doi.org/10.15517/rbt.v56i2.27011>
- Smith, J. W., & Merriner, J. V. (1985). Food habits and feeding behavior of the Cownose Ray, *Rhinoptera bonasus*, in Lower Chesapeake Bay. *Estuaries*, 8(3), 305–310. <https://doi.org/10.1007/BF02803946>
- Stobutzki, I. C., Miller, M. J., Heales, D. S., & Brewer, D. T. (2002). Sustainability of elasmobranchs caught as bycatch in a tropical prawn (shrimp) trawl fishery. *Fishery Bulletin*, 100(4), 800–821.
- Sunnucks, P., & Hales, D. F. (1996). Numerous transposed sequences of mitochondrial cytochrome oxidase I-II in aphids of the genus *Sitobion* (Hemiptera: Aphididae). *Molecular Biology and Evolution*, 13(3), 510–524. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a025612>
- Thomson, V. (2014). *A Feasibility Study into the Sampling and Study of Mesopredatory Sharks in Moreton Bay, Queensland, Australia*. (Beca de verano). Australian Rivers Institute.
- Torres-Huerta, A. M., Carrasco-Bautista, P., & Cruz-Martínez, A. (2013). Presence of the denticled roundray *Urotrygon cimar* in the Gulf of Tehuantepec, Mexico. *Marine Biodiversity Records*, 6, e21. <https://doi.org/10.1017/S1755267212001200>
- Torres, K. (2015). *Edad y crecimiento de la raya espinosa Urotrygon aspidura de la zona Centro-Sur del Pacífico Colombiano*. Instituto politécnico Nacional.
- Vásquez, L. (2015). *Descripción del desarrollo embrionario de la raya redonda moteada Urotrygon chilensis (Günther, 1872)*. (Tesis doctoral). Universidad Autónoma de Baja California Sur, México.
- Vaudo, J. J. (2011). Habitat Use and Foraging Ecology of a Batoid Community in Shark Bay,

Western Australia, 367.

Ward, R. D., Holmes, B. H., White, W. T., & Last, P. R. (2008). DNA barcoding Australasian chondrichthyans: Results and potential uses in conservation. *Marine and Freshwater Research*, 59(1), 57–71. <https://doi.org/10.1071/MF07148>

White, J., Simpfendorfer, C. A., Tobin, A. J., & Heupel, M. R. (2014). Age and growth parameters of shark-like batoids. *Journal of Fish Biology*, 84(5), 1340–1353. <https://doi.org/10.1111/jfb.12359>

9. Anexos

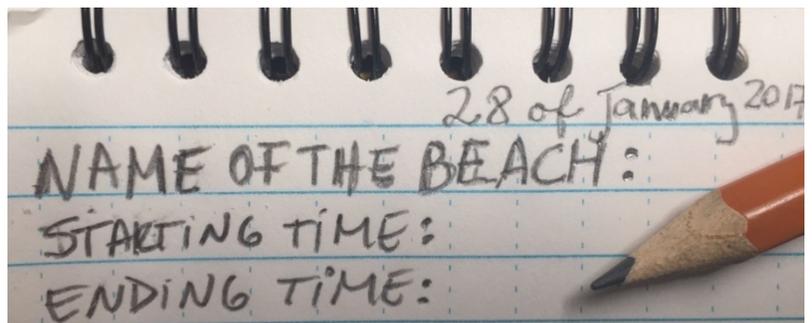
Anexo 1.

Protocolo de Captura y toma de datos de rayas

1. En una libreta contra agua y un lápiz se van a anotar los siguientes datos:

- a. Fecha
- b. Nombre de la playa
- c. Número de personas que van a ingresar al agua a capturar rayas
- d. Hora a la que se ingresa al agua a capturar rayas
- e. Hora a la que se sale del agua

Se utiliza para calcular la Captura por Unidad de Esfuerzo (CPUE)



2. **Captura de rayas:** (antes de ingresar al mar, asegúrese de dejar un recipiente grande con agua de mar y a la sombra (para evitar que el agua se caliente mucho) para luego colocar y mantener a las rayas mientras se muestrean)
- a. Ingresar al agua caminando hacia atrás y arrastrando los pies con las *patas de rana*, el snorkel y la (s) red (es).



- b. Debido a que las rayas se esconden bajo la arena para pasar desapercibidas, para lograr encontrarlas bajo el agua se deben buscar sus siluetas y espiráculos (orificio respiratorio que actúan como ranuras branquiales, los cuales se observan como pequeños agujeros), por lo que se debe observar el sustrato detalladamente. Tenga cuidado con no perturbar (levantar) la arena, ya que esto disminuye la visibilidad al crear una nube de arena y hace más difícil encontrar a las rayas.



- c. Una vez que haya encontrado la raya, preparese para capturarla. Para esto, sumérgase y coloque la red justo encima de la raya, procurando cubrir la mayor parte de la raya con la red. Luego, mueva suavemente la red, con cuidado de no golpear a la raya. La raya intentará huir, al sentir la red encima de ella, por lo que al nadar la raya quedará atrapada en la red. Cuando esto sucede, nade a la superficie y asegúrese de que la malla donde se encuentra la raya quede bajo el agua (para que ella pueda respirar), pero la “boca de la red” quede fuera del agua para evitar que la raya escape.



- d. Diríjase inmediatamente a la orilla con mucho cuidado, manteniendo la raya bajo el agua para que respire y el borde de la red afuera.



- e. Cuando haya llegado a la orilla, coloque cuidadosamente a la raya en el recipiente (contenedor) que se llenó con agua de mar con anticipación. Asegúrese de que el agua no esté caliente. De lo contrario, renueve el agua del contenedor con agua fresca (esto deberá hacerse cada 10 – 15 minutos con el propósito de mantener los niveles adecuados de oxígeno y temperatura en el agua, así las rayas puedan respirar de manera adecuada antes de ser liberadas al mar).



- f. En caso de que el agujón de la raya quede enredado en la red, con ayuda de un paño, camisa o cualquier otro tipo de tela, sujete cuidadosamente la cola de la raya e intente desenredar el agujón de la malla (no hale la cola de la raya), en caso de no poder desenredar el agujón, con una tijera corte poco a poco la red para ir desenredando el agujón (asegúrese de que la raya siempre se encuentre dentro del agua).



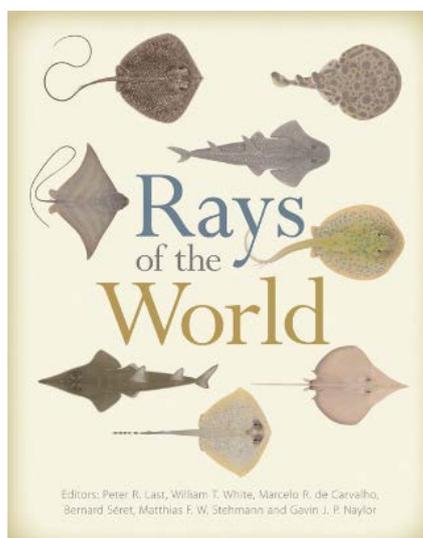
Nota: el número máximo de rayas que se pueden mantener en el contenedor es de 4, esto para evitar accidentes entre las rayas, reducir el estrés ocasionado por la aglomeración, debido a la falta de oxígeno y aumento de temperatura en el contenedor.

- g. Con ayuda de una red de mano pequeña, traslade a **una sola** de las rayas del contenedor grande a otro contenedor de menor tamaño y preferiblemente transparente, el cual también se debe de encontrar a la sombra para evitar que el agua se caliente. En este contenedor pequeño se llevará a cabo la identificación de la raya, medidas morfométricas, toma de tejido, marcaje, pesaje y toma de fotografías de cada una de ellas.



3. Identificación taxonómica de las especies

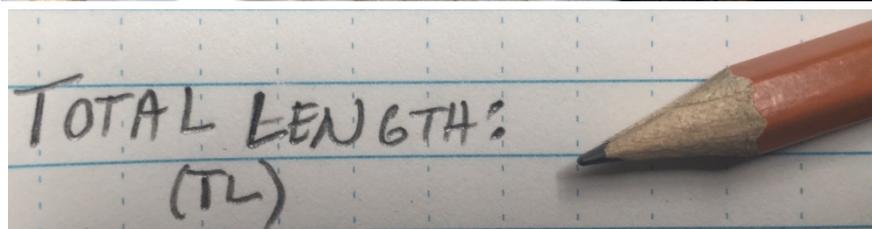
- a. Con ayuda de la guía de identificación más actualizada (Rays of the World, Last et al., 2016) o con la sugerencia del científico de mayor experiencia en el campo de las rayas, identifique la especie de raya con la cual se va a trabajar. Para esto, tome en cuenta tamaño, forma, coloración, patrones de manchas, presencia/ausencia de espinas y otras características distintivas de cada especie.



- b. Anote la especie en la libreta contra agua (donde se anotaron preliminarmente los datos sobre la playa y cantidad de personas que capturan rayas). En caso de no poder identificar la especie de raya con la cual se va a trabajar, indicar el género, seguido de “sp.” (por ejemplo “Urotrygon sp.”) y, además se deben anotar características que puedan ayudar en su posterior identificación.

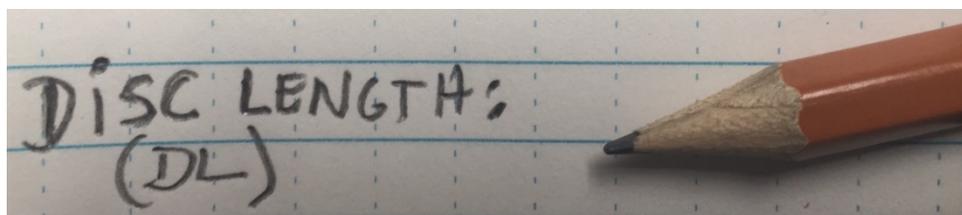
Nota: Después del nombre científico asignado a cada raya, se debe indicar el número de raya procesada (#1, o #2 o #3 ...), por ejemplo “Urotrygon sp #1”

4. Medidas morfométricas (cm): Utilizando una cinta métrica tome las siguientes mediciones:
 - a. Longitud total (LT): coloque la cinta métrica lo más recta posible (ésta medición toma en cuenta la curvatura de la raya) y mida la distancia que hay entre la punta de la cabeza (rostro) hasta la punta de la cola (final de la aleta caudal). Anote esta medición en la libreta (lo más exacto posible y sin redondear).



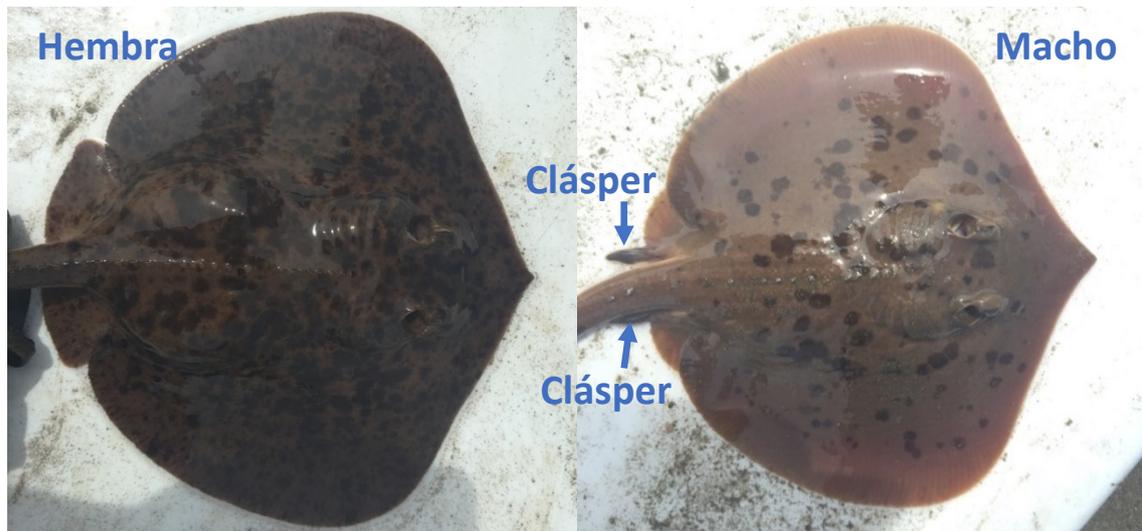
Nota: asegúrese de que la raya se encuentre lo más recta posible para reducir los sesgos, para esto puede sujetar a la raya suavemente de la cola (con ayuda de un paño o tela para evitar una picadura con el agujijón). Estas mediciones se pueden realizar bajo el agua, ya que reduce el estrés causado a las rayas por encontrarse fuera del agua, ocasionando que las rayas se queden quietas. Evite mantener la raya fuera del agua.

- b. Longitud del disco (DL): de manera dorsal, extienda la cinta métrica a lo largo del disco, desde el punto más largo hacia el otro extremo. Con esta medición se estará midiendo la "envergadura" e incluye la medición de la curvatura de la raya. Recuerde mantener la cinta métrica lo más recta posible y no tomando la curvatura de la raya. Anote la medición en la libreta.



5. Sexo y estado de maduración:

En las rayas, el sexo se puede determinar por la presencia/ausencia de órganos sexuales llamados “cláspers”. Los machos presentan estos órganos copuladores en la base de la cola en posición ventral, ya que son una prolongación de las aletas pélvicas de las rayas. Su aspecto es espinal. Anotar sexo en la libreta.



a. En machos se debe determinar:

- i. Estado de desarrollo: al palpar las cláspers se puede determinar la firmeza de estos. Cuando los cláspers son “suaves” y no sobrepasan el borde posterior de la aleta pélvica, tales como neonatos o +1, +2, dependiendo de la especie. También, es posible capturar juveniles con cláspers “suaves” pero que comienzan a sobrepasar el borde posterior de la aleta pélvica. Sin embargo, los machos adultos y maduros presentan los cláspers “rígidos”, y sobrepasan el borde de la aleta pélvica.
- ii. Medición de cláspers: colocando la cinta métrica lo más recta posible, mida la longitud más corta o externa (OS) del cláspers y también la longitud más larga o interna (IS) de este.



Nota: Este procedimiento se debe de hacer sujetando la cola de la raya con un paño o tela, para evitar accidentes. La raya se debe de encontrar dentro del agua.

- b. Hembras: se debe determinar si están “preñadas o no”. En las hembras preñadas se observa un abultamiento (marcado con un círculo color naranja en la imagen adjunta) en la parte inferior del abdomen (donde llevan a sus crías o neonatos). Anote en la libreta.



6. Fotografías de cada individuo

- a. Se deben de tomar las siguientes fotografías (siempre con una escala, en este caso se debe de ver la cinta métrica lo más recta posible en cada una de las fotos):

- i. Dorsal

- Longitud total
- Longitud del disco
- Cola
- Patrón de coloración

- ii. Ventral

- Longitud del disco
- Aletas pélvicas
- Cola



Notas: esto se puede realizar mientras se están realizando las mediciones morfométricas. Para tomar las fotografías en vista ventral, se debe de poner la raya en inmovilidad tónica, para esto se debe de voltear a la raya cuidadosamente y realizar un pequeño masaje con los dedos donde se encuentran los poros que conectan a las ámpulas de Lorenzini, es decir en el borde anterior de la raya.

7. Muestra de tejido:

Con ayuda de un “punch” o sacabocados de tejido, presione la parte que tiene filo sobre el borde de la aleta pectoral de la raya (preferiblemente en la parte posterior), con el fin de desprender solo una pequeña parte del tejido de la raya. Dicho tejido se colocará en un vial donde va a indicar la especie, número del espécimen, fecha y nombre de la playa.





Nota: Recuerde sujetar firmemente la cola de la raya con un paño o tela, ya que intentará defenderse. Además, de utilizar un “punch” diferente y previamente esterilizado (con un antiséptico) con cada raya, para evitar contaminación de las muestras e infecciones en las rayas. El punch se puede reutilizar una vez que se haya limpiado y esterilizado. Este procedimiento se puede realizar tanto dentro como fuera del agua, pero se recomienda hacerlo en el agua y tapar suavemente los ojos de la raya con un paño o con la mano, ya que se ha observado que esto mantiene a las rayas un poco más tranquilas.

8. Marcaje:

- a. A las rayas que poseen una longitud total (LT) inferior a 24 cm **NO** se marcan.
- b. Anote en la libreta el número de marca que se va a colocar a la raya.
- c. Coloque la marca o tag en la pistola.
- d. Con ayuda de una red de mano, saque a la raya del agua y colóquela sobre una superficie plana y limpia (se puede utilizar la tapa del contenedor). Sujete a la raya de la cola con un paño o tela, ya que intentará defenderse. Se recomienda que otra persona cubra los ojos de la raya con la mano, mientras se echa un poco de agua de mar con la mano por los espiráculos, lo cual también reduce el movimiento de la raya ya que podrá respirar un poco.
- e. Introduzca la aguja con la marca en la base de la cola de la raya (a un costado y **NO** en el centro), tire del gatillo y gire mientras sostiene el gatillo, luego suelte el gatillo y retire la aguja de la raya.



Nota: Se requiere una pequeña capacitación de una persona con experiencia para enseñar a colocar la marca a la raya y lastimarla lo menos posible. **NO** se deje a la raya fuera del agua por más 30 segundos.

9. Pesaje

- a. Coloque la canasta vacía sobre el gancho de la pesa y luego presione el botón de "cero" en la escala para calibrar.
- b. Tome cuidadosamente la raya con una red de mano o con la misma canasta y coloque a la raya dentro de la canasta para pesarla. Asegúrese de que no quede agua en la canasta. Registre el peso de la raya en gramos y anote en la libreta.



10. Liberación de la raya al mar

Una vez que se haya registrado el peso de la raya, retirar la canasta del gancho de la pesa e introducir por unos segundos la raya en el agua (no sacarla de la canasta de pesaje). Después de esto, dirigirse al mar para liberar a la raya a su ambiente natural.



Nota: Debido a que la raya se ha enfrentado a mucho estrés por la manipulación y ha gastado mucha energía al intentar defenderse, se debe asegurar de liberar a la raya después de la rompiente, es decir donde ya no haya corriente provocado por las olas de la orilla y monitorear a la raya hasta que se vaya nadando.

Anexo 2. Mediciones y relaciones morfométricas obtenidas de las 29 rayas muestreadas provenientes de Punta Descartes y Puntarenas. Después de cada medición se encuentran los resultados de las proporciones y porcentajes calculadas, además del valor establecido según la literatura consultada; en algunos casos se mencionan los porcentajes y proporciones de dos especies, lo cual ayudó a determinar de qué especie se trataba.

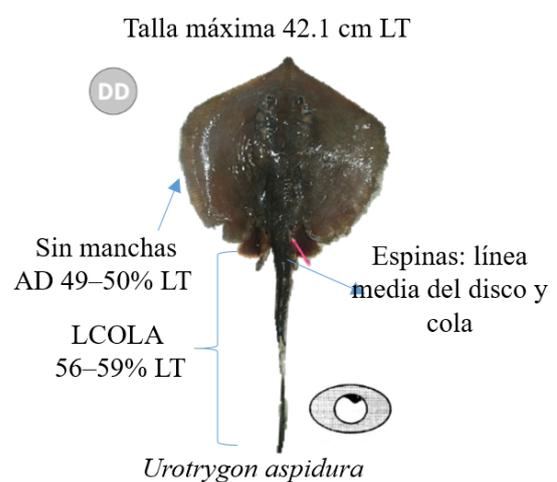
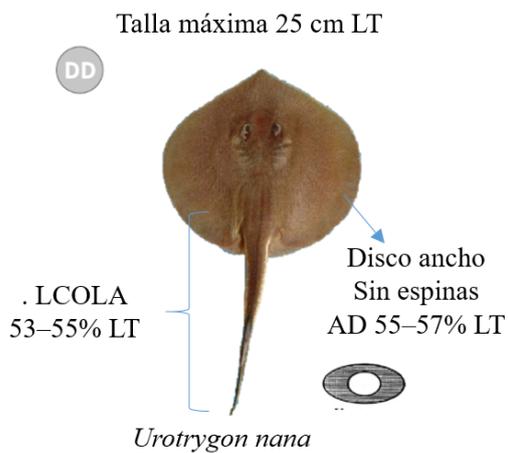
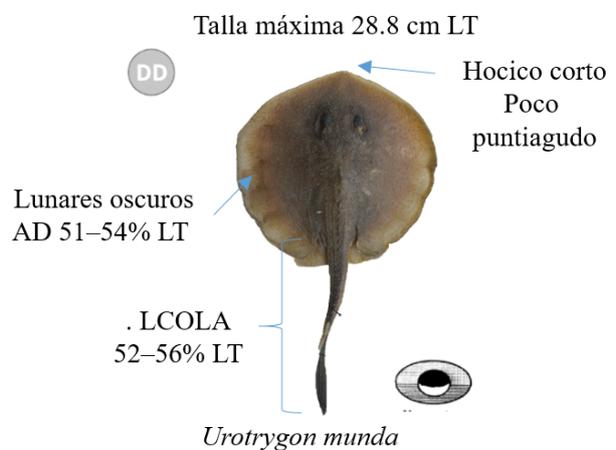
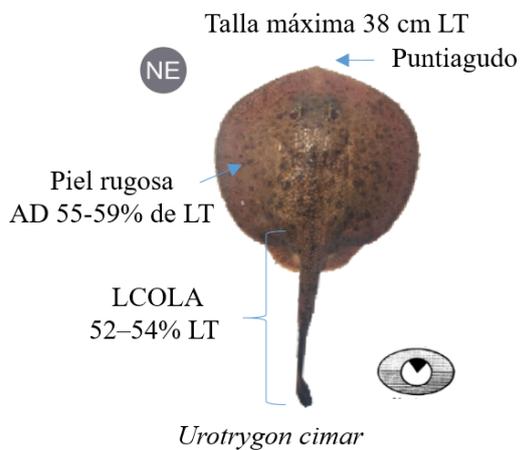
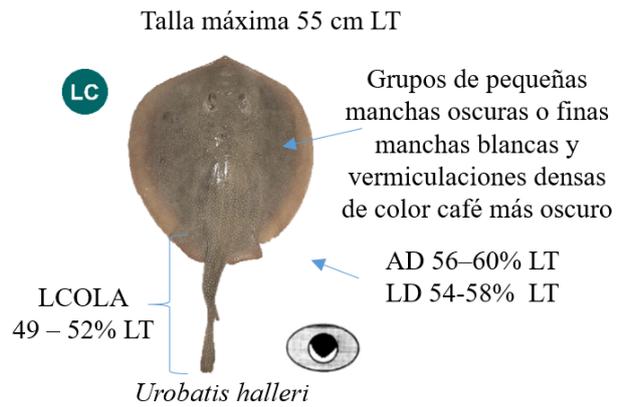
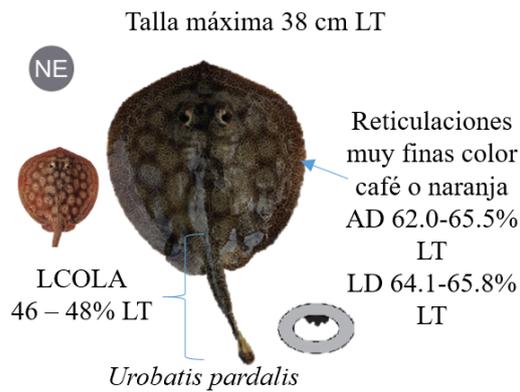
Especie	Fenotipo	Código	LT	AD	% AD/LT	% Literatura
<i>Urotrygon chilensis</i>	normal	UCR461	35.32	20.14	57.02	57-59%
<i>Urotrygon chilensis</i>	normal	UCR366	24.35	13.90	57.08	57-59%
<i>Urotrygon chilensis</i>	normal	UCR420	21.83	12.81	58.68	57-59%
<i>Urotrygon chilensis</i>	clara	UCR299	45.52	26.56	58.35	57-59%
<i>Urotrygon chilensis</i>	clara	UCR312	32.11	18.38	57.23	57-59%
<i>Urotrygon chilensis</i>	clara	UCR293	35.60	21.02	59.03	57-59%
<i>Urotrygon chilensis</i>	clara	UCR304	33.72	19.96	59.19	57-59%
<i>Urotrygon chilensis</i>	oscura	UCR317	30.42	17.37	57.11	57-59%
<i>Urotrygon chilensis</i>	oscura	MV130	36.12	21.29	58.93	57-59%
<i>Urotrygon chilensis</i>	oscura	UCR381	38.04	22.05	57.96	57-59%
<i>Urotrygon chilensis</i>	oscura	UCR 442	34.76	20.37	58.61	57-59%
<i>Urotrygon chilensis</i>	oscura	UCR 449	34.08	19.43	57.01	57-59%
<i>Urotrygon aspidura</i>	normal	USP009	28.91	14.28	49.39	49-50%
<i>Urotrygon aspidura</i>	normal	USP010	42.98	21.24	49.41	49-50%
<i>Urotrygon aspidura</i>	normal	USP013	33.93	17.03	50.19	49-50%
<i>Urotrygon rogersi</i>	normal	URG044	41.68	25.91	62.16	62-64%
<i>Urotrygon rogersi</i>	normal	URG053	44.32	27.49	62.03	62-64%
<i>Urotrygon rogersi</i>	normal	UCR457	42.07	25.99	61.79	62-64%
<i>Urotrygon rogersi</i>	normal	GCR082	45.45	29.30	64.46	62-64%
<i>Urotrygon rogersi</i>	normal	URG043	36.65	23.07	62.94	62-64%
<i>Urotrygon cimar/munda</i>	normal	UMU027	22.67	12.37	54.56	55-59% cimar
<i>Urotrygon cimar/munda</i>	normal	UMU003	24.52	13.06	53.26	51-54% munda
<i>Urotrygon cimar/munda</i>	normal	UMU025	26.88	14.82	55.15	
<i>Urotrygon halleri/pardalis</i>	normal	UBH368	37.63	22.60	60.06	56-60% halleri
<i>Urotrygon halleri/pardalis</i>	normal	UBH272	23.67	15.61	65.95	62.0-65.5% pardalis
<i>Urotrygon halleri/pardalis</i>	normal	UBH275	29.93	18.86	63.01	
<i>Urotrygon halleri/pardalis</i>	normal	UBH315	41.26	25.83	62.60	
<i>Urotrygon halleri/pardalis</i>	normal	UBH312	36.18	22.81	63.05	
<i>Urotrygon halleri/pardalis</i>	normal	UBH218	29.21	17.93	61.37	

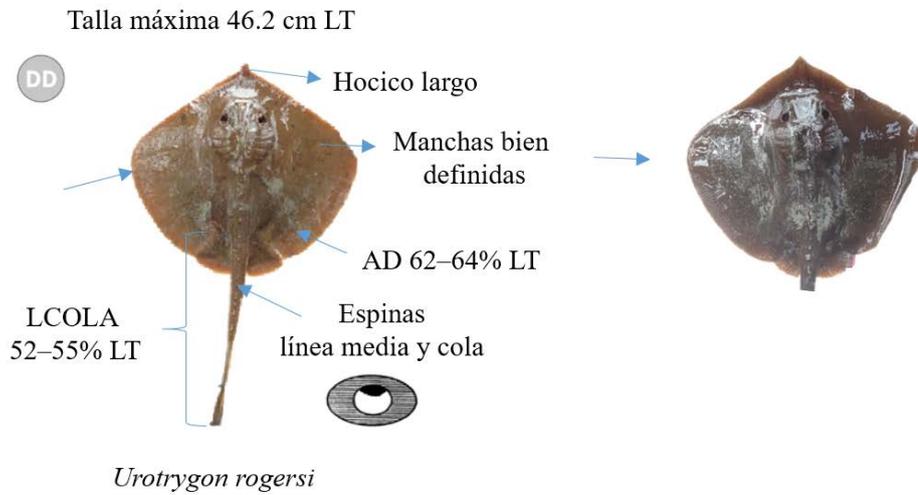
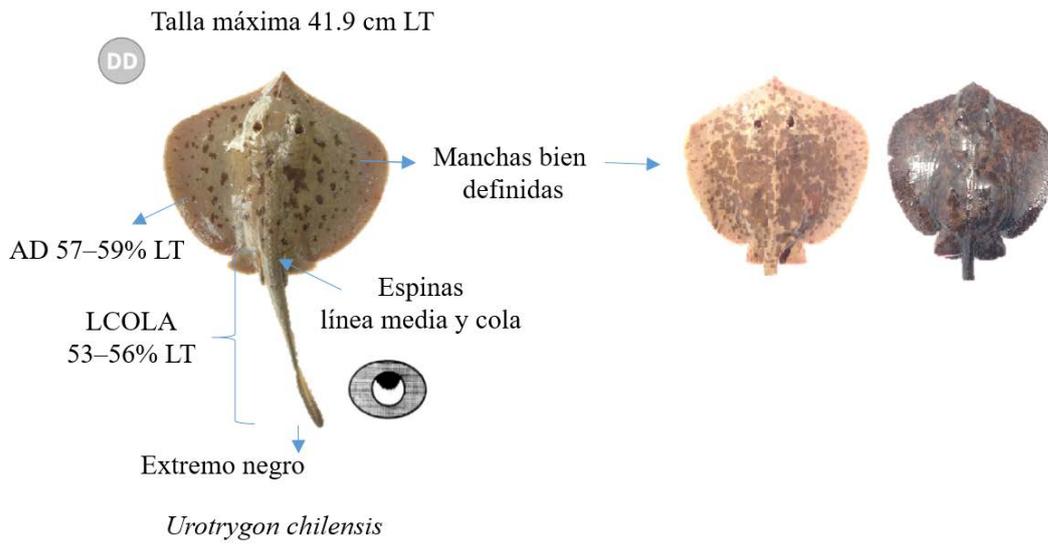
LD	% LD/TL	% Literatura	AD/LD	AD/LD literatura	LO	LPO	LPO/LO	LPO/LO lit
15.599	44.16	-	1.29	1.1-1.2	0.61	2.625	4.31	3.6-4.3
11.596	47.63	-	1.20	1.1-1.2	0.57	2.325	4.07	3.6-4.3
10.384	47.58	-	1.23	1.1-1.2	0.71	2.598	3.65	3.6-4.3
25.152	55.25	-	1.06	1.1-1.2	1.13	5.289	4.68	3.6-4.3
14.951	46.57	-	1.23	1.1-1.2	0.74	3.204	4.33	3.6-4.3
18.474	51.89	-	1.14	1.1-1.2	0.76	3.203	4.24	3.6-4.3
17.497	51.89	-	1.14	1.1-1.2	0.90	3.751	4.19	3.6-4.3
14.864	48.86	-	1.17	1.1-1.2	0.54	1.948	3.58	3.6-4.3
13.959	38.64	-	1.52	1.1-1.2	0.76	3.708	4.87	3.6-4.3
18.869	49.60	-	1.17	1.1-1.2	0.74	2.855	3.84	3.6-4.3
17.923	51.57	-	1.14	1.1-1.2	0.75	3.209	4.30	3.6-4.3
15.321	44.96	-	1.27	1.1-1.2	0.68	3.191	4.69	3.6-4.3
12.94	44.76	-	1.10	1-1.1	0.55	3.462	6.29	5-6.3
20.062	46.68	-	1.06	1-1.1	0.691	4.172	6.04	5-6.3
14.952	44.07	-	1.14	1-1.1	0.618	3.304	5.35	5-6.3
19.992	47.96	-	1.296	1.1-1.3	0.977	4.614	4.72	4.2 a 4.7
21.103	47.62	-	1.303	1.1-1.3	1.082	4.888	4.52	4.2 a 4.7
19.569	46.52	-	1.328	1.1-1.3	1.169	5.157	4.41	4.2 a 4.7
26	57.20	-	1.127	1.1-1.3	0.987	4.63	4.69	4.2 a 4.7
18.083	49.34	-	1.276	1.1-1.3	1.189	5.469	4.60	4.2 a 4.7
10.915	48.14	-	1.13	1-1.1 C	0.476	2.472	5.19	7.1-9.4 C
11.431	46.62	-	1.14	1-1.1 M	0.399	3.025	7.58	5-6.7 M
13.981	52.02	-	1.06		0.664	3.39	5.11	
22.267	59.17	54-58% halleri	1.01	Casi igual halleri	1.242	4.026	3.24	2.7-3.5% halleri
15.187	64.15	64.1-65.8% pardalis	1.03	Casi igual pardalis	0.851	2.931	3.44	3.2 a 4.2 pardalis
19.243	64.30		0.98		1.065	3.597	3.38	
26.782	64.91		0.96		1.361	4.865	3.57	
23.385	64.64		0.98		1.506	4.912	3.26	
18.393	62.97		0.97		1.202	3.874	3.22	

LPRE	DIO	DIO/LO	DIO/LO Lit	% DIO/LT	% Literatura	LCOLA	% LCOLA/LT	% Literatura
16.983	1.1219	1.84	1.5-1.8	-	-	19.351	54.78	53-56%
14.034	1.018	1.78	1.5-1.8	-	-	13.474	55.34	53-56%
11.159	1.31	1.84	1.5-1.8	-	-	11.752	53.85	53-56%
23.752	2.118	1.87	1.5-1.8	-	-	25.887	56.87	53-56%
13.928	1.269	1.71	1.5-1.8	-	-	18.078	56.31	53-56%
18.758	1.348	1.79	1.5-1.8	-	-	18.915	53.13	53-56%
15.923	1.52	1.70	1.5-1.8	-	-	18.314	54.31	53-56%
13.992	0.982	1.81	1.5-1.8	-	-	16.104	52.94	53-56%
16.925	1.658	2.18	1.5-1.8	-	-	20.059	55.53	53-56%
17.788	1.196	1.61	1.5-1.8	-	-	20.176	53.03	53-56%
15.47	1.34	1.80	1.5-1.8	-	-	18.281	52.60	53-56%
14.94	1.705	2.51	1.5-1.8	-	-	19.332	56.73	53-56%
11.52	1.47	2.67	1.9-2.7	-	-	16.534	57.20	56-59%
23.561	1.82	2.63	1.9-2.7	-	-	25.053	58.30	56-59%
13.142	1.68	2.72	1.9-2.7	-	-	19.814	58.39	56-59%
18.177	1.792	1.83	1.5-1.8	-	-	22.406	53.75	52-55%
21.838	1.956	1.81	1.5-1.8	-	-	24.572	55.44	52-55%
20.907	2.156	1.84	1.5-1.8	-	-	23.029	54.74	52-55%
21.808	1.793	1.82	1.5-1.8	-	-	23.81	52.38	52-55%
19.137	2.134	1.79	1.5-1.8	-	-	20.107	54.86	52-55%
11.215	2.297	4.83	1.4-2.3 C	21.04	28-29% cimarr	13.597	59.97	52-54% cimarr
13.796	2.123	5.32	1.9 a 2.7 M	18.57	28-30% munda	13.479	54.98	52-56% munda
14.901	2.778	4.18		19.87		15.141	56.33	
17.238	2.326	1.87	1.6-1.9 halleri	-	-	19.078	50.70	49-52% H
12.872	1.492	1.75	1.6-1.9 pardalis	-	-	12.362	52.22	49-52% P
16.35	2.054	1.93		-	-	15.147	50.61	
21.054	2.548	1.87		-	-	20.298	49.20	
23.589	2.656	1.76		-	-	17.814	49.24	
16.998	2.087	1.74		-	-	14.091	48.24	

Anexo 3. Guía para la identificación de especies de la Familia Urotrygonidae reportadas en el Pacífico de Costa Rica.

Rayas del Pacífico de Costa Rica
Familia Urotrygonidae





Anexo 4. Fotografías tomadas de algunas de las charlas brindadas al público general, niños y estudiantes en las comunidades costeras del Jobo, Cuajiniquil y en el BIOMOL, Universidad Veritas

