

**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

Posicionamiento taxonómico del complejo de especies del pez león (*Pterois volitans/miles*) y caracterización de su nicho isotópico en el Caribe Sur, Costa Rica

Proyecto de graduación presentado como requisito parcial para optar al grado de Licenciatura en Biología con Énfasis en Manejo de Recursos Marinos y Dulceacuícolas

B.Sc. Sergio Cambronero Solano

**Campus Omar Dengo
Heredia, 2019**

Agradecimiento

Agradezco profundamente a mi comité asesor, excelentes profesionales y personas de las cuales aprendí mucho y sin quienes no hubiera sido posible realizar esta investigación. A mi tutor Rodolfo Umaña, gracias por confiar en mí este proyecto y abrirse a hacer investigación multidisciplinaria.

Gracias las instituciones involucradas que brindaron apoyo directo e indirecto; a la Universidad Nacional, a INCOPESCA, SINAC, Universidad Andrés Bello, Bienestar Estudiantil, Programa de Fortalecimiento de Capacidades Estudiantiles, CIMAR, ASOPACS, Pelagos, entre otras.

Agradezco al proyecto FEES-CONARE 0397-14: “Impactos biológicos, sociales y económicos, a causa de la especie introducida de pez león (complejo *P. volitans/miles*), en la región Caribe Costa Rica”.

Finalmente agradezco especialmente a mis familiares, amigos, amigas y colegas que me apoyaron incondicionalmente durante todo este proceso. Algunos de ellos son: Carlos Canales, José Ugalde, Héctor McDonald, Alexandre Tisseaux, Debbie López, Alonso Alvarado, Mauro Nirchio, Antonio Baeza, Paula Segnini, Manuel Mairena, Roger Ríos, Donald Campbell, Alexander Araya, Samia Durnin. Este logro no hubiera sido posible sin su apoyo en los momentos más necesarios.

Dedicatoria

El logro personal se lo dedico muy especialmente a mi abuelo Orlando Solano Solano, que en paz descansa. Difunto pero nunca ausente, gracias por inculcar en mí los mejores valores para enfrentar la vida. Siempre en mi pensamiento, espero honrar su legado a través de mis acciones.

Esta tesis va dedicada al Océano y todas las mentes jóvenes que buscan contribuir al conocimiento responsable y manejo sostenible de los recursos marinos. A la plataforma Pelagos y su filosofía, el producto de la motivación, conocimiento y experiencia que adquirí en esta formación universitaria.

“Es fácil creer que somos olas, y olvidar que también somos el Océano”

-Jon J. Muth

Índice

Miembros del tribunal	I
Agradecimientos.....	II
Dedicatoria	III
Índice.....	IV
Índice de cuadros.....	V
Índice de figuras	VI
Abreviaturas.....	VIII
Resumen	IX
1. Introducción	1
1.1 Antecedentes.....	1
1.2 Justificación.....	3
1.3 Planteamiento del problema	5
1.4 Objetivos.....	5
1.4.1 Objetivo general	5
1.4.2 Objetivos específicos.....	5
2. Marco Teórico	6
3. Marco Metodológico	15
4. Resultados	23
5. Discusión.....	39
6. Conclusiones	46
7. Recomendaciones.....	48
8. Referencias bibliográficas	49
9. Anexos.....	64

Índice de cuadros

Cuadro 1 Cebadores que se utilizaron para la amplificación de las regiones mitocondriales de interés.....	23
Cuadro 2. Amplitud del nicho isotópico de 3 grupos de tallas del pez león a partir de polígono convex hull (TA) y elipses (SEA/SEAc).....	38
Cuadro 3. Análisis de nicho isotópico del pez león en el Caribe de Costa Rica, 2017, categorizado según su talla	39
Cuadro 4. Amplitud del nicho isotópico del pez león según la región de recolecta a partir de polígono convex hull (TA) y elipses (SEA/SEAc).....	40
Cuadro 5. Análisis de nicho isotópico del pez león en el Caribe de Costa Rica, 2017, categorizado según ubicación	41
Cuadro 6. . Amplitud del nicho isotópico del pez león según sexo de recolecta a partir de polígono convex hull (TA) y elipses (SEA/SEAc).....	42
Cuadro 7. Análisis de nicho isotópico del pez león en el Caribe de Costa Rica, 2017, categorizado según sexo	43

Índice de figuras

- Figura 1.** Ubicación de los sitios de muestreo en el Caribe Sur, Costa Rica, 2017. Mapa generado mediante la herramienta QGIS, versión 3.6.. **21**
- Figura 2.** Reconstrucción filogenética del gen ARN ribosomal 16S de pez león del Caribe Sur de Costa Rica. A) Árbol filogenético generado a partir de inferencia bayesiana, probabilidad de soporte a partir de 300000 MCMC; B) Árbol filogenético generado mediante máxima verosimilitud, probabilidad de soporte en base a 5000 iteraciones..... **28**
- Figura 3.** Filogenia para resolución de politomía con secuencias de *Pterois volitans* a partir del gen ARN ribosomal 16S. A) Arbol filogenético generado a partir de inferencia bayesiana utilizando el modelo general de tiempo reversible (GTR+I); B) Árbol generado mediante máxima verosimilitud, utilizando el modelo de dos parámetros de Kimura (K80+I) **30**
- Figura 4.** Reconstrucción filogenética del marcador citocromo b (cytb) de pez león del Caribe Sur de Costa Rica. A) Árbol filogenético generado a partir de inferencia bayesiana, probabilidad de soporte a partir de 300000 MCMC; B) Árbol filogenético generado mediante máxima verosimilitud, probabilidad de soporte en base a 5000 iteraciones..... **32**
- Figura 5.** Filogenia del marcador citocromo b (cytb) de pez león del Caribe Sur de Costa Rica e incorporando únicamente secuencias de *Pterois volitans*. A) Árbol filogenético generado a partir de inferencia bayesiana, probabilidad de soporte a partir de 300000 MCMC; B) Árbol filogenético generado mediante máxima verosimilitud, probabilidad de soporte en base a 5000 iteraciones **33**
- Figura 6.** Posición trófica de las muestras de pez león y sus respectivas presas. Los círculos rojos corresponden a valores individuales para cada tejido de pez león. Los valores de las presas son representados con círculos negros y con su respectiva desviación estándar en líneas negras..... **35**
- Figura 7.** Relación de la probabilidad posterior para cada categoría de presa. Los gráficos superiores a la diagonal muestran los contornos de probabilidad, la diagonal muestra los histogramas de distribución y los valores inferiores a la diagonal denotan la correlación entre los diferentes grupos. **36**
- Figura 8.** Densidad posterior para la proporción de dieta de acuerdo a cada categoría de presas encontradas en el pez león en Costa Rica, 2017. **37**
- Figura 9.** Nicho isotópico del pez león agrupado según su talla en el Caribe Sur de Costa Rica, 2017. Los círculos pequeños muestran valores individuales para cada tejido. Las líneas discontinuas muestran el polígono convex hull (TA) y las líneas continuas representan el área estándar de la elipse (SEA). **38**

Figura 10 Área de las elipses bayesianas (SIBER) por grupo de tallas de pez león colectados en Costa Rica, 2017. Los puntos negros representan el área media de la elipse bayesiana (SEA) mientras que los puntos rojos denotan el valor medio de área corregida (SEAc) **38**

Figura 11. Nicho isotópico del pez león agrupado según su sitio de recolecta en el Caribe Sur de Costa Rica, 2017. Los círculos pequeños muestran valores individuales para cada tejido. Las líneas discontinuas muestran el polígono convex hull (TA) y las líneas continuas representan el área estándar de la elipse (SEA). **40**

Figura 12. Área de las elipses bayesianas (SIBER) para cada región de muestreo del pez león en el Caribe Sur, 2017. Los puntos negros representan el área media de la elipse bayesiana (SEA) mientras que los puntos rojos denotan el valor medio de área corregida (SEAc). **41**

Figura 13. Nicho isotópico del pez león agrupado según sexo en el Caribe Sur de Costa Rica, 2017. Los círculos pequeños muestran valores individuales para cada tejido. Las líneas discontinuas muestran el polígono convex hull (TA) y las líneas continuas representan el área estándar de la elipse (SEA). **42**

Figura 14. Área de las elipses bayesianas (SIBER) por sexo de pez león colectados en Costa Rica, 2017. Los puntos negros representan el área media de la elipse bayesiana (SEA) mientras que los puntos rojos denotan el valor medio de área corregida (SEAc). **43**

Abreviaturas o acrónimos

UNA	Universidad Nacional de Costa Rica
ARN	ácido ribonucleico
ADN	ácido desoxirribonucleico
mer	oligonucleótido
PCR	Polymerase Chain Reaction
bp	base pairs
ML	Maximum Likelihood
TEF	Trophic Enrrichment Factor
SIA	Stable Isotope Analyses
TL	Trophic Level
LT	Longitud Total
TA	Total Area
SEA	Standard Ellipse Area
SEAc	Standard Ellipse Area correct

Resumen

Las invasiones biológicas son uno de los principales impulsores de la pérdida de biodiversidad. El comercio humano introdujo el pez león en el Océano Atlántico hace unos 30 años, y actualmente se considera la invasión marina más importante en los ecosistemas tropicales. El proceso de invasión ha sido bien documentado en la mayor parte del rango invadido, sin embargo, las vías de dispersión, la conectividad y los impactos tróficos aún no se han evaluado en el suroeste del Caribe. Para llenar este vacío de información, se realizaron análisis genéticos y de isótopos estables de la población de peces león en la costa caribeña de Costa Rica. Evaluamos las secuencias de dos genes mitocondriales (16S rRNA y citocromo b) para determinar qué especies del complejo *Pterois volitans / miles* están presentes en la región. Además, se utilizaron análisis de contenido estomacal y modelos de mezcla según la composición de isótopos de relación ($\delta^{13}C / \delta^{15}N$) para inferir el nicho isotópico de individuos de peces león recogidos hasta 150 metros de profundidad. Los resultados muestran que solo *P. volitans* está presente en este momento en la costa caribeña de Costa Rica. Los análisis de máxima verosimilitud y bayesianos de las secuencias muestran una diferenciación de la población costarricense de los demás en el rango invadido, lo que da una idea de una posible estructura genética en el suroeste del Caribe. Los resultados de isótopos estables indican una variación intrapoblacional del nicho isotópico del pez león, según el sexo y el tamaño. Además, se demostró que el pez león ocupa un alto nivel trófico en la región, con un ancho y rango de nicho que podría superponerse al de otras especies de interés ecológico y comercial.

Introducción

Las invasiones biológicas han sido motores del declive de la biodiversidad a nivel mundial, tanto a nivel terrestre como a nivel acuático. Las especies invasoras representan una de las mayores amenazas para las poblaciones de especies nativas y las comunidades humanas que dependen de dichos recursos. Dentro de las invasiones biológicas en el ambiente marino, la del pez león en el oeste del océano Atlántico y el Mar Caribe ha sido la más significativa en cuanto al rango de invasión y recursos afectados. Esta invasión ha sido bien documentada desde los años 90 (Morris & Whitfield, 2009), no obstante aún se especulan los efectos poblacionales del pez león sobre especies de interés comercial y su impacto en la actividad pesquera de las comunidades costeras.

El estudio de los efectos del pez león en los ecosistemas invadidos se plantea como uno de los retos para los países afectados, en aras de un mejor manejo. En los últimos años se han desarrollado tecnologías que permiten el estudio ecológico de las especies invasoras.

Estas tecnologías ofrecen un gran alcance espacio-temporal así como una alta resolución de las interacciones ecosistémicas. Además presentan la posibilidad de incorporar diferentes disciplinas al estudio aplicado de esta problemática que amenaza de manera latente a los ecosistemas marinos más vulnerables a nivel mundial.

Antecedentes

La invasión del pez león en el Atlántico Oeste y el Mar Caribe ha sido un proceso bien documentado por diversos investigadores de la región y compilado de manera oficial por el Servicio Geológico de los Estados Unidos (USGS) (Schofield, Morris, Langston, & Fuller, 2016). Actualmente se conoce con certeza los países y regiones en donde la invasión del pez león se ha hecho presente. No obstante, la documentación cronológica no necesariamente significa que los impactos y mecanismos de la invasión hayan sido correctamente identificados (Carballo-Cárdenas, 2015).

En cuanto al manejo regional y divulgación de información sobre la invasión, se ha logrado establecer por consenso referirse a este pez invasor como un complejo de dos especies:

Pterois volitans/miles. Esta denominación surge a raíz del estudio realizado por Hamner, Freshwater y Whitfield (2007), quienes determinaron que ambas especies se encuentran presentes; generando un complejo en el foco de origen en Florida, EEUU. Mediante el marcador molecular citocromo b (*cytb*), establecieron que *P. miles* representaba un 7% de la población de pez león, mientras que *P. volitans* abarcaba el 93% restante.

Toledo-Hernández et al. (2014) y Kochzius, Soller, Khalaf, y Blohm (2003) utilizaron los marcadores moleculares citocromo oxidasa subunidad 1 (COI), ARN ribosomal 16S(16S rDNA) y la región control mitocondrial (d-loop) para diferenciar a *P.miles* de *P.volitans*, sin embargo no pudieron corroborar con certeza si las diferencias encontradas correspondían a diferentes especies o a haplotipos de una misma población. Los autores sugieren realizar estos análisis en otros sitios con el fin de determinar variantes genéticas de la población dentro del rango invadido y de esta forma determinar mediante análisis estadísticos el grado de dispersión genética.

En Costa Rica, se han llevado a cabo dos investigaciones con pez león. La primera investigación fue de Molina (2009), quién reportó la invasión en el Parque Nacional Cahuita. Sin embargo, no hizo mención a la especie y por el contrario, se refirió al complejo *P. volitans/miles*, dando soporte a lo encontrado por Hamner, Freshwater y Whitfield (2007).

El segundo estudio realizado en territorio nacional fue llevado a cabo por Sandel, Fernández, Wangpraseurt & Sierra (2015). En este estudio no se profundizó en la identificación de la especie, sino en la descripción de la población local de pez león presente en Cahuita, mediante análisis de tallas y valores merísticos. Dentro de esa investigación también se logró caracterizar la dieta de este pez en el arrecife de Cahuita, se identificaron 13 familias de peces óseos como parte de la dieta, dentro de la cual destaca la presencia de peces de interés comercial tales como los serránidos (meros). Estos argumentos sugieren interrogantes de interés respecto a la ecología trófica del invasor y su rol en el ecosistema marino del Caribe costarricense.

En cuanto a los impactos de la invasión, no se ha determinado con certeza en qué grado está afectando la depredación directa por parte del pez león sobre otros recursos. En respuesta a esta problemática, se han incorporado nuevas técnicas aplicadas a estudios ecológicos así como herramientas novedosas que responden preguntas que los métodos convencionales no han logrado resolver.

En el caso de las especies invasoras, la mayor implicación en el ecosistema es a nivel trófico, de modo que pueden alterar comunidades y sus estructuras dinámicas.

Un método que permite estudiar las interacciones tróficas con una alta resolución es el análisis comparativo de isótopos estables. Este método consiste en comparar la proporción de isótopos presentes en depredadores y presas, con el objetivo de dilucidar aspectos tróficos. Utilizando este método, Layman y Allgeier (2012) estudiaron la interacción trófica entre el pez león y dos especies de pargos en Bahamas, así mismo determinaron el grado de especialización de este pez en función del hábitat y la disponibilidad de presas. Estos autores concluyeron presenta un hábito generalista a nivel poblacional y una especialización facultativa a nivel individual. Además, dicho estudio determinó un traslape de nicho entre el invasor y los pargos. Pimiento, Nifong, Hunter, Monaco & Silliman (2013) analizaron la composición isotópica para establecer que el nicho alimenticio varía entre manglares y arrecifes en la región de San Salvador, Bahamas.

Éstos han sido los únicos estudios referentes a esta invasión y se limitan únicamente a la región de Bahamas, USA. Dado lo anterior es necesario realizar más análisis para llenar los vacíos de información existentes y así verificar el rol trófico del pez león en distintas regiones, ecosistemas y en dependencia de la disponibilidad de presas.

Justificación

El manejo sostenible de los recursos marino-costeros representa uno de los mayores retos a nivel mundial, debido a que el cambio climático y la sobreexplotación de los recursos han generado una fuerte presión sobre los ecosistemas, provocando un declive en las poblaciones y disminución de la biodiversidad. Esto ha conllevado a la pérdida de resiliencia y vulnerabilidad de algunos ecosistemas, especialmente los arrecifes coralinos.

Un factor importante dentro de este contexto es la afectación global a nivel marino causada por especies exóticas invasoras, las cuales representan la segunda mayor causa de la disminución de la biodiversidad a nivel mundial (Lowe, Browne, Boudjelas & De Poorter, 2000). El caso más representativo de este problema ha sido la invasión del pez león (complejo *P. volitans/miles*) en aguas del Océano Atlántico y Mar Caribe.

En Costa Rica la invasión del pez león fue reportada en el Caribe Sur por Molina (2009). No obstante no se ha logrado determinar con certeza si en el país están presentes las dos especies del complejo, lo anterior debido a la dificultad que existe para diferenciarlas morfológicamente.

Un método eficaz para resolver esta incógnita es el posicionamiento taxonómico por medio de marcadores moleculares. Esta metodología permite analizar diversas regiones conservadas del ADN que cuando son comparadas entre organismos pueden determinar el grado de relación y/o parentesco evolutivo. Las herramientas moleculares de este tipo son las más utilizadas para la identificación de especies relacionadas (Burton, 1996); por lo tanto esta técnica es de gran utilidad para identificar las especies del complejo invasor (*P.volitans/miles*).

Un impacto importante tras el establecimiento del pez león en los arrecifes invadidos es su interacción trófica, la cual puede afectar a especies de interés comercial y ecológico. Lo anterior se da porque el pez león es un carnívoro oportunista, que puede competir directamente con especies como pargos (Lutjanidae) o meros (Serranidae). A lo largo del área invadida, se ha establecido que la dieta de este pez varía en dependencia de diversos factores, por lo que es necesario realizar estudios específicos en cada zona para determinar los recursos que están siendo afectados. En Costa Rica ya está catalogado como una de las 10 especies más representativas de la comunidad de peces de la zona arrecifal de Puerto Viejo – Punta Mona, y está siendo capturado en al menos el 50% de las nasas utilizadas por pescadores artesanales del Caribe Sur para la captura de langosta (Comisión Nacional para el Manejo, Control y Aprovechamiento del Pez león en Costa Rica, 2016, p.03).

Una aproximación complementaria al análisis convencional de contenido estomacal, y que ofrece mayor alcance, es el posicionamiento trófico mediante análisis de isótopos estables como el carbono-13 ($\delta_{13}\text{C}$) o nitrógeno-15 ($\delta_{15}\text{N}$) en el tejido muscular. De esta forma se puede determinar con precisión cuál es la interacción trófica entre el pez león y otras especies de interés, con base en las fracciones de isótopos asimiladas en los tejidos musculares. Este tipo de análisis ofrece la posibilidad de indagar la interacción de este pez con la comunidad biológica, así como en especies de importancia pesquera tales como pargos, lenguados y cabrillas. Dichos organismos presentan niveles tróficos similares con respecto al invasor, y por lo tanto pueden verse afectados por la competencia interespecífica.

Dada la gran escala de la invasión, los aspectos mencionados anteriormente han sido ampliamente estudiados en lugares como Cuba, Estados Unidos y México. No obstante, en Costa Rica apenas se empiezan a describir aspectos básicos de la ecología del pez león y no se ha profundizado en aspectos de hábitos alimenticios ni taxonomía. Investigaciones previas sobre la invasión recalcan la importancia de determinar el efecto del pez león en las costas del Caribe Sur costarricense, un tema que recientemente (2016) fue declarado de interés nacional (Comisión Nacional para el Manejo, Control y Aprovechamiento del Pez león en Costa Rica, 2016). El objetivo del presente trabajo es determinar la posición taxonómica de la población de pez león y caracterizar su nicho trófico, como contribución al estudio de los efectos del pez león en el Caribe Sur de Costa Rica.

Planteamiento del problema a investigar

En Costa Rica aún y cuando se han llevado a cabo investigaciones que permiten conocer parcialmente el efecto del pez león sobre los recursos de interés comercial, no se conoce con precisión la identidad taxonómica del invasor presente en el Caribe Sur. Por ende surge la interrogante si ¿La invasión del pez león en Costa Rica ha sido llevada a cabo por una o ambas especies del complejo *P. volitans/miles*? y ¿Cuál es el nicho isotópico del pez león y su grado de interacción trófica en el Caribe de Costa Rica?

Objetivos

Objetivo General

Determinar la posición taxonómica de la población de pez león y caracterizar su nicho isotópico mediante análisis moleculares e isotópicos, como contribución al estudio de los efectos de las especies invasoras en el Caribe Sur de Costa Rica.

Objetivos específicos

Posicionar taxonómicamente al pez león mediante marcadores mitocondriales para la caracterización del complejo (*P. volitans/miles*) presente en el Caribe Sur de Costa Rica.

Determinar el nivel trófico del pez león y caracterizar su nicho isotópico en el Caribe Sur mediante análisis de isótopos estables $\delta_{13}\text{C}$ y $\delta_{15}\text{N}$

Sistematizar los resultados obtenidos mediante la elaboración de una ficha técnica-didáctica que permita su divulgación entre los pescadores del Caribe Sur.

Marco teórico

En conjunto con la modificación y degradación del hábitat, la introducción de especies exóticas por los humanos ha sido un factor determinante en la disminución global de la biodiversidad (Stachowicz, Whitlatch & Osman, 1999). Lo anterior es debido a que actividades como el comercio internacional y la maricultura han provocado la introducción de estas especies no-nativas en ecosistemas donde algunas resultan ser invasivas a largo plazo (Jeschke & Strayer, 2005). Según Hickey, Lavery, Eyton y Clements (2004) en los últimos años se ha registrado un aumento de invasiones biológicas en las zonas tropicales, el cual está vinculado con el manejo de aguas de lastre y al tráfico de especies para acuarismo.

La mayor preocupación ante esta problemática surge del hecho que las invasiones biológicas pueden alterar el nicho de especies nativas. Estos nichos se definen como un conjunto abstracto de puntos en un espacio definido por ejes que representan variables ambientales de tipo Hutchinson (1957). A partir de esta base se realizaron diversos ajustes y modificaciones que simplificaron la interpretación y análisis de este concepto. Razón, por lo que se propone una distinción entre los ejes que determinan los recursos que los animales utilizan (bionómicos) y los ejes que establecen el escenario bioclimático en el cual una especie actúa (scenopoeticos) (Hutchinson, 1978; citado en Newsome, Martínez del Río, Bearhop & Phillips, 2007). Dado lo anterior, el estudio de las invasiones biológicas se ha centrado en caracterizar la variación de estas especies en función de los ejes bionómicos y scenopoeticos.

Las especies invasoras pueden alterar drásticamente la composición comunitaria así como la función de los ecosistemas, causando un impacto socioeconómico a raíz de su afectación sobre especies de interés comercial (Pimentel, Zúñiga & Morrison, 2005). Dentro de las especies invasoras se ha determinado que los generalistas (organismos no selectivos en su nicho alimenticio) presentan mayor probabilidad de establecerse (Duncan, Blackburn & Sol, 2003) y

que al introducirse en grandes números, la diversidad en el acervo genético contribuye a su adaptación (Clavel, Julliard & Devictor, 2010). En algunos hábitats invadidos se ha visto una reducción en la abundancia de las especies nativas, mientras que en otros casos la comunidad nativa permanece inalterada (Osman & Whitlatch, 1995). Dado lo anterior existe interés en comprender cómo ocurren las invasiones exitosas (Stachowicz et al. 1999), tal y como lo ha sido la invasión del pez león (*P. volitans/miles*) en la costa atlántica del continente americano.

P. volitans y *Pterois miles* constituyen un complejo de especies invasoras (visualmente idénticas) del Atlántico y el Caribe (al que se le referirá consecutivamente como pez león) que pertenece a la familia Scorpaenidae. Los organismos de esta familia se caracterizan por presentar glándula de veneno en las espinas dorsales, pélvicas y anales; otra característica es que sus huevos son liberados al medio envueltos en un saco gelatinoso. Esta familia es componente importante de las comunidades presentes en fondos duros de plataformas continentales de todos los mares tropicales, subtropicales y templados (Nelson, 2006). La familia Scorpaenidae está constituida por peces demersales de talla pequeña a mediana que generalmente son de hábitos crípticos y presentan coloración conspicua (Acero, 2009).

El pez león es nativo de arrecifes tropicales localizados en el Océano Índico y a lo largo del Indo-Pacífico, desde el sur de Japón hasta la región central de Australia. Es encontrado comúnmente desde la costa (0 m) hasta aproximadamente 50 m de profundidad (Schultz, 1986). Una característica fisiológica que permite a estos organismos tener un alto potencial de dispersión es que su estómago se puede expandir más de treinta veces, además de que pueden sobrevivir periodos mayores a 3 meses sin ingerir alimento (Morris et al. 2009). Como en la mayoría de especies costeras, el pez león se dispersa espacialmente en forma de larva y muestran gran fidelidad de sitio como adultos (Jud & Layman, 2012).

La fertilización es externa y las hembras pueden liberar al medio dos masas flotantes de huevos envueltos en una masa gelatinosa (degradada paulatinamente por la microbiota marina). Lo anterior, puede suceder cada 4 días, por lo que anualmente pueden producir hasta dos millones de huevos (Morris, 2009). Después del desove, las larvas pueden permanecer a la deriva entre 20 y 35 días mientras son dispersadas por las corrientes oceánicas (Ahrenholz & Morris, 2010), previo al establecimiento en un sitio que les ofrezca las condiciones adecuadas. El pez león utiliza un rango de hábitats que incluye manglares, bancos de arena y paredes de coral a

profundidades mesofóticas (Barbour, Montgomery, Adamson, Díaz-Ferguson, Silliman 2010; Lesser & Slattery 2011; Kulbicki et al. 2012)

Según estudios realizados por Albins y Hixon (2008), en el rango invadido, el pez león es principalmente piscívoro, pero además se alimenta de una variedad de crustáceos en dependencia de la talla del pez. Estos autores identificaron 41 especies de presas diferentes, lo que indica el comportamiento generalista de este animal. En el Mar Rojo, de acuerdo a lo indicado por Fishelson (1997), se ha reportado que el pez león se alimenta de diferentes peces bentónicos, incluyendo damiselas y cardenales.

Morris y Akins (2009) reportaron que los peces león más grandes presentaban mayor consumo de teleósteos mientras que los más pequeños se alimentaban principalmente de crustáceos, lo cual indica que la importancia proporcional de los crustáceos en la dieta está inversamente relacionada con el tamaño. Estos autores reportaron juveniles de especies comerciales como meros (Serranidae) y pargos (Lutjanidae) en los contenidos estomacales analizados; del mismo modo reportaron que el pez león puede depredar organismos que representen hasta el 48% de su longitud total. Esto denota la importancia relativa de cada taxa consumido varían con el tipo de hábitat y la disponibilidad de presas (Morris et al. 2009).

En relación a las interacciones de este organismo con otros animales, Biggs (2009) señaló que para depredar acorralan a su presa extendiendo sus aletas pectorales previamente a la acción de ingerirla mediante succión. El mismo autor indica que existe poca información en cuanto a depredadores naturales en el rango invadido, no obstante, Maljković, Van Leeuwen y Cove (2008) reportaron peces león en estómagos de meros nativos (*Mycteroperca tigris*) en Bahamas. Al ser una especie recientemente establecida hay muy pocos casos reportados de enfermedades y/o parásitos. Por ejemplo, Morris et al. (2009) identificaron monogéneos, copépodos y sanguijuelas como parásitos del pez león; el estudio de los parásitos de pez león es importante ya que estos organismos cumplen el rol de controlar las poblaciones de manera natural y por lo tanto pueden ser "aliados" en los esfuerzos de control de la invasión.

Los organismos de la subfamilia Pteroinae comprenden al pez león, pez fuego y pez diablo (géneros: *Pterois*, *Dendrochirus*, *Brachypterois*, *Parapterois*, *Ebosia*); organismos de crecimiento alopátrico (Sabido, Gómez, Medina, García & Hadad, 2011) y llamativos dada su

morfología y coloración conspicua, razón por la cual son familiares para los ictiólogos, buzos y acuaristas. A pesar de las diferencias en el crecimiento y tallas, variables en apariencia y número de caracteres morfológicos, varios sinónimos se han aceptado para *P. volitans*. Solamente *P. miles* (Bennett, 1830) ha sido considerada seriamente como una especie aparte; no obstante Weber y de Beaufort (1962) indicaron que *P. miles* y *P. volitans* deberían ser consideradas sinónimas, al punto que indicó que *P. miles* era el adulto de *P. volitans*.

Un rasgo morfológico mediante el cual Smith (1957) diferenció a estas especies fue la longitud de los cirros o crestas supraoculares. Esta diferencia fue corroborada por Schultz (1986), quien determinó que dos especies alopátricas pueden ser determinadas: *P. miles* en el Océano Índico y *P. volitans* en el Pacífico occidental y sur-central y en el occidente de Australia. Este mismo estudio determinó que la diferencia más confiable a nivel morfológico es que *P. volitans* cuenta con 11 radios en la aleta dorsal y 7 en la anal, mientras que *P. miles* cuenta con un radio menos en cada aleta (10 y 6).

Otras diferencias encontradas se refieren a que *P. miles* generalmente presenta aletas pectorales de menor longitud y difieren en la forma de sus tentáculos o cirros supraoculares; sin embargo, estas diferencias morfológicas pueden ser variables en dependencia de la ubicación espacial e intercambio genético. Un ejemplo de lo anterior es lo sugerido por Fishelson (2006), quien indica que poblaciones del Mar Rojo evolucionaron en aproximadamente 2 décadas a un sólo fenotipo (morfología de los tentáculos supraoculares). Estas poblaciones presentan tentáculos en forma de pluma, lo cual sirve como base para establecer que estas especies varían altamente en su morfología y por lo tanto dichos rasgos no deberían ser criterios para distinguir entre especies.

Las herramientas moleculares representan una alternativa efectiva a la identificación morfológica y merística, y permiten resolver incógnitas a un nivel más preciso y avanzado. En términos generales, las técnicas moleculares utilizan una región o porción específica del genoma, la cual es secuenciada y analizada mediante herramientas bioinformáticas, por ejemplo para determinar porcentajes de similitud y así dilucidar relaciones filogenéticas (Smith & McVeagh, 2000). En el estudio de especies invasoras, estas herramientas permiten determinar aspectos relacionados con la identificación de especies y con los orígenes y el desarrollo de la invasión (Hickey et al. 2004). Según Hickey et al. (2004) para aplicar estas técnicas a un contexto de

invasión se deben cumplir ciertos requisitos, como disponer de muestras o secuencias de ADN de los organismos en su hábitat nativo así como contar con un loci o región genética que presente suficiente variación para discriminar entre especies.

En relación con lo anterior, es importante mencionar que los marcadores moleculares se agrupan en dos categorías, los que utilizan información del ADN mitocondrial (mtADN) y los marcadores con base en regiones nucleares (nADN); ambos tipos ofrecen información distinta que puede ser utilizada en diversas aplicaciones. Por ejemplo, el ADN mitocondrial sólo representa la genealogía materna (Arif & Khan, 2009) y se encuentra limitada a pocos genes; esto implica que su información es distinta a la del ADN nuclear. Por esta razón Sunnucks (2000) plantea que a pesar de la gran cantidad de marcadores moleculares existentes, se debe tomar en cuenta que ninguno es óptimo para todas las aplicaciones por lo que generalmente se utilizan de forma complementaria en estudios de ecología molecular (Ekblom & Galindo, 2011)

Con el fin de estudiar la presencia del pez león en el Atlántico se han utilizado 4 marcadores moleculares: 16S (ARNribosomal), citocromo *b* (cyt *b*), citocromo oxidasa subunidad I (COI) y 12S/D-loop (región control) (Hamner, Freshwater & Whitfield, 2007; Toledo-Hernández et al. 2014). Sin embargo, de estos marcadores, el que ha funcionado para determinar la presencia de ambas especies del complejo *P. volitans/miles* es el citocromo *b* (cyt *b*). Hamner et al. 2007, determinaron mediante el estudio del cytb que ambas especies participan de la invasión en diferentes proporciones, *P.volitans* representa un 93% del total de individuos mientras que *P.miles* el 7% restante. Este estudio fue realizado en la localidad de Florida, por lo que existe un gran vacío de información de ese tipo en la región del Caribe. Adicionalmente, la región control (12S/D-loop) ha sido utilizada por diversos autores para realizar estudios biogeográficos a partir de análisis de haplotipos mediante los cuales se han determinado los principales linajes que invadieron exitosamente (Freshwater et al. 2009).

El pez león es el primer pez marino no-nativo que ha logrado establecerse en la costa atlántica de los Estados Unidos y en el mar Caribe (Morris et al. 2009). Para entender el establecimiento y éxito de la invasión es importante conocer el motivo de su introducción. En este caso, el pez león fue introducido inicialmente al Océano Atlántico en la localidad de Florida (EE.UU.), tras el comercio de peces para acuarios. El pez león alcanzó poblaciones estables con densidades reproductivas durante la década de los 90's (Semmens, Buhle, Salomon & Pattengill,

2004; Meister, Wyanski, Loefer, Ross, Quattrini & Sulak, 2005). Actualmente estas poblaciones se han logrado dispersar hacia aguas tropicales y subtropicales en el Atlántico Oeste, el Golfo de México y el Caribe (Schofield, 2010), pese a los esfuerzos regionales y locales de extracción manual.

El progreso de la invasión se ha documentado desde 1992, cuando se reportó la presencia inicial del pez león en diferentes puntos de la costa este de Estados Unidos, particularmente al sur de Florida (Ruiz-Carus, Matheson, Roberts & Whitfield, 2006). Para el año 2004, la distribución se había ampliado a las Bahamas (Whitfield, Hare, David, Harter, Muñoz & Addison, 2007) y en 2007 la especie fue registrada en las Islas Turcas y Caicos y Cuba (Chevalier et al. 2008). Posteriormente se dieron reportes en Belice y las islas Caimán, Jamaica, República Dominicana y Barbados (Guerrero & Franco, 2008). En el año 2009 se reportó su presencia en Honduras, Colombia y en el Caribe Sur de Costa Rica (Molina, 2009). El último y alarmante reporte se dio en la costa sureste de Brasil (Ferreira et al. 2015), haciendo evidente la urgencia de investigar las estrategias de dispersión e impactos ecológicos con el fin de establecer planes de manejo que permitan mitigar los impactos de esta invasión en las regiones costeras de América.

En la región Caribe Norte de Costa Rica se reporta una ausencia del pez león, posiblemente atribuible a las condiciones poco favorables para el establecimiento y desarrollo de arrecifes coralinos (Risk, Murillo & Cortés, 1980). Guzmán-Espinal y Cortés-Núñez (1985), mencionan que la costa Caribe presenta una morfología rectilínea que sólo es afectada por tres grandes irregularidades: las zonas de Limón, Cahuita, y Puerto Viejo-Punta Mona (todas ubicadas en la zona sur). Estos autores señalan que estas irregularidades son propicias para el desarrollo de manglares y arrecifes coralinos. El litoral caribe costarricense presenta una extensión costera de 212km y un área correspondiente a arrecifes coralinos de aproximadamente 10 km².

El Mar Caribe es un sitio de alta importancia biológica pues alberga el 9% de la cobertura mundial de arrecifes coralinos (IUCN, 2014). Esta cobertura ha experimentado una reducción del 40% desde finales de los años 70 (Aronson & Precht, 2006), por lo que representa una región de alto interés ecológico que se encuentra amenazada por actividades humanas. Actualmente las amenazas más representativas son el efecto de la sedimentación (Bartley et al. 2014), el blanqueamiento causado por la acidificación, aumento de la temperatura superficial del océano

(Comeau, Carpenter, Lantz & Edmunds, 2015; Miranda, Cruz & Leão, 2013) y recientemente el impacto del pez león (*P. volitans/miles*) sobre la dinámica trófica (Benkwitt, 2015).

Los arrecifes coralinos representan un recurso de alto valor para las comunidades costeras, ya que un arrecife sano tiene la capacidad de albergar una mayor cantidad de individuos por metro cuadrado que un arrecife en mal estado o una zona que no presente cobertura coralina (Arias-González, Núñez-Lara, Rodríguez-Zaragoza & Legendre, 2011). Esto evidencia la importancia que tienen los ecosistemas arrecifales en la conservación de la biodiversidad marina y basado en este hecho se justifica su contribución a la economía de las comunidades como sitios de alta productividad pesquera, debido a la correlación positiva entre la complejidad estructural y la abundancia de peces (Rogers, Blanchard & Mumby, 2014). De acuerdo con Ryan (2014), en sitios donde se ha deteriorado el estado del arrecife también se han dado bajas sustanciales en la captura de especies de interés comercial, como los pargos, cabrillas y langostas.

De acuerdo con lo indicado por el Instituto Costarricense de Turismo-ICT (2009) el turismo de temporada y la pesca artesanal son las principales actividades económicas de los pobladores de las playas del Caribe Sur. Con base a lo mencionado, es importante determinar cuáles especies están siendo afectadas por el pez león con el objetivo de determinar el impacto de la invasión en el contexto socio-económico. Por ejemplo, según estadísticas del Instituto Costarricense de Pesca y Acuicultura (INCOPECA), para el período 2010-2013, la pesca de pargo seda (*Lutjanus vivanus*) representó en promedio el 24% de la captura de peces por parte de la flota artesanal del Caribe. Esta especie se alimenta principalmente de peces pequeños, camarones y cangrejos (Bohlke & Chaplin, 1993) por lo que el pez león podría suponer un competidor por recursos alimenticios y por lo tanto afectar la actividad pesquera dependiente de esta especie.

Dada la importancia de los recursos pesqueros para el desarrollo socioeconómico de las comunidades costeras, es importante procurar la protección y manejo adecuado del recurso. La presencia del pez león como un agente de cambio en los ecosistemas del Caribe ha sido mencionado por diversos autores como posible propulsor de un desastre ecológico (Albins, 2013; Albins y Hixon, 2013). Lo anterior se atribuye a la escasez de depredadores y la sobreexplotación de especies competidoras, lo que brinda una ventaja a la especie invasora para apoderarse del nicho vacante en estos ecosistemas y competir directamente con depredadores nativos como

meros o pargos (Whitfield et al. 2002; Muñoz, Currin & Whitfield, 2011). Este efecto o tendencia se denomina homogenización biótica, se da a nivel global en diversos ecosistemas y puede tener graves implicaciones en la estructura comunitaria y función del ecosistema (Olden, Poff, Douglas, Douglas & Fausch, 2004). Esta homogenización consiste en la extinción y disminución de las especies más especializadas, con un esparcimiento concomitante de las especies más generalistas, las cuales presentan una ventaja en cuanto a la capacidad de adaptación trófica (Clavel et al. 2010).

Meister et al. (2005) indicaron que las poblaciones de pez león pueden tener un impacto considerable en las comunidades arrecifales mediante la alteración de la estructura trófica e interacción de especies. La depredación directa de este pez puede inhibir la recuperación del stock pesquero del complejo pargo/mero establecido en el Atlántico y Caribe, y se plantea que los individuos adultos de estas especies tendrán que competir directamente con el pez invasor por espacio y alimento (Morris & Whitfield, 2009). Ejemplo de esto es el hallazgo de Dahl y Patterson (2013), quienes determinaron que la mayor contribución a la dieta en arrecifes naturales y artificiales en el Golfo de México está representada por juveniles de pargo bermellón (*Rhomboplites aurorubens*). Los autores señalan que las interacciones ecológicas en el ecosistema deben ser estudiadas mediante métodos más precisos y de mayor alcance para determinar en qué medida afecta la invasión a otras poblaciones, principalmente las de interés pesquero.

Existe un interés por parte de los investigadores que estudian las especies invasoras en determinar la estructura y dinámica de las comunidades, con el fin de determinar el impacto de las especies exóticas. En este contexto, el análisis de isótopos estables ha resultado ser una herramienta de gran ayuda, ya que permite determinar de manera precisa la interacción trófica entre uno o varios organismos (Layman & Allgeier, 2012). Esta metodología analiza cambios a nivel atómico y permite abarcar los paradigmas ecológicos de nivel trófico y red trófica dentro de un análisis ecológico de la interacción intra e inter-específica a una alta resolución

Un isótopo estable es una variante atómica de un elemento químico que presenta las mismas propiedades de valencia, pero que difieren en el número de neutrones que presentan en su núcleo. La mayoría de los elementos presentan más de una forma isotópica que se puede encontrar en el ambiente. La mayoría de estos isótopos son estables, significando que no decaen

con el tiempo. La característica que dicta las interacciones de un elemento químico es dada por el número de protones y electrones. No obstante, existen átomos que presentan mayor número de neutrones que su original, sin que eso altere su función o interacción con otros elementos.

La forma más abundante del carbono es el carbono-12. Sin embargo, en el ambiente se pueden encontrar cantidades mínimas de isótopos de carbono como el carbono-13, quien posee cual presenta también 6 electrones, 6 protones y en este caso la diferencia es que presenta 7 neutrones; características que hace que tenga mayor masa atómica. Meier-Augenstein & Kemp (2012) indican que los valores de abundancia para el carbono son: carbono-12 = 98.89 % y carbono-13 = 1.11 %. Así mismo, es de interés el nitrógeno para el cual indican que: nitrógeno-14 = 99.63 % y nitrógeno-15 = 0.37 %.

Debido al desarrollo de nuevas tecnologías que permiten estudiar los isótopos estables se han podido establecer teorías y abordajes ecológicos en función de la escala isotópica a nivel de organismos y de ecosistemas. Partiendo de conceptos ecológicos como el "nicho", se han propuesto en los últimos años diferentes términos que involucran estos conceptos consolidados pero desde una perspectiva más depurada y precisa. Un ejemplo de esto es el estudio del nicho isotópico de las especies; Newsome, Martínez del Río, Bearhop & Phillips (2007) sugieren que el término de nicho isotópico es un poderoso abordaje para investigar los nichos ecológicos; estos mismos autores establecen que el nicho isotópico se basa en el fundamento de que la variación en la incorporación isotópica dentro de un tejido animal permite caracterizar la contribución resultante de la variación intra e inter individual al nicho isotópico de esa especie. De manera que el espacio del nicho se encuentra vinculado directamente a su variación con respecto a los ejes establecidos por la variación isotópica del carbono y el nitrógeno presente en los tejidos de depredadores y presas.

Según menciona Post (2002), comúnmente se utiliza la relación de los isótopos estables de nitrógeno ($\delta_{15}\text{N}$) para determinar el nivel trófico y el radio de los isótopos de carbono ($\delta_{13}\text{C}$) para determinar la posición trófica o fuentes de alimento. Esta técnica ofrece la posibilidad de medir continuamente la posición trófica mediante la integración del flujo de energía proveniente de diferentes vínculos tróficos (Post, 2002). Dada esta capacidad es posible determinar interacciones complejas como la omnivoría o en este caso el generalismo trófico del pez león y su interacción en los ecosistemas invadidos.

Marco metodológico

Sitios de recolecta, muestreo y preservación de especímenes

El estudio se llevó a cabo en el Caribe Sur de Costa Rica, provincia de Limón; las muestras analizadas se recolectaron durante 3 años, desde el 2015 hasta el 2017 (Anexo 4). Se muestrearon localidades donde fue posible capturar el pez león, la mayoría asociadas a arrecifes de coral y desembocaduras de ríos. Algunos de los especímenes que formaron parte de la muestra a analizar fueron facilitados por el Laboratorio de Recursos Naturales y Vida Silvestre (LARNAVISI) y otros capturados por terceros (pescadores artesanales e intermediarios). Las localidades de muestreo correspondieron a: Isla Uvita, Cieneguita, desembocadura río Banano, desembocadura río Bananito, Parque Nacional Cahuita (sector Perezoso), Puerto Viejo, Cocles, Punta Uva, Manzanillo, Refugio Nacional de Vida Silvestre Gandoca y la localidad ubicada más al sur fue la desembocadura del río Sixaola. (Anexo 5)

El estudio se realizó específicamente en la parte sur de la región Huétar Atlántica (Figura 1). El área se encuentra en la provincia de Limón; en este sector los recursos naturales y biodiversidad son administrados por el Área de Conservación La Amistad-Caribe (ACLA-C). Esta área fue creada por Decreto Ejecutivo No. 54 del 17 del marzo de 1994 mediante el Sistema Nacional de Áreas de Conservación (SINAC), y se caracteriza por la participación y organización de las comunidades en la toma de decisiones con respecto a la gestión ambiental (Sandel, 2011).

De acuerdo a Holdridge (1967, citado en Fonseca, Alice & Rey, 2009) en esta zona del Caribe Sur se presenta el bosque muy húmedo tropical, así como arrecifes coralinos, arrecifes rocosos, pastos marinos y humedales. Predomina el clima húmedo a muy húmedo, una temperatura media anual entre 25°C y 27°C y se presentan altas precipitaciones durante todo el año, con una media anual que varía entre 3420 y 6840 mm; siendo los meses de Setiembre, Octubre y Noviembre los que presentan menos precipitación en promedio (Fonseca et al. 2009).

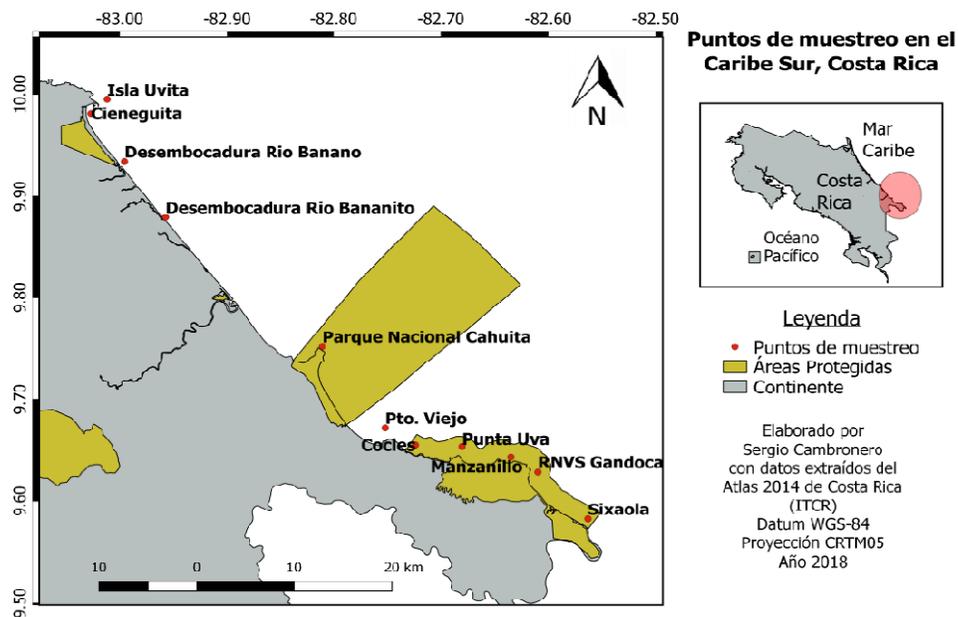


Figura 1. Ubicación de los sitios de muestreo en el Caribe Sur, Costa Rica, 2017. Mapa generado mediante la herramienta QGIS, versión 3.6.

El litoral caribeño de Costa Rica se caracteriza por presentar una contrastante diferencia geomorfológica: rectilínea en el Norte y en los últimos 70 kilómetros hacia el sur se ubican 4 promontorios (irregularidades) de caliza Cuaternaria, los cuales corresponden a Limón, Cahuita, Puerto Viejo y Punta Manzanillo (Denyer, Arias & Personius, 1994). Precisamente dichos promontorios son los precursores de arrecifes coralinos (Guzmán-Espinal y Cortés-Núñez, 1980) y por lo tanto representan un hábitat ideal para el pez león y sitios de importancia pesquera para las comunidades.

El área de muestreo abarcó desde la Isla Uvita, al frente de la ciudad de Limón (9.994494; -83.013533) en dirección hacia el sur hasta llegar a la desembocadura del río Sixaola (9.574583; -82.563174). El punto de muestreo que se ubicó más al norte corresponde a Isla Uvita y el sitio de muestreo ubicado más al sur fue la desembocadura del río Sixaola, limítrofe con Panamá. Los ecosistemas observados en los sitios de muestreo donde se capturó pez león fueron arrecifes coralinos, fondos rocosos, fondos arenosos, desembocaduras de ríos, praderas de pastos marinos; abarcando profundidades desde los 0m y llegando hasta los 200m. Este factor afecta la dieta y determina el paso de organismos más grandes a mayores profundidades y por lo tanto a una dieta más piscívora (Dahl & Patterson, 2014)

Los individuos de pez león fueron capturados por medio de diferentes técnicas, los organismos ubicados en zonas someras (0-30m) fueron recolectados con arpones caseros o "hawaianas" mediante buceo libre y buceo con tanque. Los organismos de mayor rango de profundidad (30-200m) fueron capturados por medio de nasas de aproximadamente 1,5 m³. Este muestreo fue posible gracias a la coordinación con la Asociación de Pescadores Artesanales del Caribe Sur (ASOPACS) quienes colaboraron en la recolecta de muestras de especímenes capturados como parte de las "barridas" o faenas de pesca mensual de pez león.

Todos los individuos fueron recolectados en estación seca y en estación lluviosa; posterior a su captura fueron preservados inmediatamente en hielo para su posterior análisis biométrico y de contenido estomacal. Las muestras de tejido muscular y estómagos fueron preservadas en alcohol al 70%, a temperaturas entre 4°C y -20°C para evitar la descomposición de los tejidos.

Posicionamiento taxonómico mediante marcadores mitocondriales

Para determinar la presencia del complejo *P. volitans/miles* en Costa Rica se llevaron a cabo análisis moleculares a nivel genético, con el fin de determinar la posición taxonómica de la población del Caribe Sur mediante marcadores moleculares mitocondriales. Estos ensayos fueron realizados en el Laboratorio de Análisis Genómico (LAGEN) de la Universidad Nacional.

Los ensayos se llevaron a cabo a partir de muestras de tejido muscular de la región abdominal de individuos de pez león recolectados en distintos puntos de la costa Caribe Sur de Costa Rica. Se realizaron extracciones de ADN al menos a 2 individuos de cada sitio; un individuo con coloración rojiza y otro con coloración oscura. Las extracciones de ADN se realizaron con el kit de extracción PureLink Genomic DNA (Invitrogen) y con el kit DNeasy Blood and Tissue (QIAGEN). Ambos protocolos consisten en la unión selectiva de ADN en una membrana de sílice, facilitado por sales caotrópicas. Las células son lisadas con Proteínasa K a 55°C y el ARN contaminante es eliminado mediante RNAasas presentes en el buffer. El lisado resultante es mezclado con etanol y buffer de unión, el cual es incorporado en una columna de sílice para la unión del ADN. Las impurezas son eliminadas mediante un buffer de lavado. El ADN es removido de la columna mediante un buffer de elución que posee una baja fuerza iónica. Finalmente, el volumen final de ADN es diluido en agua ultrapura libre de nucleasas para su preservación.

El material genético fue utilizado para amplificar las regiones mitocondriales 16S y citocromo *b* (*cytb*). Para esto se utilizaron los cebadores H15149 (34mer)-L14724 (28mer), 16sarL (20mer)-16sbrH (22mer)(Cuadro 1). Se utilizó como estándar para las reacciones de PCR el siguiente perfil térmico: 95°C/2 minutos; 95°C/ 42 segundosx36ciclos; Temperatura *annealing* °C/ 42 segundosx36ciclos; 72°C/42 segundosx36ciclos; 72°C/5 minutos.

En cuanto a la concentración y volúmenes de reacción se tomó como base la siguiente receta: Buffer (5X)= 4µl; MgCl₂ (25mM)= 2µl; Primer forward (10 µM)= 1.5µl; Primer reverse (10 µM)= 1.5µl; dNTP's (10 µM)= 0.4µl; Taq Pol (GoTaq)= 0.25µl; Agua MiliQ= 8.35µl y ADN= 2µl; para completar un volumen final de reacción de 20µl.

Las reacciones de PCR se llevaron a cabo en un termociclador ProFlex (Applied Biosystems). Los productos de PCR fueron visualizados en geles de agarosa al 1.5% con Tris Borato EDTA (TBE) 1X. El marcador de peso molecular que se utilizó fue GeneRuler 1kb Plus (Thermo) y el agente intercalante empleado fue Gel/Red (Biotum).

Cuadro 1. Cebadores que se utilizaron para la amplificación de las regiones mitocondriales de interés

Primer (forward-reverse)	Región que amplifica	Temperatura alineamiento	Tamaño de fragmento
H15149-L14724	Citocromo b	60°C	~550bp
16sarL-16sbrH	16S	49°C	~550bp

Los productos de PCR fueron purificados mediante el protocolo de precipitación con acetato de sodio (3M) y etanol. Este protocolo consiste en la eliminación de terminadores y artefactos sobrantes a la región amplificada. Mediante la solvatación, cambios de solubilidad y centrifugación se logró obtener un producto de calidad para posterior secuenciación. Los productos de la purificación fueron cuantificados en un espectrofotómetro NanoDrop (ThermoScientific) y seguidamente se utilizaron para la secuenciación. Todas las regiones de interés fueron secuenciadas en ambas direcciones utilizando los mismos cebadores sentido/antisentido. Para dicha secuenciación, todas las muestras se marcaron en dos direcciones por medio del kit BigDye Terminator V3.1 (Applied Biosystems) según las indicaciones de manufactura. Seguidamente se purificó el material utilizando el kit Xterminator (Applied

Biosystems) para ser procesados en un secuenciador capilar modelo ABI 3130 (Applied Biosystems) en el Laboratorio de Análisis Genómico de la Universidad Nacional.

Cada una de las secuencias obtenidas fue editada utilizando la herramienta Geneious versión R9 (Biomatters). Para confirmar los resultados de secuenciación, se utilizó el programa en línea BLASTn (Altschul, Gish, Miller, Myers & Lipman, 1990) disponible en el NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>). Para esto se comparó cada secuencia editada manualmente con la base de datos de secuencias nucleotídicas almacenadas en la plataforma digital. Posteriormente, parte de las secuencias editadas fueron incorporadas al GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>) con los códigos de acceso MG926306 - MG926325

Análisis filogenético

Veinte secuencias correspondientes al marcador 16S y 6 de citocromo b se inspeccionaron manualmente y se recortaron eliminando los "over-ends". Se tomó como criterio de ajuste la longitud de las secuencias generadas de los especímenes del Caribe Sur (16S=580bp; *cytb*=435bp). Las secuencias resultantes fueron sometidas a un alineamiento múltiple en conjunto con otras secuencias del marcador respectivo disponibles en el GenBank utilizando el programa libre MAFFT 7.0 y se aplicó el método iterativo de refinamiento G-iNS-i (1PAM/k=2). Luego, se procedió a determinar el mejor modelo de sustitución nucleotídica para cada set de datos utilizando el programa jModelTest (Darriba et al., 2012).

Para depurar el análisis se realizaron dos tipos de abordajes estadísticos para la reconstrucción filogenética: Inferencia Bayesiana / Máxima Verosimilitud y, se realizó un tratamiento extra de los datos para resolver las polítomias para los cuales variaron los parámetros utilizados en el programa jModelTest. Para el análisis de inferencia bayesiana se utilizaron 203 esquemas de sustitución, un filtrado del modelo fijado a= 0.500, BIONJ/BIC, un tamaño de muestra de =578.0000 y un intervalo de confianza del 95%. Para el análisis de máxima verosimilitud se utilizaron 203 esquemas de sustitución bajo el criterio de información de Akaike (AIC) con un filtrado del modelo de 0.100 y optimizado para máxima verosimilitud. Los parámetros utilizados para resolver la politomia mediante inferencia bayesiana fueron 11 esquemas de sustitución, filtrado del modelo de 0.500, BIONJ e intervalo de confianza de 100%,

mientras que para la máxima verosimilitud se utilizaron los mismos parámetros cambiando solamente el criterio de información de Akaike y la optimización para ML.

La elaboración de los árboles filogenéticos se realizó mediante dos métodos. El primero basado en los algoritmos de máxima verosimilitud haciendo uso del programa raxmlGUI v.7.4.2 (Stamatakis et al., 2005), utilizando el modelo K80+I para el análisis del marcador 16S y se incorporó el modelo reversible en tiempo real (GTR+I) para el marcador *cytb* y para la resolución de las politomías para ambos marcadores. Para estas reconstrucciones se corrieron 10000 permutaciones de “bootstrap”. La reconstrucción filogenética mediante inferencia bayesiana se realizó con el programa MrBayes v.3.2.6 (Huelsenbeck y Ronquist, 2001), con los siguientes parámetros: 16S se utilizaron $nst=2$, $rates=propinv$; para *cytb* se aplicaron $nst=6$, $rates=gamma$. Finalmente, los árboles obtenidos se editaron y visualizaron con el programa FigTree v1.4 (Rambaut, 2009).

Caracterización del nicho trófico mediante análisis de isótopos estables

Con el fin de determinar el nicho isotópico del pez león se recolectaron muestras a diferentes profundidades a lo largo del área de estudio. De esta manera se planteó la profundidad como variable que determina la dieta de los organismos y por lo tanto, la interacción directa e indirecta entre estos. Para este ensayo se analizaron las presas más representativas de los contenidos estomacales y se tomó como criterio de selección que dichas presas pudieran ser identificadas morfológicamente: estas fueron clasificadas al mayor detalle taxonómico posible. Considerando el arte de pesca utilizado, es importante recalcar que la carnada fue descartada como ítem alimentario del contenido estomacal.

La preparación de las muestras tanto de los depredadores como de las presas se llevó a cabo en el LAGEN y en el Centro de Investigación para la Sustentabilidad de la Universidad Andrés Bello (CIS) en Chile. En función de la disponibilidad, se tomó una muestra entre 5g y 1g de tejido muscular de cada ítem, material que fue secado en un horno de convección durante 24h para su posterior traslado al CIS. Posteriormente se realizó el protocolo de extracción de lípidos con el fin de eliminar el sesgo que provoca la concentración de lípidos sobre el valor de $\delta_{13}C$ (Hussey, MacNeil y Fisk, 2010). Se utilizó el protocolo de extracción Soxhlet (Sukhija y Palmquist, 1988) con aprox. 300 ml de éter de petróleo como solvente y se calentó durante 12

horas continuas. Previo a la inmersión en el Soxhlet, las muestras fueron lavadas con agua MiliQ, pesadas en húmedo y luego se envolvieron en papel para bolsas de té para ser ingresadas en la matriz del Soxhlet. Posterior a la extracción de lípidos, las muestras fueron pesadas en húmedo, lavadas con agua MiliQ y luego secadas a 80°C en un horno convectivo durante 24h con el fin evaporar el agua residual en los tejidos. Una vez secas las muestras, fueron cortadas y maceradas en un mortero hasta formar un polvo fino del cual se tomaron 0.5 mg para su encapsulación en cápsulas de estaño que se almacenaron en bolsas plásticas selladas al vacío para evitar cambios en la composición de isótopos estables a raíz de la humedad.

La composición isotópica de dichas muestras fue analizada en el Centro de Investigación para la Sustentabilidad de la Universidad Andrés Bello en Chile. Para la separación iónica se utilizó un Analizador Elemental EA (Eurovector) y un espectrómetro de masas de relaciones isotópicas Nu Instruments Perspective (Ametek) para determinar la composición isotópica de los átomos presentes en las muestras. Para expresar las diferencias relativas de las razones de los isótopos estables entre las muestras y los estándares, se utilizó la expresión δ . Los valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ se determinaron a partir de los valores en la muestra y la de los elementos estándares usando la expresión que indicó Boutton (1991, citado en Díaz, 2004):

$$\delta^{13}\text{C} \text{ ó } \delta^{15}\text{N} = \left[\frac{\text{R muestra}}{\text{R estándar}} - 1 \right] \times 1000 \quad (\text{ec.1})$$

Donde R es $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ para $\delta^{15}\text{N}$ y $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ para $\delta^{13}\text{C}$. En este caso el $\delta^{13}\text{C}$ se expresó en referencia al estándar de Pee Dee Belemita y el $\delta^{15}\text{N}$ al nitrógeno atmosférico. En dependencia de los organismos analizados y debido a la resolución del análisis de isótopos estables, algunos organismos fueron agrupados en grupos taxonómicos generales y otros tratados a nivel de especie. El enriquecimiento trófico (TEF) se calculó a partir de la siguiente ecuación:

$$\Delta\text{TEF} = \delta_{\text{animal}} - \delta_{\text{presa}} \quad (\text{ec.2})$$

Siguiendo la metodología planteada por López, Zapata-Hernández, Bustamente, Sellanes y Meléndez (2013), los datos obtenidos se analizaron con el software libre R (R Core Team, 2011) utilizando los paquete de datos "SIBER" (Stable Isotope Bayesian Ellipses in R) (Jackson, Parnell, Inger & Bearhop, 2011) y "MixSIAR" (Bayesian Mixing Models in R) (Stock &

Semmens, 2016). Previo al análisis se realizaron pruebas de normalidad y homogeneidad de varianzas de los datos de isótopos estables. Se realizó una modelación del nicho isotópico del pez león a partir de los datos obtenidos y agrupándolos según su longitud total (juveniles=15-23cm; adultos jóvenes=24-30cm; adultos viejos=30-41.2cm), región de colecta (región norte: Isla Uvita, Cieneguita, Río Banano y Río Bananito y el resto de estaciones como región sur) y sexo. Se calcularon los nichos isotópicos mediante el análisis del área de polígonos convex hull y el cálculo de elipses bayesianas.

Se analizó la contribución de las presas a la dieta de los peces león a partir de su relación en el espacio isotópico, a partir de los datos de $\delta^{15}\text{N}$, $\delta^{13}\text{C}$ y TEF aplicando modelos Bayesianos de mezcla basados en la parsimonia Gaussiana con una mezcla "dirichlet-distributed" previa a obtener los valores medios para cada individuo (depredador y presa). El nivel trófico (TL15N) se obtuvo mediante la ecuación 3 y se calculó el valor de TEF a partir del set de datos como factor de enriquecimiento trófico promedio por nivel y se tomó como referencia base un consumidor primario de vida larga (Post, 2002)

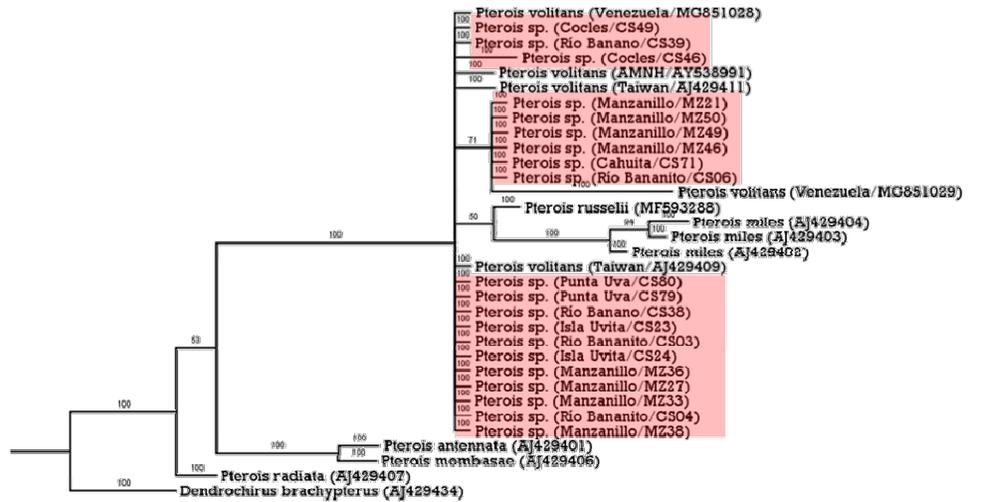
$$\text{TL15N} = \frac{\text{TLbas} (\delta^{15}\text{N}_{\text{depredador}} - \delta^{15}\text{N}_{\text{base}})}{\text{TEF}} \quad (\text{ec.3})$$

Todos los resultados obtenidos, información de interés y nuevos hallazgos fueron sistematizados de manera didáctica en forma de ficha divulgativa (Anexo 7), con la finalidad de informar a los pescadores artesanales de la zona del Caribe Sur. Esto se realizó previa coordinación con las asociaciones de pescadores del Caribe Sur (ASOPACS), la Asociación de Pescadores de Cahuita y la Asociación de Pescadores de Cieneguita. Se pactó un espacio para realizar una charla informativa abierta a la comunidad en donde se sintetizaron las conclusiones y aportes de la investigación.

Resultados

Un total de 300 peces león (*Pterois* spp.) fueron recolectados en el Caribe Sur, en las localidades de: Sixaola, Refugio Nacional de Vida Silvestre Gandoca-Manzanillo, Playa Manzanillo, Punta Uva, Cocles, Puerto Viejo, Parque Nacional Cahuita, Rio Bananito, Rio Banano, Cieneguita e Isla Uvita. Fueron empleadas 89 muestras de tejido muscular abdominal de peces león para los correspondientes análisis genéticos y de isótopos estables.

A



B

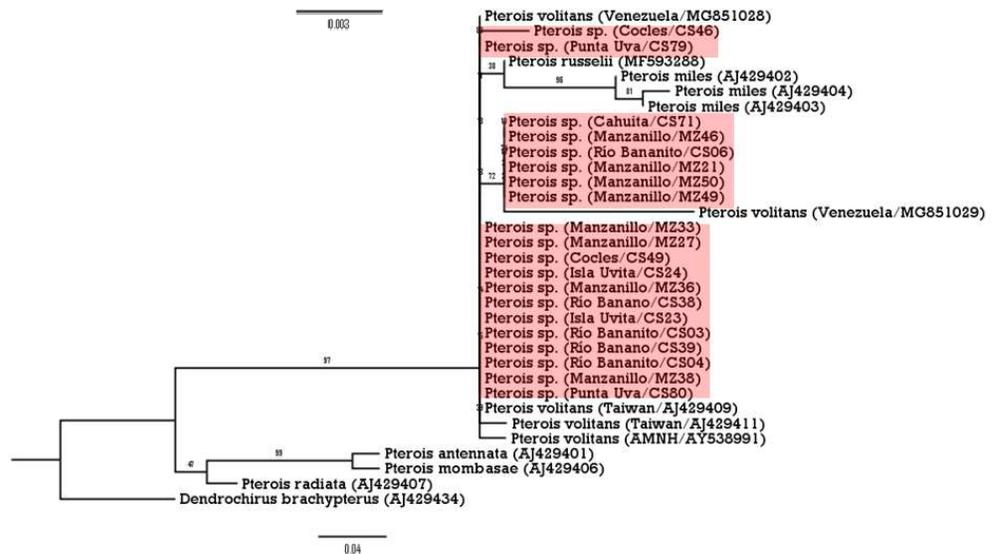


Figura 2. Reconstrucción filogenética del gen ARN ribosomal 16S de pez león del Caribe Sur de Costa Rica. A) Árbol filogenético generado a partir de inferencia bayesiana, probabilidad de soporte a partir de 300000 MCMC; B)

*Árbol filogenético generado mediante máxima verosimilitud, probabilidad de soporte en base a 5000 iteraciones. Ambos análisis fueron generados utilizando un fragmento de 580bp utilizando el modelo de dos parámetros de Kimura (K80+I). Entre paréntesis se indica el lugar de procedencia del espécimen y el número de accesoión del GenBank o código del proyecto

El análisis filogenético del gen ribosomal 16S se muestra en la Figura 2. En ambos casos se observó que el conjunto de muestras de pez león provenientes del Caribe Sur de Costa Rica se agrupó con secuencias de las especies *P. volitans*, *P. miles* y *P. russelii*, mientras que las especies *P. radiata*, *P. antennata* y *P. mombasae* se agruparon en un cluster donde *P. radiata* se separa claramente de *P. antennata* y *P. mombasae*. Dentro del cluster *P. volitans*/*P. miles*/*P. russelii* las secuencias correspondientes a *P. miles* provenientes del Mar Rojo, Indonesia y el Océano Índico se separaron en un cluster en conjunto con el espécimen de *P. russelii*. En este mismo cluster, se generó otro subgrupo correspondiente a muestras de río Banano, Manzanillo y Cahuita, que se agruparon con una secuencia *P. volitans* proveniente de Venezuela, el cual mostró la mayor divergencia y diferenciación dentro del subconjunto de muestras de 16S.

Un aspecto relevante del análisis del gen 16S es la resolución del linaje donde se ubican la mayoría de muestras del Caribe Sur y las secuencias de *P. volitans* del rango nativo y de Venezuela (MG851028), las cuales se agruparon sin mostrar una diferenciación evidenciada por divergencia genética. Este nodo presenta un grado mayor a 3 por lo que se considera una politomía dura, al estar compuesto por diversas secuencias de otros estudios donde ya se han clasificado taxonómicamente, es válido afirmar que se cuenta con secuencias informativas para resolver la posición filogenética de las muestras y que la politomía observada corresponde a una separación simultánea o radiación adaptativa.

La Figura 3 muestra el análisis para resolver la politomía observada en la Figura 2. Este resultado reafirma la filogenia previa al obtener ramas con un soporte del 100% de probabilidad posterior y mantiene la posición taxonómica de la población de pez león del Caribe Sur como individuos que han divergido recientemente de un ancestro común ya que muestran un alto grado de emparentamiento con las secuencias disponibles de la especie *P. volitans*, correspondientes a especímenes del rango nativo.

La distribución de las muestras del Caribe Sur en la filogenia muestra que no hay una correspondencia genética definida por el rango geográfico de los sitios de colecta. No obstante, en ambas filogenias se mantiene un cluster dentro del nodo donde se observa la politomía, el cual corresponde en su mayoría a muestras provenientes de Manzanillo. Es en este mismo grupo que se ubica la muestra MG851029

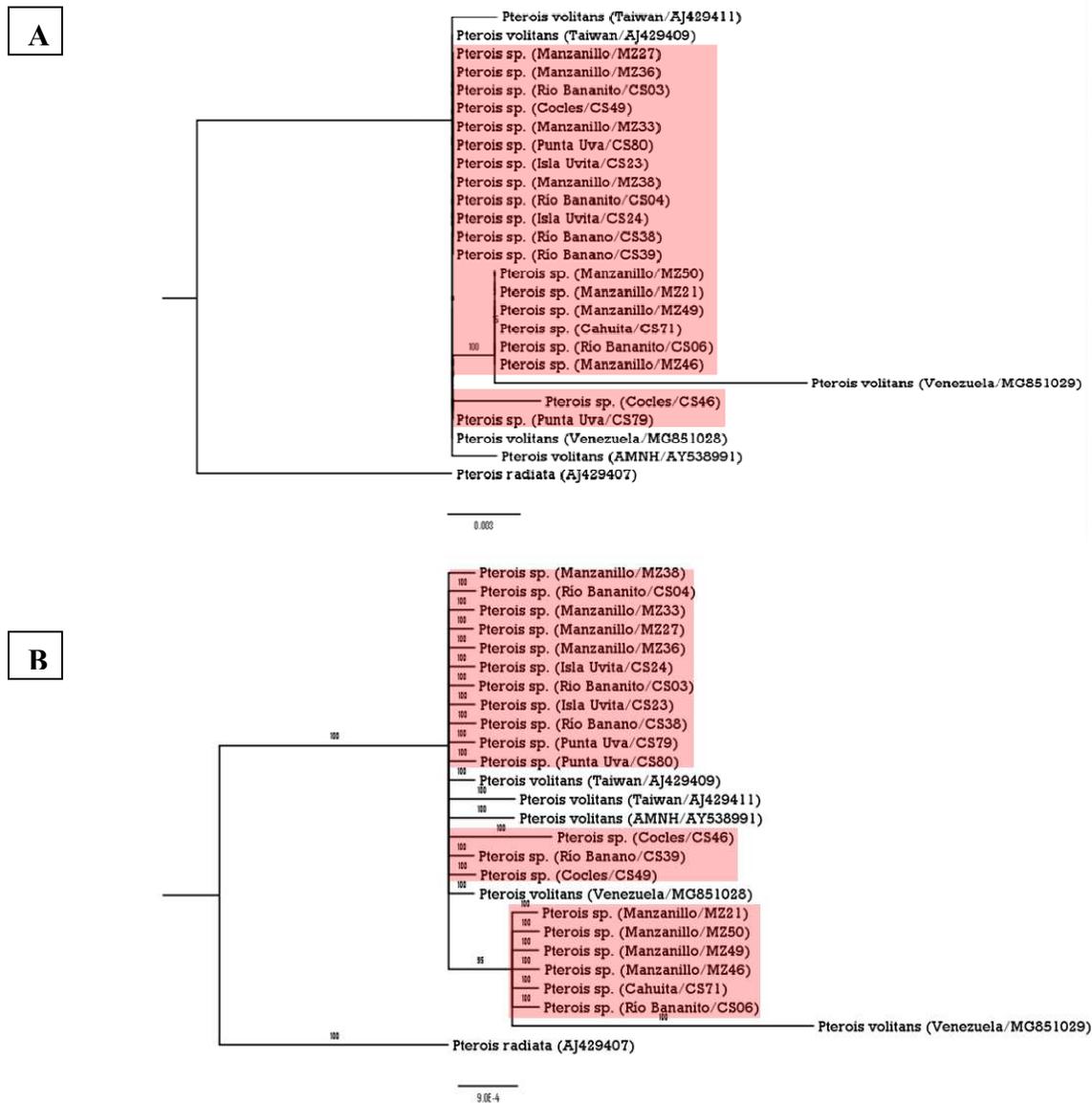


Figura 3. Filogenia para resolución de politomía con secuencias de *Pterois volitans* a partir del gen ARN ribosomal 16S. A) Árbol filogenético generado a partir de inferencia bayesiana utilizando el modelo general de tiempo reversible (GTR+I); B) Árbol generado mediante máxima verosimilitud, utilizando el modelo de dos parámetros de Kimura (K80+I).

*Ambos análisis generados utilizando un fragmento de 580bp. Los números muestran la probabilidad de soporte a partir de 300000 MCMC y 10000 iteraciones, respectivamente. Entre paréntesis se indica el lugar de procedencia del espécimen.

proveniente de Venezuela y que debido a la longitud de su rama muestra el mayor grado de divergencia respecto a las demás muestras de *P. volitans*. Basado en el análisis del gen ribosomal 16S se puede afirmar que las muestras recolectadas del Caribe Sur de Costa Rica corresponden a la especie *P. volitans*.

Al igual que el marcador 16S, las filogenias del citocromo b se realizaron mediante el abordaje de inferencia bayesiana y algoritmos de máxima verosimilitud (Figura 4). Para el análisis del marcador *cytb* fue posible obtener secuencias del rango nativo y el invadido, específicamente del Océano Atlántico Oeste en la costa de Estados Unidos y una secuencia del punto sur de la invasión del pez león, reportado en el 2015 en la costa de Brasil.

El resultado de la filogenia basada en el *cytb* muestra dos clados principales; agrupa las muestras de *P. volitans*, *P. miles* y las recolectadas en el Caribe Sur de Costa Rica mientras que *P. antennata*, *P. radiata* y *P. mombasae* se agruparon en otro clado soportado por una probabilidad posterior del 100% y un bootstrap del 88%. El cluster donde se agrupan las secuencias previamente reportadas de *P. volitans* para el rango invadido no incluye ninguna de las secuencias provenientes de Costa Rica y se agrupa por separado de las secuencias provenientes del rango nativo. La separación del complejo *P. volitans/P. miles* está soportada por una probabilidad del 100% en ambos abordajes estadísticos. Las muestras de Costa Rica se agruparon en un cluster por separado dentro del clado *P. volitans*, esto corrobora los resultados obtenidos de la filogenia construida a partir del gen 16S en cuanto a que se puede afirmar que el pez león del Caribe Sur no corresponde a la especie *P. miles*. La única secuencia correspondiente a *P. miles* dentro del rango invadido (KU833279) se agrupó dentro del clado de *P. miles*

Al reconstruir la filogenia del marcador citocromo b únicamente con las muestras del Caribe Sur y las secuencias disponibles de *P. volitans* (Figura 5), se corrobora la identidad de las muestras de Costa Rica como *P. volitans* al formar un cluster conformado únicamente por estas muestras. El cluster del Caribe Sur se agrupa dentro del cluster correspondiente a las muestras del rango invadido, lo que demuestra que existe una mayor divergencia entre los individuos del rango nativo y los peces león presentes en el Caribe. Dentro del cluster del Caribe Sur, se observa cómo se agruparon las muestras según su procedencia geográfica, al ubicarse en un mismo subgrupo las muestras de Río Bananito e Isla Uvita, lo cual indica que estas muestras son más divergentes que las provenientes de Cócles y Cahuita.

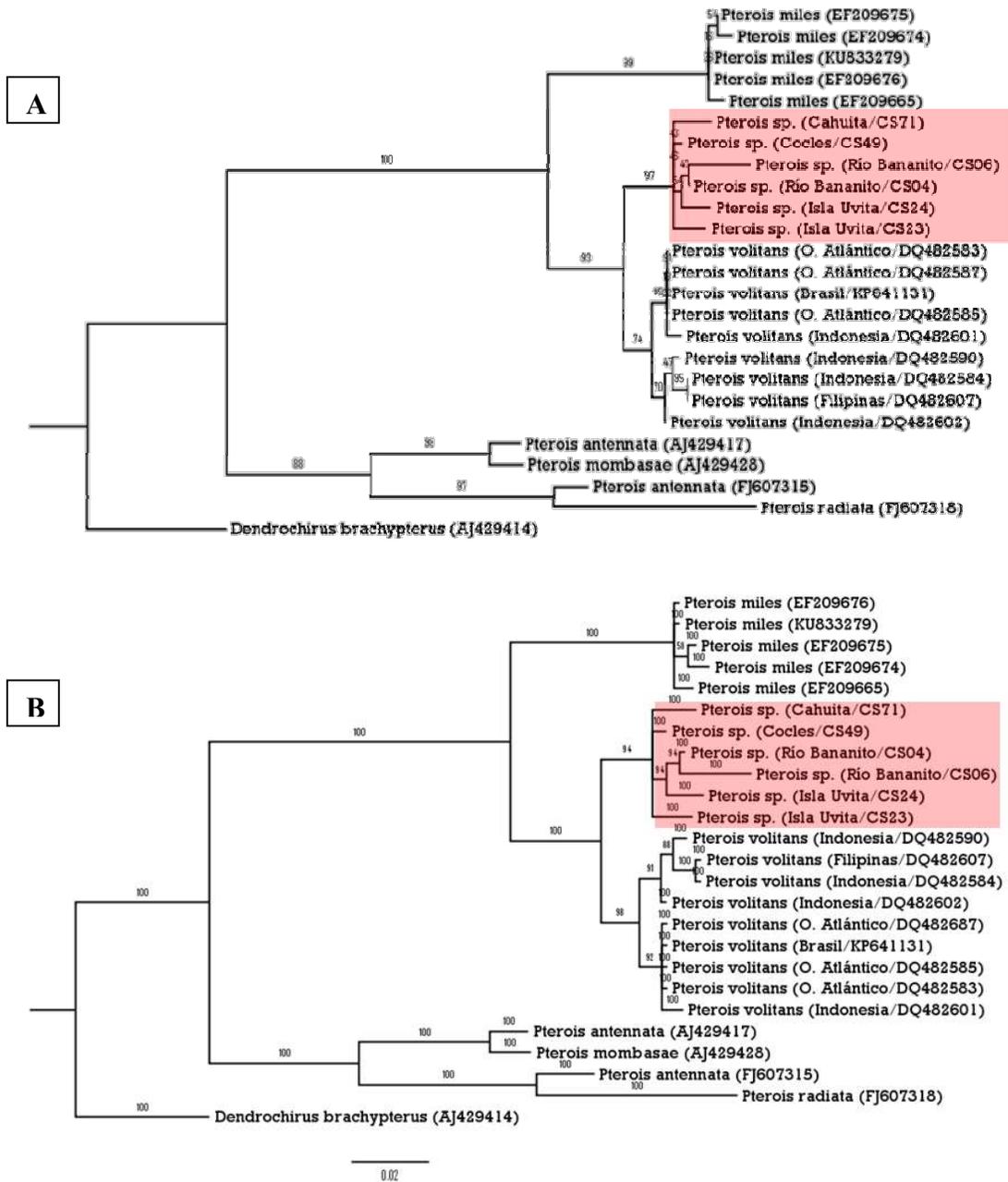


Figura 4. Reconstrucción filogenética del marcador citocromo b (cytb) de pez león del Caribe Sur de Costa Rica. A) Árbol filogenético generado a partir de inferencia bayesiana, probabilidad de soporte a partir de 300000 MCMC; B) Árbol filogenético generado mediante máxima verosimilitud, probabilidad de soporte en base a 5000 iteraciones

*Ambos análisis fueron generados utilizando un fragmento de 435bp utilizando el modelo general de tiempo reversible (GTR+G). Entre paréntesis se indica el lugar de procedencia del espécimen y el número de accesión del GenBank o código del proyecto.

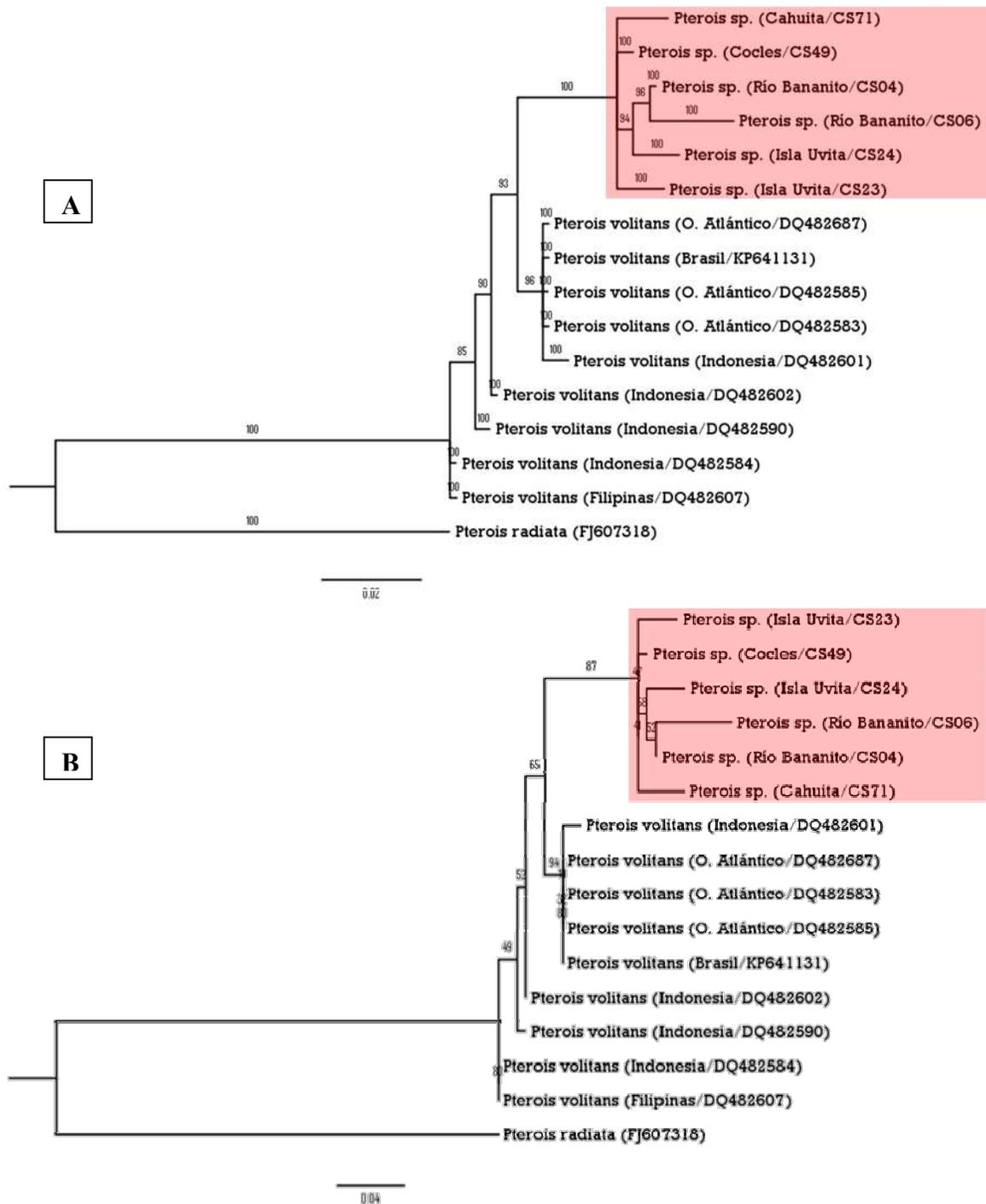


Figura 5. Filogenia del marcador citocromo b (cytb) de pez león del Caribe Sur de Costa Rica e incorporando únicamente secuencias de *Pterois volitans*. A) Árbol filogenético generado a partir de inferencia bayesiana, probabilidad de soporte a partir de 300000 MCMC; B) Árbol filogenético generado mediante máxima verosimilitud, probabilidad de soporte en base a 5000 iteraciones

*Ambos análisis fueron generados utilizando un fragmento de 435bp utilizando el modelo general de tiempo reversible (GTR+G). Entre paréntesis se indica el lugar de procedencia del espécimen y el número de accesoión del GenBank o código del proyecto

Caracterización del nicho isotópico del pez león en el Caribe Sur de Costa Rica

Para caracterizar el nicho isotópico del pez león se analizaron un total de 175 tejidos correspondientes a 86 tejidos de pez león (depredadores) y 86 tejidos de presas encontradas en los contenidos estomacales de 39 individuos de peces león (Anexo 1). De los resultados obtenidos a partir de los tejidos de depredadores el valor más alto de $\delta^{13}\text{C}$ fue de -13.12‰ correspondiente a un individuo de sexo indeterminado recolectado en Peshurst de 28cm LT y 255g de peso, mientras que el valor más bajo de $\delta^{13}\text{C}$ fue de -19.98‰ correspondiente a una hembra grávida de 25.7cm LT y 297.3g de peso que fue recolectada en Punta Uva. Se reportó un valor máximo de $\delta^{15}\text{N}$ de 12.74‰ correspondiente a un individuo de sexo indeterminado capturado en Isla Uvita con una LT de 28.5cm y 327.1g de peso. Mientras que el valor más bajo de $\delta^{15}\text{N}$ fue de 6.53‰ obtenido a partir de un macho capturado en Punta Uva de 15cm LT y 73g de peso.

El valor medio $\delta^{15}\text{N}$ de los depredadores fue 10.4667‰ con desviación estándar (SD) de 0.9110, así mismo el valor medio de $\delta^{13}\text{C}$ correspondió a -16.0198‰ y su SD de 0.8226. No hubo relación significativa entre la LT de los especímenes respecto a los valores de $\delta^{15}\text{N}$ ($r^2 = 0.1431$) ni con los valores de $\delta^{13}\text{C}$ ($r^2 = 0.0145$). En cuanto a los tejidos de las presas, el promedio $\delta^{15}\text{N}$ fue de 7.4558‰ , SD 1.7287 y para $\delta^{13}\text{C}$ el promedio fue -17.1946 con SD de 3.4637. Los ítems alimentarios de los contenidos estomacales se agruparon en 5 categorías: Pez ($n=36$), Cangrejo ($n=12$), Camarón ($n=22$), y dos categorías por especie, el herbívoro *Acanthurus coeruleus* ($n=7$) y *Thalassoma bifasciatum* ($n=7$), los tejidos de las presas contaron con un rango de $\delta^{15}\text{N}$ entre 2.14 a 11.44‰ mientras que el rango de $\delta^{13}\text{C}$ se ubicó entre -19.05 y -11.8‰ . A partir de estos valores se calculó el TEF (ec.2) el cual fue de 3.0107 y utilizando este valor en la ec.3 se calculó que el nivel trófico del pez león en el Caribe Sur de Costa Rica es 2.6, tomando los valores de *A. coeruleus* como nivel base, dadas sus características de herbívoro primario de larga vida.

La composición taxonómica del contenido estomacal (Anexo 2) se compuso principalmente de peces, camarones y cangrejos; la mayoría en un estado de descomposición (43%) que no permitió su identificación a nivel de especie. Se logró identificar un 57% del contenido estomacal hasta nivel de orden como mínimo, de estos se identificaron las siguientes especies: *A. coeruleus*, *T. bifasciatum*, *Lactophrys triqueter*, *Stenopus hispidus*, *Brachycarpus biunguiculatus*, *Stenorhynchus seticornis*, *Saurida normani* y además destacan *Squilla* sp. y

Sphyraena sp. Las especies que mostraron mayor contribución relativa por frecuencia de aparición fueron *A. coeruleus* y *T. bifasciatum*, ambas con una contribución del 8.3%. Se contabilizaron 6 familias de peces óseos: Acanthuridae, Holocentridae, Ostraciidae, Synodontidae, Labridae y Sphyraenidae; así mismo se encontraron 8 familias de crustáceos: Palaemonidae, Majidae, Penaeidae, Portunidae, Squillidae, Stenopodidae, Inachidae y Xanthidae.

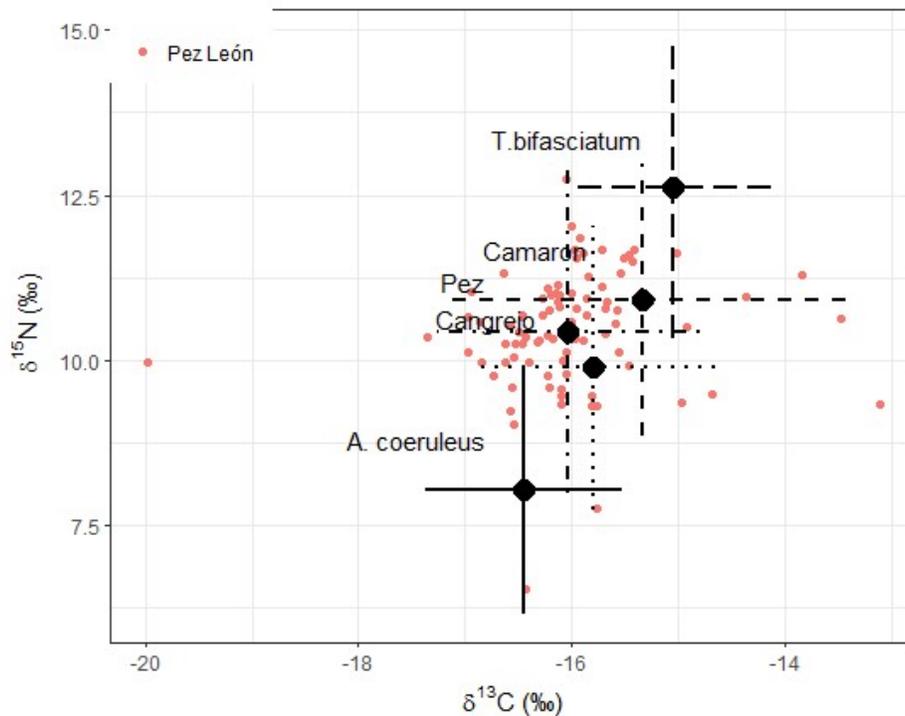


Figura 6. Posición trófica de las muestras de pez león y sus respectivas presas. Los círculos rojos corresponden a valores individuales para cada tejido de pez león. Los valores de las presas son representados con círculos negros y con su respectiva desviación estándar en líneas negras.

La posición trófica de las presas encontradas en los contenidos estomacales se muestra en la Figura 6. La especie *T. bifasciatum* (n=7) se ubicó como la categoría de presa más enriquecida en el eje $\delta^{15}\text{N}$ y así mismo como la más asociada a fuentes basales costeras, dada su posición en el eje $\delta^{13}\text{C}$. La especie de damisela, *A. coeruleus* (n=7) se ubicó como la presa con la menor posición trófica, esto por su ubicación inferior con respecto al eje $\delta^{15}\text{N}$, esta misma especie muestra el uso de recursos basales más pelágicos, debido a su posición más extrema en el eje X. Se obtuvo un isoespacio con una alta congruencia entre las señales isotópicas de los depredadores y las señales de las presas, no obstante se observó una gran similitud entre las categorías de presa Pez (n=36), Camarón (n=22) y Cangrejo (n=12).

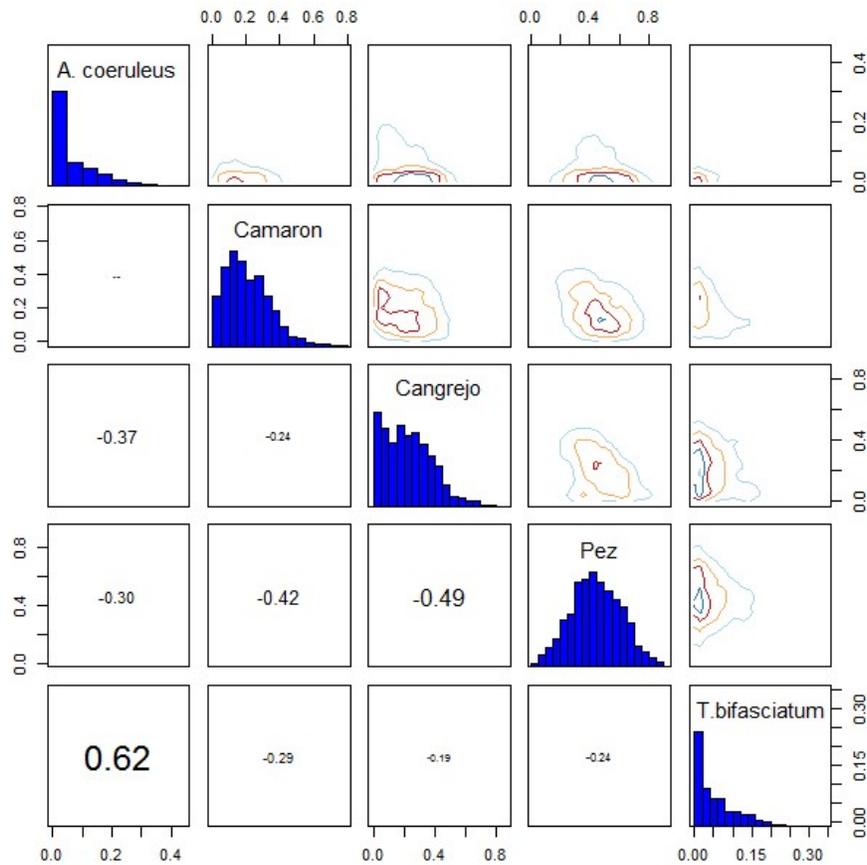


Figura 7. Relación de la probabilidad posterior para cada categoría de presa. Los gráficos superiores a la diagonal muestran los contornos de probabilidad, la diagonal muestra los histogramas de distribución y los valores inferiores a la diagonal denotan la correlación entre los diferentes grupos.

La incertidumbre del resultado anterior se resolvió utilizando un modelo mixto de inferencia bayesiana (Figura 7). Se obtuvo una alta correlación entre las especies *T. bifasciatum* y *A. coeruleus*, lo cual quiere decir que el modelo no logró discernir entre el aporte de estas dos fuentes a la dieta en general del pez león. La distribución de probabilidad para la categoría Pez se ubicó cercano a los 0.5 lo que quiere decir que esta categoría explica aproximadamente el 50% de la composición trófica en la dieta del pez león. El modelo bayesiano pudo resolver exitosamente el aporte de las diferentes presas a la dieta y se observan las densidades de probabilidad posterior para presa según el tamaño de los peces león (Figura 8). Se obtuvo como resultado que los peces son los más contribuyentes a la dieta general del pez león, lo mismo aplica para los juveniles y los adultos, mientras los cangrejos son la segunda presa más importante para estos grupos. Para

los subadultos, su dieta se basa principalmente en camarones principalmente y en segundo lugar de importancia para este grupo se encuentra el aporte trófico de los peces.

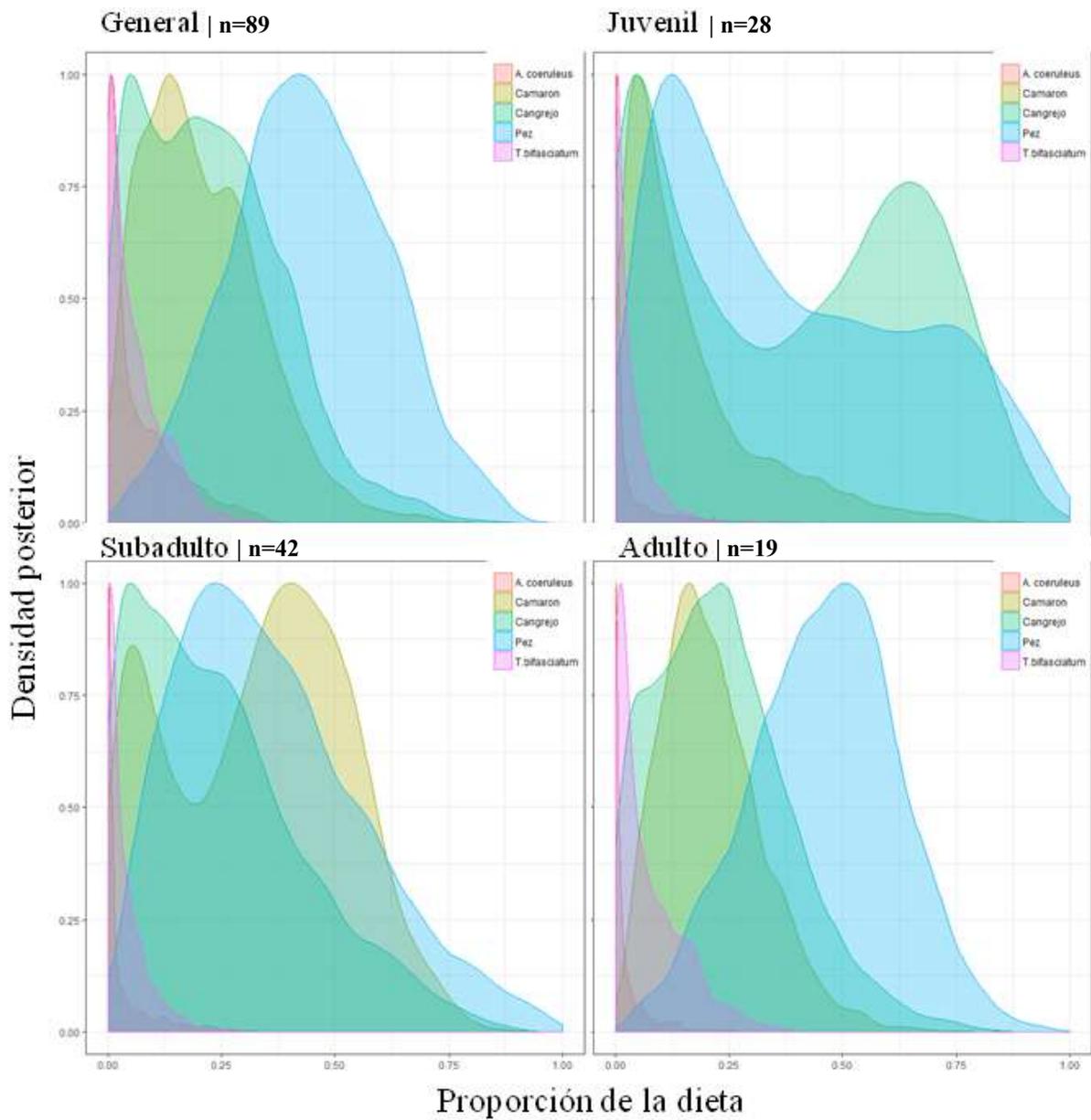


Figura 8. Densidad posterior para la proporción de dieta de acuerdo a cada categoría de presas encontradas en el pez león en Costa Rica, 2017.

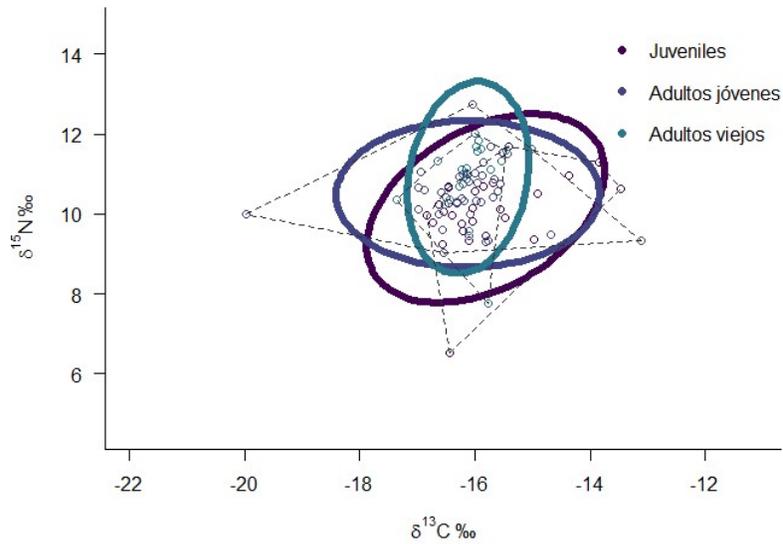


Figura 9. Nicho isotópico del pez león agrupado según su talla en el Caribe Sur de Costa Rica, 2017. Los círculos pequeños muestran valores individuales para cada tejido. Las líneas discontinuas muestran el polígono convex hull (TA) y las líneas continuas representan el área estándar de la elipse (SEA).

Cuadro 2. Amplitud del nicho isotópico de 3 grupos de tallas del pez león a partir de polígono convex hull (TA) y elipses (SEA/SEAc)

	Juveniles	Adultos jóvenes	Adultos viejos
Area Total (TA)	8.922450	12.961200	4.228500
Area estándar del elipse (SEA)	2.343506	2.201064	1.305839
Area estándar del elipse corregida (SEAc)	2.433641	2.260552	1.382653

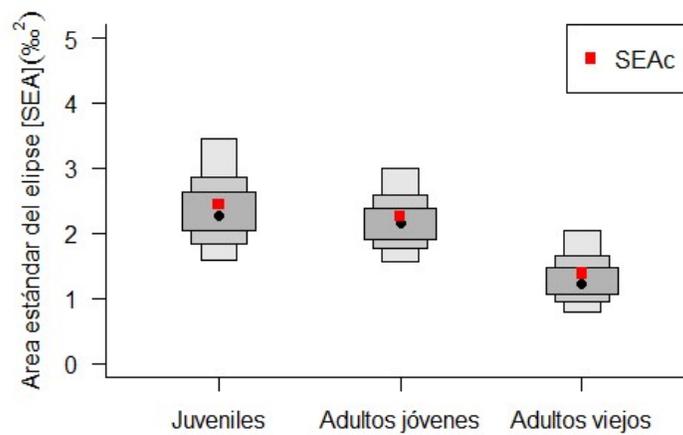


Figura 10. Área de las elipses bayesianas (SIBER) por grupo de tallas de pez león colectados en Costa Rica, 2017. Los puntos negros representan el área media de la elipse bayesiana (SEA) mientras que los puntos rojos denotan el valor medio de área corregida (SEAc)

Cuadro 3. Análisis de nicho isotópico del pez león en el Caribe de Costa Rica, 2017, categorizado según su talla

	Rango $\delta^{15}\text{N}$ (NR)	Rango $\delta^{13}\text{C}$ (CR)	Área Total (TA)	Distancia media del centroide (CD)	Distancia media del vecino más cercano (NND)	Desviación estándar del NND (SDNND)
Juveniles	5.1500000	3.3600000	8.9224500	1.0256561	0.4043035	0.4914184
Adultos jóvenes	3.7000000	6.8600000	12.9612000	0.8854428	0.3507286	0.5407959
Adultos viejos	4.2500000	1.9000000	4.2285000	0.8009591	0.3363830	0.4235159

El análisis del nicho isotópico basado en la composición de tallas de pez león (Figura 9) muestra el cambio a nivel de dieta con respecto a sus cambios ontogénicos. Los individuos juveniles muestran un rango más amplio tanto en el eje Y así como en el eje X, indicando que su nicho isotópico abarca niveles tróficos basales y superiores así como una gran variedad de ambientes en donde se desenvuelven, denotado por la amplitud en sus fuentes de carbono. Se observa que conforme los peces crecen el nicho isotópico de los adultos jóvenes o subadultos cambia a un nicho trófico superior y con fuentes de carbono de origen pelágico, representado por su extensión hacia valores más negativos en el eje x.

Los adultos viejos de grandes tallas muestran un nicho más reducido y menos diverso en cuanto a fuentes de carbono, indicador de una especialización en su dieta y se observa que los peces aumentan su nivel trófico conforme aumentan su talla. Estos resultados se corroboran con los cálculos del TA y SEA (Cuadro 2; Figura 10), donde se obtuvo una mayor área para los individuos juveniles y un área significativamente menor ($p < 0.05$) para los peces más grandes, mientras que los adultos jóvenes mostraron un tamaño de área intermedio entre juveniles y adultos viejos. Cabe rescatar que en el cálculo del TA los adultos jóvenes mostraron una mayor área, esto se debe al valor de un "outlier" y fue corregido a la hora de calcular la elipse mediante inferencia bayesiana.

Las métricas de Layman (Cuadro 3) corroboran la amplitud de los nichos mediante los rangos en los ejes $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$, los valores de CD indican una mayor diversidad trófica para los

juveniles y la menor diversidad para los adultos viejos mientras que la SDNND indica que los adultos jóvenes muestran una repartición de recursos inica y más equitativa entre las otras clases de talla.

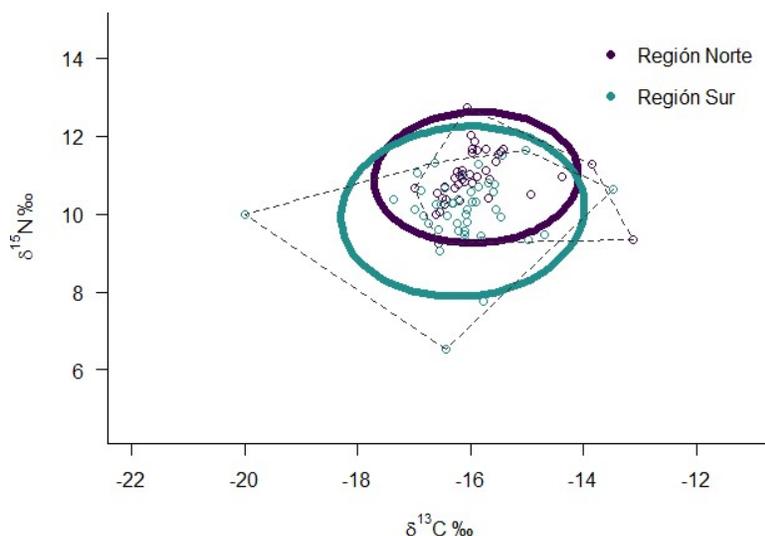


Figura 11. Nicho isotópico del pez león agrupado según su sitio de recolecta en el Caribe Sur de Costa Rica, 2017. Los círculos pequeños muestran valores individuales para cada tejido. Las líneas discontinuas muestran el polígono convex hull (TA) y las líneas continuas representan el área estándar de la elipse (SEA).

El análisis de nicho según la región de recolecta (Figura 11) muestra un nicho similar entre los peces león del norte en comparación con los del sur. Se observa una amplitud en el eje X muy similar indicando que el uso de hábitats es similar. No obstante la diferencia en la distribución de las elipses en el eje Y muestra que los peces león de la región norte están más enriquecidos a nivel trófico que los del sur, un indicador de que el pez león tiene un nivel trófico más alto en la región norte y por lo tanto una mayor afectación sobre las comunidades nativas que allí residen.

Cuadro 4. Amplitud del nicho isotópico del pez león según la región de recolecta a partir de polígono convex hull (TA) y elipses (SEA/SEAc)

	Región Norte	Región Sur
Área Total (TA)	8.733250	16.636800
Area estimada del elipse (SEA)	1.597404	2.463429
Area estimada del elipse corregida (SEAc)	1.639441	2.519416

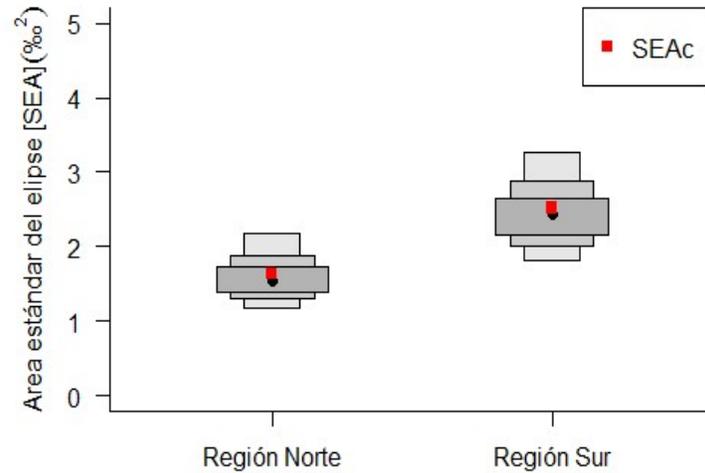


Figura 12. Área de las elipses bayesianas (SIBER) para cada región de muestreo del pez león en el Caribe Sur, 2017. Los puntos negros representan el área media de la elipse bayesiana (SEA) mientras que los puntos rojos denotan el valor medio de área corregida (SEAc).

Los valores de TA y SEA (Cuadro 4, Figura 12) muestran que los peces león de la Región Sur tienen un nicho significativamente más grande que los de la Región Norte ($p < 0.05$). Esto se demuestra con los valores de TA, SEA y SEAc. Las métricas de Layman corroboran los resultados anteriores y muestran que los peces león de la Región Sur presentan un rango amplio en ambos ejes $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$. Así mismo indican mediante el valor de SDNND que la repartición de nicho es más equitativa en la región norte que en la región sur y el NND indica que hay más similitud de nicho entre los individuos de la región norte con respecto a su contraparte de la región sur.

Cuadro 5. Análisis de nicho isotópico del pez león en el Caribe de Costa Rica, 2017, categorizado según ubicación

	Rango $\delta^{15}\text{N}$ (NR)	Rango $\delta^{13}\text{C}$ (CR)	Área Total (TA)	Distancia media del centroide (CD)	Distancia media del vecino más cercano (NND)	Desviación estándar del NND (SDNND)
Región Norte	3.5100000	3.8600000	8.7332500	0.7902460	0.2583205	0.3527737
Región Sur	5.0900000	6.5000000	16.6368000	0.9494150	0.3539335	0.4885723

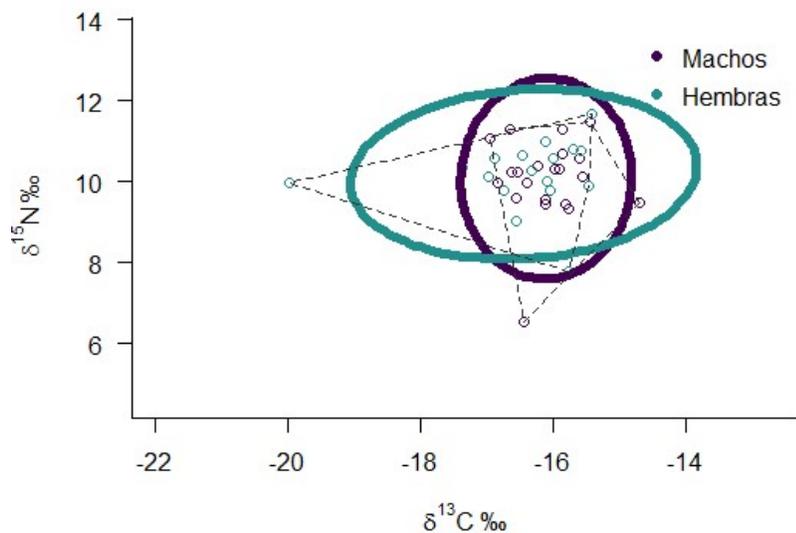


Figura 13. Nicho isotópico del pez león agrupado según su sexo en el Caribe Sur de Costa Rica, 2017. Los círculos pequeños muestran valores individuales para cada tejido. Las líneas discontinuas muestran el polígono convex hull (TA) y las líneas continuas representan el área estándar de la elipse (SEA).

La comparación de datos isotópicos según el sexo de los individuos (Figura 13) muestra que las hembras hacen un uso más amplio de los recursos basales a nivel de hábitat, esto dada la ubicación de la elipse con respecto al eje X. A nivel trófico, en el eje Y se muestra una similitud entre ambos grupos lo que sugiere que el nivel trófico del pez león en Costa Rica no varía según el sexo. El nicho isotópico de las hembras es significativamente mayor ($p < 0.05$), que el nicho de los machos, demostrado por el cálculo del TA y SEA (Cuadro 6, Figura 14). Esto se ve en ambos cálculos de área lo cual quiere decir que estos resultados no están sesgados por el número de muestras analizadas. Las métricas de Layman (Cuadro 7) muestran un mayor rango de $\delta^{15}\text{N}$ para los machos lo que representa una mayor diversidad a través de los niveles tróficos con respecto a las hembras, por otro lado el rango de $\delta^{13}\text{C}$ resultó mayor para las hembras lo cual quiere decir que hacen uso de un repertorio más amplio de hábitats para su forrajeo. Los valores de CD, NND y SDNND muestran que los machos presentan mayor similitud de nicho isotópico que las hembras y que las hembras presentan una mayor variación intrapoblacional en cuanto al uso del nicho trófico.

Cuadro 6. Amplitud del nicho isotópico del pez león según sexo a partir de polígono convex hull (TA) y elipses (SEA/SEAc)

	Machos	Hembras
Area Total (TA)	6.562900	8.829650
Area estimada del elipse (SEA)	1.680859	2.874367
Area estimada del elipse corregida (SEAc)	1.764902	3.065991

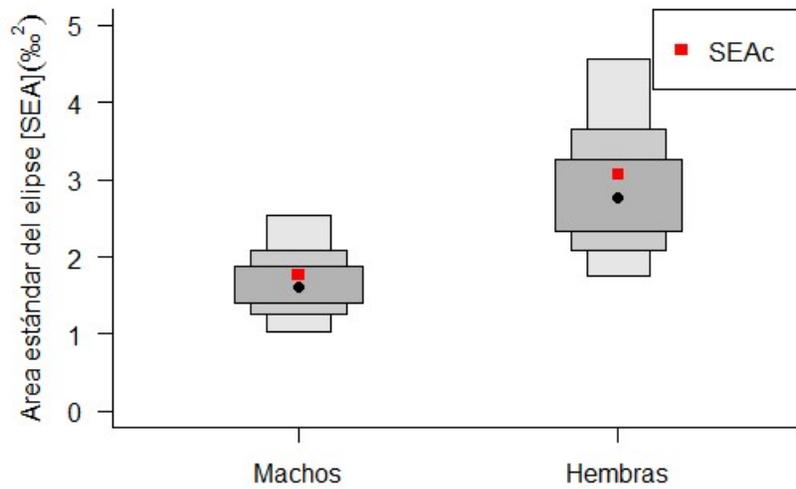


Figura 14. Área de las elipses bayesianas (SIBER) por sexos de pez león colectados en Costa Rica, 2017. Los puntos negros representan el área media de la elipse bayesiana (SEA) mientras que los puntos rojos denotan el valor medio de área corregida (SEAc).

Cuadro 7. Análisis de nicho isotópico del pez león en el Caribe de Costa Rica, 2017, categorizado según sexo

	Rango $\delta^{15}\text{N}$ (NR)	Rango $\delta^{13}\text{C}$ (CR)	Área Total (TA)	Distancia media del centroide (CD)	Distancia media del vecino más cercano (NND)	Desviación estándar del NND (SDNND)
Machos	4.9600000	2.2600000	6.5629000	0.8646779	0.4017994	0.5952614
Hembras	3.9100000	4.5700000	8.8296500	1.0403596	0.6085265	0.6224008

Discusión

Los resultados del posicionamiento taxonómico indican que el pez león del Caribe corresponde solamente a la especie *P. volitans*, estos resultados concuerdan con lo demostrado por Toledo-Hernández et al. (2014). Estos investigadores afirman que *P. volitans* es la especie que logró ingresar y dispersarse en el Caribe, mientras que la invasión por parte de *P. miles* se restringe al Atlántico Norte. La ausencia de *P. miles* en el Caribe puede indicar que la distribución de esta especie en el rango invadido se encuentra restringida a regiones ubicadas al norte, lo cual en conjunto con su reducido tamaño poblacional (Hamner, Freshwater & Whitfield, 2007) ha limitado la capacidad de esta especie de sobreponerse a las barreras naturales de dispersión presentes entre el Atlántico Norte, el Golfo de México y el Mar Caribe. Por otro lado, esto puede denotar una falta de potencial adaptativo por parte de *P. miles* ante los desafíos de las condiciones presentes en los ecosistemas caribeños, por ejemplo variables fisicoquímicas, calidad del agua y su resistencia a patógenos caribeños.

El gen 16S fue efectivo para diferenciar al complejo *P. volitans/miles* de otras especies congénéricas como *P. antennata*, *P. mombasae* y *P. radiata*. Los métodos moleculares corroboraron la diferenciación morfológica entre estas especies quienes a pesar de estar presentes en el mismo rango geográfico nativo lograron pasar por un proceso de especiación que se vio reflejado tanto a nivel morfológico como a nivel genético.

El gen 16S ha probado ser un marcador informativo con una señal filogenética que permite diferenciar a nivel de especies y divergencias de linajes antiguos. Es de gran importancia notar que dentro del clado *P. volitans/miles* se ubicó la especie *P. russelii* agrupándose en un subclado con *P. miles*. Recientemente Wilcox, Motomura, Matsunuma y Bowen (2018) han propuesto a *P. russelii* como una de las especies que hibridaron y dieron origen al linaje de *P. volitans*. Los resultados obtenidos concuerdan con la premisa de esta teoría y muestran una alta correspondencia filogenética entre este complejo de especies a nivel de un marcador molecular relativamente conservado a nivel de especie.

La politomía resultante en la filogenia a partir del gen 16S indica que todas las muestras dentro del nodo se encuentran relacionadas equitativamente y por lo tanto se determina que la

región secuenciada del marcador 16S no permite realizar una inferencia filogenética que permita resolver el grado de divergencia existente en los individuos agrupados en este clado.

El gen ribosomal 16S presenta muchas regiones conservadas entre especies y así mismo otras que presentan un mayor grado de variabilidad (Jenuth, Perterson, Fu & Shoubridge, 1997). La politomía observada puede atribuirse al hecho de haber secuenciado una región muy conservada, que a pesar de si mostrar diferencias a nivel de especies entre los Pterois, no logra resolver la rápida divergencia en el linaje de los *P. volitans* del rango invadido y del rango nativo, tomando como premisa que este grupo de organismos ha sufrido un proceso dinámico de invasión a nuevos ambientes en un periodo de tiempo relativamente corto, desde sus primeros reporte en la década de 1980. Con relación a esto varios autores han señalado que la señal filogenética del gen 16S no es adecuada para resolver entre cepas de la misma especie ni tampoco a nivel de sub-especie (Janda & Abbott, 2007), premisa que concuerda con los resultados obtenidos.

La polítomía observada permite plantear la hipótesis que la invasión del pez león ha conllevado una rápida radiación adaptativa cuya segregación ecológica ha sido altamente favorecida por tres factores: la oportunidad ecológica, por las corrientes marinas y el estado de los ecosistemas marinos. Esta se debe al hecho de ser la primera especie de la subfamilia Pteroinae en ecosistemas en donde la familia Scorpaenidae se encuentra sub-representada (Acero & Navas, 1998). Las corrientes marinas en conjunto con su alta viabilidad larval permite una alta dispersión y el estado de los ecosistemas marinos (especialmente en los arrecifes coralinos) donde en la mayor parte del Caribe se ha visto una pérdida de cobertura coralina y sobrepesca de peces del mismo nivel trófico del pez león. En las radiaciones adaptativas, ráfagas tempranas de cladogénesis se dan como respuesta a las oportunidades ecológicas y luego de esto se experimenta una disminución en la tasa de especiación debido a la saturación de los nichos (Losos, 2010).

De acuerdo con este análisis y al tiempo transcurrido desde el reporte de la invasión en el Caribe, planteo como hipótesis que la invasión del pez león aún se encuentra en la fase de ráfaga de cladogénesis. Por lo anterior y por lo tanto no es posible discernir entre las muestras incluidas en el análisis, ya que todas se encuentran igualmente emparentadas con su ancestro. Es por esto que se obtiene la polítomía y que no se puede resolver aún si se analizan solamente las secuencias

dentro del nodo en cuestión (Figura 3). Kirchberger, Sefc, Sturmbauer & Koblmüller (2014) mencionan que los análisis filogenéticos de radiaciones rápidas son particularmente difíciles de resolver y que usualmente resultan en politomías debido a la complejidad de completar la inferencia filogenética por la corta distancia de las ramas basales y una clasificación incompleta de linaje.

El marcador del gen *cytb* sí permitió construir una topología con clados bien resueltos en las puntas (Figura 4). En estas filogenias se observó la diferenciación entre las muestras de *P. volitans* y *P. miles*, soportada por 100% de probabilidad posterior y bootstrap. En el clado de *P. volitans* se formaron dos subgrupos bien definidos y soportados por 100% de probabilidad y 93% de bootstrap. Esta dicotomía separa la población del Caribe Sur del resto de peces león, tanto del rango nativo como del rango invadido. Con respecto a este subclado, se observa una diferenciación genética entre los peces del rango nativo con respecto a las muestras previamente reportadas para el rango invadido, tanto del Atlántico como de Brasil.

El gen *cytb* ha demostrado ser un marcador genético con gran potencial para realizar inferencias filogenéticas de especies de divergencia reciente (Prychitko & Moore, 2000; Lovejoy & de Araujo, 2000). Esta capacidad permitió diferenciar entre organismos cuyo proceso de aislamiento ha sucedido en menos de 40 años, en el caso de los individuos del rango invadido. Los organismos del Caribe Sur se separan claramente de las otras muestras del Atlántico, y esto permite plantear que los resultados evidencian un proceso vigente de divergencia en el rango invadido, entre la zona Atlántica y el Caribe.

Diversos estudios que tratan sobre la conectividad de arrecifes en el Mar Caribe, indican que la zona de Costa Rica y Panamá representa la zona más aislada del Caribe, con una alta tasa de auto-reclutamiento ya que presenta relativamente pocos aportes de otros sitios del Caribe (Cowen, Paris & Srinivasan, 2006; Salas, Molina-Ureña, Walter & Heath, 2010). Dichas características oceanográficas y ecológicas promueven procesos de divergencia entre los organismos del Atlántico y el Caribe, lo que podría explicar la señal filogenética reportada en los resultados de este estudio, sin embargo para corroborar la causa de esta separación es necesario realizar un muestreo más exhaustivo en otras partes del Caribe como en Panamá, Colombia y las Antillas, donde son escasos los registros genéticos del pez león. Hasta la fecha, el presente

estudio ha sido el único que ha analizado información genética de la zona de Costa Rica-Panamá, y por lo tanto representa un insumo de referencia para futuros estudios.

La alta correspondencia genética entre *P. russellii* y *P. volitans* permite concluir que la identidad del pez león permanece elusiva en el Caribe. En recientes investigaciones llevadas a cabo por Wilcox et al. (2018) sugieren que la especie *P. volitans* es realmente un híbrido entre linajes de *P. miles* y *P. russellii* quienes hibridizaron en su rango nativo y a partir de cuales surgió el génesis de la invasión. Estos autores sugieren que el éxito de la invasión es debido a su “fitness” o naturaleza híbrida, la cual incrementa su capacidad para adaptarse.

Las investigaciones realizadas con el pez león en el rango invadido han demostrado su rol como generalistas con amplio nicho trófico (Layman & Allgeier, 2012; Muñoz et al. 2011). Los teleósteos dominaron su dieta, al ser la categoría más abundante en los contenidos estomacales seguidos por los crustáceos; así mismo el modelo mixto bayesiano demostró que los peces óseos explican un 50% del nicho isotópico del pez león y por lo tanto se afirma que su dieta es principalmente piscívora con una similar contribución por parte de los crustáceos. Esto coincide con estudios previos en su rango nativo e invadido, donde en ambos casos la dieta está compuesta principalmente por peces y crustáceos (Muñoz, Currin & Whitfield, 2011; Harmelin-Vivien y Bouchon C, 1976). El análisis de contenido estomacal reveló la presencia de 6 familias de teleósteos y 8 familias de crustáceos como parte de la dieta del pez león en la zona de estudio. En el 2011, Sandel reportó 13 familias de peces y 3 órdenes de crustáceos, mientras que Morris y Akins (2009) reportaron 41 familias de peces consumidas en los arrecifes de Bahamas. En base a esto, se plantea que la menor diversidad de presas encontrada en este estudio estuvo determinada por un esfuerzo de muestreo más limitado en tiempo y rango geográfico.

Estudios previos reportan las presas encontradas en este estudio, tanto las del rango invadido como nativas. Por ejemplo, *T. bifasciatum* es considerada una de las principales especies afectadas por el pez león en el rango de invasión (Tuttle, 2017), lo cual coincide con los resultados obtenidos. Todas las familias y especies encontradas ya han sido previamente reportadas como presas del pez león (Morris y Akins, 2009; Muñoz, 2010; Sandel, 2011; Muñoz, Currin & Whitfield, 2011; Côté, Green, Morris, Akins, & Steinke, 2013; Dahl y Patterson, 2014; Peake et al. 2018). Sin embargo, nuestros hallazgos respecto a las familias Sphyraenidae y

Ostraciidae corresponden a reportes inéditos para Costa Rica y según la literatura consultada se reportan por primera vez como presa del pez león en el rango invadido.

En el caso de *Lactophrys triqueter* es un pez solitario de la familia Ostraciidae que comparte hábitos crípticos con el pez león (Lieske, 1994) su captura pudo ser facilitada por dicha característica. Por otro lado, la evidencia de consumo de *Sphyraena* sp. por parte de un pez adulto de gran tamaño (38cm LT) indica una afectación directa a especies de los niveles tróficos superiores. *Sphyraena* sp. habita zonas húmedales muy someras en su etapa juvenil (D'Alessandro, Sponaugle, Llopiz & Cowen, 2011), por lo que se plantea que en este caso la depredación se asoció a una etapa juvenil de la barracuda (soportado por el tamaño) y que difícilmente el pez león pueda depredar exitosamente sobre organismos adultos de *Sphyraena*.

Una de las principales interacciones tróficas en los arrecifes son las "estaciones de limpieza" por parte de peces y camarones que limpian a "clientes" de sus ectoparásitos (Côté, 2000). El pez león afecta directamente la relación simbiótica de limpieza en los arrecifes del Caribe Sur, ya que depreda organismos limpiadores tales como *Stenopus hispidus* y *Thalassoma bifasciatum*, dos de los principales limpiadores facultativos en el rango invadido (Tuttle, 2017). Esto ha sido comprobado previamente por Côté y Maljković (2010) quienes encontraron estas mismas especies en contenidos estomacales de pez león en Bahamas y determinaron que las zonas de limpieza son utilizadas como sitios clave de alimentación. Esta afectación del pez león podría actuar sobre la eficacia biológica y la diversidad de peces arrecifales al aumentar la proporción de peces parasitados y reducir la diversidad de las comunidades residentes y móviles (Waldie, Blomberg, Cheney, Goldizen & Grutter, 2011)

Los valores de δ^{13} obtenidos oscilaron entre los -15 y -17, valores característicos de tejidos muscular de peces arrecifales costeros (Davis, Pitt, Fry & Connolly, 2015). Al observar las señales obtenidas a partir de depredadores y presas, se corrobora que la dinámica trófica de los arrecifes costeros del Caribe Sur costarricense se ve levemente influenciada por los aportes de ecosistemas costeros tales como praderas de pastos marinos y manglares y por el contrario, presentan valores relacionados a insumos de nutrientes oceánicos.

De acuerdo con los resultados de Wyatt, Waite & Humphries (2012), los valores isotópicos obtenidos son característicos de peces que habitan en "coral flats" y "coral slopes" así

mismo de peces carnívoros y coralívoros. Esto permite caracterizar el rango de alimentación del pez león en función de las señales isotópicas y permite determinar que su dieta está fuertemente ligada a ecosistemas arrecifales soportados por el insumo de nutrientes oceánicos, no obstante es necesario realizar un estudio sobre las señales isotópicas en otros ecosistemas costeros del Caribe Sur tales como praderas de pastos marinos y manglares con el fin de determinar si los bajos valores de $\delta^{13}\text{C}$ son exclusivos del arrecife o si es generalizado en todos los tipos de ambientes costeros.

Al comparar los valores isotópicos obtenidos con datos de estudios previos (Anexo 3) se obtuvo que los peces león del Caribe Sur presentaron un nicho isotópico más amplio, basado en los rangos de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$. Con base en el promedio de $\delta^{15}\text{N}$ se pudo observar que los peces león de Costa Rica se desenvuelven entre los niveles tróficos más altos del arrecife, al igual que en Carolina del Norte (Muñoz, Currin & Whitfield, 2011) y el Golfo de México (Dahl y Patterson, 2014). Los datos anteriores contrastan con los reportados en las Bahamas, Florida y Belice donde se reportan valores más bajos en el eje Y. Lo anterior se puede atribuir a que el estudio en el Golfo de México fue llevado a cabo en arrecifes artificiales lo cual implica ensamblajes de peces menos diversos y dinámicas arrecifales más limitadas al igual que en Carolina del Norte, donde las zonas muestreadas se encuentran deterioradas debido a la presencia de otras especies invasoras, cambios abruptos en la temperatura y la sobrepesca (Schofield, Morris & Akins, 2009; Parker y Dixon, 1998; Shertzer y Williams, 2008). Así mismo, estas tres zonas muestran los valores más negativos en el eje X y por lo tanto se afirma que existe un mayor aporte de fuentes de carbono oceánicas y menos determinadas por ecosistemas costeros como humedales y estuarios.

Basado en lo anterior, se afirma que el pez león se desenvuelve en niveles tróficos más altos en sitios con mayores aportes oceánicos. Futuros estudios deben abarcar esto para determinar si esta relación está dada por el impacto trófico del pez león o si estos valores reflejan la dinámica del arrecife. No obstante, esto es un fuerte indicio de que las comunidades del Caribe Sur están siendo altamente influenciadas por el pez león y se recomienda realizar más estudios con otras especies depredadoras (tiburones, barracudas, meros, pargos) para determinar el impacto en términos de desplazamiento de nicho y desequilibrio trófico.

El análisis del nicho isotópico de la población del Caribe Sur muestra el carácter generalista del pez león y que los individuos experimentan un cambio ontogénico en su dieta. En general se obtuvo que a nivel poblacional, el pez león presenta un nicho trófico amplio, no obstante se evidencia un grado de especialización de la dieta conforme los peces aumentan de tamaño, denotado por el cambio en la señal isotópica en ambos ejes y principalmente en el eje del $\delta^{13}\text{C}$ aunque las regresiones lineales de sus valores isotópicos asociados a tallas no mostraron una correlación fuerte ni significativa; dichos resultados coinciden con lo reportado por O'Farrell, Bearhop, McGill, Dahlgren, Brumbaugh, & Mumby (2014) quienes determinaron mediante isótopos estables que los peces león residentes de los arrecifes en Bahamas experimentan un cambio ontogénico significativo en la utilización del recurso.

Específicamente, los individuos juveniles muestran una mayor amplitud de nicho, tanto en el rango del $\delta^{15}\text{N}$ como en el rango del $\delta^{13}\text{C}$ así como valores superiores en las métricas de Layman. Los valores del SEA_b se reducen conforme los peces aumentan de tamaño, denotando una especialización dentro de la población de pez león. La literatura señala que el tamaño de los depredadores tiende a acoplarse con el tamaño de sus presas (Doerner, Huelsmann, Holker, Skov & Wagner, 2007) y en el caso del pez león esto conlleva a que aumenten su nivel trófico y que puedan llegar a competir con depredadores de tallas similares tales como serránidos y lutjanidos (Deudero, Pinnegar, Polunin, Morey, & Morales-Nin, 2004; Albins, 2013)

El análisis por ubicación muestra que los individuos de la región norte del sitio de estudio ubican su nicho isotópico en un rango superior en el eje del $\delta^{15}\text{N}$. Esto se puede atribuir a varios factores, por ejemplo, las aguas residuales provenientes de centros urbanos son conocidas por provocar un enriquecimiento en los valores $\delta^{15}\text{N}$ (Lake et al. 2001). En este caso, la región norte del sitio de estudio se encuentra asociada al centro de la provincia de Limón, la zona más urbanizada en la costa Caribe de Costa Rica donde se presenta el mayor foco poblacional y la presencia de puertos e industrias (Maykall, 2017). Este análisis es una evidencia que la región centro-norte de limón está influenciada por la actividad humana y el manejo de los desechos, lo que potencialmente podría afectar otras especies y deteriorar el estado en general del ecosistema marino, propiciando ambientes degradados ideales para la dominancia del pez león.

Desde la perspectiva de manejo, se debe prestar atención a este factor ya que esta zona puede estar funcionando como un punto de alta abundancia del pez león, lo cual se corrobora por

la alta ocurrencia de pez león en los muelles de JAPDEVA (INCOPECA, com. pers., 2016). Lo anterior en conjunto con el régimen de corrientes dirección Norte-Sur pueden provocar una exportación de larvas hacia la región sur, donde se presentan ecosistemas más saludables, áreas protegidas y en donde constantemente se realizan esfuerzos de extracción del pez león.

El funcionamiento y la estructura de los ensamblajes de peces se basa principalmente en el estado trófico de las especies que lo componen y sus interacciones. Estos resultados permiten caracterizar la dinámica trófica del pez león en el Caribe Sur de Costa Rica y caracterizar preliminarmente el estado del arrecife mediante las relaciones isotópicas entre los grupos tróficos constituyentes de la dieta del pez león. Sin embargo, existe la limitante de tener pocos datos para cada taxón y que además se encuentra sesgado por la preferencia de dieta y hábitos de un carnívoro generalista.

Al contextualizar los datos obtenidos, surge la inconveniente de que no hay datos disponibles de isótopos estables para la región en estudio. Es por esto que es necesario establecer un estudio base sobre la estructura trófica de nuestros ecosistemas para poder obtener una noción del estado actual y permitir caracterizar cambios a futuro. El entendimiento de las redes tróficas mediante isótopos estables, ha dado campo a la ecología isotópica y se ha convertido en una herramienta muy importante en el establecimiento de programas de manejo basado en ecosistemas (Kulbicki et al. 2005; Carassou, Kulbicki, Nicola & Polunin, 2008). Es necesario poder tomar decisiones de manejo con los insumos adecuados, haciendo uso de las tecnologías más recientes cuya principal ventaja es brindar datos que permiten cuantificar y parametrizar el estado de los ecosistemas. Se recomienda como prioridad, realizar un levantamiento de datos isotópicos de los recursos marino-costeros de Costa Rica, especialmente en zonas protegidas del Caribe en donde se necesitan datos base para comprender y monitorear cambios en la dinámica del ecosistema.

Conclusiones

El pez león presente en el Caribe Sur de Costa Rica se restringe exclusivamente a la especie *P. volitans* y se corrobora la ausencia de *P. miles* en todo el Caribe. Para la identificación molecular del pez león, se concluye que el marcador *cytb* presenta una mayor capacidad de

resolución filogenética que el 16S. El proceso de la invasión ha provocado una posible radiación adaptativa evidenciada por las politomías obtenidas a partir del gen 16S.

No se observó estructura genética ni agrupamiento por distribución geográfica, por lo que únicamente se determina una población en el Caribe Sur de Costa Rica. No obstante comunicaciones personales y reportes de pescadores artesanales conllevan a no descartar la presencia de un subgrupo establecido en el norte del Caribe costarricense.

A nivel del rango invadido, se identifica un linaje en la región Caribe Suroeste que presenta un distanciamiento genético evidente a raíz de los patrones de conectividad del Caribe. Este es el primer estudio en Centroamérica que incorpora un abordaje de identificación taxonómica molecular y que investiga la ecología del pez león mediante isótopos estables. Se concluye que existe un vacío de investigación en el estudio de ecología trófica del Caribe costarricense.

Se determina un nivel trófico de 2.6 para el pez león de la costa sur del Caribe costarricense y se demuestra uno de los mayores niveles tróficos reportados en el rango invadido. Esto indica una alta incidencia de estos organismos en la dinámica arrecifal y costera al depredar una amplia variedad de organismos pertenecientes a 6 familias de teleósteos y 8 de crustáceos. También se denota un alto impacto de la invasión en Costa Rica al presentarse el nicho isotópico más amplio de todo el rango invadido.

Se concluye que el principal impacto sucede directamente sobre las comunidades crípticas y asociadas a estaciones de limpieza, por lo tanto tienen un efecto indirecto en especies de importancia pesquera, añadido al hecho del posible desplazamiento de nicho.

Se corrobora el rol generalista facultativo del pez león en el Caribe Sur de Costa Rica, con una dieta compuesta principalmente por peces y crustáceos. Se reportan 2 nuevas familias en la dieta del pez león y el primer reporte de depredación de barracuda por parte del pez león. Se evidencia la afectación sobre una gran diversidad de presas.

Se demuestran cambios en el nicho isotópico a nivel ontogénico y un rango trófico superior en la región norte estudiada, planteando un insumo de gran interés a tomar en cuenta para los esfuerzos de manejo.

La invasión del pez león llegó para quedarse. Este acontecimiento ecológico ha permitido el accionar de mecanismos de cooperación regional necesarios para el manejo adecuado de los recursos marino-costeros del Caribe. Si bien la invasión supone un impacto negativo al ecosistema, es de suma importancia rescatar los esfuerzos de manejo en conjunto que han surgido y los cuales deben llevar la misión de revertir la crítica situación del Caribe mediante la colaboración internacional y colectiva en pro de la conservación de los recursos marinos.

Recomendaciones

Se recomienda a la Comisión Nacional para el Control y Manejo del Pez León busque fondos a través de mecanismos regionales para financiar investigación sobre estructura poblacional del pez león. Para esto es necesario llevar a cabo análisis genómicos con secuenciación de nueva generación y aplicar el procedimiento RAD-Seq.

Identificar las estructuras portuarias con mayor cantidad de pez león y procurar su extracción a través de buceo o artes de pesca novedosos, como nuevas trampas diseñadas para este propósito.

Se recomienda que la Universidad Nacional y la Universidad de Costa Rica destinen fondos especiales a próximos estudios con genes nucleares en pez león, específicamente *S7RP1* y *GPD2*, con la finalidad de corroborar si *P. volitans* es realmente un híbrido.

Se recomienda evaluar la identidad taxonómica del pez león en todo el rango invadido basado en argumentos contemporáneos y adaptados al contexto ecológico actual (De Queiroz, 2007). Es imperante re-evaluar los paradigmas ecológicos en una nueva era donde el ser humano actúa como vector de traslado de especies exóticas a ecosistemas terrestres y marinos. Es correcto afirmar que bajo la dinámica planetaria actual, nunca existirá flujo génico entre las metapoblaciones del rango invadido y nativo, por lo tanto se puede considerar un proceso alopátrico donde el rango invadido está aislado a nivel reproductivo de las demás poblaciones nativas. Eventualmente, el patrón de divergencia y estructura genética del pez león reflejará meramente las condiciones de conectividad en el rango invadido. Normas alternativas deben surgir a nivel

taxonómico y de manejo para atender el impacto ecológico de una especie enigmática que se quedará en el Caribe para siempre y de la cual aún se desconoce gran parte de su ecología.

Se recomienda realizar y complementar futuras investigaciones incorporando la técnica de isótopos estables, con prioridad en organismos basales y tope para poder definir el espacio isotópico en el cual se desenvuelven los recursos marino-costeros del Caribe Sur costarricense.

Se recomienda darle continuidad al presente estudio y monitorear en conjunto con 2 especies de importancia pesquera para caracterizar la dinámica de interacción trófica del pez león con especies de interés pesquero

Como recomendación a incorporar en futuros estudios se deben llevar a cabo análisis metagenómicos de los contenidos estomacales, lo cual permitirá obtener una identificación taxonómica completa de la dieta asociada

Respecto a esto, también se recomienda realizar las campañas nacionales de extracción en el centro de Limón, Moín e Isla Uvita y complementar con campañas simultáneas en el Caribe Sur y Bocas del Toro, ya que toda esta zona representa un gran cluster dentro del esquema de conectividad del Caribe.

Referencias bibliográficas

Acero, A. (2009). Invasión del pez escorpénido *Pterois volitans/miles* a los arrecifes colombianos: ecología y origen. *Universidad Nacional de Colombia, sede Caribe, Cecimar/Invemar. Santa Marta.*

Acero, A., & Navas, G. R. (1998). Notes on the fish family Scorpaenidae (Pisces: Scorpaeniformes) in the continental Colombian Caribbean, including a new record. *Oceanographic Literature Review*, 7(45), 1184-1185.

Ahrenholz., D.W. & Morris J.A. (2010). Larval duration of the lionfish, *Pterois volitans* along the Bahamian Archipelago. *Marine Biology*, 88, 305–309

- Albins, M. A., & Hixon, M. A. (2013). Worst-case scenario: potential long-term effects of invasive predatory lionfish (*Pterois volitans*) on Atlantic and Caribbean coral-reef communities. *Environmental Biology of Fishes*, 96(10-11), 1151-1157.
- Albins, M.A. & Hixon, M.A. (2008). Invasive Indo-Pacific lionfish *Pterois volitans* reduce recruitment of Atlantic coral-reef fishes. *Marine Ecology Progress Series*, 367, 233-238.
- Albins., M. A. (2013). Effects of invasive Pacific red lionfish *Pterois volitans* versus a native predator on Bahamian coral-reef fish communities. *Biological Invasions*, 15, 29–43
- Allen, G. R., & Erdmann, M. V. (2008). *Pterois andover*, a new species of scorpionfish (Pisces: Scorpaenidae) from Indonesia and Papua New Guinea. *Aquatic International Journal of Ichthyology*, 13, 127-138.
- Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W., Lipman, D. J. (1990). Basic local alignment search tool. *Journal of molecular biology*, 21, 403-410.
- Arias-González, J. E., Núñez-Lara, E., Rodríguez-Zaragoza, F. A., & Legendre, P. (2011). Indicadores del paisaje arrecifal para la conservación de la biodiversidad de los arrecifes de coral del Caribe. *Ciencias Marinas*, 37(1), 87-96.
- Arif, I. A., & Khan, H. A. (2009). Molecular markers for biodiversity analysis of wildlife animals: a brief review. *Animal Biodiversity and Conservation*, 32(1), 9-17.
- Aronson, R. B., & Precht, W. F. (2006). Conservation, precaution, and Caribbean reefs. *Coral Reefs*, 25(3), 441-450.
- B.C. Stock and B.X. Semmens (2016). MixSIAR GUI User Manual. Version 3.1
- Barbour, A. B., Montgomery, M. L., Adamson, A. A., Díaz-Ferguson, E., & Silliman, B. R. (2010). Mangrove use by the invasive lionfish *Pterois volitans*. *Marine Ecology Progress Series*, 401, 291-294.
- Bartley, R., Bainbridge, Z. T., Lewis, S. E., Kroon, F. J., Wilkinson, S. N., Brodie, J. E., & Silburn, D. M. (2014). Relating sediment impacts on coral reefs to watershed

sources, processes and management: A review. *Science of the Total Environment*, 468, 1138- 1153.

Benkwitt, C. E. (2015). Non-linear effects of invasive lionfish density on native coral-reef fish communities. *Biological Invasions*, 17(5), 1383-1395.

Bennett, J. W. (1830). *A Selection from the Most Remarkable and Interesting Fishes Found on the Coast of Ceylon*. London, UK.: Longman.

Biggs, C. (2009). Indo-Pacific Red Lionfish: *Pterois volitans*; Invasion of the Western Atlantic and Caribbean Oceans. Recuperado 21 de abril de 2016 (4) [https://depts.washington.edu/oldenlab/wordpress/wp-content/uploads/2013/03/Pterois Volitans_Biggs.pdf](https://depts.washington.edu/oldenlab/wordpress/wp-content/uploads/2013/03/Pterois_Volitans_Biggs.pdf)

Bohlke, J. E., & Chaplin, C. C. (1993). *Fishes of the Bahamas and adjacent tropical waters*. Texas:University of Texas Press.

Bond, M. E., Valentin-Albanese, J., Babcock, E. A., Hussey, N. E., Heithaus, M. R., & Chapman, D. D. (2018). The trophic ecology of Caribbean reef sharks (*Carcharhinus perezii*) relative to other large teleost predators on an isolated coral atoll. *Marine Biology*, 165(4), 67.

Burton, R. S. (1996). Molecular tools in marine ecology. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 200(1), 85-101.

Carassou, L., Kulbicki, M., Nicola, T. J., & Polunin, N. V. (2008). Assessment of fish trophic status and relationships by stable isotope data in the coral reef lagoon of New Caledonia, southwest Pacific. *Aquatic Living Resources*, 21(1), 1-12.

Carballo-Cárdenas, E. C. (2015). Controversies and consensus on the lionfish invasion in the Western Atlantic Ocean. *Ecology and Society*, 20(3), 24.

Chevalier, P. O., E. Gutierrez, D. Ibarzabal, S. Romero, V. Isla, J. Calderin & E. Hernandez. (2008). First record of *Pterois volitans* (Pisces: Scorpaenidae) for Cuban waters. *Solenodon*. 7, 37-40.

- Clavel, J., Julliard, R., & Devictor, V. (2010). Worldwide decline of specialist species: toward a global functional homogenization?. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 9(4), 222-228
- Comeau, S., Carpenter, R. C., Lantz, C. A., & Edmunds, P. J. (2015). Ocean acidification accelerates dissolution of experimental coral reef communities. *Biogeosciences*, 12 (2), 365-372.
- Comisión Nacional para el Manejo, Control y Aprovechamiento del Pez león en Costa Rica. Decreto Ejecutivo No. 39627. (2016). Publicado en La Gaceta N° 89 del 02 de junio. San José, Costa Rica: Imprenta Nacional.
- Côté, I. M., & Maljković, A. (2010). Predation rates of Indo-Pacific lionfish on Bahamian coral reefs. *Marine Ecology Progress Series*, 404, 219-225.
- Côté, I. M., Green, S. J., Morris Jr, J. A., Akins, J. L., & Steinke, D. (2013). Diet richness of invasive Indo-Pacific lionfish revealed by DNA barcoding. *Marine Ecology Progress Series*, 472, 249-256.
- Côté, I.M. (2000). Evolution and ecology of cleaning symbioses in the sea. *Oceanography Marine Biology Annual Review* 38: 311–355
- Cowen, R. K., Paris, C. B., & Srinivasan, A. (2006). Scaling of connectivity in marine populations. *Science*, 311(5760), 522-527.
- Curtis, J. S. (2016). Resource Use Overlap in a Native Grouper and Invasive Lionfish (Doctoral dissertation, University of South Florida).
- D'Alessandro, E. K., Sponaugle, S., Llopiz, J. K., & Cowen, R. K. (2011). Larval ecology of the great barracuda, *Sphyraena barracuda*, and other sphyraenids in the Straits of Florida. *Marine biology*, 158(12), 2625-2638.
- Dahl, K. A. & Patterson, W.F. III (2014). Habitat-Specific Density and Diet of Rapidly Expanding Invasive Red Lionfish, *Pterois volitans*, Populations in the Northern Gulf of Mexico. *PLoS ONE* 9(8).

- Dahl, K. A., & Patterson III, W. F. (2014). Habitat-specific density and diet of rapidly expanding invasive red lionfish, *Pterois volitans*, populations in the northern Gulf of Mexico. *PloS one*, 9(8), e105852.
- Dahl, K.A., Patterson III, W.F. (2013). Dieta del Invasivo Pacífico Pez León, *Pterois volitans*, en Arrecifes Naturales y Artificiales en el Norte del Golfo de México. Recuperado de: http://www.gcfi.org/proceedings/sites/default/files/procs/GCFI_66-17.pdf. Proceedings of the 66th Gulf and Caribbean Fisheries Institute. (pp. 202-203). Corpus Christi, TX, USA Gulf and Caribbean Fisheries Institute.
- Darriba D., Taboada, G.L., Doallo, R. y Posada, D. (2012). jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*, 9 (8), 772.
- Davis, J. P., Pitt, K. A., Fry, B., & Connolly, R. M. (2015). Stable isotopes as tracers of residency for fish on inshore coral reefs. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 167, 368-376.
- De Queiroz, K. (2007). Species concepts and species delimitation. *Systematic biology*, 56(6), 879-886.
- Denyer, P., Arias, O., & Personius, S. (1994). Efecto tectónico del terremoto de Limón. *Revista Geológica de América Central*, Volumen especial Terremoto Limón, 39-52
- Deudero, S., J. K. Pinnegar, N. V. C. Polunin, G. Morey, and B. Morales-Nin. (2004). Spatial variation and ontogenic shifts in the isotopic composition of Mediterranean littoral fishes. *Marine Biology* 145:971–981.
- Díaz, R.E. (2004). Diferenciación entre tursiones *Tursiops truncatus* costeros y oceánicos en el Golfo de California por medio de isótopos estables de carbono y nitrógeno. (Tesis de maestría inédita). Instituto Politécnico Nacional-CICIMAR, Baja California Sur, México.
- Doerner, H., S. Huelsmann, F. Holker, C. Skov, and A. Wagner. (2007). Size-dependent predator-prey relationships between pikeperch and their prey fish. *Ecology of Freshwater Fish* 16:307–314.

- Duncan, R. P., Blackburn, T. M., & Sol, D. (2003). The ecology of bird introductions. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 34, 71-98.
- Edgar, R. C. (2010). Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. *Bioinformatics*, 26, 2460-2461
- Ekblom, R., & Galindo, J. (2011). Applications of next generation sequencing in molecular ecology of non-model organisms. *Heredity*, 107(1), 1-15.
- Escobar, L. M. (2010). Composición dietaria del pez invasor, complejo *Pterois volitans/miles* (Pisces: Scorpaenidae) en Santa Marta y el Parque Nacional Natural Tayrona.
- Ferreira, C. E., Luiz, O. J., Floeter, S. R., Lucena, M. B., Barbosa, M. C., Rocha, C. R., & Rocha, L. A. (2015). First record of invasive lionfish (*Pterois volitans*) for the Brazilian coast. *PLoS ONE*, 10(4), e0123002
- Fishelson, L. (1997). Experiments and observations on food consumption, growth and starvation in *Dendrochirus brachypterus* and *Pterois volitans* (Pteroinae, Scorpaenidae). *Environmental Biology of Fishes*, 50, 391–403.
- Fishelson, L. (2006). Evolution in action – peacock-feather like supraocular tentacles of the lionfish, *Pterois volitans* – the distribution of a new signal. *Environmental Biology of Fishes* 75, (3),343-348
- Fonseca, W., Alice, F., & Rey, J. M. (2009). Modelos para estimar la biomasa de especies nativas en plantaciones y bosques secundarios en la zona Caribe de Costa Rica. *Bosque* (Valdivia), 30(1), 36-47.
- Freshwater, D., A. Hines, S. Parham, A. Wilbur, M. Sabaoun, J. Woodhead, L. Akins, B. Purdy, P. Whitfield, and C. Paris. (2009). Mitochondrial control region sequence analyses indicate dispersal from the US East Coast as the source of the invasive Indo-Pacific lionfish *Pterois volitans* in the Bahamas. *Marine Biology*, 156 (6):1213-1221
- Griffiths, A. J., Miller, J. H., Suzuki, D. T., Lewontin, R. C., & Gelbart, W. M. (2012). An introduction to genetic analysis. 10th Edition. New York. 10:pp527

- Guerrero K. A., & A. L. Franco. (2008). First record of the Indo-Pacific red lionfish *Pterois volitans* (Linnaeus, 1758) for the Dominican Republic. *Aquatic Invasions* 3, 255-256.
- Guzmán-Espinal, H. M., & Cortés-Núñez, J. (1985). Organismos de los arrecifes coralinos de Costa Rica IV. Descripción y distribución geográfica de octocoralarios (Cnidaria: Anthozoa) de la costa caribe. *Brenesia*. 24, 125-173.
- Hamner, R. M., Freshwater, D. W., & Whitfield, P. E. (2007). Mitochondrial cytochrome b analysis reveals two invasive lionfish species with strong founder effects in the western Atlantic. *Journal of Fish Biology*, 71, 214-222.
- Harmelin-Vivien ML, Bouchon C (1976) Feeding behavior of some carnivorous fishes (Serranidae and Scorpaenidae) from Tuléar (Madagascar). *Marine Biology*. 37:329–340
- Hiatt RW, Strasburg DW(1960) Ecological relationships of the fish fauna on coral reefs of the Marshall Islands. *Ecology Monographies* 30:65–127
- Hickey, A. J., Lavery, S. D., Eyton, S. R., & Clements, K. D. (2004). Verifying invasive marine fish species using molecular techniques: a model example using triplefin fishes (Family Tripterygiidae). *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 38(3), 439-446.
- Huelsenbeck, J.P. y Ronquist, F. (2001). MRBAYES: Bayesian inference of phylogeny. *Bioinformatics*, 17: 754-755.
- Hussey, N. E., MacNeil, M. A. & Fisk, A. T. (2010). The requirement for accurate diet-tissue discrimination factors for interpreting stable isotopes in sharks; Comment on: stable isotope dynamics in elasmobranch fishes. *Hydrobiologia*, 654, 1–5.
- Hutchinson, G.E. (1957). Cold Spring Harbor symposium on Quantitative Biology. *Concluding remarks*, 22, 415–427.
- Instituto Costarricense de Turismo (ICT). (2009). Actualización Plan General de Uso de la Tierra y Desarrollo Turístico para las Unidades de Planeamiento Turístico

del Caribe Norte y Caribe Sur. Provincia de Limón, Costa Rica. Recuperado de <http://www.ict.go.cr/es/documentos-institucionales/plan-nacional-y-planes-generales/planes-generales-por-unidad-de-planeamiento/caribe-norte-y-caribe-sur-actualizacion-2009/223-caribe-norte-y-caribe-sur-final-para-jd-dic-2009/file.html>

Jackson, A.L., Parnell, A.C., Inger R., & Bearhop, S. (2011). Comparing isotopic niche widths among and within communities: SIBER – Stable Isotope Bayesian Ellipses in R. *Journal of Animal Ecology*, 80, 595-602.

Janda, J. M., & Abbott, S. L. (2007). 16S rRNA gene sequencing for bacterial identification in the diagnostic laboratory: pluses, perils, and pitfalls. *Journal of clinical microbiology*, 45(9), 2761-2764.

Jenuth, J. P., Perterson, A. C., Fu, K. & Shoubridge, E. A. (1997). Random genetic drift in the female germline explains the rapid segregation of mammalian mitochondrial DNA. *Nature Genetics* 14, 146–151.

Jeschke, J. M., & Strayer, D. L. (2005). Invasion success of vertebrates in Europe and North America. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(20), 7198-7202.

Jud Z.R., Layman C.A. (2012) Site fidelity and movement patterns of invasive lionfish, *Pterois* spp., in a Florida estuary. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 414–415, 69–74.

Kirchberger, P. C., Sefc, K. M., Sturmbauer, C., & Koblmüller, S. (2014). Outgroup effects on root position and tree topology in the AFLP phylogeny of a rapidly radiating lineage of cichlid fish. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 70, 57-62.

Kochzius, M., Soller, R., Khalaf, M. A. & Blohm, D. (2003). Molecular phylogeny of the lionfish genera *Dendrochirus* and *Pterois* (Scorpaenidae, Pteroinae) based on mitochondrial DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 28, 396–403.

Kulbicki M., Beets J., Chabanet P., Cure K., Darling E., Floeter S.R., Galzin R., Green A., Harmelin-Vivien M., Hixon M., Letourneur Y., de Loma T.L., McClanahan T.,

- McIlwain J., MouTham G., Myers R., O'Leary J.K., Planes S., Vigliola L., Wantlex L. (2012). Distributions of Indo-Pacific lionfishes *Pterois* spp. in their native ranges: implications for the Atlantic invasion. *Marine Ecology Progress Series*, 446, 189-205.
- Kulbicki M., Bozec Y.M., Labrosse P., Letourneur Y., Mou-Tham G., Wantiez L. (2005). Diet composition of carnivorous fishes from coral reef lagoons of New Caledonia. *Aquatic Living Resources*. 18, 231-250.
- Lake, J. L., McKinney, R. A., Osterman, F. A., Pruell, R. J., Kiddon, J., Ryba, S. A., & Libby, A. D. (2001). Stable nitrogen isotopes as indicators of anthropogenic activities in small freshwater systems. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 58(5), 870-878.
- Layman, C. A., & Allgeier, J. E. (2012). Characterizing trophic ecology of generalist consumers: a case study of the invasive lionfish in The Bahamas. *Marine Ecology Progress Series*, 448, 131-141.
- Lesser, M. P., & Slattery, M. (2011). Phase shift to algal dominated communities at mesophotic depths associated with lionfish (*Pterois volitans*) invasion on a Bahamian coral reef. *Biological Invasions*, 13(8), 1855-1868.
- Lieske, E. (1994). Myers R. Collins pocket guide. Coral reef fishes Indo-Pacific & Caribbean including the Red Sea. New York: HarperCollins Publishers, 400.
- Lopez, S., Zapata., Hernández, G., Bustamante, C., Sellanes, J., & Meléndez, R. (2013). Trophic ecology of the dusky catshark *Bythaelurus canescens* (Günther, 1878)(Chondrychthyes: Scyliorhinidae) in the southeast Pacific Ocean. *Journal of Applied Ichthyology*, 29(4), 751-756.
- Losos, J. B. (2010). Adaptive radiation, ecological opportunity, and evolutionary determinism: American Society of Naturalists EO Wilson Award address. *The American Naturalist*, 175(6), 623-639.

- Lovejoy, N. R., & De Araújo, M. L. G. (2000). Molecular systematics, biogeography and population structure of Neotropical freshwater needlefishes of the genus *Potamorhaphis*. *Molecular Ecology*, 9(3), 259-268.
- Lowe, S., Browne, M., Boudjelas, S., & De Poorter, M. (2000). *100 of the world's worst invasive alien species: a selection from the global invasive species database*. Auckland: Invasive Species Specialist Group.
- Maljković, A., Van Leeuwen, T. E., & Cove, S. N. (2008). Predation on the invasive red lionfish, *Pterois volitans* (Pisces: Scorpaenidae), by native groupers in the Bahamas. *Coral Reefs*, 27(3), 501-501.
- Maykall, A. B. (2017). Informe Estado De La Nación En Desarrollo Humano Sostenible 2017.
- Meier-Augenstein, W. and Kemp, H. F. (2012). *Stable Isotope Analysis: General Principles and Limitations* (2da. Ed). Aberdeen, UK: Wiley Encyclopedia of Forensic Science. .
- Meister H.S., Wyanski D.M., Loefer J.K., Ross S.W., Quattrini A.M., Sulak K.J. (2005) Further evidence for the invasion and establishment of *Pterois volitans* (Teleostei: Scorpaenidae) along the Atlantic coast of the United States. *Southeastern Naturalist*, 4(2), 193-206.
- Miranda, R. J., Cruz, I. S., & Leão, Z. N. (2013). Coral bleaching in the Caramuanas reef (Todos os Santos Bay, Brazil) during the 2010 El Niño event. *Latin American Journal Of Aquatic Research*, 41, 351-360.
- Molina, H. (2009). El pez león del Indo-Pacífico: Nueva especie invasora en Costa Rica. *Revista Biocenosis*, 22(1-2), 21.
- Morris Jr, J. A. (2009). The biology and ecology of the invasive Indo-Pacific lionfish. Disertación doctoral no publicada, North Carolina State University, North Carolina, EEUU.
- Morris, J. A., & Akins, J. L. (2009). Feeding ecology of invasive lionfish (*Pterois volitans*) in the Bahamian archipelago. *Environmental Biology of Fishes*, 86(3), 389.

- Morris, J.A. Jr., & Whitfield, P.E. (2009). Biology, Ecology, Control and Management of the Invasive Indo-Pacific Lionfish: An Updated Integrated Assessment. NOAA Technical Memorandum. *NOS NCCOS .99*, 57.
- Morris, J.A., Akins, J.L., Barse, A., Cerino, D., Freshwater, D.W., Green, S.J., Muñoz, R.C., Paris, C. & Whitfield, P.E. (2009). Biology and Ecology of the Invasive Lionfishes, *Pterois miles* and *Pterois volitans*. *Gulf and Caribbean Fisheries Institute*. 61, 2-6.
- Muñoz, R. C., Currin, C. A., & Whitfield, P. E. (2011). Diet of invasive lionfish on hard bottom reefs of the Southeast USA: insights from stomach. *Marine Ecology Progress Series*, 432, 181-193.
- Nelson, J. S. (Ed.). (2006). *Fishes of the World* (4th Ed). Hoboken, N.J.: John Wiley
- Newsome, S. D., Martinez del Rio, C., Bearhop, S., & Phillips, D. L. (2007). A niche for isotopic ecology. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 5(8), 429-436.
- O'Farrell, S., Bearhop, S., McGill, R. A., Dahlgren, C. P., Brumbaugh, D. R., & Mumby, P. J. (2014). Habitat and body size effects on the isotopic niche space of invasive lionfish and endangered Nassau grouper. *Ecosphere*, 5(10), 1-11.
- Olden J.D., Poff N.L., Douglas M.R., Douglas M.E., Fausch K.D. (2004) Ecological and evolutionary consequences of biotic homogenization. *Trends Ecology Evolution*, 19, 18–24
- Osman, R. W., & Whitlatch, R. B. (1995). Predation on early ontogenetic life stages and its effect on recruitment into a marine epifaunal community. *Oceanographic Literature Review*, 9(42), 772.
- Papakostas, S., Triantafyllidis, A., Kappas, I., & Abatzopoulos, T. J. (2005). The utility of the 16S gene in investigating cryptic speciation within the *Brachionus plicatilis* species complex. *Marine Biology*, 147(5), 1129-1139.
- Parker Jr, R. O., & Dixon, R. L. (1998). Changes in a North Carolina reef fish community after 15 years of intense fishing—global warming implications. *Transactions of the American Fisheries Society*, 127(6), 908-920.

- Parnell, A. & Jackson, A. (2011). siar: Stable Isotope Analysis. in R. R package version 4.1.1. Available at: https://cran.r-project.org/src/contrib/siar_4.2.tar.gz (accesado el 06 Junio 2016).
- Peake, J., Bogdanoff, A.K., Layman, C.A., Castillo, B., Reale-Munroe, K., Chapman, J., Dahl, K., Patterson III, W.F., Eddy, C., Ellis, R.D. and Faletti, M. (2018). Feeding ecology of invasive lionfish (*Pterois volitans* and *Pterois miles*) in the temperate and tropical western Atlantic. *Biological Invasions*, 20(9), 2567-2597.
- Pimentel D., Zuniga R., Morrison D. (2005) Update on the environmental and economic costs associated with alien invasive species in the United States. *Ecological Economics*, 52, 273–288.
- Pimiento, C., Nifong, J. C., Hunter, M. E., Monaco, E., & Silliman, B. R. (2013). Habitat use patterns of the invasive red lionfish *Pterois volitans*: a comparison between mangrove and reef systems in San Salvador, Bahamas. *Marine Ecology*, 36(1), 28-37.
- Post, D. M. (2002). Using stable isotopes to estimate trophic position: models, methods, and assumptions. *Ecology*, 83(3), 703-718.
- Post, D. M. (2002). Using stable isotopes to estimate trophic position: models, methods, and assumptions. *Ecology*, 83(3), 703-718.
- Prychitko, T. M., & Moore, W. S. (2000). Comparative evolution of the mitochondrial cytochrome b gene and nuclear β -fibrinogen intron 7 in woodpeckers. *Molecular Biology and Evolution*, 17(7), 1101-1111.
- R Core Team. (2011). R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria.
- Rambaut, A. (2009). FigTree v1.4 2012–2014. Disponible en <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree>.
- Rambaut, A. (2009). FigTree v1.4 2012–2014: Tree Figure Drawing Tool. Disponible via <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree> (consultado el 18 de agosto 2016).

- Risk, M. J., Murillo, M. M., & Cortés, J. (1980). Observaciones biológicas preliminares sobre el arrecife coralino en el Parque Nacional Cahuita, Costa Rica. *Revista Biología Tropical*, 28(2), 361-382.
- Rogers, A., Blanchard, J. L., & Mumby, P. J. (2014). Vulnerability of coral reef fisheries to a loss of structural complexity. *Current Biology*, 24(9), 1000-1005.
- Ruiz-Carus R., R. E. Matheson, D. E. Roberts, P. E. Whitfield. (2006). The western Pacific red lionfish, *Pterois volitans* (Scorpaenidae), in Florida: Evidence for reproduction and parasitism in the first exotic marine fish established in state waters. *Biological Conservation*, 128, 384-390.
- Ryan, J. (2014). Los arrecifes del Caribe nicaragüense. *Wani revista del Caribe Nicaragüense*, 13, 35-52.
- Sabido M.M., Gómez J.M., Medina A., García M.dC & Hadad, W. (2011). Dinámica Poblacional del Pez León (*Pterois volitans*) en El Parque Nacional Arrecifes de Xcalak (PNAX), Quintana Roo, Caribe Mexicano. Recuperado de: http://www.gcfi.org/proceedings/sites/default/files/procs/GCFI_64-17.pdf. Proceedings of the 64th Gulf and Caribbean Fisheries Institute. (pp. 67-74).Puerto Morelos, Mexico: Gulf and Caribbean Fisheries Institute.
- Salas, E., Molina-Ureña, H., Walter, R. P., & Heath, D. D. (2010). Local and regional genetic connectivity in a Caribbean coral reef fish. *Marine Biology*, 157(2), 437-445.
- Sandel, V., Martínez-Fernández, D., Wangpraseurt, D., & Sierra, L. (2015). Ecology and management of the invasive lionfish *Pterois volitans/miles* complex (Perciformes: Scorpaenidae) in Southern Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, 63(1), 213-221.
- Sandel, V.M. (2011). El pez león (*Pterois volitans/miles* complex) en el Área de Conservación La Amistad-Caribe, Costa Rica-estado actual de la población invasiva y perspectivas para su manejo.(Tesis de maestría inédita). Universidad Nacional, Puntarenas, Costa Rica.

- Schofield P. (2010) Update on geographic spread of invasive lionfishes (*Pterois volitans* [Linnaeus 1758] and *P. miles* [Bennet 1828]) in the western North Atlantic Ocean, Caribbean Sea and Gulf of Mexico. *Aquatic Invasions* 5, 117–122.
- Schofield PJ, Morris JA, Akins JL (2009) Field guide to non- indigenous marine fishes of Florida. US Dept Commerce, NOAA Tech Memo NOS NCCOS 92
- Schofield, P.J., J.A. Morris, Jr, J.N. Langston, & P.L. Fuller. (2016). *Pterois volitans/miles*. USGS Nonindigenous Aquatic Species Database, Gainesville, FL. <http://nas.er.usgs.gov/queries/factsheet.aspx?speciesid=963> Fecha de revisión: 9/18/2012
- Schultz, E. T. (1986). *Pterois volitans* and *Pterois miles*: two valid species. *Copeia*, 686-690.
- Semmens B.X., Buhle E.R., Salomon A.K., Pattengill-Semmens C.V. (2004). A hotspot of non-native marine fishes: evidence for the aquarium trade as an invasion pathway. *Marine Ecology Progress Series*, 266, 239–244.
- Shertzer KW, Williams EH (2008) Fish assemblages and indicator species: reef fishes off the southeastern United States. *Fisheries Bulletin* 106:257–269
- Silvestro, D. & Michalak, I. (2012). raxmlGUI: a graphical front-end for RAxML. *Organisms Diversity and Evolution*, 12, 335–337.
- Smith, J. L. B. (1957). Fishes of Aldabra. Part VIII. *Journal of Natural History*, 10(113), 395-400.
- Smith, P. & McVeagh, M. (2000). Allozyme and microsatellite DNA markers of toothfish population structure in the Southern Ocean. *Journal of Fish Biology* ,57, 72-83.
- Stachowicz J.J., Whitlatch R.B., Osman R.W. (1999) Species diversity and invasion resistance in a marine ecosystem. *Science*, 286, 1577–1579
- Stamatakis, A., Ludwig, T. y Meier, H. (2005). RAxML-III: a fast program for maximum likelihood- based inference of large phylogenetic trees. *Bioinformatics*, 21: 456-463.

- Sukhija, P. S., & Palmquist, D. L. (1988). Rapid method for determination of total fatty acid content and composition of feedstuffs and feces. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 36(6), 1202-1206.
- Sunnucks, P. (2000). Efficient genetic markers for population biology. *Trends in Ecology and Evolution*, 15(1), 199–203.
- Toledo-Hernández, C., Vélez-Zuazo, X., Ruiz-Díaz, C. P., Patricio, A. R., Mège, P., Navarro, M., Sabat, A., Betancur-R, R. & Papa, R. (2014). Population ecology and genetics of the invasive lionfish in Puerto Rico. *Aquatic Invasions*, 9, 227-237.
- Tuttle, L. J. (2017). Direct and indirect effects of invasive lionfish on coral-reef cleaning mutualists. *Marine Ecology Progress Series*, 569, 163-172.
- Waldie PA, Blomberg SP, Cheney KL, Goldizen AW, Grutter AS. (2011) long-term effects of the cleaner fish *Labroides dimidiatus* on coral reef fish communities. *PLoS One* 6: e21201
- Whitfield, P.E., Gardner, T., Vives, S.P., Gilligan, M.R., Courtenay, W.R., Ray, G.C. y Hare, J.A. (2002). Biological invasion of the Indo-Pacific lionfish *Pterois volitans* along the Atlantic coast of North America. *Marine Ecology Progress Series*, 235, 289-297
- Whitfield, P.E., Hare J. A., David A. W., Harter S. L., Muñoz R. C.& Addison C. M.. (2007). Abundance Estimates of the Indo-Pacific Lionfish *Pterois volitans/miles* Complex in the Western North Atlantic. *Biological Invasions*, 9(1), 53-64.
- Wilcox, C. L., Motomura, H., Matsunuma, M., & Bowen, B. W. (2018). Phylogeography of lionfishes (*Pterois*) indicate taxonomic over splitting and hybrid origin of the invasive *Pterois volitans*. *Journal of Heredity*, 109(2), 162-175.
- Wyatt, A. S. J., Waite, A. M., & Humphries, S. (2012). Stable isotope analysis reveals community-level variation in fish trophodynamics across a fringing coral reef. *Coral Reefs*, 31(4), 1029-1044.

Anexos

Anexo 1. Valores de isótopos estables para tejidos de depredadores y presas

Codigo Proyecto	$\delta^{15}\text{N}$ ‰ aire	$\delta^{13}\text{C}$ ‰ VPDB	LT
A1	10.69	-15.86	22.2
A3	9.32	-15.76	28.6
A4	11.31	-16.64	34
A5	6.53	-16.43	15
A6	7.77	-15.77	39
A7	10.59	-16.87	29
A8	9.57	-16.1	32.5
A9	10.56	-15.6	30.5
A10	9.99	-16.09	26.5
A11	9.97	-16.4	19.8
A12	10.24	-16.53	32
A14	10.79	-15.68	22.5
A15	10.32	-15.98	28
A16	10.76	-15.57	29
A17	10.29	-16.31	26
A18	10.28	-16.32	24.9
A19	9.48	-14.68	25
A20	9.46	-16.1	24
A21	10.12	-15.56	21
A22	11	-16.12	18.8
A23	9.04	-16.55	24.5
A24	10.58	-16	23
A25	10.24	-16.62	15.5
A26	9.77	-16.74	23
A27	10.31	-15.9	28.2
A28	9.96	-16.84	20
A29	10.39	-16.22	26
A30	11.49	-15.44	28.6
A31	10.36	-17.36	32
A32	10.12	-16.98	24
A33	9.6	-16.56	24.5
A34	11.28	-15.85	24.2
A35	11.05	-16.94	30.5
A36	9.8	-16.05	21
A37	9.91	-15.47	22

A38	9.45	-15.81	22.9
A40	10.67	-16.46	20
A41	11.68	-15.41	23
CS150302	11.67	-15.97	37.3
CS150303	10.76	-16.21	30.2
CS150304	9.23	-16.57	18.8
CS150305	11.85	-15.93	32.7
CS150306	10.94	-16.27	29
CS150307	10.26	-16.46	21.3
CS150322	10.82	-16.11	28.8
CS150323	10.36	-16.44	33.6
CS150324	10.69	-16.46	25.3
CS150338	11.02	-16.01	30.8
CS150339	11.12	-15.72	37.2
CS150340	11.56	-15.96	37.1
CS150341	10.88	-16.14	39.1
CS150342	11.1	-16.23	37.8
CS150343	10.98	-16.2	30.8
CS150344	10.04	-16.54	19.7
CS1546	11.62	-15.02	27
CS1547	9.58	-16.21	16
CS1548	10.13	-16.05	17.1
CS1549	9.34	-16.1	18
CS1557	10.68	-16.28	36.2
CS1558	11.13	-16.14	36.6
CS1559	10.33	-16.18	28.1
CS1560	10.78	-15.96	27.3
CS1561	10.66	-16.98	28.7
CS1562	10.54	-16.58	26.6
CS1571	10.64	-13.48	15.5
CS1572	9.35	-14.98	15.1
CS1573	9.34	-13.12	28
CS1578	9.31	-15.82	28.6
CS1579	9.76	-16.23	18.1
CS1580	9.98	-19.98	25.7
CS1594	9.98	-16.62	27
CS1595	10.42	-16.5	29.1
CS1596	10.41	-15.68	26.2
CS1604	10.5	-14.92	19.8
CS1605	10.96	-14.37	18
CS1606	11.29	-13.85	18

CS1609	11.6	-15.46	38.7
CS1610	10.88	-15.67	28.2
CS1611	11.33	-15.54	33.5
CS1612	11.54	-15.51	18.5
CS1701	10.95	-15.87	28.3
CS1702	11.62	-15.89	41.2
CS1704	11.02	-16.15	33.5
CS1705	12.74	-16.05	28.5
CS1706	11.68	-15.72	27.5
CS1707	12.02	-16	33

Categoría Presa	$\delta^{15}\text{N}$ ‰ aire	$\delta^{13}\text{C}$ ‰ VPDB
<i>A. coeruleus</i>	-17.9	4.4
<i>A. coeruleus</i>	-18.31	6.29
<i>A. coeruleus</i>	-17.74	4.28
<i>A. coeruleus</i>	-17.98	5.29
<i>A. coeruleus</i>	-17.97	5.61
<i>A. coeruleus</i>	-18.16	4.9
<i>A. coeruleus</i>	-17.06	4.47
Camarón	-14.95	7.67
Camarón	-15.92	9.29
Camarón	-16.64	10.09
Camarón	-16.88	7.06
Camarón	-17.09	6.25
Camarón	-16.02	6.81
Camarón	-16.85	7.13
Camarón	-16.86	6.15
Camarón	-13.64	7.29
Camarón	-14.96	9.64
Camarón	-18.18	8.17
Camarón	-18.48	8.1
Camarón	-17.37	8.09
Camarón	-18.12	8.05
Camarón	-18.09	8.39
Camarón	-11.8	6.43
Camarón	-16.24	8.43
Camarón	-17.45	9.84
Camarón	-18.31	8.08
Camarón	-18.19	8.3
Camarón	-18.48	7.74

Camarón	-18.22	6.94
Cangrejo	-17.12	6.38
Cangrejo	-17.66	7.05
Cangrejo	-17.35	7.36
Cangrejo	-16.84	7.05
Cangrejo	-16.35	4.6
Cangrejo	-17.17	6.19
Cangrejo	-18.75	5.3
Cangrejo	-18.34	6.32
Cangrejo	-16.31	7.12
Cangrejo	-17.1	7.95
Cangrejo	-17.51	7.74
Cangrejo	-16.15	9.52
Pez	-15.33	9.03
Pez	-15.82	11.44
Pez	-17.19	9.09
Pez	-17.7	8.43
Pez	-18.26	10.44
Pez	-17.85	8.94
Pez	-18.28	10.06
Pez	-17.28	6.14
Pez	-17.65	5.13
Pez	-17.68	2.14
Pez	-17.3	9.1
Pez	-17.7	5.17
Pez	-17.33	6.4
Pez	-16.83	7.21
Pez	-16.86	6.6
Pez	-17.96	5.42
Pez	-17.52	5.42
Pez	-16.98	6.82
Pez	-17.07	7.17
Pez	-17.12	7.89
Pez	-17.55	7.65
Pez	-15.17	7.96
Pez	-17.94	6.93
Pez	-17.91	6.63
Pez	-18.65	6.34
Pez	-19.05	7.48
Pez	-18.5	7.15
Pez	-17.95	7.54

Pez	-18.44	7.55
Pez	-18.12	7.56
Pez	-17.85	6.61
Pez	-18.43	7.47
Pez	-18.25	6.59
Pez	-16.21	9.29
Pez	-16.25	9.52
Pez	-16.48	7.04
<i>T. bifasciatum</i>	-16.24	10.91
<i>T. bifasciatum</i>	-16.14	11.2
<i>T. bifasciatum</i>	-16.83	10.22
<i>T. bifasciatum</i>	-16.36	9.83
<i>T. bifasciatum</i>	-16.66	7.39
<i>T. bifasciatum</i>	-15.99	7.75
<i>T. bifasciatum</i>	-17.16	9.88

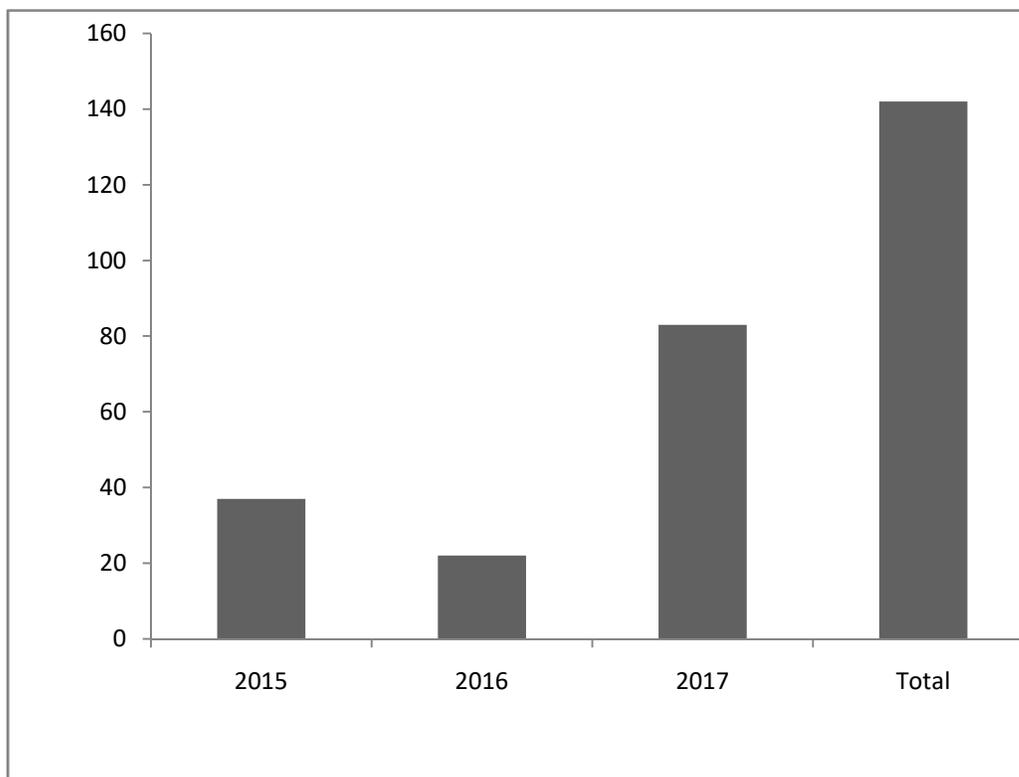
Anexo 2. Contribución relativa de las presas a la dieta del pez león según frecuencia de aparición.

Categoría Taxonómica	n	Contribución relativa
<i>Acanthurus coeruleus</i>	7	8.333333333
<i>Brachycarpus biunguiculatus</i>	1	1.19047619
Caridea	4	4.761904762
Crustáceo digerido	5	5.952380952
Holocentridae	1	1.19047619
<i>Lactophrys triqueter</i>	1	1.19047619
Majidae	1	1.19047619
Penaeidae	12	14.28571429
Pez digerido	31	36.9047619
Portunidae	8	9.523809524
<i>Saurida normani</i>	1	1.19047619
<i>Sphyaena</i>	1	1.19047619
<i>Squilla</i> sp.	1	1.19047619
<i>Stenopus hispidus</i>	1	1.19047619
<i>Stenorhynchus seticornis</i>	1	1.19047619
<i>Thalassoma bifasciatum</i>	7	8.333333333
Xanthidae	1	1.19047619

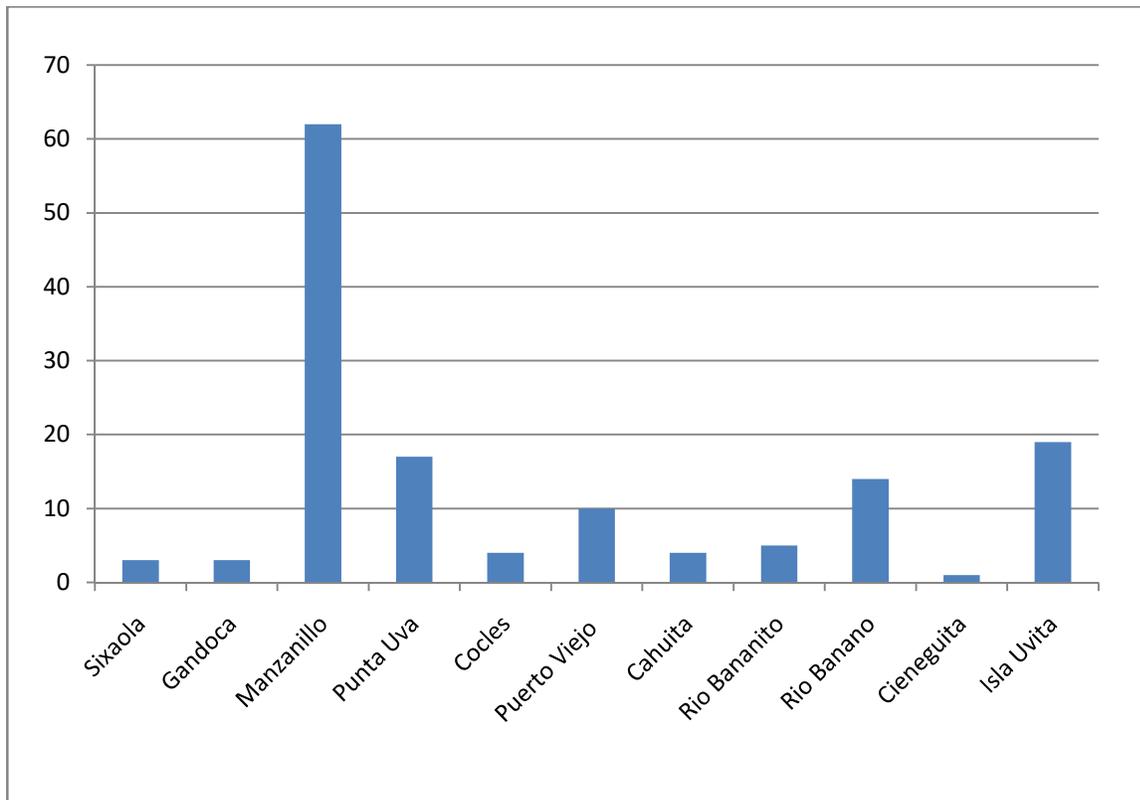
Anexo 3. Comparación de valores isotópicos de este y previos estudios realizados con pez león en el rango invadido.

Promedio $\delta^{13}\text{C}$ (‰)	Rango $\delta^{13}\text{C}$ (‰) [Min-Max]	Promedio $\delta^{15}\text{N}$	Rango $\delta^{15}\text{N}$ (‰) [Min-Max]	Autores	Zona/Región	n
-16.0198 ± 0.82	-13.12 / -19.98	10.4667 ± 0.91	6.53 / 12.74	Este estudio	Costa Rica	84
-11.17 ± 0.50	-11.20 / -12.30	8.5 ± 0.36	7.9 / 9.2	Bond et al. 2018	Belice	5
-14.72 ± 0.03	-13.13 / -16.32	9.10 ± 0.02	8.0 / 10.35	Curtis, 2016	Florida	294
-10.50	-8.50 / -14.00	8.75	7.5 / 10.01	O'Farrell et al. 2014	Bahamas	54
-18.0	-17.20 / -18.9	12.8	12.0 / 13.8	Dahl y Patterson, 2014	Golfo de México	770
-14.93 ± 0.81	NA	8.39 ± 0.34	NA	Pimiento et al. 2013	Bahamas Arrecife	12
-12.72 ± 0.42	NA	9.38 ± 0.37	NA	Pimiento et al. 2013	Bahamas Manglar	11
-11.80 ± 0.65	NA	9.1 ± 0.38	NA	Layman y Allgeier, 2012	Bahamas	35
-16.60 ± 0.02	-16.00 / -17.20	11.00 ± 0.04	9.61 / 12.07	Muñoz et al. 2011	North Carolina	183

Anexo 4. Distribución de las muestras analizadas según su año de recolecta.



Anexo 5. Distribución de las muestras analizadas según su sitio de recolecta



Anexo 6. Ficha técnica-didáctica que resume los resultados de la investigación

RECIENTES ANÁLISIS GENÉTICOS REVELARON QUE SOLAMENTE HAY UNA ESPECIE DE PEZ LEÓN EN CR

PTEROIS VOLITANS

ACTUALMENTE EL PEZ LEÓN DE CR EXPERIMENTA UN PROCESO DE DISTANCIAMIENTO GENÉTICO DEL RESTO DEL CARIBE

SU PRESENCIA EN EL CARIBE NORTE DE CR PERMANECE UN MISTERIO...

EL PEZ LEÓN AFECTA PRINCIPALMENTE EL CARIBE CENTRO-SUR

UNA TÉCNICA NUNCA ANTES USADA EN EL CARIBE DE COSTA RICA DEMOSTRÓ QUE EL PEZ LEÓN PRESENTA UN NIVEL TRÓFICO DE 2.6

ESTE ESTUDIO DETERMINÓ QUE EL PEZ LEÓN EXPERIMENTA UN CAMBIO EN SU ALIMENTACIÓN CONFORME AUMENTA DE TAMAÑO

LOS ADULTOS SE ALIMENTAN PRINCIPALMENTE DE PEGES Y LOS MAS JOVENES DE CRUSTÁCEOS

LAS ESTACIONES DE LIMPIEZA DE PARASITOS SON LAS MÁS AFECTADAS POR EL VORAZ APETITO DEL PEZ LEÓN

PUEDA CONSUMIR 20 PEGES EN 30 MINUTOS

CARIBE COSTA RICA

PELAFIOS

LINA