



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS
Departamento de Pesquerías y Biología Marina



Colección Ictiológica.

Programa de Doctorado en Ciencias Marinas

**ANÁLISIS TAXONÓMICO, FILOGENÉTICO Y
BIOGEOGRÁFICO DE LAS ESPECIES DEL
GÉNERO *Urotrygon* GILL, 1863
(MYLIOBATIFORMES: UROTRYGONIDAE)**

TESIS:

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR
EN
CIENCIAS MARINAS**

PRESENTA:

NICOLÁS ROBERTO EHEMANN

La Paz, B.C.S., DICIEMBRE DE 2021.



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de **La Paz, B.C.S.,** siendo las **12:00** horas del día **09** del mes de **nov** del **2021** se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de la Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Posgrado de: **CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS** para examinar la tesis titulada: **“Análisis taxonómico, filogenético y biogeográfico de las especies del género *Urotrygon* Gill, 1863 (Myliobatiformes: Urotrygonidae)”** del (la) alumno (a):

Apellido Paterno:	EHEMANN	Apellido Materno:	-	Nombre (s):	NICOLÁS ROBERTO
-------------------	---------	-------------------	---	-------------	-----------------

Número de registro: **A 1 8 0 5 4 1**

Aspirante del Programa Académico de Posgrado: **DOCTORADO EN CIENCIAS MARINAS**

Una vez que se realizó un análisis de similitud de texto, utilizando el software antiplagio, se encontró que el trabajo de tesis tiene **4** % de similitud. **Se adjunta reporte de software utilizado.**

Después que esta Comisión revisó exhaustivamente el contenido, estructura, intención y ubicación de los textos de la tesis identificados como coincidentes con otros documentos, concluyó que en el presente trabajo **SI** **NO** **SE CONSTITUYE UN POSIBLE PLAGIO.**

JUSTIFICACIÓN DE LA CONCLUSIÓN: *(Por ejemplo, el % de similitud se localiza en metodologías adecuadamente referidas a fuente original)*

El porcentaje de similitud es bajo e incluye la sección de la metodología adecuadamente referida. No consideramos la existencia de plagio.

****Es responsabilidad del alumno como autor de la tesis la verificación antiplagio, y del Director o Directores de tesis el análisis del % de similitud para establecer el riesgo o la existencia de un posible plagio.**

Finalmente y posterior a la lectura, revisión individual, así como el análisis e intercambio de opiniones, los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR** **SUSPENDER** **NO APROBAR** la tesis por **UNANIMIDAD** o **MAYORÍA** en virtud de los motivos siguientes:

“SATISFACE LOS REQUISITOS SEÑALADOS POR LAS DISPOSICIONES REGLAMENTARIAS VIGENTES”

COMISIÓN REVISORA DE TESIS


DR. FRANCISCO JAVIER GARCÍA GUTIÉRREZ
Director de Tesis
Nombre completo y firma


DR. RODRIGO MUCAYO ESTRADA
Nombre completo y firma


DR. PABLO DEL MONTE LUNA
Nombre completo y firma


DR. JOSÉ DE LA CRUZ AGÜERO
Director de Tesis
Nombre completo y firma

DR. SEBASTIÁN IGNACIO HERNÁNDEZ MUÑOZ
Nombre completo y firma

DR. SERGIO HERNÁNDEZ TRUJILLO
Nombre completo y firma
PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., el día 19 del mes de Noviembre del año 2021

El (la) que suscribe M en C. NICOLAS ROBERTO EHEMANN Alumno (a) del Programa
DOCTORADO EN CIENCIAS MARINAS

con número de registro A180541 adscrito al CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS

manifiesta que es autor(a) intelectual del presente trabajo de tesis, bajo la dirección de:

DR. FRANCISCO JAVIER GARCIA RODRÍGUEZ y DR. JOSÉ DE LA CRUZ AGÜERO

y cede los derechos del trabajo titulado:

“Análisis taxonómico, filogenético y biogeográfico de las especies del
género *Urotrygon* Gill, 1863 (Myliobatiformes: Urotrygonidae)”

al Instituto Politécnico Nacional, para su difusión con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Éste, puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección: nehemann@yahoo.com - rehemann1500@alumno.ipn.mx - ffgarcia@ipn.mx - jcruz@ipn.mx

Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

M en C. NICOLAS ROBERTO EHEMANN

Nombre y firma del alumno

DEDICATORIA

Para Nicole y Lucas, nunca olviden de donde vienen.

La vida y sus momentos siempre deben disfrutar, sin importar el lugar o el tiempo.

Al hacer las cosas con amor y dedicación ¡Todo es posible!

Para Lorem y Heike, mis pilares, mi luz, mis guerreras.

Para mis guardianes y protectores, que nunca olvido y siempre están con nosotros.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología y a la Beca de Estímulo Institucional de Formación de Investigadores por el apoyo económico y el seguro de salud brindado durante estos últimos cuatro años. Especialmente, agradezco al Instituto Politécnico Nacional y al Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR-IPN), por darme la oportunidad de seguir creciendo académicamente, al abrir nuevamente sus puertas y espacios para poder cumplir una de mis metas profesionales más deseadas. Es un honor y orgullo para mi haber sido parte de esta prestigiosa institución y casa de estudio. El color guinda del Politécnico Nacional, aunado con sus valores, principios e ideales, siempre seguirá en mi persona el resto de mi vida, colocando la técnica al servicio de la Patria, HUELUM!

A los profesores pertenecientes a mi comité: Dr. Francisco Javier García Rodríguez, Dr. José de La Cruz Agüero, Dr. Rodrigo Moncayo Estrada, Dr. Pablo del Monte, Dr. Sebastián Hernández y al Dr. Enrique Nava, quienes más allá de ser mis profesores, directores, mentores, consejeros y de brindarme su tiempo, todo su apoyo, confianza, conocimientos y sabiduría para formarme académicamente, también han contribuido de manera activa y significativa en mi formación como individuo y sobre todo como una persona más integra, lo cual, para mí es algo muy importante y que valoro mucho. Esta gratitud y agradecimiento es extensiva a todo el personal administrativo, académico y de mantenimiento del CICIMAR-IPN.

Mis agradecimientos se extienden fuera de los límites políticos de la República de México, llegando a personas que viven en Alemania, Bélgica, Brasil, Chile, Colombia, Costa Rica, Ecuador, Estados Unidos, Inglaterra, Perú, Venezuela. A todo el personal académico y de las colecciones y museos que amablemente a la distancia, a pesar, de los tiempos difíciles Pandemia que hemos vivido, siempre brindaron su tiempo y ayuda.

A toda nuestra familia Paceña y mexicana que de forma auténtica, sincera, respetuosa y amable nos abrieron sus brazos, casas y corazones, no solo a mi como persona, sino también, a mi núcleo familiar.

Muchas gracias a todos, de todo corazón, por ser y estar.

ÍNDICE

Contenido

Índice de Tablas.....	8
Índice de Figuras.....	10
RESUMEN:	12
ABSTRACT:	14
INTRODUCCIÓN	16
ANTECEDENTES	20
HIPÓTESIS:	30
Objetivo general.....	30
Objetivos específicos	30
MATERIALES Y MÉTODOS	31
OBTENCIÓN DE MATERIAL BIOLÓGICO	31
ANÁLISIS TAXONÓMICO	32
Obtención de datos merísticos.....	35
Obtención de datos genéticos	36
ANÁLISIS FILOGÉTICO	38
ANÁLISIS BIOGEOGRÁFICO	41
RESULTADOS	43
DISCUSIÓN	66
CONCLUSIONES	82
BIBLIOGRAFÍA	84
MANUSCRITO EHEMANN <i>ET AL.</i> ENVIADO 1.....	103
MANUSCRITO EHEMANN <i>ET AL.</i> ENVIADO 2.....	104
MANUSCRITO EHEMANN <i>ET AL.</i> ENVIADO 3. (En prensa DOI: 10.1111/jfd.13567) 105	

Índice de Tablas.

Tabla 1. Entidades nominales descritos para el género *Urotrygon*, incluyendo la autoría, año de descripción y su distribución geográfica. La autoría entre paréntesis hace referencia a cambios taxonómicos sobre el nombre original de la entidad nominal. ___ 20

Tabla 2. Principales re-arreglos taxonómicos para las especies de género *Urotrygon* del Pacífico Oriental en los últimos 120 años. Especies nominales del género *Urotrygon* y las referencias han sido colocados en orden cronológico. += considerado como sinonimia senior; () considerado como sinonimia junior (especie senior dentro del paréntesis); n/m = no mencionado; ?= dudoso. 1= Jordan y Evermann (1896); 2= Gilbert y Starks (1904); 3= Garman (1913); 4= Meek y Hildebrand (1923); 5= Beebe y Tee-Van (1941); 6= Miyake y McEachran (1986); 7= Miyake and McEachran (1988); 8= Castro-Aguirre y Espinosa Pérez (1996); 9=Chirichigno y Vélez (1998); 10= López y Bussing (1998); 11 Weigmann (2016); 12= Last et al. (2016) Especies nominales fueron actualizados de acuerdo con Fricke et al. (2020). _____ 23

Tabla 3. Número de ejemplares por entidad taxonómica nominal analizados en este estudio. Los ejemplares consultados mantienen la determinación taxonómica propia del ejemplar en la colección nacional o internacional consultada. Los ejemplares usados en los análisis morfométricos y genéticos fueron previamente reidentificados de acuerdo con nuestros criterios y claves dicotómicas. Especies cuya resolución actual es dudosa o sinónimo junior están denotados con asterisco (*). _____ 43

Tabla 4. Valores de carga (loadings) o contribución de las cinco variables morfométricas en cada componente principal generado. En negrita se resalta la variable con mayor contribución para cada CP. _____ 45

Tabla 5. Resultados pareados de la prueba no paramétrica de PERMANOVA (diagonal superior) y ANOSIM (diagonal inferior) obtenida en este estudio. En negrita aquellos valores con $P > 0.05$. Para la ETN *Urotygon caudispinosus* no fue posible realizar la prueba de ANOSIM debido al bajo número de muestras. _____ 46

Tabla 6. Variables morfométricas seleccionadas por el modelo de Análisis Discriminante forward step wise para la separación y determinación de especies del género *Urotrygon* analizadas en esta investigación. El número de las variables corresponde con los detallados en la figura 2. _____ 47

- Tabla 7.** Matriz de clasificación del Análisis Discriminante (AD) morfométrico aplicado en las entidades taxonómicas de *Urotrygon* incluidas en este estudio. Se incluye el porcentaje de acierto para cada ETN de *Urotrygon*. En negrita (diagonal) se incluyen el número de individuos correctamente asignado por el AD y los asignados *a priori*. Se incluyen el número de ejemplares (no coincidentes con la asignación *a priori*) por la matriz de clasificación AD basado en su morfometría a otras ETN. _____ 49
- Tabla 8.** Distancias cuadráticas de Mahalanobis entre las entidades taxonómicas nominales estudiadas. *U. asterias* (1), *U. aspidura* (2), *U. chilensis* (3), *U. rogersi* (4), *U. nana* (5), *U. microphthalmum* (6), *U. cimar* (7) y *U. munda* (8). _____ 50
- Tabla 9.** Datos merísticos obtenidos para las especies de *Urotrygon* Gill, 1862. MM= (Miyake and McEachran, 1986), N=Nishida (1990), MD= Montes-Domiguez, (2001), L= Last et al. (2016), S= Schultz (1944), PE=Presente estudio. H= Holotipo, S=Syntipo. ROM= Royal Ontario Museum. USNM=Museo de Historia Natural, NE=No evaluado_ 52
- Tabla 10.** Distancias genéticas netas (NADH₂ con 900 pb) entre las entidades taxonómicas nominales de *Urotrygon* analizadas en este estudio. Diagonal inferior valor promedio de las distancias y diagonal superior el error estándar. _____ 58
- Tabla 11.** Distancias genéticas netas (COI con 400 pb) entre las entidades taxonómicas nominales de *Urotrygon* analizadas en este estudio. Diagonal inferior valor promedio de las distancias y diagonal superior el error estándar. Secuencias de *U. venezuelae* obtenidas en este estudio (SWC) y las disponibles en bases de datos en línea (*). ___ 58
- Tabla 12.** Resumen de las entidades taxonómicas nominales de *Urotrygon* evaluadas con un enfoque taxonómico integrativo (+) en este estudio. La propuesta y dictamen del estatus taxonómico (i.e. senior o junior) de cada ETN está basado en estos resultados e interpretación. No Evaluado (NE). Conclusiones basado en secuencias genéticas depositadas en bases de datos en línea (*). _____ 59
- Tabla 13.** Comparación de las secuencias obtenidas en este estudio y las secuencias con un porcentaje de similitud depositadas en la base de datos en línea BOLD SYSTEM. La comparación fue realizada mediante el algoritmo BLAST (Local Alignment Search Tool). La ecorregión marina se incluye entre paréntesis cuando esta información estaba disponible: Amazonia (A), Corteziana (C), Pacífico Tropical Mexicano (MTP), Panamá Bight (PB) y Perú Central (CP). _____ 72

Índice de Figuras.

Figura 1. Áreas geográficas de captura de *Urotrygon* spp. depositados en los principales museos y colecciones ictiológicas nacionales e internacionales consultados y analizados morfométricamente en esta investigación. Brasil (BR), Chile (CL), Colombia (CO), Ecuador (EC), El Salvador (SV), Guatemala (GT), México (MX), Panamá (PA), Perú (PE) y Venezuela (VE)..... 32

Figura 2. Ubicación de las 19 medidas morfométricas y merística de espinas dorsales aplicadas en este estudio. 1= Ancho del disco (AD), 2= Longitud del disco (LD), 3= Longitud total (LT), 4= Longitud de la cola (LC), 5= Largo del lóbulo dorsal (LLD), 6= Alto del lóbulo dorsal (ALD), 7= Longitud pre orbital (LPO), 8= Distancia interorbital (DI), 9= Diámetro del ojo (DO), 10= Distancia interespiracular (Die), 11= Diámetro del espiráculo (DE), 12= Longitud preoral (LPoral), 13= Longitud internarinas externas (LIE), 14= Longitud internarinas (LI), 15= Longitud de la cortina nasal (LCN), 16= Ancho cortina nasal (ACN), 17= Longitud interbranquial par 1 (LIB1), 18= Longitud branquial 1 a 5 (LB15) y 19= Longitud interbranquial par 5 (LIB5).....34

Figura 3. Representación gráfica de la multicolinealidad pareada de las 18 variables morfométricas empleadas en este estudio. Valores de correlación de $p > 0.05$ están demarcadas con X. Las elipses indican el sentido y la intensidad del color representa la magnitud de la correlación.....44

Figura 4. Biplot de la distribución en el morfoespacio multidimensional de los ejemplares por entidad taxonómica nominal de *Urotrygon* y las cinco variables morfométricas obtenidos en los primeros dos componentes principales del espacio multidimensional del ACP.). Alto del lóbulo dorsal (6), Longitud pre orbital (7), Diámetro del ojo (9), Diámetro del espiráculo (11) y Ancho cortina nasal (16).....48

Figura 5. Representación gráfica bidimensional (raíz 1 y raíz 2) del Análisis Discriminante con forward stepwise aplicado con 16 variables morfométricas en 175 individuos de *Urotrygon* spp. con sus elipses de 95% de confianza.....50

Figura 6. Cladograma del gen mitocondrial NADH₂ (900 pb) de las entidades taxonómicas nominales del género *Urotrygon* obtenidas en este estudio. Secuencias disponibles en bases de datos en línea están resaltadas en fuente negrita junto con el código de acceso. Fuentes de cada color indican las diferentes especies consideradas

como válidas en esta investigación. Entre paréntesis se incluye la ecorregión marina (por sus siglas en inglés) de recolecta del individuo analizado: Corteziana (C), Perú Central (CP), Guayaquil (G), Transición Magdalena (MT), Pacífico Tropical Mexicano (MTP), Nicoya (N) y Caribe suroccidental (SWC).....56

Figura 7. Cladograma del gen mitocondrial COI (400 pb) de las entidades taxonómicas nominales del género *Urotrygon* obtenidas en este estudio. Secuencias disponibles en bases de datos en línea están resaltadas en fuente negrita junto con el código de acceso. Fuentes de cada color indican las diferentes especies consideradas como válidas en esta investigación. Entre paréntesis se incluye la ecorregión marina (por sus siglas en inglés) de recolecta del individuo analizado: Corteziana (C), Perú Central (CP), Guayaquil (G), Nicoya (N) y Caribe suroccidental (SWC).....57

Figura 8. Cladogramas filogenéticos del género *Urotrygon* analizadas en esta investigación. El cladograma izquierdo corresponde al árbol obtenido con IB cuyos valores de probabilidad posterior obtenido está incluido en cada nodo. El cladograma derecho corresponde a la topología y valores de bootstrap de cada nodo con ML.....62

Figura 9. Tiempo de divergencia basado en ML entre las especies de *Urotrygon* analizadas en este estudio.....63

Figura 10. Tiempo de divergencia basado en Inferencia Bayesiana entre las especies de *Urotrygon* analizadas en este estudio. Líneas azules indican tasas de mutación lentas mientras las líneas rojas indican tasas de mutación rápida.....64

Figura 11. Biogeografía del género *Urotrygon* indicando los eventos de dispersión (anillos azules), de vicarianza (anillos de color rojo) y de extinción (anillo verde) estimados con el modelo S-DIVA. En el eje de las abcisas se denota la escala temporal asociado a las eras geológicas de los últimos 110 millones de años. Los eventos del cierre del Pebas Wetland (CPW, línea punteada separada) y la formación del istmo de Panamá (FIP, línea punteada punteada) estimados hace 10 millones de años atrás son señalados. Las letras en mayúsculas corresponden a las diferentes eco-regiones marinas (sensu (Spalding *et al.*, 2007) consideradas en este estudio.....65

RESUMEN:

La variedad fenotípica, aunado a una heterogeneidad morfológica con reducidas diferencias merísticas, y la escasez de material comparativo, ha propiciado la descripción de más de una docena de entidades taxonómicas nominales (ETN) del género *Urotrygon*. Históricamente, esto ha originado cuestionamientos y discusiones acerca de la validez de muchas de estas especies. Estos debates e incongruencias taxonómicas han repercutido en la actualidad, evidenciada en la disímil riqueza considerada como válida por diversos autores. Hace más de tres décadas, se realizó la única revisión taxonómica en este grupo, basado en morfometría lineal. Pese a la valiosa información proporcionada, el desconocimiento de información de línea de base para este grupo es aún grande. La presente investigación tiene tres objetivos principales: i) realizar una revisión taxonómica integrativa (*i.e.* morfométrica, merística y genética), ii) abordar la filogenia del género y iii) proponer una hipótesis biogeográfica del género *Urotrygon* Gill, 1863. La resolución taxonómica de este estudio está basada en 19 medidas morfométricas, las cuales fueron transformadas y estandarizadas para los análisis e interpretación con Análisis de Componentes Principales (ACP), Análisis de Varianza Multivariado con Permutaciones (PERMANOVA), Análisis de Similaridad (ANOSIM) y Análisis Discriminantes (AD). La merística fue abordado a partir de imágenes de Rayos X, tomografías disponibles en línea y el descarnado de ejemplares frescos. Para los análisis moleculares, el gen mitocondrial Nicotinamida Adenina dinucleótido (NADH₂) fue empleado como marcador molecular taxonómico principal y el Citocromo Oxidasa 1 (COI) como complementario. Secuencias genéticas de un mismo ejemplar por especie fueron amplificadas (NADH₂, COI y el gen nuclear RAG-1) y empleados para los análisis filogenéticos. La filogenia del grupo fue abordada por medio del enfoque de Máxima Verosimilitud (ML) e Inferencia Bayesiana (IB). Simultáneamente, fue posible ultra-parametrizar los árboles filogenéticos obtenidos, datando las divergencias evolutivas del género. Finalmente, la biogeografía histórica (*i.e.* los procesos de vicarianza, de dispersión y extinción) fue abordada haciendo uso del árbol filogenético Bayesiano con una matriz binaria de las eco-regiones marinas. Un total de 205 ejemplares catalogados en museos nacionales e internacionales pertenecientes a 11 ETN fueron analizados, los cuales provienen de diversas eco-regiones marinas del continente americano. Los

análisis taxonómicos integrativos fueron congruentes para soportar la validez taxonómica de nueve especies, incluyendo la resurrección taxonómica de *Urotrygon asterias* (Jordan & Gilbert, 1883). La información morfológica y merística fue congruente con estudios previos, donde caracteres asociados a la aleta caudal, tamaño de los ojos, y número de espinas en la línea dorsal permitieron discernir entre especies de *Urotrygon*. Sin embargo, la efectividad para separar especies disminuye entre especies cuando su divergencia ha sido reciente, resultando en caracteres e información sobrepuestas. Aunado a lo anterior, procesos micro evolutivos fueron observados a nivel intraespecífico, detectando clados poblacionales geográficamente bien definidos. La filogenia confirma a este género como un grupo monofilético. Los procesos biogeográficos y geo-históricos ocurridos en este continente en los últimos 20 millones de años, contribuyeron a la radiación evolutiva de *Urotrygon*, por medio de procesos de dispersión, vicarianza y extinción. Las radiaciones evolutivas relativamente recientes (<10 millones de año) de este grupo de peces, endémico de las costas del continente americano, explicarían la similitud fenotípica entre las especies, particularmente, las que comparten un ancestro derivado reciente en común. Las eco-regiones de Chiapas-Nicaragua y Nicoya son las áreas hipotetizadas como la fuente de origen y dispersión del género *Urotrygon*, donde los cambios geológicos físicos y ambientales (corrientes y calentamientos globales) durante el Plioceno, aceleraron los procesos de especiación y radiación a la distribución actualmente conocida para este género. En esta investigación la distribución geográfica actual de las especies de *Urotrygon* es redefinida y actualizada.

Palabras claves: ADN, América, batoideos, Chondrichthyes, evolución, morfometría.

ABSTRACT:

The phenotypic variety, together with a morphological heterogeneity with slight meristic differences, and the austerity of comparative material, has allowed the description of more than a dozen nominal taxonomic entities (NTEs) of the genus *Urotrygon*. Historically, this has led to questions and discussions about the validity of many of these species. These debates and inconsistencies have impacted today, evidenced in the richness considered valid for the *Urotrygon* genus by various authors. More than three decades ago, the only taxonomic revision in this group was performed, based on linear morphometry. Despite the valuable information provided, the ignorance of baseline information for this group is still great, being reviewed by various authors and researchers from this continent. This research has three main objectives: i) to carry out an integrative taxonomic review (morphometric, meristic and genetic), ii) to address the phylogeny and iii) to propose hypotheses of the biogeography of the genus *Urotrygon* Gill, 1863. The taxonomic resolution of this study It was based on 19 morphometric measurements, which were transformed and standardized for analysis and interpretation with Principal Component Analysis (PCA), PERMANOVA, ANOSIM, Discriminant Analysis (AD) with forward step wise and Mahalanobis distances. The meristics was approached from X-ray images, tomographies available online and fleshy fresh specimens. The mitochondrial gene Nicotinamide Adenine dinucleotide (NADH₂) was used as the main taxonomic molecular marker and Cytochrome Oxidase 1 (COI) as a complementary one. For phylogenetic analysis, genetic sequences of the same specimen per species were amplified (NADH₂, COI, and the RAG-1 nuclear gene). The phylogeny of the group was approached by means of the maximum likelihood (ML) and Bayesian inference (IB) approach. Simultaneously, it was possible to ultra-parameterize the phylogenetic trees obtained, dating the evolutionary divergences of the genus. Finally, the biogeography and the processes of vicariance, dispersal and extinction were approached making use of the Bayesian phylogenetic tree with a binary matrix of the marine eco-regions. A total of 205 specimens cataloged in national and international museums belonging to 11 NTEs were analyzed, coming from various marine ecoregions of the American continent. On average two out of 10 specimens consulted were misidentified. The integrative taxonomic analyzes were consistent in supporting the taxonomic validity of nine species, including

the taxonomic resurrection of *Urotrygon asterias*. Given the pandemic conditions, it was not possible to include data for two endemic species from Panama. The morphological and meristic information was congruent with previous studies, where characters associated with the tail fin, eye size, and number of spines on the dorsal line allow us to discern between *Urotrygon* species. However, the effectiveness of separating species decreases between species whose divergence has been recent, resulting in overlapping characters and information. In addition to the above, microevolutionary processes were observed at the intraspecific level, detecting geographically well-defined population clades. The phylogeny generated with the information included in this research, confirms this genus as a monophyletic group, whose biogeographic and tectonic processes that occurred on this continent in the last 20 million years, contributed to the processes of dispersion, vicariousness and extinction of radiation evolutionary of the genus *Urotrygon*. The relatively young evolutionary radiation (<10 millions of years ago) within this group of fish, endemic to the coasts of the American continent, would explain the phenotypic similarity between these species, particularly those that share a recent common ancestor. The eco-regions of Chiapas-Nicaragua and Nicoya are hypothesized as the source of origin and dispersal of the genus *Urotrygon* in the American continent, where physical and environmental geological changes (currents and global warming) during the Pliocene accelerated the speciation processes and radiation to the currently known distribution for this genus. In this investigation the geographic distribution of *Urotrygon* species is redefined and updated according to the results of this investigation.

Keywords: DNA, America, batoids, Chondrichthyes, evolution, morphometry.

INTRODUCCIÓN

La división Batomorphi (*sensu* Nelson *et al.*, 2016) pertenece a la Infraclasse Elasmobranchii y está integrada por cuatro órdenes, 17 familias, 83 géneros y más de 660 especies reconocidas como válidas (Nelson *et al.*, 2016; Pollerspöck y Straube, 2021). Las características principales de esta división son presentar un cuerpo deprimido (*i.e.* aplanados dorso-ventralmente), aberturas branquiales en posición ventral, aletas pectorales unidas a su parte anterior de la cabeza, ausencia de aleta anal, ojos y espiráculos en posición dorsal y la ausencia de membrana nictitante (Nelson *et al.*, 2016). Según la literatura taxonómica de este grupo de peces, han sido mencionados también como Batoidoidimorpha, Hypotremata, Rajimorphi y Batoidea (Jardas, 1984; Cervigón, 1991; Castro-Aguirre y Espinoza-Pérez, 1996; Braccini y Chiaramonte, 2002; Last *et al.*, 2016; Nelson *et al.*, 2016a; Weigmann, 2016). Particularmente, este último taxon perteneció a la categoría de superfamilia (*i.e.*, Batoidea), y ha sido la denominación más frecuente que se ha perpetuado hasta nuestros días (*e.g.* Last *et al.*, 2016, Weigmann, 2016). Sin embargo, Nelson *et al.* (2016) reseña que la palabra batoideo es una manera equivocada y errada de referirse a este grupo de peces. La forma gramatical y taxonómicamente acertada según estos autores es batomorfos o *batomorph* (inglés) (Nelson *et al.*, 2016) y recientemente adoptada por Ehemann *et al.* (2018; 2021, Ehemann *et al.* enviado, 1, 2 y 3); la cual, se sigue en la presente investigación.

El origen de la forma corporal (*i.e.* deprimida) de los batomorfos ha sido tema de discusión. McEachran y Aschliman (2004) reseñaron que las formas actuales pudieron derivar a partir de dos linajes ancestrales independientes. Estos autores proponen que la forma del orden Rajiformes se originó probablemente de un ancestro común con los Rhinobatiformes, mientras que la forma corporal del orden Myliobatiformes probablemente derivó de un ancestro más relacionado con los Platyrrhinidos. La filogenia general de taxa superiores (de orden para arriba) ha sido bien documentada y soportada con enfoques e hipótesis morfométricos y moleculares (Aschlimann *et al.* 2012, Naylor *et al.*, 2012; Nelson *et al.*, 2016; Last *et al.*, 2016a). Sin embargo, la ubicación taxonómica en casos particulares como el grupo de los Platyrrhinidos (Platyrrhinidae) y Zanobatidos (Zanobatidae), es aún controversial, siendo incluidos tanto dentro del orden Torpediniformes, Myliobatiformes o como grupo cercano a éstos (Aschlimann *et al.*,

2012, Naylor *et al.*, 2012; Nelson *et al.*, 2016; Last *et al.*, 2016a). Por ende, la filogenia de las especies de batomorfos a niveles de taxa inferiores es un tópico poco explorado.

La división Batomorphi presenta una riqueza superior (por más de 100 especies) a la actualmente reportada para la división Selachii, es decir, los tiburones (Nelson *et al.*, 2016). Los estudios e información generada a partir de especies de batomorfos, es relativamente reciente, respecto a los publicado de los tiburones. Para ejemplificar este punto, estudios, atlas, libros e información de sistemática, taxonomía y distribución en tiburones a nivel mundial son realizados de forma periódica desde la década de los 80 (e.g. Compagno, 1984; 2001; Ebert y Fowler, 2013; Ebert *et al.* 2021). Por otro lado, el primer compendio de especies de batomorfos a nivel mundial se publicó hasta 2016 (Last *et al.*, 2016a), obra que ha fungido como un parteaguas reciente, incrementando los estudios en batomorfos. Como una medida indirecta de estimar estos avances realizados en la división Batomorphi, se puede considerar la detección de una mayor riqueza, que incluye el reporte de especies consideradas aceptadas o válidas para el 2016 entre 630 y 636 especies (Nelson *et al.*, 2016, Last *et al.*, 2016a; Weigmann, 2016). En el 2017 esta riqueza se incrementó a 646 especies (Weigmann, 2017). Finalmente, en la última actualización publicada por Pollerspöck y Straube (2021), la riqueza de este grupo alcanzó las 668 especies, la cual representa el 52.7% del total de 1,268 condricios reconocidos a nivel mundial.

Diversas regiones marinas del continente americano son consideradas como sitios megadiversos en condricios a nivel mundial, debido a la alta diversidad genética entre especies cercanas (Naylor *et al.*, 2012; Acero *et al.*, 2016; Fields *et al.*, 2016; Hinojosa-Álvarez *et al.*, 2016). Consecuentemente, la riqueza de la condriciofauna reportada en diferentes países latinoamericanos (Del Moral-Flores *et al.*, 2015a; Weigmann, 2016; Ehemann *et al.*, 2018, 2019; Mejía-Falla y Navia, 2019), a la presencia de taxa endémicas para el continente (e.g. Miyake y McEachran, 1986, 1988; McEachran, 1995; McEachran y Carvalho, 2002; Lasso *et al.*, 2013; Carvalho *et al.*, 2016; Weigmann, 2016; Ehemann *et al.*, 2017, 2018, 2019) y a la continua descripción de nuevas especies de condricios a partir de ejemplares capturados en zonas del continente americano, se ha incrementado recientemente (Castro-Aguirre *et al.*, 2005;

Smith *et al.*, 2009; Del Moral-Flores *et al.*, 2015a,b; Acero *et al.*, 2016; Hinojosa-Alvarez *et al.*, 2016; Viana *et al.*, 2016; Yokota y de Carvalho, 2017; Pflieger *et al.*, 2018; Vaz y de Carvalho, 2018; Rutledge, 2019; Petean *et al.*, 2020; Loboda *et al.*, 2021).

En la actualidad, dos familias de batomorfos (Potamotrygonidae y Urotrygonidae), son reconocidos como taxa válidos, incluyendo al menos siete géneros con 58 especies, cuya distribución geográfica está restringida a aguas continentales y marinas del continente americano (McEachran y Carvalho, 2002; Lasso *et al.*, 2016; Last *et al.*, 2016a; Weigmann, 2016; Fontanelle *et al.*, 2021; Loboda *et al.* 2021). Sin embargo, todas las especies que actualmente están clasificadas dentro de Urotrygonidae (comúnmente llamadas “rayas redondas”), inicialmente se encontraban dentro de la familia Urolophidae, está última actualmente es reconocida y restringida para Oceanía (Compagno 1973; 1977; McEachran, 1995; Castro-Aguirre y Espinosa Pérez, 1996; Cervigón y Alcalá, 1999). La propuesta de separar en taxa diferentes las especies de rayas redondas que presentan una distribución anfi-americana de las que presentan una distribución en Oceanía, fue inicialmente mencionada por Garman (1913). Sin embargo, fue hasta finales de la década de los ochenta y los noventa del siglo XIX, debido a los resultados obtenidos en diversos estudios (morfológicos y taxonómicos), que en concordancia con Garman (1913), se reconoció la necesidad de validar a la familia Urotrygonidae, la cual incluye a todas las especies de rayas redondas (pertenecientes a los géneros *Urotrygon* y *Urobotis*). La distribución geográfica de esta familia está restringida a la zona costera tropical y subtropical de ambas costas del continente americano (Miyake y McEachran, 1988; McEachran, 1995; McEachran y De Carvalho, 2002; Lovejoy, 1996). En la actualidad, la familia Urolophidae y el género *Urolophus* presenta una distribución exclusiva para las rayas redondas en Oceanía (McEachran y Carvalho, 2002; Naylor *et al.*, 2012; Last *et al.*, 2016a; Nelson *et al.*, 2016; Weigmann, 2016).

La integridad de la familia Urotrygonidae como un taxa independiente de la familia Urolophidae, ha sido soportada a partir de las inferencias filogenéticas fundamentadas en técnicas morfológicas y genéticas (McEachran *et al.* 1996; McEachran y Aschliman 2004; Aschliman 2011; Naylor *et al.*, 2012; Last *et al.* 2016a).

Los resultados obtenidos de manera independiente mediante estos enfoques son, en general, congruentes al recuperar un nodo robusto y estadísticamente soportado entre Urotrygonidae y Potamotrygonidae (McEachran *et al.*, 1996, Dunn *et al.*, 2003; Aschliman, 2011; Naylor *et al.*, 2012; Franklin *et al.*, 2014; Last *et al.*, 2016b, c). Por otro lado, los árboles filogenéticos basadas en información morfológica, han ubicado a Urotrygonidae como un grupo hermano de la familia Gymnuridae y Dasyatidae (McEachran y Aschliman 2004), debido (probablemente) a la ausencia de Potamotrygonidae en dichos análisis. Es importante resaltar, que en todas estas propuestas filogenéticas la representación de la familia Urotrygonidae fue muy pobre, limitándose frecuentemente a una sola especie (*Urobatis halleri* o *Urobatis jamaicensis*) a máximo tres (las dos anteriores más *Urotrygon munda* o *Urotrygon rogersi*). Por ende, la filogenia y estudios que comprueben la monofilia a nivel taxonómicos de Familia dentro de Urotrygonidae es inédita.

Estudios filogenéticos a nivel de familia (o inferiores) han sido recientemente realizados, empleando técnica moleculares; sin embargo, han sido restringidos a grupos taxonómicos complejos con interés comercial cuya monofilia ha sido puesta en duda (e.g., Dasyatidae y Aetobatidae) o a entidades que agrupan especies carismáticas, de valor significativo para actividades de ecoturismo y con los estados de conservación nacional e internacional más altos (*i.e.*, Mobulidae) (Lim *et al.*, 2015; Poortvliet *et al.*, 2015; Last *et al.*, 2016b; White and Naylor, 2016; White *et al.*, 2017). Además del conocimiento filogenético limitado para el género *Urotrygon*, el panorama referente a su riqueza específica no es del todo claro.

En el presente estudio se llevó a cabo la revisión taxonómica, filogenética y biogeográfica del género *Urotrygon*, endémico del continente de América. Tiene como soporte un análisis taxonomico integrativo, basado en técnicas de morfometría, merística y moleculares genéticas. La propuesta filogenética del grupo de estudio, fue fundamentada por los resultados soportados a partir de los algoritmos de Maxima Verosimilitud e Inferencia Bayesiana. La datación de las divergencias de las especies de *Urotrygon*, así como, los procesos de especiación y origen de dispersión fueron hipotetizados y analizados, considerando la información genética de tres genes y los

procesos geológicos ocurridos en el continente en los últimos 30 millones de años.

ANTECEDENTES

Históricamente, se han descrito 16 entidades nominales para el género *Urotrygon* (Tabla 1), dos de éstas restringidas a las costas del Atlántico occidental y el resto a las costas del Pacífico oriental. La taxonomía del género *Urotrygon*, ha sido compleja, con diversas modificaciones y clasificaciones, que incluyen múltiples sinonimias. De este modo en la actualidad aún persiste la discrepancia en cuanto al número de especies reconocidas como válidas para este género, encontrando autores como White y Sommerville (2010) que reconocen nueve especies, Last *et al.* (2016a) y Weigmann (2016) que consideran diez, Fricke *et al.*, (2021) que aceptan 11 y Nelson *et al.* (2016), y Froese y Pauly (2019) que reconocen 13. La Tabla 2 muestra las principales clasificaciones taxonómicas históricas y recientes por especie. Esta incertidumbre y debate referente a la riqueza, ha sido uno de los principales motivos por los cuales diferentes autores han sugerido una nueva revisión taxonómica de este género (Castro-Aguirre y Espinosa Pérez, 1996; Del Moral-Flores *et al.*, 2015a; Del Moral-Flores *et al.*, 2016; Ehemann *et al.*, 2018).

Tabla 1. Entidades nominales descritos para el género *Urotrygon*, incluyendo la autoría, año de descripción y su distribución geográfica. La autoría entre paréntesis hace referencia a cambios taxonómicos sobre el nombre original de la entidad nominal.

Entidad nominal	Autoría	Año	Distribución.
<i>Urotrygon munda</i>	Gill	1863	Pacífico.
<i>Urotrygon chilensis</i>	(Günther)	1872	Pacífico.
<i>Urotrygon aspidura</i>	(Jordan & Gilbert)	1881	Pacífico.
<i>Urotrygon asterias</i>	(Jordan & Gilbert)	1882	Pacífico.
<i>Urotrygon goodei</i>	(Jordan & Bollman)	1890	Pacífico.
<i>Urotrygon rogersi</i>	(Jordan)	1895	Pacífico.
<i>Urotrygon binghami</i>	(Breder)	1926	Pacífico.
<i>Urotrygon microphthalmum</i>	Delsman	1941	Atlántico.
<i>Urotrygon venezuelae</i>	Schultz	1944	Atlántico.
<i>Urotrygon caudispinosus</i>	Hildebrand	1946	Pacífico.
<i>Urotrygon peruanus</i>	Hildebrand	1946	Pacífico.
<i>Urotrygon serrula</i>	Hildebrand	1946	Pacífico.
<i>Urotrygon nana</i>	Miyake & McEacharan	1988	Pacífico.
<i>Urotrygon reticulata</i>	Miyake & McEacharan	1988	Pacífico.
<i>Urotrygon simulatrix</i>	Miyake & McEacharan	1988	Pacífico.
<i>Urotrygon cimar</i>	López & Bussing	1998	Pacífico.

Mucha de la confusión hasta esta fecha, puede ser explicada por diversas razones. Sin duda, una de las causas más importantes es el escaso número de ejemplares empleados para describir las entidades nominales, aunado, -en muchos casos- a una descripción breve, resumida, general e inconsistente (e.g., Meek y Hildebrand 1923; Miyake y McEachran, 1986, 1988). La pérdida o el extravió de algunos holotipos y la falta de material comparativo de otras especies de *Urotrygon*, tampoco ha ayudado a resolver este debate (Jordan y Gilbert 1882; Hildebrand 1946; Miyake and McEachran, 1988). Las variaciones fenotípicas (morfotipos), que presentan estas entidades nominales a lo largo de la distribución mencionada para cada una; aunado al dimorfismo entre estadios de madurez sexual (Breder 1926; Hildebrand 1946; Miyake y McEachran 1988); constituyen aspectos relevantes e importantes que han contribuido significativamente a la problemática taxonómica del género.

Urotrygon munda (originalmente *Urotrygon mundus*), la raya áspera, descrita por Gill (1863), fue la primera especie reconocida para este género, a partir de dos ejemplares (uno de cada sexo) donados al Smithsonian Institution y recolectados en centroamérica por el capitán John M. Dow. La descripción estuvo basada en la forma de los márgenes del cuerpo (redondeado), la longitud de la cola y la dentición aguda que la distinguían del género *Urolophus* Müller & Henle, 1837 (ver Gill, 1863). Los holotipos fueron mencionados por Jordan y Gilbert (1882) como “aparentemente extraviados” sin proporcionar el número de catálogo. Recientemente, Smith (2018) en una revisión de los peces recolectados en la costa del Pacífico de Centro América por el capitán J.M. Dow, arriba mencionado reseña que el material USNM 7297 (hembra de 195 mm de longitud total) fue reportado como *Urotrygon munda*, aunque no es seguro si el registro se realizó antes o después del estudio de Jordan y Gilbert en 1882. En la actualidad, este individuo (USNM 7297) capturado en aguas de Panamá, es el sintipo de esta especie (Smith, 2018), cuya propuesta es seguida en esta investigación.

Urotrygon chilensis (originalmente *Urolophus chilensis*) fue la segunda especie descrita. Su determinación se basó a partir de un solo ejemplar (262 mm LT) en 1872 por el Dr. Albert Günther del Museo Británico; caracterizada por presentar en la zona dorsal tres espinas fuertes, ubicadas particularmente en la región nugal y dos en la cola (*secundum* Günther, 1872). El holotipo se encuentra depositado en el Museo Británico

de Historia Natural (BMNH) bajo el código BMNH 1871.9.13.119, cuya información de localidad de captura se restringe a la palabra “Chile” (Ehemann *et al.* 2021). En vista de la ausencia de esta información, recientemente se publicó la propuesta de que la Taltal, Chile se designará como la localidad tipo (Ehemann *et al.* 2021). Esta entidad nominal ha permanecido como sinonimia senior a lo largo de su historia. Sin embargo, en una ocasión fue incorrecta e indebidamente sinonimizada con *Urotrygon asterias* por Miyake y McEachran (1986). Posteriormente, estos mismos autores Miyake y McEachran (1988) la restituyeron como sinonimia senior (Tabla 2). *Urotrygon chilensis* actualmente presenta la distribución geográfica más amplia (>7000 Km) de toda la familia Urotrygonidae (Ehemann *et al.* 2021). Sin embargo, recientemente, esta amplia distribución de *U. chilensis* con dos morfotipos diferentes (uno sureño y otro norteño), ha sido puesta en duda estableciéndose la posibilidad de que en realidad sean dos entidades taxonómicas distintas pero muy similares morfológicamente (Last *et al.*, 2016c; Ehemann *et al.*, 2021).

En la década de 1880, dos especies más de *Urotrygon* fueron formalmente descritas: *U. aspidura* (originalmente *Urolophus aspidurus*) en 1882 por D.S. Jordan y C.H. Gilbert, a partir de tres ejemplares (USNM 29410, 29307, 29454) con talla máxima de 450 mm LT (Jordan y Gilbert, 1882). Estos ejemplares caracterizados por tener un dorso liso (sin dentículos dérmicos) y la presencia de unas espinas fuertes en la línea media dorsal de la cola (ver Jordan y Gilbert, 1882) fueron capturados en la costa del Pacífico de Panamá. Actualmente, el código USNM 29307 corresponde a un Labridae, dejando la interrogante si este ejemplar de *U. aspidura* mencionado por los autores originales se encuentra extraviado o fue mal rotulado. Esta especie históricamente ha carecido de sinonimizaciones taxonómicas por todos los autores consultados (Tabla 2).

Un año más tarde, Jordan y Gilbert, describieron también a *U. asterias* (originalmente *Urolophus asterias*), a partir de cuatro ejemplares con tallas entre los 304 mm a 406 mm de LT recolectados en Mazatlán, México (USNM 28204, 29524, 29524, 29580) aunado a un ejemplar inmaduro de Panamá (USNM 29318) (Jordan y Gilbert, 1883). Es importante mencionar que este último ejemplar no fue encontrado durante el inventario realizado por la USNM en 1980.

Tabla 2. Principales clasificaciones taxonómicas para las especies de género *Urotrygon* del Pacífico Oriental en los últimos 120 años. Especies nominales del género *Urotrygon* y las referencias han sido colocados en orden cronológico. += considerado como sinonimia senior; considerado como sinonimia junior (especie senior dentro de su respectivo recuadro); n/m = no mencionado; ?= dudoso. 1= Jordan y Evermann (1896); 2= Gilbert y Starks (1904); 3= Garman (1913); 4= Meek y Hildebrand (1923); 5= Beebe y Tee-Van (1941); 6= Miyake y McEachran (1986); 7= Miyake and McEachran (1988); 8= Castro-Aguirre y Espinosa Pérez (1996); 9=Chirichigno y Vélez (1998); 10= López y Bussing (1998); 11 Weigmann (2016); 12= Last *et al.* (2016). Especies nominales actualizadas de acuerdo con Fricke *et al.* (2020).

Especie/Referencia	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<i>U. munda</i> (1863)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>U. chilensis</i> (1872)	n/m	n/m	+	n/m	+	<i>U. asterias</i>	+	+	+	+	+	+
<i>U. aspidura</i> (1882)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>U. asterias</i> (1883)	+	<i>U. munda</i>	<i>U. munda</i>	+	+	+	?	<i>U. munda</i>	+	n/m	<i>U. munda</i>	n/m
<i>U. goodei</i> (1890)	+	+	+	+	+	<i>U. asterias</i>	n/m	<i>U. chilensis</i>	+	n/m	<i>U. chilensis</i> <i>U. asterias</i>	n/m
<i>U. rogersi</i> (1895)		+	<i>U. munda</i>	n/m	<i>U. munda</i>	+	+	+	n/m	+	+	+
<i>U. binghami</i> (1928)					+	<i>U. rogersi</i>	n/m	<i>U. rogersi</i>	n/m	n/m	<i>U. rogersi</i>	n/m
<i>U. caudispinosus</i> (1946)						<i>U. asterias</i>	n/m	n/m	+	n/m	<i>U. asterias</i>	n/m
<i>U. peruanus</i> (1946)						<i>U. asterias</i>	n/m	n/m	+	n/m	<i>U. asterias</i>	n/m
<i>U. serrula</i> (1946)						<i>U. asterias</i>	n/m	n/m	+	n/m	<i>U. asterias</i>	n/m
<i>U. nana</i> (1988)							+	+	n/m	+	+	+
<i>U. reticulata</i> (1988)							+	n/m	n/m	n/m	+	+
<i>U. simulatrix</i> (1988)							+	n/m	n/m	n/m	+	+
<i>U. cimar</i> (1998)										+	+	+

El carácter diagnóstico de *U. asterias* es la presencia de un dorso cubierto de pequeños denticulos dérmicos con una base en forma de estrella y con una serie de espinas fuertes a lo largo de la línea media dorsal del cuerpo (desde la zona nugal hasta la cola). Adicionalmente, en su obra estos autores proponen la primera clave dicotómica para identificar las especies (en aquel entonces de *Urolophus*) presentes en las costas del Pacífico Tropical Americano (ver Jordan y Gilbert, 1883). Particularmente esta especie es una de las que más sinonimizaciones históricas dentro del género ha presentado (Tabla 2). Actualmente, *U. asterias* es considerada por algunos autores como sinónimo de *U. munda* (Castro-Aguirre y Espinoza-Pérez, 1996; Del Moral-Flores *et al.*, 2016; Weigmann, 2016). Particularmente, en la última sinonimización de esta *U. asterias* realizada en 1996 por Castro-Aguirre y Espinoza-Pérez (Tabla 2), carece de detalles, argumentos y fundamentos taxonómicos; resultando en una propuesta cuya decisión y ejecución pareciera ser dudosa o arbitraria.

En 1890, *Urotrygon goodei* (originalmente *Urolophus goodei*) fue descrita a partir de una hembra inmadura (177 mm LT, USNM 41150) y un macho (150 mm LT) capturados durante la expedición del buque “Albatross” en aguas del Pacífico Colombiano (Jordan y Bollman, 1890). Sin embargo, la localidad de captura de estos ejemplares ha sido atribuida a las costas de Panamá (Miyake y McEachran, 1986), lo cual, es congruente con la información georeferenciada (cerca de la isla del Rey, Panamá) registrada junto al ejemplar USNM 41150. Esta especie se caracteriza por la presencia de una a dos espinas fuertes en la línea media del cuerpo, con la zona pre-orbital, la cual puede ser lisa o “rugosa” al tacto (*i.e.*, denticulos dérmicos pequeños) (Jordan y Bollman, 1890). Esta entidad nominal fue considerada como válida por casi un siglo, hasta que Miyake y McEachran (1986) la sinonimizaron con *U. asterias*. Posteriormente, esta especie fue (y sigue siendo) considerada como un sinónimo de *U. chilensis* (ver Castro-Aguirre y Espinoza-Pérez, 1996 y Tabla 2).

En 1895, la raya redonda de Roger, *Urotrygon rogersi* (originalmente *Urolophus rogersi*) fue descrita por D.S. Jordan y E.C. Starks, a partir de tres ejemplares (el más grande midió 457 mm LT) recolectados en Astilleros de Mazatlán, México (Jordan y Starks, 1895). El ejemplar holotipo fue preservado en la California Academy of Sciences (CAS) bajo el código de CAS-SU 1700 (Jordan y Starks, 1895). Aunque, este código fue

un error de impresión, siendo el número correcto del holotipo de esta especie el CAS-SU 11700 (Frieke *et al.*, 2021). Esta especie se caracteriza por ser más ancha que larga (similar a *U. aspidura*), con espinas fuertes a lo largo de la línea media del dorso (menor cantidad en comparación con *Urotrygon asterias*). Presenta pequeños denticulos dérmicos concentrados en la zona visceral y en los márgenes distales de las aletas pectorales, dejando áreas lisas sobre la zona branquial y en la zona media de las aletas pectorales. Garman (1913) sinonimizó a esta especie con *U. munda* cuya propuesta fue adoptada por Beebe y Tee-Van (1941). *Urotrygon rogersi* perduró como sinonimia junior hasta 1986 cuando Miyake y McEachran la restituyeron como una especie válida, lo cual se sigue aceptando (Tabla 2).

Durante el siglo pasado, un total de diez especies de *Urotrygon* fueron formalmente descritas. Breder (1928), describió a *Urotrygon binghami* a partir de un ejemplar (190 mm LT) capturado en la zona del alto Golfo de California y depositado en la Colección ictiológica de Yale con el código 1019 (Breder, 1928). Esta especie se caracteriza por presentar un disco más ancho que largo y sin espinas fuertes presentes en la línea media dorsal, aunque “eventualmente estas espinas podrían estar presentes en ejemplares de mayor talla” (Breder, 1928). Esta especie actualmente es considerada como sinónimo de *U. rogersi* (ver Miyake y McEachran, 1986).

En 1941, *Urotrygon microphthalmum* Delsman, 1941, fue descrita como la primera especie de *Urotrygon* para el Atlántico occidental. Su descripción fue basada en dos ejemplares (uno de 220 y otro de 128 mm LT), recolectados en la desembocadura del río Amazonas (Brasil) que fueron donados y resguardados en el Museo de Historia Natural de Bélgica (Delsman, 1941). *Urotrygon microphthalmum* se caracteriza por presentar un cuerpo liso y ojos pequeños (Delsman, 1941). Ocho años más tarde fue descrita *Urotrygon venezuelae* Schultz, 1949, la segunda y última especie reconocida para el Atlántico, con una distribución restringida al suroeste del mar Caribe. Una hembra de 255 mm LT (USNM 121966) capturada en Punto Macolla, Golfo de Venezuela (Lago de Maracaibo, Venezuela), fue utilizada para describir a esta nueva especie (Schultz, 1949). El autor la refiere como muy similar a *U. asterias* por la presencia de una serie de espinas en la línea media del cuerpo (Schultz, 1949). En la actualidad, ambas especies de *Urotrygon* del Atlántico han sido consideradas como válidas desde su descripción

original (Tabla 2).

Hildebrand (1946) realizó la descripción de tres especies de “rayas redondas” (*Urotrygon caudispinosus*, *Urotrygon peruanus* y *Urotrygon serrula*), con materiales recolectados en las costas de Perú (Hildebrand, 1946). La primera especie fue descrita a partir de una hembra de 188 mm LT (USNM 127790), caracterizada por presentar una espina en la cola. La descripción de la segunda especie se basó en la presencia de un cuerpo más ancho, un rostrum “rugoso” al tacto (dentículos dérmicos), una cola más corta y una aleta caudal menos puntiaguda que *U. chilensis*, pero más deprimida y puntiaguda que las demás especies presentes en el Pacífico Oriental (*i.e.*, *U. mundus*, *U. asterias*, *U. goodei* y *U. aspidurus*) (Hildebrand, 1946). Esta entidad nominal fue descrita a partir de un ejemplar macho de 276 mm LT (USNM 127793) capturado en Bahía de Paita, Perú (Hildebrand, 1946). La tercera especie (*U. serrula*) fue descrita a partir de un ejemplar único, un macho juvenil (187 mm LT) capturado en Bahía de Lobos de Tierra, Perú (USNM 127795). Su diagnóstico se basó en la presencia de una aleta caudal redondeada, dorso del cuerpo liso (sin espinas ni dentículos dérmicos), cola sin espínulas laterales y dientes sin cuspides (ver Hildebrand, 1946). Actualmente, estas tres especies de S.F. Hildebrand, no son consideradas como válidas, de hecho, fueron sinonimizadas con *U. asterias* por Miyake y McEachran (1986) y Mould (1997). Sin embargo, debido a la invalidez actual de *U. asterias*, éstas fueron sinonimizadas con *U. munda* (Castro-Aguirre y Espinoza-Pérez, 1996; Weigmann, 2016); aunque, para algunos investigadores, particularmente peruanos (*e.g.* Chirichigno y Vélez, 1998; Chirichigno y Cornejo, 2001), siguen considerándose como válidas estas tres especies de Hildebrand, o algunas de ellas.

Cuarenta años después del trabajo publicado por Hildebrand (1946); Miyake y McEachran (1986) realizaron la primera revisión taxonómica del género *Urotrygon*, soportada por datos de distancias lineales y Análisis de Componentes Principales (ACP). Esta investigación brindó un gran aporte para la taxonomía de este género, el cual, sigue teniendo vigencia en la actualidad. De forma resumida las principales contribuciones de la investigación de Miyake y McEachran (1986) son: i) la existencia de tres grupos fenéticos conformados por un total de diez especies, ii) la separación de *U. asterias* de *U. mundus* y *U. rogersi*, iii) la falta de soporte para discriminar a las especies *U. serrula*,

U. peruanus, *U. caudispinosus*, *U. goodei* y *U. chilensis* como entidades válidas; sugiriéndose su sinonimización con *U. asterias*; iv) el reconocimiento de *U. rogersi* como especie válida (“senior synonym”); colocando a *U. binghami* como una sinonimia (“junior synonym”) de *U. rogersi*; v) y la propuesta de la existencia de tres nuevas especies, las cuales fueron mas tarde formalmente descritas como *Urotrygon nana* Miyake y McEachran (1988), *Urotrygon reticulata* Miyake y McEachran (1988) y *Urotrygon simulatrix* Miyake y McEachran (1988).

El ejemplar holotipo de *U. nana*, corresponde a un macho de 148 mm LT, recolectado por N.R. Wood en diciembre de 1954 en las costas de Chiapas, México (Miyake y McEachran, 1988). Este ejemplar se encuentra depositado en el *Field Museum of Natural History*, Chicago (FMNH) bajo la referencia FMNH 97107. Paratipos y otros materiales de esta especie se encuentran en otras colecciones de Estados Unidos de Norteamérica (Miyake y McEachran, 1988). Según estos autores, individuos de *U. nana* fueron recolectados y fotografiados en diversas investigaciones previas, sin embargo, fueron identificados comúnmente como *U. binghami* o *U. nebolusus* por Castro-Aguirre (1965) en lugar de *Urolophus nebulosus* (actualmente sinonimia de *Urobatis halleri*) (Miyake y McEachran, 1988). Además, esta especie es considerada como sinonimia senior (Tabla 2). *Urotrygon nana* tiene una distribución geográfica desde Nayarit, México, hasta Costa Rica. Esta especie es fácilmente reconocida por presentar ojos pequeños, por además ser una raya de talla reducida o “enana” (LT máxima 210 mm), con dentículos dérmicos pequeños en el dorso del disco y sin agrandamientos en la línea media dorsal (Miyake y McEachran, 1988).

Urotrygon reticulata fue descrita a partir de tres ejemplares capturados en la Bahía Santelmo, Golfo de Panamá, el 8 de junio de 1967 (Miyake y McEachran, 1988). El holotipo (hembra 241 mm LT), y los paratipos (dos machos 87 y 188 mm LT) se encuentran depositados en la USNM bajo el código 222644 y 285184 respectivamente (Miyake y McEachran, 1988). Este último ejemplar tiene una nota de la USNM que indica que fue eliminado. Es importante resaltar que el número de ejemplares conocidos para esta especie es limitado. En el USNM existen tres entradas asociadas a *U. reticulata* correspondientes a la serie tipo y un ejemplar más (USNM 321478). Esta entidad taxonómica se distingue de las demás por presentar una superficie dorsal lisa (sin

dentículos dérmicos) con vermiculaciones o reticulado único de líneas finas y claras sobre el dorso (Miyake y McEachran, 1988).

De forma similar, *Urotrygon simulatrix* fue descrita a partir de tres ejemplares (holotipo = hembra 264 mm LT USNM 285187, paratipos = hembra 258 mm LT y dos machos 93 y 267 mm LT depositados en el *Gulf Coast Research Laboratory* GCRL 13064), todos capturados el 8 de marzo de 1974, en Punta Paitilla, Panamá (Miyake y McEachran, 1988). Los autores acotaron que el nombre específico “*simulatrix*”, se debe al parecido fenotípico que tiene con *U. munda* y con *U. chilensis* en lo morfológico (Miyake y McEachran, 1988). Esta especie se caracteriza por tener la superficie del disco y la cola con dentículos dérmicos los cuales se hacen más grandes y alargados en la línea media del dorso (Miyake y McEachran, 1988). Actualmente, estas tres últimas especies mencionadas han carecido de sinonimias desde su descripción formal y son consideradas como válidas (Tabla 2). Miyake y McEachran (1988), mencionan -sin mayor detalle o argumentos-, lo siguiente: “*Urotrygon chilensis* fue incorrectamente sinonimizada con *U. asterias* en Miyake y McEachran (1986)”, seguido de una clave de identificación dicotómica donde consideran un total de nueve especies del género *Urotrygon* como válidas (Tabla 2).

Finalmente, la última especie descrita para el género es *Urotrygon cimar*, López y Bussing, 1998, a partir de ejemplares recolectados en el Pacífico de Costa Rica y Nicaragua (holotipo= LACM 47363-1 hembra adulta de 382 mm TL). Inicialmente fue ubicada dentro del género *Urolophus* (ver López y Bussing, 1998). Esta especie, a pesar de su gran similitud con *U. mundus* debido a su talla pequeña, presenta una superficie dorsal es “rugosa” con dentículos dérmicos, y carece de espinas dispuestas en la línea media del cuerpo. Se distingue de todas las especies consideradas como válidas por Miyake y McEachran (1988), por presentar una aleta caudal alta y corta, similar al de su congénere *Urobatís*, y un patrón de coloración particular (López y Bussing, 1998). En este trabajo, los autores basan la diferenciación específica, en una figura con dibujos comparativos de la forma y porcentaje de distensión de la cubierta membranosa de la pupila del ojo para seis especies de *Urotrygon* (Tabla 2).

En la actualidad, la aceptación de las distintas entidades nominales del género *Urotrygon* sigue siendo dudosa e incierta debido a la gran similitud morfológica de las

especies, y a la variedad morfológica y merística de los organismos a lo largo de su distribución geográfica (Ehemann *et al.*, enviado,2). Particularmente diferentes listados de peces publicados desde mediados de 1930 hasta la actualidad, que incluyen a *Urotrygon* del Pacífico, mencionan la presencia de diferentes entidades nominales para esas costas sin una revisión detallada o actualizada (Ehemann *et al.* 2021). Por ejemplo, Fowler (1930) consideró la presencia de todas las especies de *Urotrygon*, con excepción de *U. chilensis* y *U. asterias*, para el Pacífico. Según Terron (1930) la única especie de *Urotrygon* en el Golfo de California era *U. binghami*, pese a que, Ulrey (1929) registrará a *U. munda* en el sur de este Golfo. Para las costas de Perú fueron reportadas todas las especies de *Urotrygon* a excepción de *U. binghami* y *U. rogersi* (Chirichigno, 1963, 1974). Ricker (1959) mencionó a *U. rogersi*, *U. goodei* y *U. caudispinosa* desde Acapulco a Cabo San Lucas (México). Castro-Aguirre en diversos trabajos reportó un total de siete entidades nominales de *Urotrygon* para las costas del Pacífico mexicano (1965; 1970). Sin embargo, Ramírez Hernández y González Pages (1976) sólo incluyeron a cuatro de estas (*i.e.*, *U. chilensis*, *U. goodei*, *U. munda* y *U. asterias*) en su catálogo de peces de México. Información publicada basada en literaturas, sin una adecuada revisión de los ejemplares, ha sido otra práctica que ha contribuido a la incertidumbre real de la distribución de estas especies (*e.g.* Beebe y Tee-Van, 1941; Fowler, 1945, Pequeño, 1989, Chirichigno y Velez, 1998). En el último lustro, considerando nuevas herramientas de análisis (*e.g.* información albergada en grandes bases de datos en línea), han potenciado la elaboración de los listados ictiofaunísticos, los cuales han tomado relevancia en el continente (*e.g.*, Del Moral Flores, 2016; Ehemann *et al.*, 2018, 2019; Mollen, 2018; Espinoza *et al.*, 2018; Mejía-Falla y Navia, 2019; Calle-Morán y Bearez, 2020). Sin embargo, la confirmación y verificación reciente de los urotrygónidos en estos lugares o países, en muchas ocasiones es ausente o deficiente, siendo una actividad que debe ser puesta en marcha para evitar la sobre (o sub) estimación de la riqueza (Ehemann *et al.*, enviado 3).

Los antecedentes expuestos, indican particularmente que la última revisión taxonómica (preliminar) de este género fue hace 45 años (Miyake y McEachran, 1986), y que el debate y las dudas sobre la certidumbre taxonómica del grupo aun se mantienen. Sobre esa base, se justifica la realización de la presente investigación. En el mismo

sentido, es importante señalar que de los más de 20 conceptos de especies conocidos en la actualidad (De Queiroz, 2007; Aldhebiani, 2018) el concepto de especie adoptado en la presente investigación es el propuesto por Wiley (1978), quien considera una especie como “un linaje de poblaciones ancestrales descendientes que mantiene su identidad de otros linajes similares, y que tiene sus propias tendencias evolutivas y destino histórico”.

HIPÓTESIS:

Con base en los antecedentes previamente descritos, aunado a la incertidumbre taxonómica implícita en este género de rayas endémicas, producto de la similitud fenotípica y sobreposición de los valores morfométricos y merísticos que existen entre las especies de *Urotrygon*, es congruente hipotetizar un re-arreglo de la sistemática actual de este género soportado por una taxonomía integrativa.

Objetivo general

Realizar una revisión integrativa (basada en datos morfométricos, merísticos y genéticos) de la sistemática del género *Urotrygon* en América.

Objetivos específicos

- i) Validar la riqueza de especies de género *Urotrygon* (Taxonomía).
- ii) Realizar una propuesta de las relaciones filogenéticas de las especies del género *Urotrygon* (Filogenia).
- iii) Determinar las principales causas que propiciaron la distribución espacial (histórica y actual) de las especies de género *Urotrygon* (Biogeografía).

MATERIALES Y MÉTODOS

OBTENCIÓN DE MATERIAL BIOLÓGICO

El material consultado y examinado en esta investigación incluyó ejemplares recolectados en puertos pesqueros de diferentes países (empleados con fines de comparación morfológica y genética). También, se revisaron especímenes almacenadas y catalogadas en museos y colecciones ictiológicas ubicados en diferentes países (Fig. 1). El material comparativo para los análisis morfométricos provienen de las siguientes instituciones [se abrevian de acuerdo a Sabaj (2016)]: Colección Ictiológica, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, Instituto Politécnico Nacional (CICIMAR-CI), Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. (CIBNOR), La Paz (CIBM), Instituto de Ciencias Marinas y Limnología, Ciudad de Mexico (CNPE-IBUNAM), Institut Royal des Sciences Naturelles de Belgique (antes RBINS, actualmente IRSNB), Instituto del Mar del Perú (IMARPE), Museo Oceanológico Hermano Benigno Román, Estación de Investigaciones Marinas de Margarita, Venezuela (antes MOBR-EDIMAR, actualmente MOBR), Natural History Museum of Los Angeles County (LACM), Natural History Museum, London (BMNH) Universidad del Valle (antes CIRUV-UV, actualmente UVC), Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Universidade Federal de Paraiba (UFPB) and Zoological Museum Hamburg (ZMH). Adicionalmente, material gráfico en alta definición (e.g., fotografías, placas de rayos X) relacionado con holotipos, serie tipo e individuos recolectados en lugares fuera de la distribución de las entidades taxonómicas nominales, fue solicitado a diferentes instituciones para su análisis (e.g., Belgica Elasmobranch Research (ERB), Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano, Museo del Mar, Santa Marta (UBJTLMM), Universidad Veritas – Bio-Mol, Biodiversity Research and Teaching Collections (antes Texas Cooperative Wildlife Collection, actualmente TCWC), Zoologisk Museum [parte del Naturhistorisk museum; antes Zoologiske Museum, Kristiania (ZMK)] de la Universitetet i Oslo (ZMUO).

Cada uno de los ejemplares analizados en este estudio, fueron taxonómicamente determinados al nivel de especie. Se usó y consultó la descripción original de cada una de las entidades nominales (e.g., Gill, 1863, Günther, 1872, Jordan y Gilbert, 1882; Jordan y Starks, 1895, Miyake y McEachran, 1988). También, se emplearon las claves taxonómicas dicotómicas propuestas para el género *Urotrygon* por diversos autores (e.g.,

Miyake y McEachran, 1986, McEachran, 1995, Castro-Aguirre y Espinoza-Pérez, 1996; Chirichigno y Vélez, 1998, Castro-Aguirre *et al.*, 1999, Chirichigno y Cornejo, 2001). Información complementaria disponible (*e.g.* sexo, estadio de madurez sexual, fecha y lugar de captura), fue registrada para cada individuo. Sin embargo, comparaciones y análisis intraespecíficos (*e.g.*, entre sexos o estadios de madurez sexual), no pudieron ser realizadas, debido al reducido número de individuos obtenidos para algunas entidades nominales.

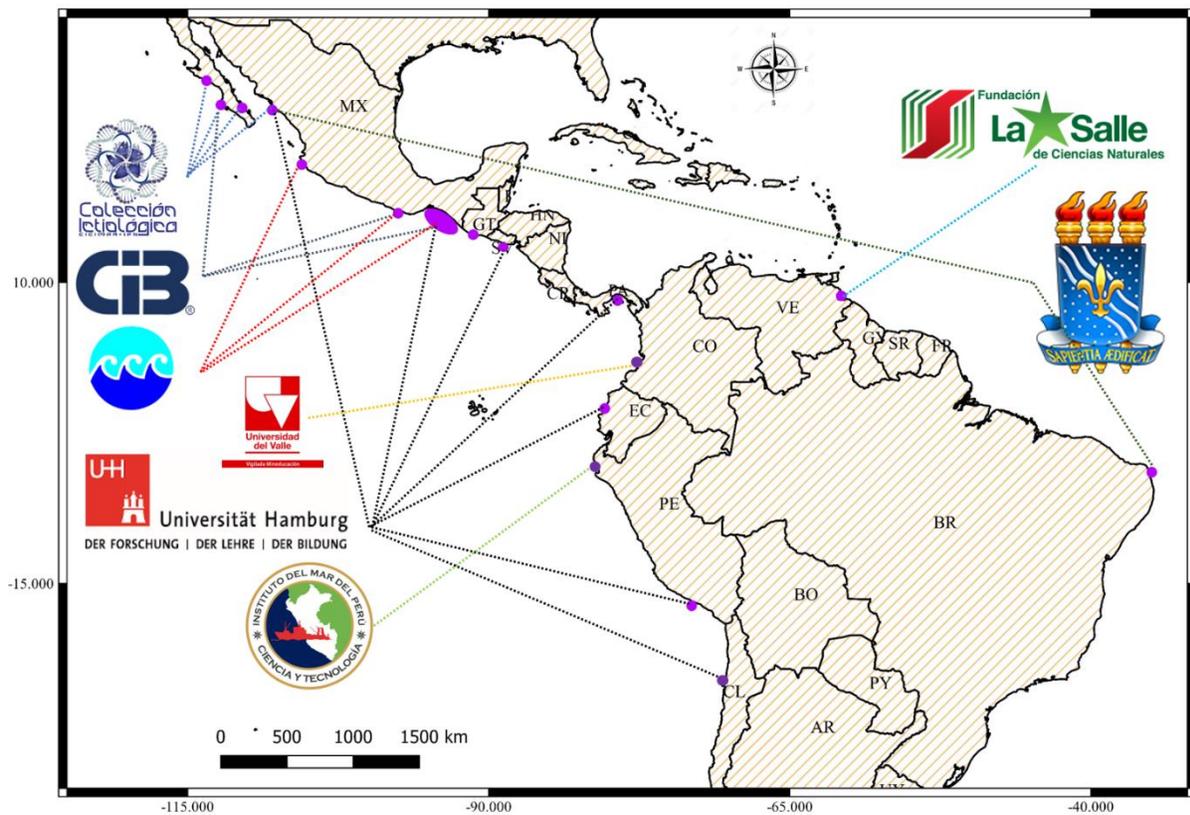


Figura 1. Áreas geográficas de captura de *Urotrygon* spp. depositados en los principales museos y colecciones ictiológicas nacionales e internacionales consultados y analizados morfométricamente en esta investigación. Brasil (BR), Chile (CL), Colombia (CO), Ecuador (EC), El Salvador (SV), Guatemala (GT), México (MX), Panamá (PA), Perú (PE) y Venezuela (VE).

ANÁLISIS TAXONÓMICO

Para llevar a cabo la evaluación de la riqueza del género, se emplearon técnicas de morfometría lineal, merística y análisis genéticos. La parte morfométrica y merística fue realizada con la finalidad de comparar y discutir nuestros resultados con la

información previamente generada y disponible para las especies de *Urotrygon*, las cuales están fundamentadas en estas técnicas (e.g., Miyake y McEachran, 1986, 1988). La inclusión de información genética en este objetivo particular fue con fines de confirmación y soporte de los resultados obtenidos de los análisis morfométricos (i.e., validez del estatus taxonómico de las entidades nominales taxonómicas evaluadas).

Obtención de datos morfométricos y merísticos

Diecinueve medidas morfológicas externas fueron registradas en cada ejemplar estudiado considerando el trabajo de Miyake y McEachran (1986). Las medidas fueron obtenidas con un vernier digital (± 0.01 mm). La longitud total (TL), ancho de disco (AD) y longitud del disco (LD) fueron obtenidos del lado ventral de los individuos (para disminuir el sesgo por la curvatura dorsal) con una cinta métrica (± 0.1 cm) en aquellos ejemplares cuyas medidas eran superiores a 120 mm.

Los ejemplares dañados, mal preservados, disecados o con una condición corporal excesivamente curvada de su forma corporal natural, fueron excluidos de los análisis. Se empleó la propuesta de Elliot *et al.* (1995) con la finalidad de estandarizar los datos empleados en los análisis multifactoriales. La intención fue eliminar probables sesgos relacionados con una variación intraespecífica de las variables que pudieran ser influenciadas de forma considerable por la talla de los individuos bajo estudio (Rohlf y Bookstein, 1987; McCoy *et al.*, 2006; Smith *et al.*, 2009). Se aplicó una transformación logarítmica (trans-log) a la matriz previamente estandarizada, con la finalidad de reducir el sesgo de una distribución no-normal, y, por tanto, la heterogeneidad en la varianza (Smith *et al.*, 2009; Marramà y Kriwet, 2017). Además, esta transformación (trans-log) puede reducir la variación atribuida al estadio de madurez sexual (maduros e inmaduros) de los individuos analizados (Smith, 1998; Marramà y Kriwet, 2017).

Se aplicaron también pruebas de multicolinealidad o multi correlación de variables, a la matriz de datos estandarizada con trans-log, con la finalidad de detectar y excluir las variables con una correlación estadísticamente significativa ($P < 0.05$), que pudieran disminuir o enmascarar la eficiencia e interpretación de los resultados del Análisis de Componentes Principales (ACP) (de Souza y Caetano, 2020). Esta nueva matriz originada representando las variables no correlacionadas, fue empleada para analizar y

evaluar las diferencias entre los especímenes, proyectadas en el morfoespacio multidimensional ortogonal que ocupan en el ACP, sin considerar la designación (entidad taxonómica nominal, ETN) *a priori* (Marramà y Kriwet, 2017; Marramà *et al.*, 2018, 2019).

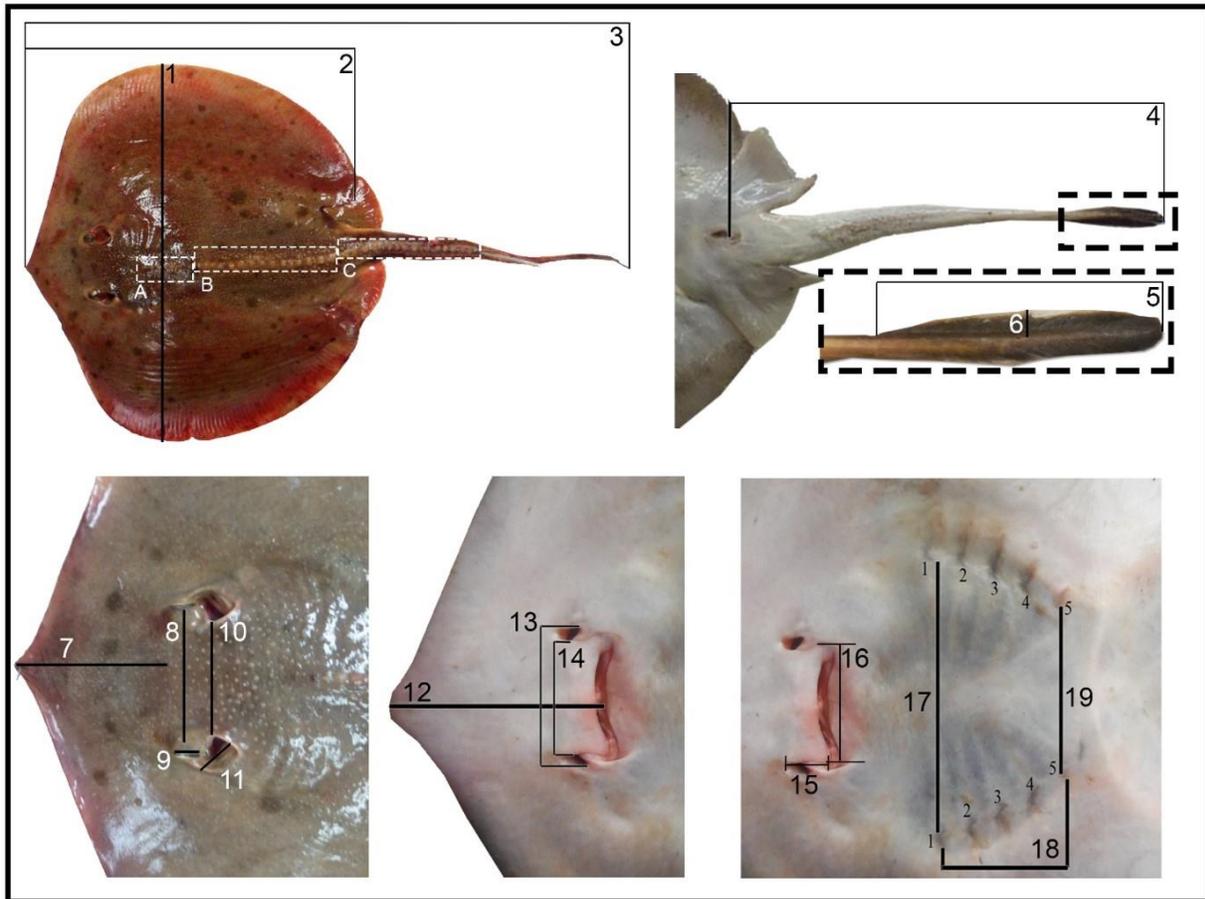


Figura 2. Ubicación de las 19 mediciones morfométricas y merísticas aplicadas en este estudio. 1= Ancho del disco (AD), 2= Longitud del disco (LD), 3= Longitud total (LT), 4= Longitud de la cola (LC), 5= Largo del lóbulo dorsal (LLD), 6= Alto del lóbulo dorsal (ALD), 7= Longitud pre orbital (LPO), 8= Distancia interorbital (DI), 9= Diámetro del ojo (DO), 10= Distancia interespiracular (Die), 11= Diámetro del espiráculo (DE), 12= Longitud preoral (LPoral), 13= Longitud internarinas externas (LIE), 14= Longitud internarinas (LI), 15= Longitud de la cortina nasal (LCN), 16= Ancho cortina nasal (ACN), 17= Longitud interbranquial par 1 (LIB1), 18= Longitud branquial 1 a 5 (LB15) y 19= Longitud interbranquial par 5 (LIB5).

Para soportar las diferencias entre las ETNs obtenidos partir del ACP, se empleó un Análisis Multifactorial de la Varianza a través de Permutaciones (PERMANOVA por sus siglas en inglés) y un Análisis de Similitud (ANOSIM por sus siglas en inglés). El

primero fue aplicado con la finalidad de evaluar las diferencias de las distancias euclidianas de los centroides de los ETNs, mientras que ANOSIM se llevó a cabo con el fin de cuantificar el grado de sobreposición entre los grupos o ETNs (Hammer *et al.*, 2001; Marramà y Kriwet, 2017; Marramà *et al.*, 2019). Para este propósito se utilizó la distancia Euclidea empleando un nivel de significancia de 0.05 y 9999 permutaciones (Marramà y Kriwet, 2017). Todos estos análisis fueron realizados en el *software Paleontological Statistic* o *PAST* v 4.02 (Hammer *et al.*, 2001).

En conjunto con el ACP, se realizó un Análisis Discriminante (AD), utilizando una estrategia escalonada progresiva (*forward stepwise*) con la finalidad de detectar las diferencias entre las ETNs. A diferencia del ACP, el AD maximiza las diferencias entre los grupos, a la vez que reduce la variación intra-grupos y jerarquiza las variables morfométricas que más contribuyen a la separación de las entidades seleccionadas *a priori* (Smith *et al.*, 2009; Marramà y Kriwet, 2017; de Souza y Caetano, 2020). Como los AD no usan proyecciones ortogonales para sus estimaciones, la matriz estandarizada y trans-log con todas las variables morfométricas fueron usadas en este análisis. Los parámetros de aplicación escalonada progresiva fueron delimitados a valores de tolerancia = 0.010, *F* de entrada = 1.00 y *F* de remoción = 0.00. Las distancias cuadráticas de Mahalanobis entre cada valor y los centroides de cada grupo, fueron empleadas como una medida estadística ($\alpha=0.05$) de los resultados obtenidos de los AD. Las distancias de Mahalanobis consideran la inter correlación entre las variables en el modelo (que definen el espacio multifactorial), sobre las distancias Euclidianas. Finalmente, una matriz de clasificación fue calculada para evaluar la eficacia de las variables morfológicas empleadas en la discriminación de las ENT bajo estudio en esta investigación.

Obtención de datos merísticos

Los datos merísticos fueron obtenidos de diferentes elementos del cuerpo. Se obtuvo el total de espinas presentes a lo largo de la línea media dorsal de cada ejemplar (Fig. 2) y el número de espinas presentes en la zona nugal (sobre el área branquial hasta la cintura pectoral), la zona visceral (comprendida entre la cintura pectoral y la parte distal del ano) y la zona de cola (comprendida después del ano hasta el agujón aserrado). También, se obtuvo el número de radios de las aletas pectorales y pélvicas izquierdas, y

el número de vertebras pre-espina caudal aserrada considerando la propuesta de McEachran *et al.* (1996) y Nishida (1990). Estos datos fueron obtenidos de imágenes de escaneo tomográfico computarizado, placas de rayos X, así como el descarnado de ejemplares disponibles en los museos o colecciones consultadas.

Obtención de datos genéticos

La determinación taxonómica de las especies fue soportada con información genética. Se obtuvo tejido muscular de ejemplares frescos provenientes principalmente de la captura artesanal. Cuando fue posible y factible, la combinación de información genética y morfométrica del mismo individuo fue incluida en los análisis. El ADN fue extraído empleando el kit DNeasy Blood & Tissue (QIAGEN®) siguiendo el protocolo del fabricante. Se amplificó el gen mitocondrial Nicotinamida Adenina Dinucleótido deshidrogenasa subunidad 2 (NADH₂), debido a que ha sido previamente empleado en trabajos enfocados en la diferenciación de especies de condricitos (*e.g.* Naylor *et al.* 2012; Kemper *et al.* 2015; Henderson *et al.*, 2016; Iglesias *et al.*, 2021). Todas las reacciones de PCR fueron realizadas en un volumen total de 25 µL, conteniendo 5 µL BSA (0.22%), 1x PCR Buffer, 0.2 mM dNTP mix, 0.48 µM de cada primer, 2.0 mM de MgCl₂, 0.025 U/µL Taq DNA polymerase, 1.0 µL DNA sample y 8.8 µL agua Milli-Q. Los iniciadores usados para amplificar este gen fueron ILE (AAGGAGCAGTTTGATAGAGT) y ASN (AACGCTTAGCTGTTAATTAA) (Naylor *et al.*, 2012). También, se diseñaron iniciadores (NADH₂_UastL CCCCAAACATGTTGGTTAAAA y NADH₂_UastR TTGGAGGGTTTTTGTTCGTC), con el fin de amplificar aquellas muestras que no amplificaron con los iniciadores ILE y ASN. Los iniciadores fueron diseñados en el programa Primer3 (<https://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/>). Las condiciones del termociclador fueron las siguientes: una desnaturalización inicial a 94°C por 120 s, seguida de 30 ciclos de 94°C por 60 s, una temperatura de alineamiento de 64°C por 60s, y una extensión a 72°C por 120 s. Se realizó una extensión final de siete minutos a 72°C.

También se obtuvo un fragmento del gen mitocondrial Citocromo Oxidasa subunidad 1 (COI) de cuando menos un individuo previamente identificado y secuenciado con el NADH₂. El COI fue empleado como un marcador taxonómico

complementario debido a que se ha empleado en algunos casos para identificar especies de condrictios (e.g Ward *et al.*, 2005; Moura *et al.*, 2008; Mendonça *et al.*, 2011; Fontanelle *et al.*, 2021; Crobe *et al.*, 2021). Las amplificaciones fueron realizadas en un volumen final de 25 μ L con los reactivos previamente descritos para la mezcla de NADH₂. Los iniciadores empleados fueron FISH-F1 (TCAACCAACCACAAAGACATTGGCAC) y FISH-R1 (TAGACTTCTGGGTGGCCAAAGAATCA) (Ward *et al.*, 2005). La amplificación se realizó de la siguiente manera: 94°C por 120 s, seguido de 35 ciclos, cada uno de 94°C por 30s, 54°C por 30s y 72°C por 60s. Se realizó una extensión final de 72°C por 10 minutos.

Las amplificaciones exitosas para ambos genes fueron secuenciadas en ambas direcciones (i.e. forward y reverse) (Macrogen Inc.), usando los mismos iniciadores empleados en las amplificaciones. Las secuencias obtenidas fueron editadas en el programa ChromasPro 1.3.3 (Technelysium Pty Ltd, South Brisbane, Queensland, Australia) y alineadas en el software *Molecular Evolutionary Genetics Analysis* o *Mega X* (Kumar *et al.*, 2018). Posteriormente, fueron comparadas con aquellas secuencias de especies pertenecientes al mismo género disponibles en bases de datos en línea (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> y http://v3.boldsystems.org/index.php/IDS_OpenIdEngine).

Para detectar los clados asociadas a las ETNs se generó un árbol para cada gen basado en las distancias obtenidas mediante el modelo de sustitución nucleotídica de Kimura 2 parámetros (K2P) (Kimura, 1980) y empleando el algoritmo del vecino más cercano (Neighbour-joining, NJ) (Saitou y Nei, 1987) en el programa Mega X (Kumar *et al.*, 2018). La robustez de los nodos del árbol, fue soportada mediante remuestreos usando 1,000 réplicas. Las secuencias de *Urotrygon* disponibles en las bases de datos en línea fueron incluidas en el árbol para compararlas con las secuencias obtenidas en el presente estudio. Para el gen NADH₂ se incluyeron las secuencias reportadas como *Urotrygon rogersi* (No. De acceso Genbank JQ519162) y *Urotrygon cf. simulatrix* (No. De acceso Genbank JQ518942). Para el COI se incluyeron las secuencias reportadas como *Urotrygon chilensis* (No. De acceso Genbank KY572908) y *Urotrygon sp.* (Bold System KERRI336-08, KERRI337-08, y KERRI338-08). Las secuencias de *Urobotis halleri* del NADH₂ (No. De acceso Genbank JQ518939 y JN184083) y del COI (No. De acceso

Genbank JN184083 y KF930522.1), fueron incluidas como grupo externo.

ANÁLISIS FILOGÉTICO

Para el análisis filogenético se consideraron las especies de *Urotrygon* confirmadas como válidas a partir de los resultados taxonómicos obtenidos de este estudio. La construcción del árbol filogenético se basó en la información conjunta de los genes mitocondriales NADH₂ y COI y del gen nuclear RAG-1 provenientes de cada uno de los individuos (*single specimen*) representantes de las especies empleadas en el análisis. El RAG-1 se amplificó usando los iniciadores RAG-1_UrogL (ACCCATTGGAAACAATTTTCG) y RAG-1_UrogR (TGAGAATCTCTCGTCTTTCTTCG), diseñados en el presente estudio, y empleando una reacción similar a la empleada en los genes mitocondriales. El termociclador fue programado a una temperatura inicial de 94°C por 120 s, y 30 ciclos de 94°C por 60 s, 58°C por 60s, 72°C por 120 s; y una una extensión final de 72°C por 7 minutos.

La filogenia fue abordada mediante dos enfoques, uno de Máxima Verosimilitud (ML por sus siglas en inglés) y otro de Inferencia Bayesiana (IB). El primero, tiene sus fundamentos en la probabilidad de qué tan correcto o preciso son explicados los árboles filogenéticos por los datos (Huelsenbeck *et al.*, 2001; Brooks *et al.*, 2007; Peña, 2011). Por su parte, el segundo enfoque, está fundamentado en la “probabilidad posterior de un árbol”, la cual es interpretado como la probabilidad de que un cladograma sea correcto o verídico (Huelsenbeck *et al.*, 2001). El teorema de Bayes es empleado para obtener este valor, combinando la probabilidad filogenética inicial con el de verosimilitud para finalmente producir la distribución de probabilidad posterior de los árboles (Huelsenbeck *et al.*, 2001).

La selección del mejor modelo evolutivo para cada gen independiente (*i.e.*, NADH₂, COI y RAG-1) y uno concatenado, se determinó con base en los valores del criterio información de Akaike (AIC por sus siglas en inglés) y el criterio de información Bayesiana (BIC por sus siglas en inglés), generados por el *software JModelTest2* (Darriba *et al.*, 2012).

El árbol filogenético de ML fue obtenido en el programa MEGA X a partir de las secuencias concatenadas (2,289 pb). Con la finalidad de probar la hipótesis nula de que

las secuencias evolucionaron con el mismo patrón de sustituciones, se realizó una prueba de homogeneidad empleando 500 réplicas y un análisis de Monte Carlo (Kumar y Gadagkar, 2001). El modelo de sustitución que se empleó fue el General Time Reversible con distribución gama (GTR+G) y estimación de las transiciones y transversiones. Se incluyeron las siguientes especies de batomorfos como grupos externos, con secuencias disponibles en bases de datos en línea: *Mobula kuhlii* (NADH₂: JQ518836, COI: KT626484, RAG-1: KM364946.1) *Mobula thurstoni* (NADH₂: KT626510, COI: MG792121, RAG-1: KX485393), *Rhinoptera steindachneri* (NADH₂: JQ518918, COI: KM364907 y RAG-1: JN184124), *Myliobatis californica* (NADH₂: JQ519159, COI: EU489721 y RAG-1: KT187538). La topología fue enraizada a *Rostroraja eglentaria* (NADH₂: JQ518889, COI: MT455929, RAG-1: KX485415). Estas mismas especies y secuencias se incluyeron como grupos externos en los análisis filogenéticos con Inferencia Bayesiana y en los análisis de datación molecular (ultraparametrización) de los eventos de divergencia (nodos).

Los resultados filogenéticos ultraparametrizados basado en ML fueron generados en el *software* MEGA X. Para la estimación y calibración (datación molecular) de los tiempos de divergencia de este árbol, fue empleado el método de *RelTime* (Tamura *et al.*, 2012) siguiendo a Mello (2018). Los tiempos de divergencia e información temporal deben ser previamente obtenidos para calibrar los nodos del árbol (Mello, 2018). Para esto, información y datos disponibles en la fuente en línea de TimeTree fueron consultados (<http://www.timetree.org/>) (Kumar *et al.*, 2017). Esta base de datos compila los tiempos de divergencia estimados a partir de estudios moleculares y tiempos lineales los cuales han sido optimizada para diversos taxa del “árbol de la vida” (*Tree of Life*) (Hedges *et al.*, 2015; Kumar *et al.*, 2017; Mello, 2018). Inicialmente, se buscó la disponibilidad de los tiempos de divergencia entre *Urotrygon* y *Urobatis*, sin embargo, estos datos aun no estaban estimados. Debido a ello, al menos dos puntos de anclaje temporal fueron incluidos en estos análisis de ultra parametrización. El más reciente (3.6 Ma) fue basado en la divergencia estimada entre *Mobula kuhlii* y *M. thurstoni* (Poortrivet *et al.*, 2015), mientras que la divergencia temporal más basal (48 Ma) se parametrizó con *Rhinoptera steindachneri* y *Myliobatis californica*. El soporte de cada nodo fue basado en remuestreos (*bootstrap*), como una forma de evaluar la “confianza”

de cada clado del cladograma obtenido (Felstein, 2004).

La filogenia obtenida con IB fue generada en el *software MrBayes* v3.2.1. (Huelsenbeck y Ronquist, 2011) empleando los modelos de evolución sugeridos para cada gen independiente. Para el gen NADH₂ el modelo empleado fue Hasegawa-Kishino-Yano con distribución Gama (HKY+G); para COI fue el mismo modelo, pero considerando la proporción de sitios invariables (HKY+I), y finalmente, para el RAG-1, el modelo empleado fue el TN93+G. Los parámetros del procedimiento fueron establecidos empleando dos corridas independientes, 10 millones de generaciones, tres cadenas (una fría y dos calientes) y muestreos cada 3,000 generaciones (Ronquist *et al.*, 2020). Las cadenas calientes pueden explorar de forma más rápida el espacio de los árboles filogenéticos, permitiendo homogenizar la superficie posterior de probabilidad (Hueselbeck y Ronquist, 2001). Valores inferiores a 0.01 de desviación estándar entre las frecuencias indican que el número de iteraciones del modelo es suficiente (Ronquist *et al.*, 2020). El 25% del total de las muestras fueron desechadas (*burn-in*) en la exploración para encontrar el parámetro de los valores cercanos a la máxima verosimilitud durante la estimación de los parámetros de salida (Ronquist *et al.*, 2020). Los parámetros resultantes para cada corrida (y la combinada) fueron analizados en el *software Tracer* 1.7.2. (Rambaut *et al.*, 2018) con la intención de revisar el soporte de los parámetros estimados a partir de los valores del tamaño efectivo de la muestra (SSE por sus siglas en inglés) junto con el Tiempo de Auto-Correlación (ACT por sus siglas en inglés) (Rambaut *et al.*, 2018). Valores superiores a 200 de SSE, fueron considerados confiables debido a que pueden sugerir un tamaño de muestra suficiente (Rambaut y Drummond, 2009; Poortvliet *et al.*, 2015). La probabilidad posterior (PP) fue estimada para los árboles filogenéticos obtenidos con *MrBayes* removiendo (*burn-in*) también el 25% de los primeros árboles generados. Los árboles fueron visualizados y editados con el *software FigTree* v.1.4.4 (Rambaut, 2009) (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree>).

La estimación de los tiempos de divergencia y tasa de sustitución (ultraparametrización) filogenética fueron también inferidos mediante IB, empleando el *software Bayesian Evolutionary Analyses by Sampling Trees* o *BEAST* 2 (Bouckaert *et al.*, 2014). El *software Bayesian Evolutionary Analysis Utility* o *BEAUTi* fue empleado para editar los parámetros y crear el archivo xml necesario para el análisis. Para cada

gen (partición) se empleo el modelo de sustitución obtenido previamente en el *software JModelTest2* (Darriba *et al.*, 2012). Se empleo el modelo de reloj molecular RCLN y el modelo de especiación de Yule considerando que las tasas de sustitución entre los tres genes no es la misma ni uniforme en el tiempo. La datación de divergencia fue estandarizada a 48 Ma con una desviación standard de 4.5 para el nodo entre *R. steindachenri* y *M. californica*; mientras que, para el nodo de *Mobula* spp con una media de 3.5 con desviación standard de 1.5 fue asignado. Esto fue estandarizado, con la finalidad de ser congruentes con lo realizado para estos resultados basados en ML. Se empleó una longitud de cadena de 10 millones de generaciones, con muestreos cada 5,000 generaciones.

La robustez de los parámetros estimados fue conformada empleando el tamaño de SSE (>200) y ACT en el *software Tracer* (v1.7 Rambaut *et al.*, 2018) descartando (*burn-in*) previamente el 25% de las muestras. Dado que los métodos bayesianos están basados en muestreos mediante Cadenas de Markov Monte Carlo (MCMC por sus siglas en inglés), una gran cantidad de datos (generaciones) y cladogramas (árboles) son generados, representando las diferentes opciones jerárquicas posibles (Drummond *et al.*, 2002; Bouckaert *et al.*, 2014). Estos diferentes cladogramas generados fueron observados en el *software DensiTree* v.2.2.7 (Bouckaert y Heled, 2014), con la finalidad de observar la tendencia de los valores obtenidos. Finalmente, el árbol con la mayor credibilidad fue generado en el *software TreeAnnotator* v 1.7.5 (Drummond y Rambaut, 2007; Drummond *et al.*, 2012; Bouckaert *et al.*, 2014) y visualizado y editado en el *software FigTree* 1.3. (Rambaut, 2009).

ANÁLISIS BIOGEOGRÁFICO

El análisis de la biogeografía histórica del género *Urotygon*, se realizó en el *software Reconstruct Ancestral State in Phylogenies* o *RASP* v.4 (Yu *et al.*, 2020). La presencia y distribución de las especies de *Urotygon* se homologaron con las eco-regiones marinas de Spalding *et al.* (2007), en sustitución de los límites geopolíticos de cada país. En total se emplearon 15 (*i.e.*, 10 para el Pacífico y cinco para el Atlántico), las cuales están asignadas y delimitadas con base en su origen, tiempo de formación, similitud de las propiedades abióticas del sustrato y placas (Spalding *et al.*, 2007). De

esta forma, la matriz de presencia/ausencia de cada especie de *Urotrygon* en las eco-regiones marinas, está basada en los resultados del análisis de la distribución de las especies. Algunos datos disponibles en repositorios digitales no fueron incluidos en el análisis, debido a la alta incertidumbre en la determinación taxonómica de las especies.

El cladograma filogenético ultra-parametrizado con IB en el *software* *BEAST2*, fue empleado para mostrar los resultados del análisis biogeográfico obtenido en el *software* RASP v.4. Empleando este mismo programa se realizó una prueba para seleccionar el mejor modelo basado en el criterio de Akaike basado en los análisis de *BioGeography with Bayesian (and likelihood) Evolutionary Analysis in R Scripts* o *BioGeoBEARS* (Matzke, 2014) incluido en el *software* RASP4. Según este autor, este análisis está diseñado para realizar inferencias de la historia biogeográfica en filogenias, y también pruebas de modelos y elección de modelos de los muchos modelos posibles diferentes de cómo la biogeografía puede evolucionar en una filogenia como la dispersión, vicarianza, especiación del evento fundador, DEC, DIVA, BAYAREA, entre otros (Matzke, 2014). En la presente investigación, el mejor modelo seleccionado fue el análisis estadístico de dispersión-vicarianza (*S-DIVA* por sus siglas en inglés) (Yu *et al.*, 2010). Finalmente, el árbol fue observado y editado indicando los nodos para distinguir los eventos de vicarianza y dispersión con colores diferentes.

Las fechas estimadas de eventos importantes ocurridos a nivel mundial y continental, que han sido empleados para explicar procesos de dispersión y vicarianza en batomorfos y elasmobranquios (*e.g.*, Poortvliet *et al.*, 2015; Acero *et al.*, 2016; Fontanelle *et al.*, 2021), como la formación del istmo de Panamá y los movimientos cis y trans-andinos, fueron considerado e incluidos en el análisis. La datación del cierre del istmo de Panamá (≈ 3 Ma) se estimó siguiendo la propuesta de Leigh *et al.*, (2014). Por otro lado, la estimación de la datación (≈ 10 Ma) de otro evento continental de gran importancia (*i.e.*, conclusión del sistema Mega-Humedal de Pebas, (referido como Pebas de aquí en adelante), que cubrió más de 1 millón de Km², inundando gran parte de la Amazonia occidental, fue estimado siguiendo los resultados propuestos por Hoorn *et al.* (2010), Wesselingh y Horn (2011), Bernal *et al.* (2019) y Fontanelle *et al.* (2021).

RESULTADOS

Se revisó un total de 207 ejemplares pertenecientes a 12 ETNs del género *Urotrygon* (Tabla 3). En promedio, dos de cada 10 (21.6%) del total de individuos consultados, presentaron discrepancias entre la determinación taxonómica inicial (del frasco o lote) con respecto la re-identificación realizada en el presente estudio. Posterior a la depuración y exclusión de los datos y especímenes morfológicamente incompletos, el tamaño de muestra final para los análisis morfométricos se redujo a 175 individuos correspondiente a 10 ETNs, dos de las cuales con resolución actual dudosa o consideradas como sinónimos junior (Tabla 3).

Tabla 3. Número de ejemplares por entidad taxonómica nominal analizados en este estudio. Los ejemplares consultados mantienen la determinación taxonómica propia del ejemplar en la colección nacional o internacional consultada. Los ejemplares usados en los análisis morfométricos y genéticos fueron previamente reidentificados de acuerdo con nuestros criterios y claves dicotómicas. Especies cuya resolución actual es dudosa o sinónimo junior están denotados con asterisco (*).

Entidad taxonómica nominal	LT (mm)	Número de individuos		
	min-máx	Consultados	Usados en morfometría	Usados genética
<i>Urotrygon aspidura</i>	117-275	31	16	4
* <i>Urotrygon asterias</i>	205-498	39	60	17
* <i>Urotrygon caudispinosus</i>	310	4	1	0
<i>Urotrygon chilensis</i>	145-360	40	18	5
<i>Urotrygon cimar</i>	160-280	3	4	3
<i>Urotrygon microphthalmum</i>	128-259	25	16	0
<i>Urotrygon munda</i>	199-250	6	6	2
<i>Urotrygon nana</i>	117-215	12	10	0
<i>Urotrygon peruanus</i>	-	4	0	0
<i>Urotrygon rogersi</i>	193-714	40	45	12
* <i>Urotrygon serrula</i>	-	1	1	0
<i>Urotrygon venezuelae</i>	-	2	0	2
Total = 12		207	175	44

ANÁLISIS MORFOMÉTRICO

Los resultados pareados del análisis de multicolinealidad mostraron correlaciones de magnitudes medias a fuertes (Fig. 3). Las correlaciones estadísticamente significativas independientemente de su dirección (positivas o negativas) fueron

excluidas de los análisis siguientes, resultando en la disminución de la multidimensionalidad inicial de 18 variables a solo cinco (Fig. 3). Las cinco variables seleccionadas para los ACP fueron: la altura del lóbulo dorsal (6), longitud pre orbital (7), diámetro del ojo (9), diámetro del espiráculo (11) y ancho de la cortina nasal (16). Los dos primeros componentes principales (*i.e.*, 36% en el CP1 y 27% en el CP2, respectivamente) explicaron el 63% de la varianza total de estas cinco variables (Fig. 4).

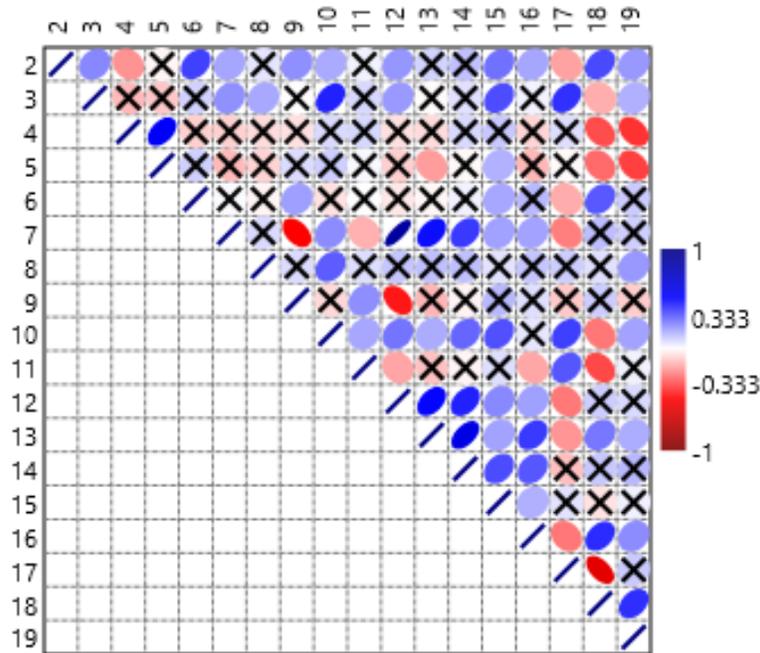


Figura 3. Representación gráfica de la multicolinealidad pareada de las 18 variables morfométricas empleadas en este estudio. Valores de correlación de $p > 0.05$ están demarcadas con X. Las elipses indican el sentido y la intensidad del color representa la magnitud de la correlación.

Los valores de carga o de contribución (*factor loadings*) de las cinco variables morfométricas para cada componente principal, se detallan en la Tabla 4. El CP1 acumuló el 36% de la varianza total, siendo la variable diámetro del ojo la que mejor explicó dicha varianza. Este componente, permitió separar a *U. microphthalmum*, *U. nana*, *U. cimar* y *U. munda* de las demás especies analizadas (Fig. 4). Por otro lado, el CP2 explicó el 27% de la varianza, siendo la altura del lóbulo dorsal la más dominante (Tabla 4). Este componente, de forma general, separó a las especies *U. asterias*, *U. rogersi* y *U. chilensis* de las demás ETNs incluidas (Fig. 4). En la representación bidimensional (Fig. 4) del espacio multidimensional, indica que ETNs con

mayor longitud preorbital, con cortinas nasales anchas y diámetros de ojos reducidos se ubicaron juntos (*i.e.*, *U. nana* y *U. microphthalmum*). A excepción de *U. aspidura*, *U. nana*, *U. microphthalmum*, la mayoría de las ETNs analizados se caracterizaron por presentar una mayor altura del lóbulo dorsal (Fig. 4). Finalmente, *U. asterias* y *U. chilensis* se ubicaron el espacio multidimensional caracterizado por presentar ojos y espiráculos más grandes con respecto a las demás ETNs analizados (Fig. 4).

Tabla 4. Valores de carga (loadings) o contribución de las cinco variables morfométricas en cada componente principal generado. En negrita se resalta la variable con mayor contribución para cada CP.

Variable/Componente Principal	1 (36%)	2 (27%)	3 (18%)	4 (14%)	5 (5%)
Altura lóbulo dorsal	0.56	0.74	0.32	-0.10	-0.05
Longitud pre orbital	0.19	0.19	0.09	0.17	0.93
Diámetro del ojo	0.70	-0.36	-0.45	-0.07	0.29
Diámetro del espiráculo	0.26	-0.43	0.70	0.48	-0.01
Ancho cortina nasal	0.02	0.27	-0.42	0.84	-0.16

Los resultados de las pruebas no paramétricas de PERMANOVA ($F=10.81$; $P=0.0001$) y ANOSIM ($R=0.5094$; $P=0.0001$), indicaron diferencias entre las ETNs. Los resultados de las pruebas pareadas no soportaron diferencias significativas ($P>0.05$) entre *U. chilensis* y *U. asterias*, *U. cimar* y *U. chilensis*, *U. cimar* y *U. rogersi*, *U. munda* y *U. rogersi*, *U. munda* y *U. cimar*, y finalmente, *U. caudispinosus* y todas las ETNs (Tabla 5). De forma similar, ANOSIM no arrojó diferencias significativas en la sobreposición de las áreas de las ETNs *U. asterias* y *U. chilensis* y *U. munda*, *U. cimar* (Tabla 5). Debido al bajo número de muestras ($n=1$) representando a la ETN *U. caudispinosus*, no fue posible incluirla en el análisis de ANOSIM.

De las 18 variables morfométricas, el modelo de AD usando estrategia escalonada progresiva (*forward stepwise*) incluyó 16 estadísticamente significativas para discernir entre las ETNs (Tabla 6). Estos resultados fueron congruentes con los resultados de ACP, detectando como variables importantes aquellas principalmente relacionados con el sistema respiratorio, de locomoción y visual para discernir entre las especies de *Urotrygon*. Las variables morfométricas más importantes jerarquizada por el modelo de AD fue la longitud interbranquial par #1 ($\Lambda=0.2711$ y $F=61.81$) seguido del diámetro del ojo ($\Lambda=0.1081$ y $F=46.65$). El eje o raíz 1 del AD explicó el 47.6% de la varianza y la raíz 2 el 25.2%, representando en conjunto el 72.8% de la varianza total (Fig. 5).

Tabla 5. Resultados pareados de la prueba no paramétrica de PERMANOVA (diagonal superior) y ANOSIM (diagonal inferior) obtenida en este estudio. En negrita aquellos valores con $P > 0.05$. Para la ETN *Urotygon caudispinosus* no fue posible realizar la prueba de ANOSIM debido al bajo número de muestras.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1. <i>Urotygon asterias</i>		0.0001	0.0798	0.0001	0.0001	0.0001	0.0137	0.0277	0.4425
2. <i>Urotygon aspidura</i>	0.0001		0.0002	0.0001	0.0001	0.0001	0.0456	0.0572	0.5476
3. <i>Urotygon chilensis</i>	0.2597	0.0001		0.0001	0.0001	0.0001	0.2129	0.0232	0.1618
4. <i>Urotygon rogersi</i>	0.0001	0.0001	0.0001		0.0001	0.0001	0.3564	0.2419	0.3391
5. <i>Urotygon nana</i>	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001		0.0001	0.0039	0.0009	0.0893
6. <i>Urotygon microphthalmum</i>	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001		0.0044	0.0004	0.231
7. <i>Urotygon cimar</i>	0.0222	0.029	0.0032	0.0039	0.0404	0.0006		0.2355	0.2519
8. <i>Urotygon munda</i>	0.0001	0.0004	0.0001	0.0001	0.0025	0.0001	0.6139		0.2355
9. <i>Urotygon caudispinosus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabla 6. Variables morfométricas seleccionadas por el modelo de Análisis Discriminante forward step wise para la separación y determinación de especies del género *Urotrygon* analizadas en esta investigación. El número de las variables corresponde con los detallados en la figura 2.

#	Variable	Step	F to	p-value	Lambda	F-value	p-value
17		1	61.81254	0.000000	0.271186	61.81253	0.00
9		2	34.46488	0.000000	0.108136	46.65134	0.00
12		3	21.23715	0.000000	0.055885	37.67079	0.00
5		4	13.04785	0.000000	0.035413	31.11958	0.00
10		5	7.94714	0.000000	0.026148	26.09752	0.00
18		6	6.71158	0.000001	0.020096	22.75948	0.00
3		7	6.43863	0.000001	0.015569	20.51427	0.00
16		8	5.27776	0.000020	0.012557	18.69556	0.00
6		9	5.04706	0.000036	0.010201	17.31802	0.00
2		10	4.97697	0.000043	0.008299	16.26108	0.00
4		11	4.73576	0.000078	0.006805	15.39769	0.00
19		12	3.72648	0.000952	0.005797	14.54621	0.00
11		13	3.61929	0.001244	0.004954	13.83257	0.00
14		14	3.21513	0.003353	0.004301	13.17984	0.00
13		15	3.07151	0.004764	0.003752	12.60808	0.00
8		16	2.84525	0.008234	0.003301	12.08880	0.00

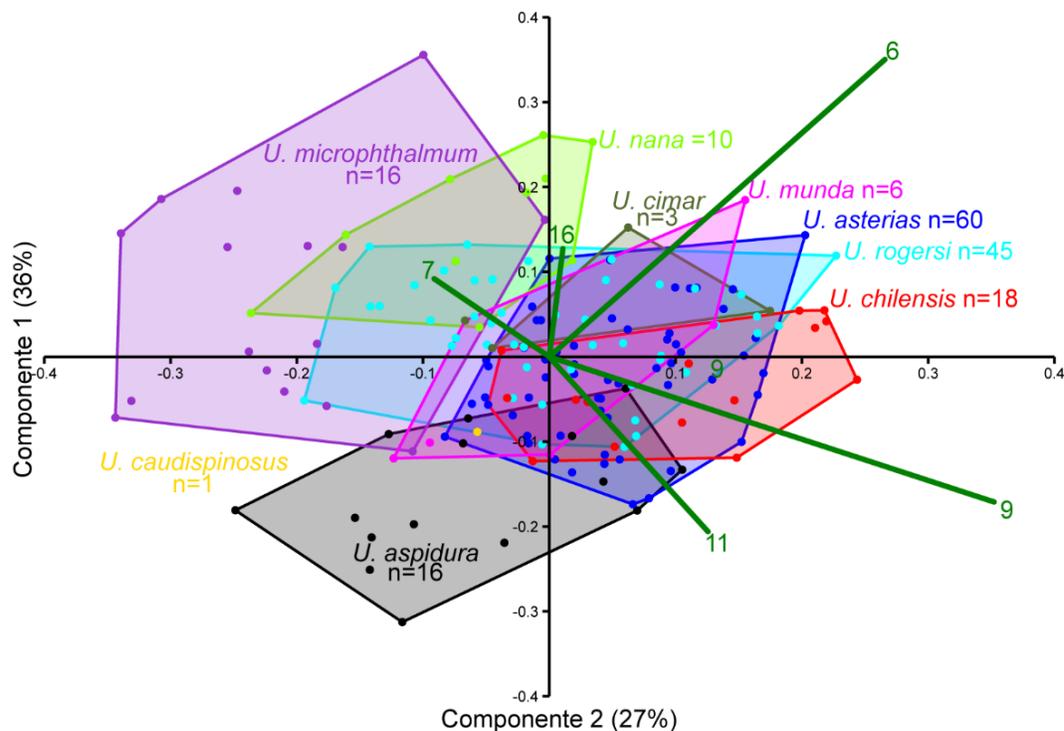


Figura 4. Biplot de la distribución en el morfoespacio multidimensional de los ejemplares por entidad taxonómica nominal de *Urotrygon* y las cinco variables morfométricas obtenidos en los primeros dos componentes principales del espacio multidimensional del ACP.). Alto del lóbulo dorsal (6), Longitud pre orbital (7), Diámetro del ojo (9), Diámetro del espiráculo (11) y Ancho cortina nasal (16).

Las ETNs *U. microphthalmum*, *U. nana*, *U. munda* y *U. cimara* se caracterizaron por tener una menor amplitud del LIB1. En general, y con base en las medidas morfométricas realizadas en este estudio, todas las ETNs ocuparon diferentes lugares en el morfoespacio del AD (Fig. 5). Considerando el tamaño de muestra y la sobreposición de las elipses con 95% de confianza, las ETNs de *U. chilensis* y *U. asterias* fueron las más similares morfológicamente (Fig. 5). La matriz de clasificación del AD considerando las variables del modelo forward stepwise, soportó el 91.1% de asignación correcta (Tabla 7). La mayor incertidumbre (66.6% de acierto) se obtuvo para *U. chilensis* mientras que valores de 100% de acierto se obtuvieron para las ETNs *U. munda* y *U. cimara*. Valores cercanos y superiores a 90% fueron obtenidos para las ETNs de *U. asterias*, *U. aspidura*, *U. rogersi*, *U. nana*, *U. microphthalmum* (Tabla 7).

Tabla 7. Matriz de clasificación del Análisis Discriminante (AD) morfométrico aplicado en las entidades taxonómicas de *Urotrygon* incluidas en este estudio. Se incluye el porcentaje de acierto para cada ETN de *Urotrygon*. En negrita (diagonal) se incluyen el número de individuos correctamente asignado por el AD y los asignados *a priori*. Se incluyen el número de ejemplares (no coincidentes con la asignación *a priori*) por la matriz de clasificación AD basado en su morfometría a otras ETN.

	% de acierto	1	2	3	4	5	6	7	8
1. <i>Urotrygon asterias</i>	98.3	57	0	1	0	0	0	0	0
2. <i>Urotrygon aspidura</i>	86.7	0	13	1	1	0	0	0	0
3. <i>Urotrygon chilensis</i>	66.7	4	1	10	0	0	0	0	0
4. <i>Urotrygon rogersi</i>	89.1	4	0	0	41	0	0	1	0
5. <i>Urotrygon nana</i>	90.0	0	0	0	1	9	0	0	0
6. <i>Urotrygon microphthalmum</i>	93.7	0	0	0	1	0	15	0	0
7. <i>Urotrygon cimar</i>	100.0	0	0	0	0	0	0	4	0
8. <i>Urotrygon munda</i>	100.0	0	0	0	0	0	0	0	5
Total	91.1	65	14	12	44	9	15	5	5

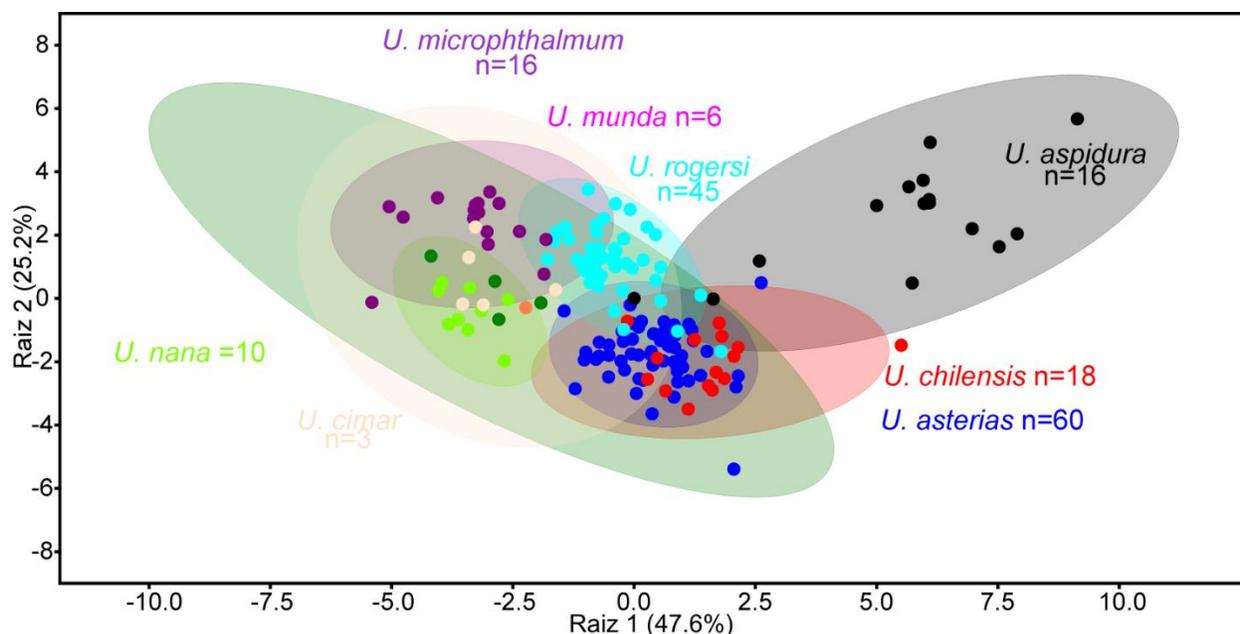


Figura 5. Representación gráfica bidimensional (raíz 1 y raíz 2) del Análisis Discriminante con forward stepwise aplicado con 16 variables morfométricas en 175 individuos de *Urotrygon* spp. con sus elipses de 95% de confianza.

Los resultados de las distancias cuadráticas de Mahalanobis entre los centroides de las ETNs, variaron entre 7.62 y 99.6 (Tabla 8). La menor distancia estimada fue entre *U. chilensis* y *U. asterias* (7.628), lo cual, es congruente con lo obtenido en los AD y la alta similitud morfológica existente entre estas ETNs. Por otro lado, la ETN con la distancia mayor fue *U. aspidura* con 50.7 (*U. chilensis* y *U. rogersi* y *U. asterias*) y valores superiores a 90.9 (con *U. nana*, *U. microphthalmum*, *U. cimar* y *U. munda*) (Tabla 8).

Tabla 8. Distancias cuadráticas de Mahalanobis entre las entidades taxonómicas nominales estudiadas. *U. asterias* (1), *U. aspidura* (2), *U. chilensis* (3), *U. rogersi* (4), *U. nana* (5), *U. microphthalmum* (6), *U. cimar* (7) y *U. munda* (8).

ETN	1	2	3	4	5	6	7	8
1	0.000	51.682	7.628	13.045	28.550	34.067	29.435	38.205
2		0.000	50.702	50.709	99.964	90.980	97.676	99.533
3			0.000	17.680	47.495	49.220	50.389	60.810
4				0.000	28.484	18.118	26.086	36.920
5					0.000	26.953	31.609	34.559
6						0.000	28.478	33.100
7							0.000	16.405
8								0.000

Los resultados basados en merística, sobre los individuos analizados, también proporcionaron información congruente, útil, confiable y rápida para distinguir entre las ETNs evaluadas. Por ejemplo, se puede mencionar que el número y ubicación de las espinas dorsales, es de gran utilidad y confiabilidad para discernir entre las ETNs. Es importante señalar que la merística de este carácter puede variar de acuerdo con el estadio sexual del individuo, resultando en un conteo menor en ejemplares juveniles.

Sin embargo, existe cierta congruencia en la ubicación y número de estas espinas entre las especies. En general, los resultados, indican que *U. asterias* y *U. simulatrix* presentan un mayor número de espinas nucales (entre cinco y siete), con respecto a las demás especies analizadas (Tabla 9). De igual forma, estas dos especies registraron el mayor número de espinas a lo largo de la línea media dorsal con un máximo de 42.

Particularmente, los ejemplares de *U. rogersi* CICIMAR-CI 8326 a CICIMAR-CI 8330 obtuvieron los conteos máximos de espinas dorsales para esta especie ($n > 30$). Usencia de espinas dorsales fueron detectadas en las especies *U. munda*, *U. nana* y *U. microphthalmum* y *U. reticulata*. *Urotrygon aspidura* sólo presentó estas espinas exclusivamente en la cola. Las especies restantes presentaron espinas dorsales en con bajos conteos o restringidos a ciertos lugares (Tabla 9).

El número de vértebras entre la zona nocal y la base de la espina aserrada proporcionó información útil para discernir entre las ETNs evaluadas. En general, un menor número de vertebras pre-espina aserrada fue registrado para las especies de *U. venezuelae* ($n=76$) y *U. munda* ($n= 80$) (Tabla 9). Por otro lado, *U. rogersi* registro la mayor cantidad de vertebras, con un mínimo de 100. En algunos casos, el número de radios de la aleta pectoral permitieron diferencias entre las ETNs (68 *U. venezuelae*, 73 *U. munda*, 88 *U. chilensis* y 89-90 *U. asterias*); sin embargo, en otros casos como *U. chilensis* y *U. asterias* no fue posible. Una alta sobreposición de la cantidad de radios pélvicos fue determinada para todas las especies analizadas (Tabla 9).

Tabla 9. Datos merísticos obtenidos para las especies de *Urotrygon* Gill, 1862. MM= (Miyake and McEachran, 1986), N=Nishida (1990), MD= Montes-Domiguez, (2001), L= Last *et al.* (2016), S= Schultz (1944), PE=Presente estudio. H= Holotipo, S=Syntipo. ROM= Royal Ontario Museum. USNM=Museo de Historia Natural, NE=No evaluado

Variable/Especie	<i>U. munda</i>	<i>U. chilensis</i>	<i>U. asterias</i>
Dientes mandíbula superior	27-36 (Mode 31) ^{MM} ; 23 ^{MD}	37 ^{MM} ; 20 ^{MD}	32-48 (moda 38) ^{MM} ; 24 ^{OM} ; 36 CI-CICIMAR 8335 ^{PE}
Vertebras pre-espina aserrada	72-77 ^{MM, L} ; 80(S) ^{PE}	78 ^{PE} ; 81(H) ^{PE} ; 85 ^{MM} ; 84-97 ^L	84-97 (mode 89) ^{MM} ; 88 ^N ; 94 USNM 131021 X-Ray ^{TS} 88 CI-CICIMAR 8335 ^{PE}
Espinas nucales	0-2	1-6. Común una espina en ejemplares <220 mm LT. Moda= 3 (n=8/28). Raro >4 (n=6/28)	2-8. Moda 5 o más (n=34/48). Raro <5 (14/48) ^{PE}
Espinas viscerales	0	0-8 espinas ^{PE}	2-16. Usualmente 4 – 6 espinas (n=18/48). Sin embargo, 17 individuos con ≥ 10 fueron registrados ^{PE}
Espinas de la cola	0	0-10 espinas. Usualmente <7. Raro >8 (individuos >300mm LT), pero otros con talla similar presentaron 3, 4 and 5 espinas ^{PE}	3-19. Moda = 6 (9/48). 50% (24 ejemplares) con ≥ 10 espinas ^{PE}
Total de espinas	1-3	1-18. Usualmente <10. Raro >15 (n=7/28, >300 mm TL) ^{PE}	10-42. Moda 16 (n=7/48). Raro <15 (n=12/48). 36 o más (10/48) ^{PE} .
Radios pélvicos	14 ^N ; 23 ^{OM} ; 22(S) ^{PE}	21 ^{MD} ; 22 (H) ^{PE}	19-20 ^N ; 18-22 ^{MD} ; 17-20 CI-CICIMAR 8334-8335, USNM 131021 X-Ray ^{PE}
Radios Propterygium	32 ^N 38-39 (S) ^{PE}	42 (H) ^{PE}	42 ^N ; 41 USNM 131021 X-Ray ^{PE}
Radios Mesopterygium	6 ^N ; 6 (S) ^{PE}	12 (H) ^{PE}	11 ^N ; 11 USNM 131021 X-Ray ^{PE}
Radios Metapterygium	21 ^N ; 29-28 (S) ^{PE}	34 (H) ^{PE}	37 ^N ; 38 USNM 131021 X-Ray ^{PE}
Total radios pectoral	59 ^N ; 65 ^{MD} ; 73-73 (S) ^{PE}	80 ^{MD} ; 88 (H) ^{PE}	90 ^N ; 82 ^{MD} ; 89-90 CI-CICIMAR 8334-8335, USNM 131021 X-Ray ^{PE}

Continuación

Variable/Especie	<i>U. rogersi</i>	<i>U. aspidura</i>	<i>U. nana</i>	<i>U. cimar</i>	<i>U. reticulata</i>
Dientes mandíbula superior	32-46 (Media 38) ^{MM,L}	28-46 ^{MM,L} ; 25 ^{MD}	27 ^{MD} ; 29-35 ^{MM,L}	NE	34-38 ^{MM,L}
Vertebras pre-espina aserrada	93-103 ^{MM, L} ; 100(H) CAS-11700 X-Ray ^{PE} ; 103 ^{PE}	84-94 (media 90) ^{MM,L}	57-67 ^{MM,L}	75-77 ^{LB,L}	68-69 ^L
Espinas nucales	1-6. Moda 3. Raro >5 (individuos >570cm LT)	0 ^{MM,L,PE}	0 ^{MM,L,MD,PE}	0-3 ^{LB,L,PE}	0 (H) ^{PE}
Espinas viscerales	1-15. Raro >10 individuos >570cm LT (e.g. CICIMAR-CI 8326 - 8330)	0 ^{MM,L,PE}	0 ^{MM,L,MD,PE}	0 ^{LB,L,PE}	0 (H) ^{PE}
Espinas de la cola	1-17. Raro >10 individuos >570cm LT (e.g. CICIMAR-CI 8326 - 8330)	0-8 ^{MM,L,PE}	0 ^{MM,L,MD,PE}	0 ^{LB,L,PE}	0 (H) ^{PE}
Total de espinas	2-35. Raro >20 individuos >500cm LT (e.g. CICIMAR-CI 8326 - 8330)	0-8 ^{MM,L,PE}	0 ^{MM,L,MD,PE}	0-3 ^{LB,L,PE}	0 (H) ^{PE}
Radios pélvicos	25(H) CAS-11700 X-Ray ^{TS}	NE	NE	NE	NE
Radios Propterygium	44(H) CAS-11700 X-Ray ^{TS}	NE	33 ROM 66837 CT-SCAN ^{PE}	NE	NE
Radios Mesopterygium	10(H) CAS-11700 X-Ray ^{TS}	NE	7 ROM 66837 CT-SCAN ^{PE}	NE	NE
Radios Metapterygium	40 (H) CAS-11700 X-Ray ^{TS}	NE	NE	NE	NE
Total radios pectoral	94 (H) CAS-11700 X-Ray ^{TS}	NE	NE	NE	NE

Continuación

Variable/Especie	<i>U. simulatrix</i>	<i>U. venezuelae</i>	<i>U. microphthalmum</i>
Dientes mandíbula superior	29-35 ^{MM,L}	30 ^S ;27-38 (Media 31) ^{MM,L}	28-43 (media 34) ^{MM}
Vertebras pre-espina aserrada	83-86 ^{MM,L}	74-76 (Media 75) ^{MM,L} ; 76 TCWC 7055 X-Ray ^{PE}	66-77 (media 72) ^{MM}
Espinas nucales	7 (H) ^{PE}	3 ^{PE}	0 MM, TS
Espinas viscerales	16 (H) ^{PE}	8 ^{PE}	0 MM, TS
Espinas de la cola	19 (H) ^{PE}	10 ^{PE}	0 MM, TS
Total de espinas	42 (H) ^{PE}	21 ^{PE}	0 MM, TS
Radios pélvicos	NE	NE	NE
Radios Propterygium	NE	NE	NE
Radios Mesopterygium	NE	NE	NE
Radios Metapterygium	NE	NE	NE
Total radios pectoral	NE	68 TCWC 7055 X-Ray ^{PE}	NE

Se secunecieron un total de 45 ejemplares pertenecientes a siete ETNs provenientes de diferentes eco-regiones marinas para obtener la información del gen NADH₂ (Fig. 6). Dos secuencias disponibles en bases datos en línea fueron incluidos en los análisis (*i.e.*, *Urotrygon cf. simulatrix* JQ518942.1 y *Urotrygon rogersi* JQ519162.1). El cladograma obtenido a partir de estas secuencias indicó la presencia de siete clados asociados a siete ETNs, estadísticamente soportados mediante re-muestreos con valores del 100% (Fig. 6). Lo anterior, también puede ser observado mediante las distancias netas entre las ETNs analizadas (Tabla 10), validando a siete especies como sinonimia senior (*i.e.*, *U. asterias*, *U. chilensis*, *U. venezuelae*, *U. munda*, *U. cimar*, *U. aspidura* y *U. rogersi*). La menor distancia genética neta entre *U. asterias* y *U. chilensis* fue de 0.045 (4.5%) (Tabla 10), congruente con el resultado obtenido del análisis morfológico.

La secuencia *U. cf. simulatrix* se integró al clado de *U. asterias* (Fig. 6) sin mostrar una diferencia genética con esta especie (Tabla 10). Se detectaron dos subclados de *U. asterias*, los cuales presentaron una distancia neta de ≈1%. A diferencia *U. asterias*, en *U. rogersi* no se observaron subclados asociados a sitios geográficos particulares a pesar de la amplia área geográfica considerada durante la recolecta (Fig. 6). *Urotrygon cimar* y *U. munda* formaron clados independientes bien soportados. Un individuo identificado originalmente de manera incorrecta como *Urotrygon munda* fue reconocido genéticamente como *U. cimar*.

Los resultados obtenidos del cladograma obtenido a partir del gen COI (400 pb) (Fig. 7), fueron similares a los obtenidos a partir del NADH₂. A pesar de su menor tasa de evolución, el COI también permitió reconocer la presencia de los siete clados identificados mediante el NADH₂ (Fig. 7). A partir del análisis del COI, se pudieron identificar a nivel de especies soportados con valores altos de *bootstrap* las secuencias disponibles en la base de datos del *Bold System*. La secuencia rotulada como *Urotrygon* sp. KERRI 337.08.COI-5P se agrupó con *U. asterias*, las rotuladas como MBMAP051-17.COI y KY572908, se agruparon con *U. chilensis* y las rotuladas como *Urotrygon* sp. KERRI 336.08.COI-5P y *Urotrygon* sp. KERRI 338.08.COI-5P como *U. rogersi* (Fig. 7). Las secuencias rotuladas como *Urotrygon venezuelae* MN105754.1 y *Urotrygon venezuelae* GBMNB8850-20.COI-5P no correspondieron al clado identificado como *U.*

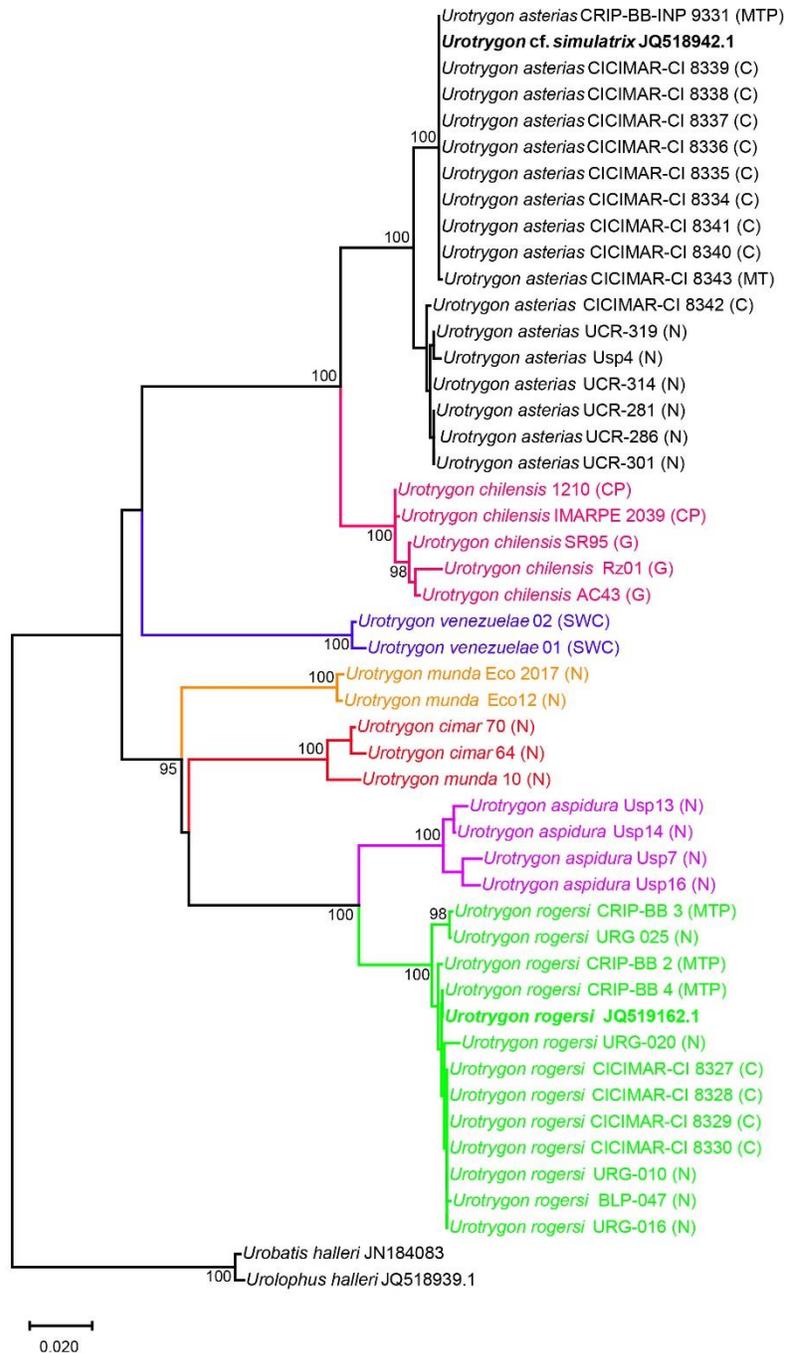


Figura 6. Cladograma del gen mitocondrial NADH₂ (900 pb) de las entidades taxonómicas nominales del género *Urotrygon* obtenidas en este estudio. Secuencias disponibles en bases de datos en línea están resaltadas en fuente negra junto con el código de acceso. Fuentes de cada color indican las diferentes especies consideradas como válidas en esta investigación. Entre paréntesis se incluye la ecorregión marina (por sus siglas en inglés) de recolecta del individuo analizado: Corteziana (C), Perú Central (CP), Guayaquil (G), Transición Magdalena (MT), Pacífico Tropical Mexicano (MTP), Nicoya (N) y Caribe suroccidental (SWC).

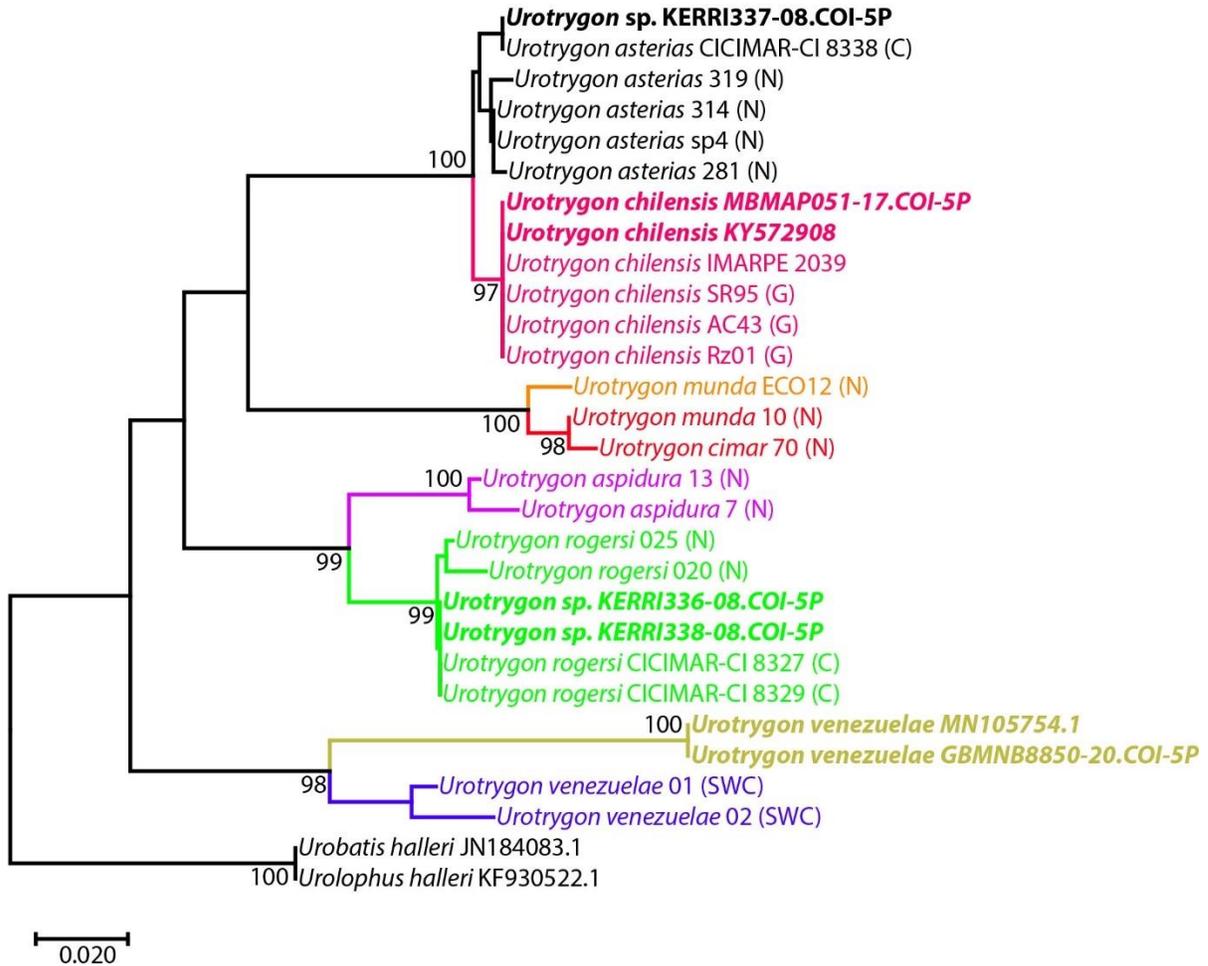


Figura 7. Cladograma del gen mitocondrial COI (400 pb) de las entidades taxonómicas nominales del género *Urotrygon* obtenidas en este estudio. Secuencias disponibles en bases de datos en línea están resaltadas en fuente negrita junto con el código de acceso. Fuentes de cada color indican las diferentes especies consideradas como válidas en esta investigación. Entre paréntesis se incluye la ecorregión marina (por sus siglas en inglés) de recolecta del individuo analizado: Corteziana (C), Perú Central (CP), Guayaquil (G), Nicoya (N) y Caribe suroccidental (SWC).

Tabla 10. Distancias genéticas netas (NADH₂ con 900 pb) entre las entidades taxonómicas nominales de *Urotrygon* analizadas en este estudio. Diagonal inferior valor promedio de las distancias y diagonal superior el error estándar.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1. <i>Urotrygon asterias</i>		0.001	0.006	0.014	0.014	0.016	0.016	0.015	0.016
2. <i>Urotrygon cf. simulatrix</i>	0.002		0.007	0.014	0.015	0.016	0.017	0.015	0.016
3. <i>Urotrygon chilensis</i>	0.045	0.050		0.014	0.014	0.015	0.015	0.014	0.015
4. <i>Urotrygon cimar</i>	0.162	0.167	0.163		0.011	0.012	0.012	0.014	0.014
5. <i>Urotrygon munda</i>	0.165	0.174	0.158	0.097		0.013	0.013	0.014	0.016
6. <i>Urotrygon aspidura</i>	0.200	0.204	0.196	0.133	0.135		0.007	0.015	0.016
7. <i>Urotrygon rogersi</i>	0.199	0.207	0.187	0.127	0.139	0.054		0.014	0.016
8. <i>Urotrygon venezuelae</i>	0.158	0.164	0.146	0.158	0.137	0.179	0.177		0.015
9. <i>Urobatis halleri</i>	0.201	0.205	0.201	0.168	0.181	0.211	0.194	0.179	

Tabla 11. Distancias genéticas netas (COI con 400 pb) entre las entidades taxonómicas nominales de *Urotrygon* analizadas en este estudio. Diagonal inferior valor promedio de las distancias y diagonal superior el error estándar. Secuencias de *U. venezuelae* obtenidas en este estudio (SWC) y las disponibles en bases de datos en línea (*).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1. <i>Urotrygon asterias</i>		0.004	0.018	0.018	0.020	0.019	0.020	0.028	0.022
2. <i>Urotrygon chilensis</i>	0.010		0.018	0.019	0.020	0.019	0.020	0.028	0.023
3. <i>Urotrygon cimar</i>	0.125	0.124		0.007	0.020	0.022	0.020	0.026	0.025
4. <i>Urotrygon munda</i>	0.123	0.127	0.018		0.020	0.022	0.019	0.026	0.026
5. <i>Urotrygon aspidura</i>	0.131	0.130	0.140	0.139		0.011	0.020	0.024	0.025
6. <i>Urotrygon rogersi</i>	0.122	0.125	0.150	0.149	0.046		0.020	0.021	0.023
7. <i>Urotrygon venezuelae</i> SWC	0.132	0.134	0.134	0.132	0.136	0.133		0.016	0.023
8. <i>Urotrygon venezuelae</i> *	0.213	0.216	0.209	0.211	0.183	0.157	0.096		0.025
9. <i>Urobatis halleri</i>	0.166	0.168	0.192	0.201	0.174	0.163	0.163	0.197	

venezuelae (SWC). Esto refleja una mala identificación de las secuencias en línea, resultando en la presencia de una especie adicional (Fig. 7). Las distancias interespecíficas netas del COI de *Urotrygon* variaron entre 0.010 (1%) y 0.183 (18.3%) (Tabla 11). *Urotrygon asterias* y *U. chilensis* presentaron la menor distancia genética (1.0%). Es importante mencionar, que las mayores distancias netas (e.g., >20%) se observaron entre las secuencias de *Urotrygon venezuelae* publicadas en línea, y las de las especies del mismo género; incluso fueron mayores que las estimadas entre *Urobatris halleri* (grupo externo) y algunas de las especies de *Urotrygon* (Tabla 11).

En resumen, de las 12 ETNs de *Urotrygon* evaluadas en la presente investigación desde un enfoque taxonómico integrativo, un total de nueve especies fueron considerados como sinonimias senior (*i.e.*, especies válidas) (Tabla 12). A pesar del bajo número de ejemplares analizados para las especies restantes (*i.e.*, *U. caudispinosus*, *U. peruanus* y *U. serrula*), los resultados obtenidos arrojan que deben ser consideradas como sinonimias junior. Desafortunadamente, no fue posible incluir en este estudio ejemplares de las especies de *U. simulatrix* y *U. reticulata*, debido al escaso número de individuos disponibles o catalogados en los museos y colecciones ictiológicas.

Tabla 12. Resumen de las entidades taxonómicas nominales de *Urotrygon* evaluadas con un enfoque taxonómico integrativo (+) en este estudio. La propuesta y dictamen del estatus taxonómico (*i.e.* senior o junior) de cada ETN está basado en estos resultados e interpretación. No Evaluado (NE). Conclusiones basado en secuencias genéticas depositadas en bases de datos en línea (*).

ENTIDAD TAXONÓMICA NOMINAL	MORFOMETRÍA	GENÉTICA	ESTATUS TAXONÓMICO
<i>Urotrygon aspidura</i>	+	+	Sinomia Senior
<i>Urotrygon asterias</i>	+	+	Sinomia Senior
<i>Urotrygon caudispinosus</i>	-	-*	Sinomia Junior
<i>Urotrygon chilensis</i>	+	+	Sinomia Senior
<i>Urotrygon cimar</i>	+	+	Sinomia Senior
<i>Urotrygon microphthalmum</i>	+	+	Sinomia Senior
<i>Urotrygon munda</i>	+	+	Sinomia Senior
<i>Urotrygon nana</i>	+	NE	Sinomia Senior
<i>Urotrygon peruanus</i>	-	-*	Sinomia Junior
<i>Urotrygon rogersi</i>	+	+	Sinomia Senior
<i>Urotrygon serrula</i>	-	-*	Sinomia Junior
<i>Urotrygon venezuelae</i>	NE	+	Sinomia Senior
Total = 12	8	8	9

ANÁLISIS FILOGENÉTICO

Los análisis basados en la Inferencia Bayesiana (IB) fueron soportados y respaldados con un tamaño efectivo de la muestra (SSE) mayores a 200 (*i.e.*, >500). Con la información recabada en la presente investigación, los resultados filogenéticos basados en ML e IB son congruentes entre si, recuperando la monofilia del género *Urotrygon* (Fig. 8). Las topologías filogenéticas obtenidas con ambos enfoques fueron muy similares, con nodos soportados por los remuestreos en los nodos, tanto para el árbol basado en ML como para el de probabilidad posterior (PP) en el cladograma basado en IB (Fig. 8). *Urotrygon asterias* y *U. chilensis* fueron ubicadas como las especies evolutivamente más cercanas, recientes o hermanas del género *Urotrygon* (Fig. 8). Las otras especies hermanas detectadas a partir de este análisis fueron *U. munda* y *U. cimar*, y *U. rogersi* y *U. aspidura*. Estos árboles filogenéticos son congruentes con los resultados obtenido del análisis fenotípico ya que las especies que fueron encontradas morfológicamente mas similares fueron las que indicaron una historia evolutiva mas cercana en el cladograma de consenso.

Las estimaciones de los tiempos de divergencia basados en ML, sugieren que la primera radiación evolutiva de este género ocurrió hace aproximadamente 24 millones de años (Ma) (Fig. 9). Es posible estimar una especiación en los urotrigónides distribuidas actualmente en el Pacífico, en los últimos 8.0 a 3.0 Ma. La especiación más reciente (*U. asterias* y *U. chilensis*) ocurrió hace 3.5 Ma. Los resultados obtenidos a partir de la IB, fueron similares y congruentes con lo obtenido a partir de ML, aunque en todos los casos las estimaciones por IB fueron ligeramente superiores. Sin embargo, los valores obtenidos por ML se encontraron dentro del intervalo mas corto de credibilidad en una densidad posterior (Highest Posterior Density o HDP en inglés) para un nivel de confianza del 95% (Fig. 10). Las fechas de separación entre los dos clados principales fue estimada en 29.0 ± 10.0 Ma; seguida de la divergencia de cada clado alrededor de 23.0 Ma. La estimación de las fechas de especiación de las especies hermanas fue también consistente entre ambos métodos (<10 Ma).

ANÁLISIS BIOGEOGRÁFICO

Los resultados del análisis biogeográfico S-DIVA, indican que procesos de dispersión, vicarianza y extinción, fueron determinantes en la distribución y especiación

del género *Urotygon* (Fig. 11). A su vez, los resultados obtenidos identifican nodos, en los cuales, dos o más de estos procesos ocurrieron de forma simultánea en un mismo nodo (Fig. 11). El evento sugerido más frecuente fue el de dispersión, el cual fue asociado a cinco de los seis nodos. Los únicos dos procesos de vicarianza han sido estimados durante la era del Pleistoceno y detectados en los nodos 14 y 15, el primero correspondiente a la divergencia entre *U. asterias* y *U. chilensis* (≈ 4 Ma); mientras que, el segundo ocurrió durante la era del Oligoceno tardío (≈ 23 Ma) (Fig. 10). El único evento de extinción (combinado con vicarianza y dispersión) se detectó a finales del Oligoceno (≈ 23 Ma), en el nodo 15, que separa a *U. venezuelae* de sus conoespecíficos del clado I (i.e. *U. asterias* y *U. chilensis*).

Los eventos geológicos continentales ocurridos en los últimos 10 Ma, han sido cruciales para la distribución geográfica actual de las especies del género *Urotrygon* (Fig. 11). Entre estos eventos geológicos, la conclusión del Pebas y el cierre de Panamá, han repercutido en la biogeografía de este género. Sin embargo, otros eventos, como la formación de las “protoantillas” y del mismo istmo de Panamá, permitieron el desarrollo de procesos de dispersión, vicarianza y extinción previamente señalados y asociados al nodo de *U. venezuelae* (Fig. 11) durante el Oligoceno y Plioceno.

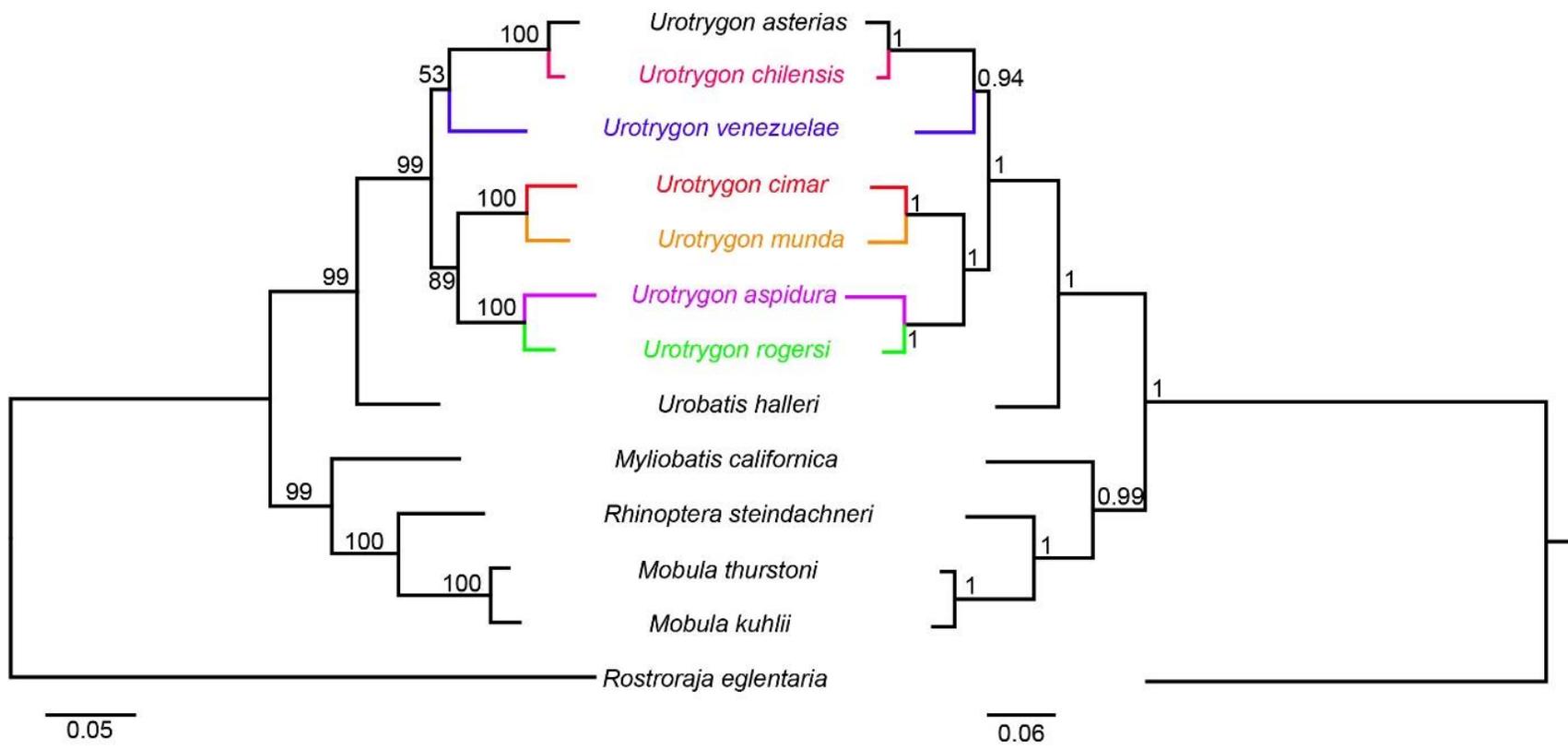


Figura 8. Cladogramas filogenéticos del género *Urotrygon* analizadas en esta investigación. El cladograma izquierdo corresponde al árbol obtenido con IB cuyos valores de probabilidad posterior obtenido está incluido en cada nodo. El cladograma derecho corresponde a la topología y valores de bootstrap de cada nodo con ML.

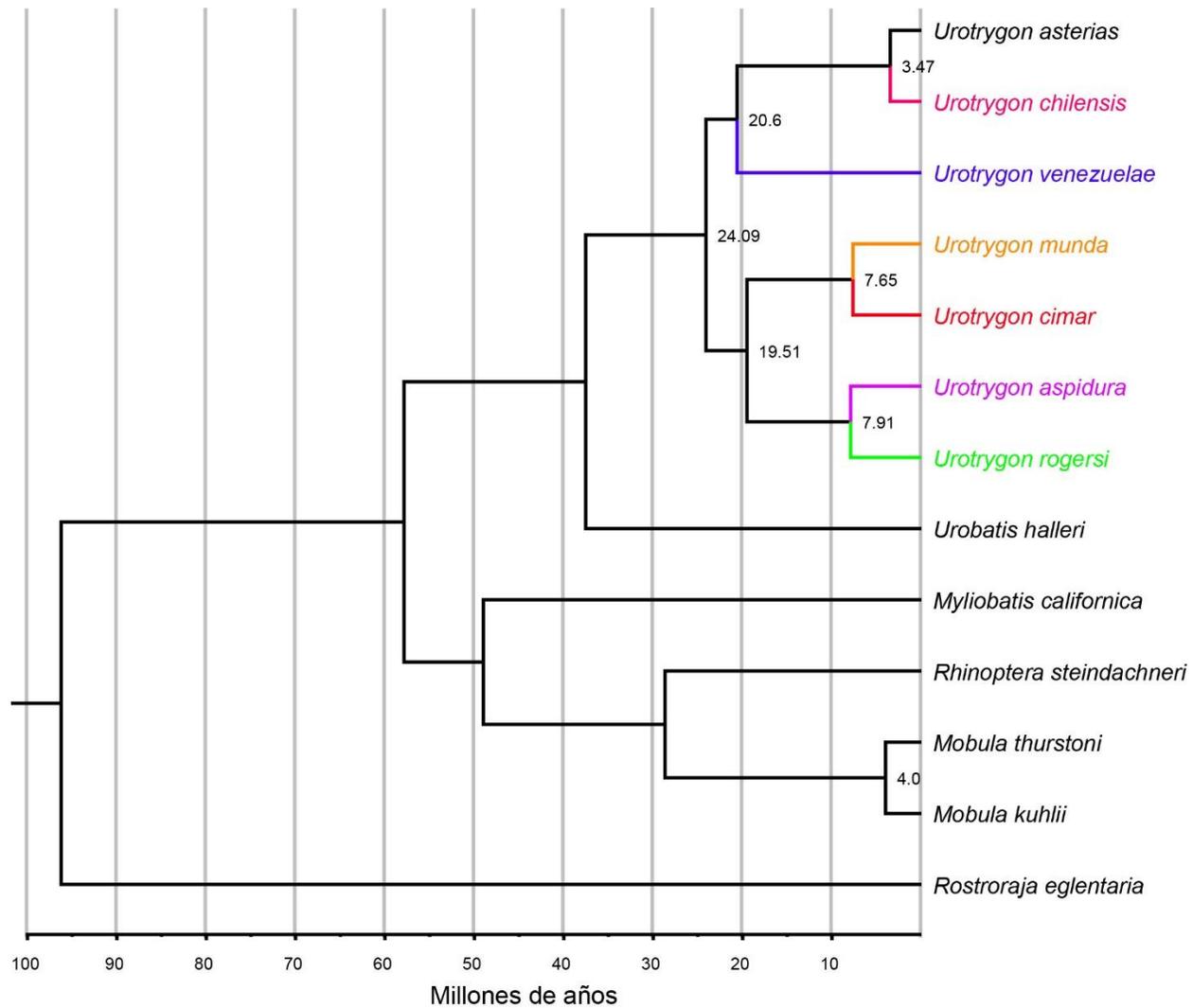


Figura 9. Tiempo de divergencia basado en ML entre las especies de *Urotrygon* analizadas en este estudio.

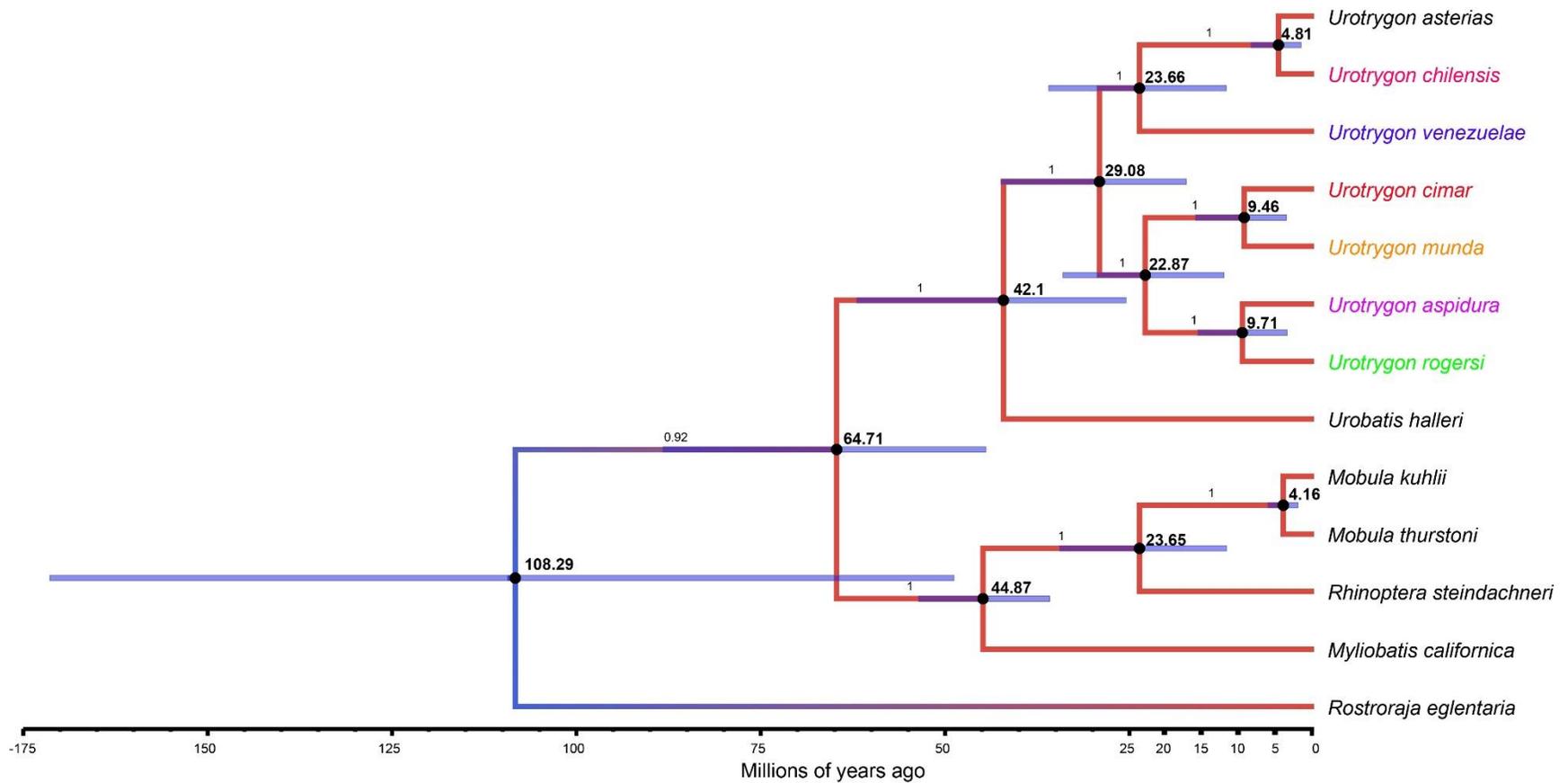


Figura 10. Tiempo de divergencia basado en Inferencia Bayesiana entre las especies de *Urotrygon* analizadas en este estudio. Líneas azules indican tasas de mutación lentas mientras las líneas rojas indican tasas de mutación rápida.

DISCUSIÓN

Diversos holotipos o series tipo, de las especies nominales de *Urotrygon*, han sido mencionado con un estatus de “extraviado” o con la leyenda de “mal etiquetado” (Gilbert y Starks, 1904, Frieke *et al.*, 2021). En el presente estudio, no fue posible obtener información ni registro fotográfico de la serie tipo de tres especies (*U. venezuelae*, *U. binghami* ni *U. cimar*); por lo que, 13 de las 16 ETNs reconocidas inicialmente (Tabla 1) fue posible encontrar registros físicos de los holotipos para ser analizadas y procesadas. Además de la ausencia del holotipo de *U. munda* mencionado por Gilbert y Starks (1904), es muy probable que los ejemplares tipo de *Urotrygon binghami* Breder, 1928 y de *Urotrygon reticulata* Miyake y McEachran, 1988, también se encuentre extraviados. Esta conjetura esta basada a partir de la información obtenida (comunicación personal) en esta investigación por Gregory J. Watkins-Colwell (2019), Curador del Yale Peabody Museum of Natural History, Estados Unidos (para la especie *U. binghami*). Por otro lado, Sandra Raredon (2020) especialista de la colección ictiología de *National Museum of Natural History* fue la persona en informar la ausencia del holotipo de *U. simulatrix*.

El “extravío” físico de ejemplares, es recurrente en colecciones y museos ictiológicos a nivel mundial y está asociado a diferentes causas, como reubicaciones y préstamos a su destrucción por eventos históricos naturales o de las guerras (Thiel, 2009; Smith 2018, Ehemann *et al.*, 2021). Esta situación, repercute y afecta el proceso de revisión taxonómica, particularmente, cuando pocos ejemplares son almacenados y etiquetados, como es el caso del género *Urotrygon*. La ausencia del holotipo de *U. munda* sin duda alguna ha sido un factor determinante en la confusión e incertidumbre acerca de la validez taxonómica (histórica y reciente) de otras especies como *U. asterias* y *U. rogersi* (Tabla 2).

La diferencia entre la determinación taxonómica preva considerada en los ejemplares catalogados en colecciones y museos consultados y la revisión e identificación en el presente estudio empleando los mismos ejemplares, soporta lo previamente señalado para este género por Castro-Aguirre y Espinoza Pérez (1996), Valenti *et al.* (2009) y Ehemann *et al.* (2018). De acuerdo con estos autores, la elevada incertidumbre taxonómica está principalmente relacionada con la alta variabilidad fenotípica, la cual dificulta una acertada determinación taxonómica. Aunado a lo anterior,

se detectó que el uso común de criterios taxonómicos mezclados provenientes de las especies (producto de la incorrecta sinonimización o de los diferentes estadios de madurez sexual de los organismos), sumado a la poca disponibilidad de especímenes y morfotipos de *Urotrygon* para fines comparativos entre especies, dificulta una acertada y confiable determinación taxonómica.

La identificación taxonómica de ejemplares de *Urotrygon*, basados exclusivamente en caracteres fenotípicos, ha contribuido a esta elevada incertidumbre o confusión taxonómica. Esto repercute además, en la información sobre la distribución geográfica exacta (Miyake y McEachran, 1988; Castro-Aguirre y Espinoza Pérez, 1996; Chirichigno y Velez, 1998). De este modo se puede citar la presencia de puntos o manchas de color negro de forma irregular en la zona dorsal de los individuos, misma que ha sido referida como característica de la especie *U. chilensis* (e.g., Günther, 1872; Beebe y Tee-Van 1941; Miyake y McEachran 1986, 1988). Sin embargo, en la descripción original de *U. asterias* por Jordan y Gilbert (1883), también mencionan ejemplares con esta particularidad. Recientemente, ha sido señalada la presencia eventual de puntos negros sobre el disco dorsal en ejemplares de *U. rogersi* (Mejía-Falla *et al.*, 2011). Esta “particularidad” de las manchas negras dorsales sigue vigente en las claves de identificación taxonómica y atlas de las especies de batomorfos como un carácter diagnóstico exclusivo para *U. chilensis* (e.g., Castro-Aguirre y Espinoza Pérez 1996, Chirichigno y Velez, 1998; Last *et al.*, 2016). Un caso similar fue detectado en la presente investigación, al considerar la determinación taxonómica de juveniles, basada en la presencia y ubicación de las espinas dorsales, como ha sido reportado previamente por Miyake y McEachran (1986, 1988). En concordancia con estos autores, se observó que los ejemplares neonatos y juveniles al presentar expresiones morfológicas distintas a las de los adultos, la incertidumbre taxonómica de las determinaciones se incrementa.

Los resultados morfométricos interpretados fueron obtenidos a partir de datos estandarizados y transformados (log). Este procedimiento ha sido empleado en diversos estudios taxonómicos aplicados en elasmobranchios (e.g. Miyake & McEachran 1986, 1987; Smith *et al.*, 2009; Marramá y Kriwet, 2017). Por ende, estos resultados deben ser aplicados con precaución para realizar identificaciones prácticas y rápidas en campo, sobre todo en las áreas geográficas donde co-existen especies morfológicamente

similares.

El ACP y el AD soportaron la detección de distintas ETNs de *Urotrygon*. La variabilidad de algunas características morfométricas observadas puede ser atribuida a la combinación de factores como sitio de recolecta, variabilidad genética, dimorfismo sexual, estadio de madurez sexual, o deformación y reducción por condiciones de la preservación (Smith *et al.*, 2009). En tal contexto, la sobreposición de los polígonos o elipses de las entidades analizadas en un espacio multidimensional (soportado por PERMANOVA y ANOSIM), ha sido asociado a especies o poblaciones que tienen una relación evolutiva cercana entre ellas (Smith *et al.*, 2012; Marramá y Kriwet, 2017), lo cual, explicaría lo observado para *U. chilensis* y *U. asterias*.

En general, las variables morfológicas que mayor aporte brindaron para discernir entre las ETNs, fueron congruentes con las mencionadas por Miyake y McEachran (1986) y estuvieron relacionadas con el sentido de la vista y la locomoción. Las especies de *U. microphthalmum*, *U. nana*, *U. munda* y ahora *U. cimar* se caracterizan por presentar ojos pequeños en relación con las demás especies. Por otra parte, las especies de *U. chilensis*, *U. asterias*, *U. aspidura* y *U. rogersi* se caracterizan por tener una aleta caudal más larga. A pesar, de que la distancia pre-oral proporciona información útil para diferenciar a las especies de *Urotrygon*, se recomienda no considerar exclusivamente esta variable debido a que, al igual que con el ángulo rostral, son influenciados por el sexo y estadio de madurez sexual (Miyake y McEachran, 1986, 1988; Mejía-Falla *et al.*, 2011, 2012; Hleap *et al.*, 2012; Santander-Neto *et al.*, 2016).

La información merística soportó resultados similares a los obtenidos mediante los datos morfométricos (Tabla 8), ratificando que ésta puede ser útil para discernir entre las especies de *Urotrygon* (Miyake y McEachran 1986, 1988, Last *et al.*, 2016a). El número de espinas dorsales fue consistente con lo previamente documentado para cada una de las especies. Un máximo de 42 espinas dorsales fue encontrado en *U. asterias*, concordando con lo mencionado por Montes-Domínguez (2001) con más de 40. De esta ETN, también se encontró un número elevado de espinas dorsales, y una distribución dorsal de los dentículos dérmicos con su base en forma de estrella ha sido descrita desde las primeras revisiones (*e.g.*, Jordan y Gilbert 1883, Meek y Hildebrand, 1923) como recientemente (*e.g.*, Chirichigno y Velez, 1998, Chirichigno y Cornejo, 2001) considerado

como la principal característica para distinguir a *U. asterias* de las demás especies de este género.

La carencia de espinas dorsales (Tabla 8) caracterizó a las especies de *U. microphthalmum*, *U. nana* y *U. reticulata* (Delsman, 1941, Miyake y McEachran 1988, Castro-Aguirre y Espinoza, 1996) y la presencia de algunas espinas dorsales (esparcidas) caracterizó a *U. munda*, *U. cimar*, *U. aspidura* (únicamente en la cola) y *U. rogersi* (Tabla 8) (e.g., Meek y Hildebrand, 1923; Chirichigno y Velez, 1998, Chirichigno y Cornejo, 2001). Particularmente, para *U. rogersi* los registros del número de espinas dorsales (n=35) resultaron superiores a los previamente citados (Miyake y McEachran, 1986; Montes-Domínguez, 2001). Estos resultados particulares, estuvieron asociados con los ejemplares (e.g., CICIMAR-CI 8328-8330) de tallas superiores a los 550 mm LT capturados en la Bahía de La Paz, BCS, México. Estos ejemplares también, constituyen as su vez, las tallas de mayor longitud total y anchura de disco que se hayan registrados no solo para *U. rogersi* sino para la Familia Urotrygonidae (e.g., Miyake y McEachran, 1986; McEachran, 1995, Kobelkowsky, 2010; Del Moral-Flores *et al.*, 2015; Last *et al.* 2016; Ehemann *et al.*, 2017; Montes-Dominguez y González-Isais, 2017; De La Cruz-Agüero *et al.*, 2018, Torres-Palacios *et al.*, 2019). Previamente, una talla de 760 mm LT fue reportada para la especie *Urobatis jamaicensis* por Lieske y Meyers (1994). Sin embargo, éste y otros reportes de *U. jamaicensis* con tallas superiores a 600 mm LT, puede corresponder a “una deducción incorrecta de una estimación ambigua”, dado que la talla máxima para esta especie es de 480 mm LT (Spieler *et al.*, 2013). Finalmente, es plausible hipotetizar que estos altos registros de espinas dorsales en *U. rogersi* puedan estar relacionado con la talla de estos individuos.

Sin embargo, el conteo de vertebras pre-espina aserrada y de radios blandos difirió -para algunas especies- respecto al conteo reportado en trabajos previamente publicados (Tabla 8). En el presente estudio, un número mayor de vertebras (n=80) fue registrado para *U. munda* comparado con los previamente mencionados (n=72-77) por Miyake y McEachran (1986) y Last *et al.* (2016a) (Tabla 8). De forma contraria, menos vertebras fueron registradas para *U. chilensis* (n=78-81) con respecto a otros autores (n=84-97) (Tabla 8). Otras diferencias merísticas, estuvieron relacionadas con el conteo de la hilera de dientes y radios de la aletas pectorales y pélvicas (Tabla 8). Esta

discrepancia puede ser atribuida a diferencias en la metodología para el conteo, calidad de la resolución de las placas de rayos X [e.g., el balance entre la tensión eléctrica (kV) y el tiempo de exposición (mA)], criterio del autor, condición del individuo estudiado (e.g., doblado, encogido), sexo y estado de madurez sexual, entre otras (Miyake y McEachran, 1986; Smith *et al.*, 2009, Last *et al.*, 2014; Beckmann *et al.*, 2015; de Sousa Rangel *et al.*, 2016; Seidel *et al.*, 2016; Navarro-González *et al.*, 2018). Es importante recordar, que estas especies de *Urotrygon* son propensas a ser taxonómicamente mal determinadas (Valenti, 2009); lo cual, puede influir en las diferencias registradas en este estudio, o en los intervalos amplios merísticos reportados por los diferentes autores (Tabla 8), pudiendo pertenecer a dos especies fenotípicamente muy similares (e.g. *U. asterias* y *U. chilensis*) o que eran consideradas como sinónimos en su momento.

La propuesta de emplear información genética proveniente de secuencias de ADN soportó la idea de catalogar toda la biodiversidad de una manera rápida, eficiente, y económica (Hebert *et al.*, 2003; Hebert y Gregory, 2005). En el presente estudio nosotros empleamos, en primera instancia, el gen NADH₂ (y en algunos casos el gen COI) para apoyar la delimitación de especies. Dentro de los condrictios, el gen NADH₂ ha sido empleado como un marcador más apropiado que el COI para delimitar y caracterizar especies (Naylor *et al.*, 2012; Henderson *et al.*, 2016), aunque, ambos genes han sido comúnmente utilizados (Naylor *et al.*, 2012; Henderson *et al.*, 2016; Last *et al.*, 2016c; da Bernardo *et al.*, 2020). Uno de los inconvenientes prácticos del uso de éstos y otros fragmentos del ADN mitocondrial, es que en algunos casos se pretende emitir conclusiones únicamente con base en el valor de los umbrales (*threshold value*) reportados para la delimitación de especies (Toffoli *et al.*, 2010; Henderson *et al.*, 2016; Engel *et al.*, 2021). Particularmente, Toffoli *et al.* (2008) reseñan que uno de los principales problemas de emplear exclusivamente estos umbrales, radica en el hecho de que las especies son entidades naturales que experimentan continuos procesos evolutivos (e.g., demográficos y selectivos), que aumentan o disminuyen la diversidad genética y la coalescencia de especies individuales (Avice, 2000; Hey, 2001, Coyne y Orr, 2004). Por lo tanto, es posible encontrar especies morfológicamente similares, pero genéticamente distintas, así como, especies con diferencias en sus morfologías, pero genéticamente similares (Hrbek *et al.*, 2006; Toffoli *et al.*, 2008; Naylor *et al.*, 2012;

Henderson *et al.*, 2016)

En elasmobranchios, un valor mínimo del umbral interespecífico de $\geq 3.5\%$ (NADH₂) y $\approx 2.0\%$ (COI) ha sido considerado por diversos autores a nivel mundial (Ward *et al.*, 2005; Moura *et al.*, 2008; Wong *et al.*, 2009; Naylor *et al.*, 2012; Henderson *et al.*, 2016; Last *et al.*, 2016b); aunque estos valores podrían también variar (ser inferiores) debido a diferencias en las tasas de mutación y al momento del proceso evolutivo en el cual se encuentren las especies comparadas (Ward *et al.*, 2005; Mendonça *et al.*, 2010; Henderson *et al.*, 2016). En el presente estudio, la distancia mínima interespecífica estimada a partir del NADH₂ para la mayoría de las especies analizadas fue congruente con lo reportado previamente. Debido a que se secuenciaron ambos genes mitocondriales a partir de los mismos individuos, fue posible aportar información conjunta de las distancias interespecíficas para este género a partir de las especies analizadas (para el gen NADH₂ $\geq 4.5\%$ y para el COI $\geq 1.3\%$). Estos umbrales interespecíficos fueron soportados por la detección de los grupos monofiléticos representantes de las ETNs en los árboles de ambos genes (Fig. 6 y 7). De esta manera, nuestros resultados son robustos. Para información detallada referente al complejo de especies de las “rayas moteadas” de *Urotrygon*, y la resurrección taxonómica de *U. asterias* leer Ehemann *et al.* (sometido 1).

Las secuencias genéticas obtenidas en este estudio presentaron un alta similitud con las disponibles en la base de datos en línea del *Barcode of Life System BOLD-ID* (<https://www.boldsystems.org/index.php>) (Tabla 13). Como un corolario de lo anterior, los porcentajes de similitud a nivel de especie, fueron, en general, superiores al 99% con las especies más parecidas de la base de datos. Sin embargo, es importante destacar que se registró un alto porcentaje de secuencias taxonómicamente incorrectas publicadas (Tabla 13). Por ejemplo, diversos autores han señalado una riqueza de hasta cinco especies de *Urotrygon* para las costas de Perú (*e.g.* Chirichigno y Velez, 1998; Chirichigno y Cornejo, 2001). Sin embargo, los resultados obtenidos en el presente estudio soportan que la única especie distribuida y válida en el hemisferio Sur (eco-regiones marinas de Guayaquil hacia al Sur) es *U. chilensis*. En consecuencia, y hasta este momento, debe ser aceptado que las otras especies citadas se encuentran distribuidas sólo en el hemisferio Norte. Esta conclusión es soportada por la alta similitud

(>99.0%) de las secuencias obtenidas de ejemplares peruanos con las secuencias de *U. chilensis* (Fig. 7; Tabla 13). Estos ejemplares peruanos fueron identificados y etiquetados originalmente como especies distintas a *U. chilensis* (Tabla 13).

La secuencia disponible en línea de *U. cf. simulatrix* JQ518942.1 fue similar a las secuencias de *U. asterias* y en consecuencia se integró al mismo clado monofilético. De acuerdo con la información disponible, el individuo del cual fue obtenida la secuencia *U. cf. simulatrix* JQ518942.1, fue capturado en las aguas del Golfo de California, México (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/JQ518942.1>); coincidiendo con los sitios de recolecta de *U. asterias*, correspondientes a las ecorregiones de Transición del Magdalena, Corteziana y el Pacífico Tropical Mexicano. Esta nueva información confirma que la secuencia disponible en línea de *Urotrygon cf. simulatrix* (JQ518942) corresponde a la especie *U. asterias*. La alta similitud morfológica, merística, fenotípica y de coloración entre *U. simulatrix* y *U. asterias* (e.g., tallas, número y distribución de espinas dorsales y dentículos dérmicos) podría ser debido a que ambas especies corresponden a la misma entidad evolutiva. En la actualidad, información disponible para *U. simulatrix* es escasa y limitada (e.g. reducida al número de registros geográficos aunado a pocos ejemplares en museos para fines comparativos, carencia de registros frecuentes o nuevos en su localidad tipo, Panamá), cuyos registros fuera de la localidad tipo han sido producto de malidentificaciones taxonómicas (Mejía-Falla y Navía, 2019).

Tabla 13. Comparación de las secuencias obtenidas en este estudio y las secuencias con un porcentaje de similitud depositadas en la base de datos en línea BOLD SYSTEM. La comparación fue realizada mediante el algoritmo BLAST (Local Alignment Search Tool). La ecorregión marina se incluye entre paréntesis cuando esta información estaba disponible: Amazonia (A), Corteziana (C), Pacífico Tropical Mexicano (MTP), Panamá Bight (PB) y Perú Central (CP).

Secuencias de este estudio	Secuencias BOLD SYSTEM
<i>Urotrygon asterias</i> CICIMAR-CI 8338 (C)	100%= <i>Urotrygon</i> sp. GN1585 (C); 99.24%= <i>Urotrygon rogersi</i> SEMAR.163 (MTP); 99.24%= <i>Urotrygon rogersi</i> OXF176 (MTP); 99.24%= <i>Urotrygon rogersi</i> OXF177 (MTP), 99.24%= <i>Urotrygon rogersi</i> OXF178 (MTP); 99.24%= <i>Urotrygon rogersi</i> OXF179 (MTP).

<i>Urotrygon chilensis</i> IMARPE 2039 (CP)	100%= <i>Urotrygon chilensis</i> LCT570 (CP); 100%= <i>Urotrygon serrula</i> LCT1510 (CP); 100%= <i>Urotrygon chilensis</i> LCT648 (CP); 100%= <i>Urotrygon munda</i> LCT573 (CP); 100%= <i>Urotrygon munda</i> LCT1382 (CP); 100%= <i>Urotrygon munda</i> LCT1381 (CP); 100%= <i>Urotrygon chilensis</i> LCT1673 (CP); 100%= <i>Urotrygon munda</i> LCT1383 (CP); 100%= <i>Urotrygon peruanus</i> LCT1823 (CP); 100%= <i>Urotrygon peruanus</i> LCT1819 (CP) 100%= <i>Urotrygon chilensis</i> LCT568 (CP); 100%= <i>Urotrygon peruanus</i> LCT1824 (CP); 100%= <i>Urotrygon peruanus</i> LCT1897 (CP); 100%= <i>Urotrygon peruanus</i> LCT1898 (CP); 100%= <i>Urotrygon chilensis</i> PEARV0030 (CP); 100%= <i>Urotrygon chilensis</i> PeMar F1221 (CP); 100%= <i>Urotrygon aspidura</i> LCT1509 (CP); 100%= <i>Urotrygon chilensis</i> LCT1508 (CP); 100%= <i>Urotrygon chilensis</i> PEAR V0175(CP); 100%= <i>Urotrygon chilensis</i> OEMAR V0097 (CP); 100%= <i>Urotrygon chilensis</i> PeMar F1224 (CP); 100%= <i>Urotrygon chilensis</i> F1219 (CP); 100%= <i>Urotrygon chilensis</i> F1215 (CP); 100%= <i>Urotrygon chilensis</i> F1130 (CP); 100%= <i>Urotrygon</i> PeMar F1217 (CP); 100%= <i>Urotrygon chilensis</i> KY572908 (CP); 100%= <i>Urotrygon chilensis</i> PR2016A61-2 (CP); 100%= <i>Urotrygon chilensis</i> PeMar F1213 (CP); 100%= <i>Urotrygon chilensis</i> PEAR F1217 (CP).
<i>Urotrygon munda</i>	88.3%= <i>Urotrygon</i> sp. KERRI337-08 (C); 87.9% <i>Urotrygon chilensis</i> KY572908 (CP)
<i>Urotrygon cimar</i> 70 (N)	87.0%= <i>Urotrygon</i> sp. KERRI337-08 (C); 87.0%= <i>Urotrygon chilensis</i> KY572908 (CP)
<i>Urotrygon aspidura</i> 13 (N)	95.71%= <i>Urotrygon</i> sp. KERRI336-08 (C); 95.71%= <i>Urotrygon</i> sp. KERRI338-08 (C); 94.72%= <i>Urotrygon aspidura</i> T1_7Sep14_Uasp02 (PB); 94.62%= <i>Urotrygon aspidura</i> T1_29May15_Uasp01 (PB).
<i>Urotrygon rogersi</i> CICIMAR-CI-8327	100%= <i>Urotrygon</i> sp. KERRI336-08 (C); 100%= <i>Urotrygon</i> sp. KERRI338-08 (C)
<i>Urotrygon venezuelae</i> 02 SWC	90.4%= <i>Urotrygon venezuelae</i> MN105754.1 (A); 90.4%= <i>Urotrygon venezuelae</i> GBMNB8850.20.COI.5P (A)

Aunado a lo anterior, Morales-Saldaña *et al.* (2021), reseñan la carencia de registros recientes de ejemplares *U. simulatrix* y *U. reticulata* incluso en su localidad tipo, (Panamá) desde la década de los años noventa. Esto es congruente con los esfuerzos

infructuosos realizados en la búsqueda de esta especie durante la presente investigación. Por ende, la única información confiable y verídica para esta especie se registra a la documentada en la serie tipo por Miyake y McEachran (1988). Esto es un argumento válido que soporta la hipótesis de que *U. simulatrix* sea una sinonimia junior de *U. asterias* o que el ejemplar holotipo presentó una anomalía en el número de hileras dentarias (otro carácter diagnóstico de esta especie). Análisis genéticos en *U. simulatrix* basados en ejemplares de museo (serie tipo) o de organismos eventualmente capturados serán necesarios para confirmar esa idea.

Otro ejemplo es que diversas secuencias provenientes del Pacífico Tropical Mexicano y del Golfo de California, etiquetadas como *U. sp.* y *U. rogersi*, correspondieron a la especie de *U. asterias* (Tabla 13). Por otro lado, las secuencias públicas *Urotrygon* sp. KERRI336-08 y KERRI338-08, obtenidas a partir de ejemplares capturados en la ecorregión Corteziana, tuvieron un porcentaje de similitud del 100% con secuencias de *U. rogersi* (Tabla 13). Finalmente, las especies de *U. munda* y *U. cimar*, son inéditas en estas bases de datos en línea, por lo que, el porcentaje de similitud de estas secuencias con las más similares albergadas en dichas bases de datos fue del 88.0 y 87.0%, respectivamente (Tabla 13).

Ambas bases de datos consultadas en este estudio, albergan una secuencia para el gen COI identificadas y rotuladas como *Urotrygon venezuelae* (MN105754.1 y GBMNB8850.20.COI.5P) provenientes de las costas de Brasil (ecorregión de Amazonia). En el presente estudio se secuenciaron también dos ejemplares (01SWC y 02SWC) de *Urotrygon venezuelae* provenientes del Caribe Suroccidental. Sin embargo, estas cuatro secuencias no se integraron en un solo clado monofilético, sino dos; uno conformado por los individuos procedentes de Brasil y otro por los procedentes del Caribe (Fig. 7). Considerando la información disponible de la localidad tipo de *U. microphthalmum* (Desembocadura Río Amazonas) y de *U. venezuelae* (Golfo de Venezuela) por Delsman, (1941) y Schultz (1945), respectivamente; en el presente estudio se soporta la hipótesis de que los individuos revisados (01SWC y 02SWC) corresponden correctamente a *U. venezuelae*, mientras que, las secuencias publicadas en línea provenientes de Brasil (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/1782441803>), fueron incorrectamente identificados y deberán corresponder a la otra especie distribuida en el Atlántico *U.*

microphthalmum. Las menciones históricas de *U. venezuelae* en Brasil pueden remontarse a Almeida *et al.* (2000) quienes comentan “una nueva cita, todavía en investigación, para *U. venezuelae* capturada en la misma área de estudio, la cual no ha sido citada para el norte y nordeste del Brasil”. A pesar de esta mención (carente de un registro formalmente publicado) diversos autores de ese país han incluido y mencionado a *U. venezuelae* como presente en sus costas (e.g., Piorski y Nunes, 2001; Santander-Neto *et al.*, 2016) incluyendo a los autores (Rodríguez-Filho *et al.*, 2020) de una de las secuencias genéticas dudosas (MN105754.1)

La congruencia topológica obtenida entre los árboles filogenéticos provenientes de ambos genes mitocondriales fue evidente; aunque, debido a que el gen NADH₂ tiene una tasa de mutación mayor que el COI (Naylor *et al.*, 2012), sus distancias genéticas fueron mayores y en consecuencia sus clados monofiléticos fueron mas claros, incluso para hipotetizar la presencia de procesos micro-evolutivos. Por ejemplo, el clado monofilético de *U. asterias*, sugiere la existencia de un patrón filogeográfico al interior de la especie, reflejado por la presencia de dos subclados (uno “norteño” y otro “sureño”) (Fig. 6). La relativamente baja distancia genética entre ambos sub-clados (1.0%), y la presencia de un ejemplar norteño (CICIMAR-CI 8341) en el subclado “sureño”, no soportan la validez de ambos sub-clados como especies distintas, pero si sugieren la existencia de poblaciones distintas. Las especies con una distribución geográfica amplia, suelen presentar una mayor probabilidad de obtener una mayor variabilidad intraespecífica si son recolectados en sus puntos extremos (Toffolo *et al.*, 2010) debido a un potencial flujo genético limitado y a la presencia de fuerzas evolutivas actuando de diferente manera en cada población. Tal como podría estar sucediendo en *U. asterias*. Los estudios poblacionales son relevantes para la comprensión de los procesos de microevolución de una especie, de su organización interna asociada a eventos ecológicos y de la oportunidad de emplear dicho conocimiento en el manejo de los recursos naturales a nivel local, nacional e internacional (Henderson *et al.*, 2016). En ese sentido, un estudio que aborde este tema a nivel poblacional empleando marcadores genéticos polimórficos como secuencias de ADNmt altamente variables (región control), microsatélites o polimorfismo de nucleótidos únicos (Single-Nucleotide Polymorphisms, SNPs) sería relevante.

Entre los resultados taxonómicos más importantes obtenidos de la presente investigación, es el reconocimiento o resurrección de la especie *Urotrygon asterias* (Jordan y Gilbert, 1881) soportada por el enfoque taxonómico integrativo aplicado (información detallada en Ehemann *et al.* enviado 1). Este resultado contribuye a dilucidar el debate histórico (Tabla 1) y reciente (Weigmann, 2016, Last *et al.* 2016; Ehemann *et al.* 2021) referente a la validez taxonómica de esta especie. De forma general, los resultados taxonómicos obtenidos son congruente con los resultados de Miyake y McEachran (1986, 1988), validando como sinonimia senior a *U. munda*, *U. aspidura*, *U. chilensis*, *U. rogersi*, *U. microphthalmum*, *U. venezuelae* y *U. nana*. Simultáneamente, los resultados de esta investigación soportan la existencia de la especie *U. cimar* como válida, a pesar de su gran similitud fenotípica con *U. munda* (López y Bussing, 1998). Los procedimientos desarrollados en el presente estudio soportan una riqueza para el género *Urotrygon* de nueve especies; menor a la aceptada en la actualidad por algunos autores (e.g. Weigmann, 2016; Last *et al.*, 2016a) y de 13 por otros (Nelson *et al.*, 2016). Es importante señalar que no fue posible incluir ejemplares de las especies *U. reticulata* y *U. simulatrix* (ambas restringidas a la región eco marina de Panama Bight), de tal manera que no fue posible ratificar su estado taxonómico de sinonimia senior.

La propuesta filogenética obtenida en este estudio mediante datos genéticos para el género *Urotrygon* es, en general, congruente con las inferencias realizadas previamente por otros autores basados en información fenotípica (e.g. Schultz 1949; Miyake y McEachran, 1986, 1988; McEachran 1995; Bussing y López, 1998; Last *et al.*, 2016a; Montes-Domínguez y González-Isais, 2017). Las especies con morfología similares fueron agrupadas como especies hermanas. Especies con el disco más ancho que largo (“aladas”) fueron agrupadas juntas (*i.e.*, *U. rogersi* y *U. aspidura*). Por otro lado, las especies con la aleta caudal más corta, robusta y alta (e.g., *U. munda* y *U. cimar*) (Miyake y McEachran, 1988; Bussing y López 1988) fueron agrupados filogenéticamente como grupos hermanos. Lo anterior sugiere que estas características contienen cierta señal filogenética. Schultz (1949) al describir a *U. venezuelae*, escribió “Esta nueva especie aparece como el representante en el Atlántico de *Urotrygon asterias* (Jordan & Gilbert), porque tienen en común una línea única y definida de espinas alargadas en la

línea media dorsal del cuerpo y la cola” (traducido por el autor), cuya apreciación (72 años después) es ratificada en este estudio.

Otros autores han descrito topologías filogenéticas de batoformos que aportan información congruente con la obtenida en este estudio (Poortvliet *et al.*, 2015, Kim *et al.*, 2015; White *et al.*, 2018; Hosegood *et al.*, 2020; Rodriguez-Filho *et al.*, 2021). Los esquemas filogenéticos cuyos nodos son distantes, generalmente las ramas observadas previas a la terminación de la topología (*e.g.*, Fig. 9, 10), pueden reflejar procesos de extinción (suprimiendo las nuevas ramas internas), continuidad evolutiva (preservando los linajes más antiguos), o incluso una combinación de extinción alternada con ráfagas de divergencias rápidas (Crisp y Cook, 2009; Poortvliet *et al.*, 2015; Villalobos-Segura y Underwood, 2020). La detección de estos escenarios evolutivos puede ser compleja, especialmente cuando las muestras e información es escasa (Poortvliet *et al.*, 2015); aunque los registros fósiles e información de eventos paleo-climáticos, pueden ser de gran soporte (Aschlimann *et al.*, 2012; Poortvliet *et al.*, 2015). Las radiaciones recientes, como las observadas generalmente en las últimas ramas (nodos) del árbol filogenético (líneas rojas Fig. 10), pueden estar asociadas con dinámicas de meta-comunidades, cambios ambientales y/o tasas aceleradas de evolución molecular (Crisp y Cook, 2009; Poortvliet *et al.*, 2015).

Los registros fósiles de la familia Urotrygonidae son escasos. Los reportes, contemplan información únicamente de cuatro registros de especies del género *Urobatis* (ver: http://fossilworks.org/?a=taxonInfo&taxon_no=131704). Estos registros incluyen piezas dentarias de machos identificadas como *Urobatis* sp. que fueron encontradas en el nivel estratigráfico correspondiente al intervalo del Eoceno a la actualidad, en la formación Culebra, Panamá (Pimiento *et al.*, 2013). Recientemente, Villalobos-Segura y Underwood (2020) estimaron la fecha de radiación y divergencia de los “batoideos” considerando distintos métodos. Ellos concluyeron que la fecha de divergencia entre *Urobatis* y *Urotrygon* corresponde con la división Priaboniana (Eoceno), hace aproximadamente 36 Ma. Los resultados mencionados por Pimiento *et al.* (2013) y Villalobos-Segura y Underwood (2020), son muy similares con las estimaciones obtenidas en el presente estudio (≈ 37 y ≈ 40 Ma con base en ML y IB, respectivamente).

Al interior del género, los tiempos de divergencia y especiación basados en ML y

IB también muestran consistencia con lo sugerido en otros estudios realizados en elasmobranchios (Stelbrink *et al.*, 2010; Poortvliet *et al.*, 2015; Acero *et al.*, 2016; Villalobos-Segura y Underwood, 2020; Rodriguez-Filho *et al.*, 2021). Las radiaciones evolutivas en batomorfos pelágicos con distribución circumglobal en la zona tropical y subtropical, ha sido asociadas en los últimos 20 Ma con periodos de calentamiento global. Poortvliet *et al.* (2015), mencionan que los eventos de surgencia y florecimiento de aguas ricas en nutrientes (producto de la mezcla de aguas polares y tropicales durante el Oligoceno) fueron probablemente los principales impulsores en la evolución de los mobúlidos a nivel mundial. A pesar de que las especies objetivo de la presente investigación no son pelágicas de hábitos alimentarios filtradores (distribución espacial y migraciones están marcadas por afloraciones planctónicas), es posible, relacionar algunos eventos de calentamiento global con los resultados obtenidos. Por ejemplo, la divergencia de los nodos 15 y 18 (Fig. 11), coinciden aproximadamente con uno de los eventos de mayor duración (≈ 7 Ma) de calentamiento global registrados en la actualidad durante el Mioceno entre los 22 y 15 Ma (Zachos *et al.*, 2001; Poortvliet *et al.*, 2015).

Particularmente, el continente americano ha experimentado cambios geotectónicos de gran magnitud, que han acelerado la divergencia y los procesos de especiación en diferentes grupos de elasmobranchios (e.g. Castro, 2011; Last *et al.* 2016a, Acero *et al.* 2016, Cañedo-Apolaya *et al.* 2021). Así, durante el Mioceno (23.0 – 5.3 Ma), las costas marinas áridas del norte de Sur América (actualmente norte de Colombia y noroeste de Venezuela) estaban influenciadas por un sistema hidrográfico que conectaba la Amazonia occidental con el Mar proto-Caribe (Diaz de Gamero, 1996; Hoorn *et al.*, 2010; Aguilera *et al.*, 2013; Carrillo-Briceño *et al.*, 2021). Esta conexión hidrográfica ha sido documentada por diversos autores como “el Sistema Mega-Humedal de Pebas” o simplemente Pebas (e.g., Ter Steege *et al.*, 2010; Bernal *et al.*, 2019; Fontanelle *et al.*, 2021). A lo largo del Pebas (>1 millón de Km^2) los registros de fósiles encontrados pertenecientes a diferentes taxa de vertebrados e invertebrados, sugieren la presencia en esas fechas de diferentes hábitats que incluyen principalmente ambientes dulceacuícolas, marinos, estuarinos, pantanales y de deltas costeros (e.g., Lundberg y Albino, 2003; Wilkinson *et al.*, 2010; Aguilera *et al.*, 2014; Carrillo-Briceño *et al.* 2018; 2021), en los cuales, las especies de *Urotrygon* pudieran ser encontradas con

una alta probabilidad.

Eventos de la etapa final de la formación de la Cordillera de Los Andes (e.g., surgimiento Cordillera oriental de Colombia y la de Mérida, Venezuela), estimados hace alrededor de 12-8 Ma, fueron cruciales en la transición de un sistema trans-Andino (desembocadura en el proto-Caribe) a uno cis-Andino (desembocadura en el Atlántico) (Albert *et al.*, 2006; 2018; Rodríguez-Olarte *et al.*, 2011; Fontanelle *et al.*, 2020). El cierre del Pebas ha sido señalado como un evento de gran importancia para explicar la similitud de la fauna terrestre y dulceacuícola, así como eventos de especiaciones ocurridas y registradas en las diferentes ecorregiones de la Amazonia, del Orinoco y los ríos relacionados con estas regiones (Fontanelle *et al.*, 2021ab). Una dispersión con posterior especiación siguiendo las proto-islas durante el Mar proto-Caribe sería poco probable para explicar esta divergencia, dada la distribución alopátrica y su alta afinidad de estas dos especies con desembocaduras de ríos (e.g., Río Magdalena, Río Orinoco, Río Amazonas).

La familia Potamotrygonidae, otro grupo de batomorfos endémico de América, principalmente integrado por especies dulceacuícolas (Last *et al.* 2016a, Pollerspöck y Straube, 2021), han sido un grupo de estudio de gran interés en Sudamérica (e.g., Da Silva *et al.*, 2011; Lasso *et al.*, 2013; Loboda y Carvalho, 2013; García *et al.*, 2016; Fontanelle *et al.*, 2021 a, b). Recientemente, ha sido abordada la filogenia y biogeografía de esta familia, señalando a las regiones altas del Amazonas como el origen de las especies de rayas de aguas dulces, (Fontanelle *et al.* 2021a). Estos autores describen una relación entre el tiempo de colonización de un área o ecorregión y el tiempo de divergencia de linajes “más antiguos”. De esta manera, explican una mayor riqueza en las zonas altas del Amazonas y una menor riqueza y linajes “más jóvenes” en las zonas cercanas a su desembocadura actual (formada alrededor de ≈ 10 Ma) (Fontanelle *et al.*, 2021 a, b). Siguiendo este contexto, es posible hipotetizar que la fuente de dispersión y diversidad del género *Urotrygon*, fue la costa del Pacífico occidental, particularmente, las ecorregiones de Chiapas-Nicaragua y Nicoya al ser las zonas cuyas mayores riquezas (simpátricas) se presenta en la actualidad.

Se ha sugerido que la distribución geográfica de las especies está influenciada por la capacidad de dispersión de los individuos (Mejía-Falla y Navia 2011; Del Moral

Flores *et al.* 2016, 2021; Ehemann *et al.*, 2018, 2019). Mejía-Falla y Navia (2011), indican que también existe una relación positiva entre la talla de las especies con la extensión de la distribución geográfica a lo largo del Pacífico Tropical (POT). En ese estudio, las menores tallas de las especies analizadas por estos autores pertenecían a dos especies de *Urotrygon*, correspondiendo a las que presentan una menor dispersión (Mejía-Falla y Navia, 2011). El planteamiento anterior, también soporta la idea de que las ecorregiones de Chiapas-Nicaragua y Nicoya fueron una “zona núcleo” de divergencia y dispersión del género *Urotrygon*, ya que en éstas o próximas a éstas eco-regiones se distribuyen especies de menor vagilidad y talla (*i.e.*, *U. munda*, *U. cimar* y probablemente *U. nana*), (Fig. 11 nodo 16). Por otro lado, las especies con mayor vagilidad y talla, se encuentran distribuidas en ecorregiones más alejadas (*e.g.*, Corteziana, Panama Bight) cuyas historias geológicas son más recientes (Fig. 11 nodos 14, 15, 16 y 17), en comparación con la hipotética zona núcleo (Holt *et al.*, 2000; Oskin *et al.*, 2001; O’dea *et al.*, 2016; Calmus *et al.*, 2017)

La formación del istmo de Panamá es uno de los eventos naturales más importantes ocurridos en los últimos 10 Ma, repercutiendo en la distribución y especiación de la biota terrestre y marina del continente (O’dea *et al.*, 2016). Este proceso geológico fue determinante en la dispersión (hacia al sur) de las especies de *Urotrygon* con mayor motilidad. Algunos autores han estimado el cierre del istmo hace aproximadamente 3 Ma (Bacon *et al.*, 2015; Montes *et al.*, 2015). Recientemente, los resultados de O’dea *et al.* (2016), fundamentados en evidencias geológicas, paleontológicas y moleculares, convergen en un ascenso gradual terrestre cuyas vías marítimas se estrechan con la formación del istmo de Panamá *sensu stricto* alrededor de 2.8 ma (O’dea *et al.*, 2016). Esta fecha coincide con la fecha estimada de la divergencia entre *U. asterias* y *U. chilensis* obtenida en el presente estudio (Fig. 11, nodo 14). Sin embargo, el evento de extinción detectado en la presente investigación del nodo 14, está más influenciado por un efecto de carencia o vacío de registros de estas especies, en la ecorregión de Panama Bight, más que a un evento de extinción por barrera física. Al no tener evidencias contundentes y verificadas en la presente investigación referente a la riqueza de *Urotrygon* que habitan en el Panama Bight, aunado a que esta ecorregión, ha sido la localidad tipo de *U. reticulata* y *U. simultarix* -poco conocidas y documentadas-, y

recordando la alta similitud fenotípica y morfológica de esta última con *U. asterias* y *U. chilensis*, se adoptó esta postura cautelosa y parsimoniosa. Sin embargo, estas dudas deben ser apropiadamente abordadas y despejadas.

Debido a que los miembros del género *Urotrygon*, son propensos a ser mal identificados, la información sobre los registros geográficos y sobre distribución puede ser errónea (López y Bussing, 1998; Valenti, 2009) y en consecuencia los ejemplares georreferenciados disponibles en línea, estar equivocados. (Lücking, 2016; Ehemann *et al.* 2019). Los siguientes resultados particulares obtenidos en esta investigación representan ejemplos del inconveniente previamente mencionado. El primer caso corresponde a las bases de datos de IdigBio y GBIF (2021) con la presencia de *U. simulatrix* en aguas mexicanas (Del Moral-Flores *et al.*, 2016; Ehemann *et al.* 2018), basadas en dos ejemplares preservados en la Biological Research and Teaching Collection bajo el código TCWC-7567.01 (tres embriones) y 7567.04 (hembra madura). Este último ejemplar, corresponde al material relacionado con la secuencia (NADH₂) JQ519162.1. Es importante señalar que la información genética obtenida a partir del ejemplar *U. simulatrix* TCWC-7567.04, en la base de datos en línea, es identificada como *U. rogersi* JQ519162.1, siendo ratificado como correcto en los resultados de este estudio (Fig. 6). Con base en lo anterior, se descarta la confirmación de la ETN *U. simularix* dentro de la zona económica exclusiva de México, en consecuencia, deberá de ser excluida de la lista taxonómica de las especies de este género en el país. El otro registro geográfico conocido de *U. simulatrix* disponible en la plataforma en línea www.Idigbio.org es de un ejemplar capturado en el pacífico colombiano. Sin embargo, Mejía-Falla y Navia (2019), señalan que este registro se trata de una mala identificación taxonómica, siendo un caso similar al encontrado en este estudio. Por ende, la información disponible hasta el momento, indica que los registros geográficos válidos para la ETN *U. simularix* deben ser restringidos sólo a la ecorregión del Panama Bight, particularmente, a su localidad tipo, el Golfo de Panamá.

Otro ejemplo encontrado en este estudio -además del caso de la distribución de *U. asterias* y *U. chilensis* confirmando la última como única especie válida en las ecorregiones al sur de Panama Bight-, es referente a la distribución de *U. aspidura*. Esta especie es documentada con una distribución fragmentada (e.g. McEachran, 1995; Last

et al. 2016), llegando a la ecorregión de la Transición de Magdalena. Particularmente, en la presente investigación, los ejemplares de *U. aspidura* reportados para Bahía Magdalena (Transición del Magdalena), fueron re-identificados como ejemplares juveniles de *U. rogersi*, y *U. asterias*, los cuales, fenotípicamente carecían de la expresión fenotípica completa de los adultos. Por lo tanto, estos resultados no soportan que la distribución geográfica (confirmada) de *U. aspidura* sea el hemisferio norte sino la ecorregión de Chiapas-Nicaragua (Fig. 11), y probablemente la zona sur-centro de la plataforma de la ecorregión del Pacífico Mexicano Tropical. De forma similar, registros de urotrygonidos en lugares dudosos y lejanos a la costa continental, disponibles en la base de dato de www.idigbio.org con ejemplares depositados en museos o colecciones ictiológicas (e.g. LACM, NHMO) fueron re-identificados basados en fotografías suministrada por los curadores y técnicos ictiológicos. Se confirma que las especies del género *Urotrygon* son especies bentónicas y costeras del continente. Registros identificados como *Urotrygon* sp. en islas retiradas de la línea costa (e.g. Isla Galapagos depositados en LACM), pertenecen en realidad a la especie *Taeniurops meyeri* (Müller & Henle, 1841). Por lo que, una vez más se evidencia de la gran utilidad e importancia que tienen las colecciones y museos ictiológicos en estudios biogeográficos.

CONCLUSIONES

La taxonomía integrativa aplicada en 12 entidades taxonómicas nominales del género *Urotrygon* analizadas en este estudio, soportó la validez de nueve especies como sinonimia senior. Se restituye a *Urotrygon asterias* (Jordan & Gilbert, 188) como sinonimia senior, después de 33 años que fue sinonimizada con *Urotrygon chilensis* (Günther, 1872). Se ratificó a *Urotrygon caudispinosus* Hildebrand, 1946 y a *Urotrygon serrula* Hildebrand, 1946 como sinonimia junior de *U. chilensis* en lugar de *Urotrygon munda* Gill, 1863. La especie *Urotrygon peruanus* Hildebrand, 1946 careció de soportes para seguir siendo considerada una especie válida, por lo que, debe ser sinonimizada con *U. chilensis*. Con respecto a las dos especies endémicas de Panamá, *Urotrygon reticulata* Miyake & McEachran, 1988 y *Urotrygon simulatrix* Miyake & McEachran, 1988, a pesar de que no fueron incluidas en este estudio, hay fuertes evidencias que permiten hipotetizar que son no válidas o actualmente están extintas.

Las siete especies de *Urotrygon* analizadas en la presente investigación, formaron

un grupo monofilético. Las evidencias infieren una radiación inicial en este género hace 29 millones de años (Ma) atrás, y la más reciente hace menos de 5 Ma. Una congruencia entre la información merística y morfológica con la filogenia molecular fue evidenciada. Las especies morfológica y fenotípicamente más similares, fueron agrupadas como especies hermanas en la topología filogenética, cuya especiación evolutiva ha sido reciente (últimos 10 Ma).

Con base en la información empleada en este estudio, los procesos de vicarianza, dispersión y extinción han sido claves en la biogeografía de las especies de este género. La distribución geográfica actualmente conocida para las diferentes especies de *Urotrygon* está relacionada a ventos de calentamiento global, el sistema mega-humedal de Pebas, la transición de una sistema trans-Andino a uno cis-Andino (formación actual de la cordillera de Los Andes) y el cierre del istmo de Panamá, ocurridos de forma gradual en los últimos 15 Ma. Las evidencias obtenidas en esta investigación soportan la hipótesis de que las ecorregiones marinas de Chiapas-Nicaragua y Nicoya fueron la zona núcleo de divergencia y dispersión del género *Urotrygon*. La distribución geográfica conocida para las diferentes especies de *Urotrygon* han sido actualizadas, modificando y restringiendo su presencia a aquellas ecorregiones marinas del continente cuya presencia ha sido confirmada.

BIBLIOGRAFÍA

- Acero P, A., Tavera, J. J., Anguila, R., & Hernández, L. (2016). A new southern Caribbean species of angel shark (Chondrichthyes, Squaliformes, Squatinidae), including phylogeny and tempo of diversification of American species. *Copeia*, 104(2), 577-585.
- Aguilera, O. A., Moraes-Santos, H., Costa, S., Ohe, F., Jaramillo, C., & Nogueira, A. (2013). Ariid sea catfishes from the coeval Pirabas (Northeastern Brazil), Cantaure, Castillo (Northwestern Venezuela), and Castilletes (North Colombia) formations (early Miocene), with description of three new species. *Swiss Journal of Palaeontology*, 132(1), 45-68.
- Aguilera, O., Schwarzahans, W., Moraes-Santos, H., & Nepomuceno, A. (2014). Before the flood: Miocene otoliths from eastern Amazon Pirabas Formation reveal a Caribbean-type fish fauna. *Journal of South American Earth Sciences*, 56, 422-446.
- Albert, J. S., Lovejoy, N. R., & Crampton, W. G. (2006). Miocene tectonism and the separation of cis-and trans-Andean river basins: Evidence from Neotropical fishes. *Journal of South American Earth Sciences*, 21(1-2), 14-27.
- Aldhebiani, A. Y. (2020). Species concept and speciation. *Saudi Journal of Biological Sciences* 25(3): 437-440. DOI: 10.1016/j.sjbs.2017.04.013
- Almeida, Z. S., Nunes, J. S., & Costa, C. L. (2000). Presencia de *Urotrygon microphthalmum* (Elasmobranchii: Urolophidae) en aguas bajas de Maranhao (Brasil) y notas sobre su biología. *Boletín de investigaciones marinas y costeras*, 29.
- Aschliman, N. C., Nishida, M., Miya, M., Inoue, J. G., Rosana, K. M., & Naylor, G. J. (2012). Body plan convergence in the evolution of skates and rays (Chondrichthyes: Batoidea). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 63(1), 28-42.
- Avise JC (2000) Phylogeography: The History and Formation of Species. Harvard University Press, Cambridge, 384 pp.
- Bacon, C. D., Silvestro, D., Jaramillo, C., Smith, B. T., Chakrabarty, P., & Antonelli, A. (2015). Biological evidence supports an early and complex emergence of the Isthmus of Panama. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(19),

6110-6115.

- Beckmann, P. A., Mallory, C. W., Mallory, F. B., Rheingold, A. L., & Wang, X. (2015). Methoxy and Methyl Group Rotation: Solid State NMR ¹H Spin-lattice Relaxation, Electronic Structure Calculations, Xray Diffractometry, and Scanning Electron Microscopy. *Methoxy and Methyl Group Rotation: Solid State NMR ¹H Spin-lattice Relaxation, Electronic Structure Calculations, Xray Diffractometry, and Scanning Electron Microscopy*, 16(7), 1509.
- Beebe, W. & Tee-Van, J. (1941). Eastern Pacific Expeditions of the New York Zoological Society. XXVIII. Fishes from the Tropical Eastern Pacific. From Cedros Island, Lower California, South to the Galapagos Islands and Northern Peru.] Part 3. Rays, Mantas and Chimaeras. *Zoologica* 26, 245-280.
- Bernal, R., Bacon, C. D., Balslev, H., Hoorn, C., Boursat, S. J., Tuomisto, H., ... & Antonelli, A. (2019). Could coastal plants in western Amazonia be relicts of past marine incursions?. *Journal of Biogeography*, 46(8), 1749-1759.
- Bernardo, C., de Lima Adachi, A. M. C., da Cruz, V. P., Foresti, F., Loose, R. H., & Bornatowski, H. (2020). The label “Cação” is a shark or a ray and can be a threatened species! Elasmobranch trade in Southern Brazil unveiled by DNA barcoding. *Marine Policy*, 116, 103920.
- Bouckaert, R. R., & Heled, J. (2014). DensiTree 2: Seeing trees through the forest. *BioRxiv*, 012401.
- Bouckaert, R., Heled, J., Kühnert, D., Vaughan, T., Wu, C.-H., Xie, D., Suchard, M. A., Rambaut, A. & Drummond, A. J. (2014). BEAST 2: A Software Platform for Bayesian Evolutionary Analysis. *PLOS Computational Biology* 10, e1003537.
- Braccini, J. M., y Chiaramonte, G. E. (2002). Biología de la raya *Psammobatis extenta* (Garman, 1913) (Batoidea: Rajidae). *Revista chilena de historia natural*, 75(1), 179-188.
- Breder, C. M. (1928). Elasmobranchii from Panama to Lower California. *Bulletin of the Bingham Oceanographic Collection*. 2(1): 1-13.
- Brooks, D. R., Bilewitch, J., Condy, C., Evans, D. C., Folinsbee, K. E., Fröbisch, Halas, D., Hill, S., McLennan, D. A., Mattern, M., Tsuji, L. A., Ward, J. L., Wahlberg, N., Zamparo, D., & Zanatta, D. (2007). Quantitative phylogenetic analysis in the 21st

- century. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 78(2), 225-252.
- Calle-Morán, M. D. & Béarez, P. (2020). Updated checklist of marine cartilaginous fishes from continental and insular Ecuador (Tropical Eastern Pacific Ocean). *Cybium: Revue Internationale d'Ichtyologie*.
- Calmus, T., Burquez, A., & Martínez-Yrizar, A. (2017). El Golfo de California: Un océano joven, región megadiversa, vínculo entre tectónica y ecología. *Ciencia UANL*, 85, 59-64.
- Cañedo-Apolaya RM, Ortiz-Alvarez C, Alfaro-Cordova E, Alfaro-Shigueto J, Velez-Zuazo X, Mangel JC, Siccha-Ramirez R, Yamashiro C, Ramirez JL. Species Delimitation of Southeast Pacific Angel Sharks (*Squatina* spp.) Reveals Hidden Diversity through DNA Barcoding. *Diversity*. 2021; 13(5):177. <https://doi.org/10.3390/d13050177>
- Carrillo-Briceño, J. D., Sánchez, R., Scheyer, T. M., Carrillo, J. D., Delfino, M., Georgalis, G. L. & Sánchez-Villagra, M. R. (2021). A Pliocene–Pleistocene continental biota from Venezuela. *Swiss Journal of Palaeontology*, 140(1), 1-76.
- Carvalho, M. R., Loboda, T. S. & Silva, J. P. (2016). A new subfamily, Styracurinae, and new genus, Styracura, for *Himantura schmardae* (Werner, 1904) and *Himantura pacifica* (Beebe & Tee-Van, 1941) (Chondrichthyes: Myliobatiformes). *Zootaxa* 4175, 201-221.
- Castro, J. I. (2011). Resurrection of the name *Carcharhinus cerdale*, a species different from *Carcharhinus porosus*. *Aqua International Journal of Ichthyology*, 17(1), 1-10.
- Castro-Aguirre, J. L. (1965). Peces sierra, rayas, mantas y especies afines de México. In *Anales del Instituto Nacional de Investigaciones Biológico Pesqueras* (Vol. 1, pp. 169-256).
- Castro-Aguirre, J. L. & Espinosa Pérez, H. (1996). Listados faunísticos de México. VII Catalogo sistemático de las rayas y especies afines de México (Chondrichthyes: Elasmobranchii: Rajiformes: Batoideiomorpha). Mexico: Universidad Nacional Autónoma de Mexico.
- Castro-Aguirre, J. L., Antuna-Mendiola, A., González-Acosta, A. F., & la Cruz-Agüero, D. (2005). *Mustelus albiginnis* sp. nov. (Chondrichthyes: Carcharhiniformes:

- Triakidae) de la costa suroccidental de Baja California Sur, México. *Hidrobiológica*, 15(2), 123-130.
- Cervigón, F. (1991). Los peces marinos de Venezuela. Caracas: Fundación Científica de Los Roques.
- Cervigón F. y Alcalá A. (1999) Los peces marinos de Venezuela Volumen 6. Caracas: Fundación Científica de Los Roques.
- Chirichigno, F. & Vélez, D. (1998). Clave para identificar los peces marinos del Peru (Segunda edición, revidada y actualizada). Callao, Perú.: Instituto del Mar del Peru, Publicación especial.
- Chirichigno, F. & Cornejo, U. (2001). *Catálogo comentado de los peces marinos del Perú*. Callao, Perú: Instituto del Mar del Peru, Publicación especial.
- Compagno, L. J. V. (1973). Interrelationships of living elasmobranchs. *Zoological Journal of the Linnean Society* 53: 15-61
- Compagno, L. J. V. (1973). Phyletic relationships of living sharks and rays. *American Zoologist*. 17(2): 303-322.
- Compagno, L. J. V. 1984. *Sharks of the World. An Annotated and Illustrated Catalogue of Shark Species Known to Date. Part 1. Hexanchiformes to Lamniformes. FAO Species Catalogue*, Vol. 4. FAO Fish. Synop. 125(4):1–250.
- Compagno, L. J. V. 2001. *Sharks of the World. An Annotated and Illustrated Catalogue of Shark Species Known to Date. Vol. 2. Bullhead, Mackerel and Carpet Sharks (Heterodontiformes, Lamniformes, and Orectolobiformes). FAO Species Catalogue for Fisheries Purposes*. FAO, Rome, 269 pp.
- Coyne, J. A. & Orr, H. A. (2004) *Speciation*. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, 545 pp
- Crisp, M. D., & Cook, L. G. (2009). Explosive radiation or cryptic mass extinction? Interpreting signatures in molecular phylogenies. *Evolution: International Journal of Organic Evolution*, 63(9), 2257-2265.
- Crobe, V., Ferrari, A., Hanner, R., Leslie, R. W., Steinke, D., Tinti, F., & Cariani, A. (2021). Molecular Taxonomy and Diversification of Atlantic Skates (Chondrichthyes, Rajiformes): Adding More Pieces to the Puzzle of Their Evolutionary History. *Life*, 11(7), 596.

- Darriba, D., Taboada, G., Doallo, R. & Posada, D. (2012). jModelTest 2: More models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods* 9, 772.
- de Sousa Rangel, B., Santander-Neto, J., Rici, R. E. G., & Lessa, R. (2016). Dental sexual dimorphism and morphology of *Urotrygon microphthalmum*. *Zoomorphology*, 135(3), 367-374.
- de Souza, L. S., & Caetano, C. H. S. (2020). Morphometry of the shell in Scaphopoda (Mollusca): a tool for the discrimination of taxa. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 100(8), 1271-1282.
- Del Moral-Flores, L. F., Morrone, J., Alcocer Durand, J., Espinosa-Pérez, H., Pérez-Ponce & De León, G. (2015a). Lista patrón de los tiburones, rayas y quimeras (Chondrichthyes, Elasmobranchii, Holocephali) de México. *Arxius de Miscel·lània Zoològica* 13, 47-163.
- Del Moral-Flores, D., Fernando, L., Angulo, A., López, M. I., & Bussing, W. A. (2015b). Nueva especie del género *Urobatis* (Myliobatiformes: Urotrygonidae) del Pacífico oriental tropical. *Revista de Biología Tropical*, 63(2), 501-514.
- Del Moral-Flores, L. F. D., Morrone, J. J., Alcocer, J., & Pérez-Ponce de León, G. (2016). Diversidad y afinidades biogeográficas de los tiburones, rayas y quimeras (Chondrichthyes: Elasmobranchii, Holocephali) de México. *Revista de Biología Tropical*, 64(4), 1469-1486.
- De La Cruz-Aguero, J., García-Rodríguez, F. J., & Cota-Gómez, V. M. (2018). Length-weight relationships of five Elasmobranch species from the Pacific Coast of Mexico. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 18(8), 1005-1007.
- De Queiroz, K. (2007). Species Concepts and Species Delimitation, *Systematic Biology*, 56 (6): 879–886, <https://doi.org/10.1080/10635150701701083>
- Delsman, N. C. (1941). Resultats scientifiques des croisiers du navire-Ecole Beige "Mercator". *Mémoires du Musée Royal d'Histoire Naturelle de Belgique* 21, 47-81.
- Diáz de Gamero, M. (1996). The changing course of the Orinoco River during the Neogene: a review. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 123(1-4), 385-402.
- Drummond, A. J., Nicholls, G. K., Rodrigo, A. G., & Solomon, W. (2002). Estimating mutation parameters, population history and genealogy simultaneously from

- temporally spaced sequence data. *Genetics*, 161(3), 1307-1320.
- Drummond, A. J. & Rambaut, A. (2007). BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evol Biol* 7, 1-8.
- Drummond, A. & Suchard, M. A. (2010). Bayesian random local clocks, or one rate to rule them all. *BMC biology* 8, 1-12.
- Drummond, A. J., Xie, W., & Heled, J. (2012). Bayesian inference of species trees from multilocus data using* BEAST. *Molecular Biology and Evolution*, 29, 1969-1973.
- Dunn, K. A., McEachran, J. D. & Honeycutt, R. L. (2003). Molecular phylogenetics of myliobatiform fishes (Chondrichthyes: Myliobatiformes), with comments on the effects of missing data on parsimony and likelihood. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 27, 259-270.
- Ebert, D. A., & Fowler, S. (2013). *Sharks of the World*. Princeton University Press.
- Ebert, D. A., Dando, M., yFowler, S. (2021). *Sharks of the World: A Complete Guide*. Princeton University Press.
- Ehemann, N. R., González-González, L. d. V., Chollet-Villalpando, J. G. & De La Cruz-Agüero, J. (2018). Updated checklist of the extant Chondrichthyes within the Exclusive Economic Zone of Mexico. *ZooKeys* 774.
- Ehemann, N. R., González-González, L. D. V., Tagliafico, A. & Weigmann, S. (2019). Updated taxonomic list and conservation status of chondrichthyans from the exclusive economic zone of Venezuela, with first generic and specific records. *Journal of Fish Biology* 95, 753-771.
- Ehemann, N. R., García-Rodríguez, F. J., Pequeño, G., Thiel, R. & De La Cruz-Agüero, J. (2021). Historical records of the blotched stingray *Urotrygon chilensis* (Urotrygonidae: Myliobatiformes) yield insight into species distribution: the importance of natural history collections to questions of zoogeography. *Systematics and Biodiversity* 19, 252-260.
- Elliott, N. G., Haskard, K. & Koslow, J. A. (1995). Morphometric analysis of orange roughy (*Hoplostethus atlanticus*) off the continental slope of southern Australia. *Journal of Fish Biology* 46, 202-220.
- Engel M.S., Ceríaco, L. M. P., Daniel G. M., Dellapé, P. M., Löbl, I., Marinov, M., Reis, R. E., Young, M. T., Dubois, A., Agarwal, I., Lehmann P., Alvarado, M., Alvarez, N.,

- Andreone, F., Araujo-Vieira, K., Ascher, J. S., Baêta, D., Baldo, D., Bandeira, S., Barden, P., Barrasso, P., Bendifallah, L., Bockmann, F., Böhme, W., Borkent, A., Brandão, C., Busack, S., Bybee, S., Channing, A., Chatzimanolis, S., Christenhusz, M., Crisci, J., D'elía, G., Da Costa, L., Davis, S., De Lucena, C., Deuve, T., Fernandes Elizalde, S., Faivovich, J., Farooq, H., Ferguson, A., Gippoliti, S., Gonçalves, F., Gonzalez, V., Greenbaum, E., Hinojosa-Díaz, I., Ineich, I., Jiang, J., Kahono, S., Kury, A., Lucinda, P., Lynch, J. Malécot, V., Marques, M., Marris, J., Mckellar, R., Mendes, L., Nihei, S., Nishikawa, K., Ohler, A., Orrico, V., Ota, H., Paiva, J., Parrinha, D., Pauwels, O., Pereyra, M., Pestana, L., Pinheiro, P., Prendini, L., Prokop, J., Rasmussen, C., Rödel, M., Rodrigues, M., Rodríguez, S., Salatnaya, H., Sampaio, I., Sánchez-García, A., Shebl, M., Santos, B. Solórzano-Kraemer, M., Sousa, A., Stoev, P., Teta, P., Trape, J., Van-Dúnem Dos Santos, C., Vasudevan, K., Vink, C., Vogel, G., Wagner, P., Wappler, T., Ware, J., Wedmann, S., & Zacharie, C., (2021). The taxonomic impediment: a shortage of taxonomists, not the lack of technical approaches, *Zoological Journal of the Linnean Society*, 193 (2): 381–387
- Espinoza, M., Díaz, E., Angulo, A., Hernández, S. & Clarke, T. M. (2018). Chondrichthyan Diversity, Conservation Status, and Management Challenges in Costa Rica. *Frontiers in Marine Science* 5.
- Felsenstein J. 2004. Inferring phylogenies. Sunderland, MA, U.S.A.: Sinauer Associates Inc.
- Fields, A. T., Feldheim, K. A., Gelsleichter, J., Pfoertner, C., & Chapman, D. D. (2016). Population structure and cryptic speciation in bonnethead sharks *Sphyrna tiburo* in the south-eastern USA and Caribbean. *Journal of Fish Biology*, 89(5), 2219-2233.
- Fontenelle, J. P., Portella Luna Marques, F., Kolmann, M. A. y Lovejoy, N. R. (2021). Biogeography of the neotropical freshwater stingrays (Myliobatiformes: Potamotrygoninae) reveals effects of continent-scale paleogeographic change and drainage evolution. *Journal of Biogeography* 48, 1406-1419.
- Fowler, H. W. (1930). List of New Jersey fishes observed in 1929. *Fish Culturist* (Philadelphia). 9:115-117

- Fowler, H. W. (1945). Fishes of Chile. Systematic catalog. Apartado de la Revista Chilena de Historia Natural, Part I and II, 1-171.
- Franklin, O., Palmer, C., & Dyke, G. (2014). Pectoral fin morphology of batoid fishes (Chondrichthyes: Batoidea): explaining phylogenetic variation with geometric morphometrics. *Journal of morphology*, 275(10), 1173-1186.
- Garman, S. (1913). The Plagiostoma. Memoirs of the Museum of Comparative Zoology. 36: 1-518.
- Gilbert, C.H., & Starks, E. C. (1904). The fishes of Panama. Stanford University, California.
- Gill, T. (1863). Descriptive enumeration of a collection of fishes from the western coast of Central America, presented to the Smithsonian Institution by Capt. John M. Dow. Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia. 15: 162-174
- Günther, A. (1872). Report on several collections of fishes recently obtained for the British Museum. *Proceedings of the Zoological Society of London 1871* 3, 652-675.
- Hammer, Ø., Harper, D. A. & Ryan, P. D. (2001). PAST: paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia electronica* 4, 9.
- Hebert, P. D., Ratnasingham, S., & De Waard, J. R. (2003). Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 270(suppl_1), S96-S99.
- Hebert, P. D., & Gregory, T. R. (2005). The promise of DNA barcoding for taxonomy. *Systematic biology*, 54(5), 852-859.
- Hedges, S. B., Marin, J., Suleski, M., Paymer, M., & Kumar, S. (2015). Tree of life reveals clock-like speciation and diversification. *Molecular biology and evolution*, 32(4), 835-845.
- Henderson, A. C., Reeve, A. J., Jabado, R. W., & Naylor, G. J. (2016). Taxonomic assessment of sharks, rays and guitarfishes (Chondrichthyes: Elasmobranchii) from south-eastern Arabia, using the NADH dehydrogenase subunit 2 (NADH2) gene. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 176(2), 399-442.
- Hey J (2001) Genes, Categories and Species: The Evolutionary and Cognitive Causes of the Species Problem. Oxford University Press, New York, 217 pp.

- Hildebrand, S. H. (1946). A descriptive catalog of the shore fishes of Peru. *Bulletin of the United States National Museum*.
- Hinojosa-Alvarez, S., Walter, R. P., Diaz-Jaimes, P., Galván-Magaña, F., y Paig-Tran, E. M. (2016). A potential third manta ray species near the Yucatán Peninsula? Evidence for a recently diverged and novel genetic Manta group from the Gulf of Mexico. *PeerJ*, 4, e2586.
- Hleap, J. S., Mejía-Falla, P. A., & Cárdenas, H. (2012). Relaciones morfométricas de la raya redonda *Urotrygon rogersi*: implicaciones cuantitativas bajo modelos lineales. *Revista de biología marina y oceanografía*, 47(1), 35-50.
- Holt, J.W., Holt, E. W., Stock, J.M. (2000). An age constraint on Gulf of California rifting from the Santa Rosalía basin, Baja California Sur, México, *Geological Society of America Bulletin*, v. 112, p. 540-549.
- Hoorn, C., Wesselingh, F. P., Hovikoski, J., & Guerrero, J. (2010). The development of the amazonian mega-wetland (Miocene; Brazil, Colombia, Peru, Bolivia). *Amazonia, landscape and species evolution: a look into the past*, 123, 142.
- Hrbek T, Keivany Y and Coad BW (2006) New species of *Aphanius* (Teleostei, Cyprinodontidae) from Isfahan province of Iran and a reanalysis of other Iranian species. *Copeia* 2006:244-255.
- Huelsenbeck J.P. & B. Rannala. 1997. Phylogenetic methods come of age: testing hypotheses in an evolutionary context. *Science*, 276, 227–232.
- Iglésias, S. P., Kemper, J. M., & Naylor, G. J. (2021). *Chimaera compacta*, a new species from southern Indian Ocean, and an estimate of phylogenetic relationships within the genus *Chimaera* (Chondrichthyes: Chimaeridae). *Ichthyological Research*, 1-15.
- Jardas, I. (1984). Horizontal and vertical distribution of benthos Selachia (Pleurotremata, Hypotremata) in the Adriatic.
- Jordan, D. S., Gilbert, C. H. (1882). Descriptions of nineteen new species of fishes from the Bay of Panama. *Bulletin of the U.S. Fish Commission*. 1: 306-335
- Jordan, D. S. & Gilbert, C. H. (1883). Description of a new species of *Urolophus*

- (*Urolophus asterias*), from Mazatlan and Panama. *Proceedings of the United States National Museum* **5**, 579-580.
- Jordan, D. S. y Bollman, C. H. (1890). Descriptions of new species of fishes collected at the Galapagos Islands and along the coast of the United States of Colombia, 1887-'88. *Proceedings of the United States National Museum* **12**, 149-183.
- Jordan, D. S. y Starks, E. C. (1895). The fishes of Sinaloa. *Proceedings of the California Academy of Sciences* **5**, 377-514
- Kemper, J. M., Ebert, D. A., Naylor, G. J., & Didier, D. A. (2014). *Chimaera carophila* (Chondrichthyes: Chimaeriformes: Chimaeridae), a new species of chimaera from New Zealand. *Bulletin of Marine Science*, *91*(1), 63-81.
- Kobelkowsky, A. (2010). Anatomía comparada del sistema digestivo de las rayas *Urotrygon chilensis* y *Dasyatis sabina* (Myliobatiformes). *Revista chilena de historia natural*, *83*(3), 387-394.
- Kumar, S., & Gadagkar, S. R. (2001). Disparity index: a simple statistic to measure and test the homogeneity of substitution patterns between molecular sequences. *Genetics*, *158*(3), 1321-1327.
- Kumar, S., Stecher, G., Suleski, M., & Hedges, S. B. (2017). TimeTree: a resource for timelines, timetrees, and divergence times. *Molecular biology and evolution*, *34*(7), 1812-1819.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., & Tamura, K. (2018). MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular biology and evolution*, *35*(6), 1547.
- Lasso, C. A., Rosa, R. S., Sánchez-Duarte, P., Morales-Betancourt, M. A., y Agudelo-Córdoba, E. (2013). IX. Rayas de agua dulce (Potamotrygonidae) de Suramérica Parte I: Colombia, Venezuela, Ecuador, Perú, Brasil, Guyana, Surinam y Guayana Francesa: diversidad, bioecología, uso y conservación.
- Last, P., White, W., Séret, B., de Carvalho, M., Stehmann, M. & Naylor, G. (2016a). Rays of the World: CSIRO PUBLISHING.
- Last, P. R., Naylor, G. J. & Manjaji-Matsumoto, B. M. (2016b). A revised classification of the family Dasyatidae (Chondrichthyes: Myliobatiformes) based on new morphological and molecular insights. *Zootaxa* *4139*, 345-368.

- Last, P. R., Weigmann, S. & Yang, L. (2016c). Changes to the nomenclature of the skates (Chondrichthyes: Rajiformes). In *Rays of the World*: (Last, P. R., Naylor, G. J., Séret, B., White, W., Stehmann, M. & de Carvalho, M., eds.). Australia: CSIRO PUBLISHING.
- Leigh, E. G., O'Dea, A., & Vermeij, G. J. (2014). Historical biogeography of the Isthmus of Panama. *Biological Reviews*, 89(1), 148-172.
- Lieske, E., and R. Myers. 1994. Coral reef fishes. IndoPacific and Caribbean including the Red Sea (Collins Pocket Guide). London: Harper Collins Publishers
- Lim, K. C., Lim, P.-E., Chong, V. C. & Loh, K.-H. (2015). Molecular and morphological analyses reveal phylogenetic relationships of stingrays focusing on the family Dasyatidae (Myliobatiformes). *PLoS ONE* 10, e0120518.
- Loboda, T. S., Lasso, C. A., Rosa, R. d. S. & Carvalho, M. R. d. (2021). Two new species of freshwater stingrays of the genus *Paratrygon* (Chondrichthyes: Potamotrygonidae) from the Orinoco basin, with comments on the taxonomy of *Paratrygon aiereba*. *Neotropical Ichthyology* 19.
- López, M. I. & Bussing, W. A. (1998). *Urotrygon cimar*, a new eastern Pacific stingray (Pisces: Urolophidae). *Revista de Biología Tropical*. **46**, 271-277.
- Lovejoy, N. R. (1996). Systematics of myliobatoid elasmobranchs: with emphasis on the phylogeny and historical biogeography of neotropical freshwater stingrays (Potamotrygonidae: Rajiformes). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 117(3), 207-257.
- Lundberg, J.G. & Aguilera, O. 2003. The Late Miocene *Phractocephalus catfi* sh (Siluriformes: Pimelodidae) from Urumaco, Venezuela: additional specimens and reinterpretation as a distinct species. *Neotropical Ichthyology*, **1**: 97-109.
- Matzke, N. J. (2014). Model selection in historical biogeography reveals that founder-event speciation is a crucial process in island clades. *Systematic biology*, 63(6), 951-970.
- Marramà, G. & Kriwet, J. (2017). Principal component and discriminant analyses as powerful tools to support taxonomic identification and their use for functional and phylogenetic signal detection of isolated fossil shark teeth. *PLoS ONE* **12**,

e0188806.

- Marramà, G., Claeson, K. M., Carnevale, G. & Kriwet, J. (2018). Revision of Eocene electric rays (Torpediniformes, Batomorphii) from the Bolca Konservat-Lagerstätte, Italy, reveals the first fossil embryo in situ in marine batoids and provides new insights into the origin of trophic novelties in coral reef fishes. *Journal of systematic palaeontology* **16**, 1189-1219.
- Marramà, G., Carnevale, G., Giusberti, L., Naylor, G. J., & Kriwet, J. (2019). A bizarre Eocene dasyatoid batomorph (Elasmobranchii, Myliobatiformes) from the Bolca Lagerstätte (Italy) reveals a new, extinct body plan for stingrays. *Scientific reports*, *9*(1), 1-12.
- McCoy, M. W., Bolker, B. M., Osenberg, C. W., Miner, B. G., & Vonesh, J. R. (2006). Size correction: comparing morphological traits among populations and environments. *Oecologia*, *148*(4), 547-554.
- McEachran, J. D. (1995). Urolophidae. Editors: Fischer, W., Krupp, F., Schneider, W., Sommer, C., Carpenter, K.E., Niem, V. H., *Guía FAO para Identificación de Especies para lo Fines de la Pesca. Pacífico Centro-Oriental (Vol. 3)*. Rome, FAO.
- McEachran, J. D., Dunn, K. A. y Miyake, T. (1996). Interrelationships of the batoid fishes (Chondrichthyes: Batoidea. In Interrelationships of fishes (Stiassny, M. L., Parenti, L. R. & Johnson, J. D., eds.), pp. 63-84 p. San Diego, California, USA Academic Press.
- McEachran, J. D. y De Carvalho, M. R. (1995). Urotrygonidae. Editor: Carpenter, K.E. *The Living Marine Resources of the Western Central Atlantic. FAO Species Identification Guide for Fishery Purposes*. FAO, Roma, Italia.
- McEachran, J. D., De Carvalho, M. R., y Carpenter, K. E. (2002). Batoid fishes. *The living marine resources of the Western Central Atlantic*, *1*, 507-589.
- McEachran, J. D. y Aschliman, N. (2004). Phylogeny of batoidea. *Biology of sharks and their relatives*, (Boca Raton (FL), 79-113.
- Meek, S. E. y Hildebrand S. F. (1923) The marine fishes of Panama. Field Museum of Natural History Publication, Zoological Series
- Mejía-Falla, P. A., Navia, A. F., & Puentes, V. (2011). Guía para la identificación de

- especies de tiburones, rayas y quimeras de Colombia. *Fundación Squalus, Bogotá*.
- Mejía-Falla, P. A., Navia, A. F., & Cortés, E. (2012). Reproductive variables of *Urotrygon rogersi* (Batoidea: Urotrygonidae): a species with a triannual reproductive cycle in the eastern tropical Pacific Ocean. *Journal of Fish Biology*, 80(5), 1246-1266.
- Mejía-Falla, P. A. & Navia, A. F. (2019). Checklist of marine elasmobranchs of Colombia. *Universitas Scientiarum* 24, 241-276.
- Mello, B. (2018). Estimating timetrees with MEGA and the TimeTree resource. *Molecular Biology and Evolution*, 35(9), 2334-2342.
- Mendonça, F. F., Oliveira, C., Burgess, G., Coelho, R., Piercy, A., Gadig, O. B. F., & Foresti, F. (2011). Species delimitation in sharpnose sharks (genus *Rhizoprionodon*) in the western Atlantic Ocean using mitochondrial DNA. *Conservation genetics*, 12(1), 193-200.
- Miyake, T. & McEachran, J. D. (1986). Taxonomy of the Stingray Genus *Urotrygon* (Myliobatiformes: Urolophidae): Preliminary Results Based on External Morphology. In *Indo-Pacific Fish Biology: Proceedings of the Second International Conference on Indo-Pacific Fishes* (T., U., Arai, R., Taniuchi, T. & Matsuura, K., eds.), pp. 291-302. Tokyo: Ichthyological Society of Japan, Tokyo.
- Miyake, T. & McEachran, J. D. (1988). Three new species of the Stingray genus *Urotrygon* (Myliobatiformes: Urolophidae) from the Eastern Pacific. *Bulletin of Marine Science* 42, 366-375.
- Mollen, F. H. (2018). Checklist anxiety: the case for sharks, skates and rays. *Journal of Fish Biology* 93, 163-164.
- Montes-Domínguez, H. M. (2001). Sistemática de las especies del género *Urotrygon* (Myliobatoidei : Urolophidae). Tesis Maestría . Universidad Nacional Autónoma de México. 149 p.
- Dominguez, H. M. M., Isais, M. G. (2017). Skeleton Anatomy of Five Species of Genus *Urotrygon* (Chondrichthyes: Urotrygonidae). *Int. J. Morphol*, 35(3), 831-839.
- Montes, C., Cardona, A., Jaramillo, C., Pardo, A., Silva, J. C., Valencia, V., Pérez-Angel, L.C., Rodríguez-Parra, L.A., Ramírez V., y Niño, H. (2015). Middle Miocene closure of the Central American seaway. *Science*, 348(6231), 226-229.

- Mould, B. (1997). *Classification of the Recent Elasmobranchii – A Classification of the Living Sharks and Rays of the World*. Available at <http://ibis.nott.ac.uk/elasmobranch.html/> (last accessed 14 March 2019).
- Moura, T., Silva, M. C., Figueiredo, I., Neves, A., Muñoz, P. D., Coelho, M. M., & Gordo, L. S. (2008). Molecular barcoding of north-east Atlantic deep-water sharks: species identification and application to fisheries management and conservation. *Marine and Freshwater Research*, 59(3), 214-223.
- Naylor, G. J., Caira, J. N., Jensen, K., Rosana, K. A. M. & White, W. T. (2012). A DNA sequence-based approach to the identification of shark and ray species and its implications for global elasmobranch diversity and parasitology. *Bulletin of the American Museum of Natural History* 367.
- Naylor, G. J., Yang, L., Corrigan, S. & de Carvalho, M. R. (2016). Phylogeny and Classification of Rays. In *Rays of the World* (Last, P. R., White, W. T., de Carvalho, M. R., Séret, B., Stehmann, M. & Naylor, G. J., eds.), p. 801. Australia: CSIRO PUBLISHING.
- Navarro-González, J. A., Rubio-Rodríguez, U., Mejía-Falla, P. A., & Cruz-Escalona, V. H. (2018). Descripción morfológica del aparato bucal de adultos de *Urotrygon nana* y *U. rogersi* (Urotrygonidae): diferencias intraespecíficas e interespecíficas. *Hidrobiológica*, 28(2), 219-222.
- Nelson, J. S., Grande, T. C. & Wilson, M. V. H. (2016). *Fishes of the World: Fifth Edition*. Hoboken, New Jersey, USA: John Wiley & Sons, Inc.
- Nishida, K. (1990). Phylogeny of the suborder Myliobatidoidei. *Memoirs of the faculty of fisheries Hokkaido University*, 37(1-2), 1-108.
- Oskin, M., Stock, J., Martín-Barajas, A. (2001). Rapid localization of Pacific-North America plate motion in the Gulf of California, *Geology*, v. 29, p. 459-462.
- Peña C. 2011. Métodos de inferencia filogenética. *Revista peruana de Biología*, 18(2): 265-267
- Pequeño, G. (1989). Peces de Chile. Lista sistemática revisada y comentada. *Revista Biología Marinas*. 24, 1-132.
- Petean, F. F., Naylor, G. J., & Lima, S. M. (2020). Integrative taxonomy identifies a new stingray species of the genus *Hypanus* Rafinesque, 1818 (Dasyatidae,

- Myliobatiformes), from the Tropical Southwestern Atlantic. *Journal of Fish Biology*, 97(4), 1120-1142.
- Pfleger, M. O., Grubbs, R. D., Cotton, C. F., & Daly-Engel, T. S. (2018). *Squalus clarkae* sp. nov., a new dogfish shark from the Northwest Atlantic and Gulf of Mexico, with comments on the *Squalus mitsukurii* species complex. *Zootaxa*, 4444(2), 101-119.
- Pimiento, C., Gonzalez-Barba, G., Hendy, A. J. W., Jaramillo, C., MacFadden, B. J., Montes, C., ... Shippritt, M. (2013). *Early Miocene chondrichthyans from the Culebra Formation, Panama: A window into marine vertebrate faunas before closure the Central American Seaway. Journal of South American Earth Sciences*, 42, 159–170. doi:10.1016/j.jsames.2012.11.005
- Piorski, N. V., & Nunes J. L. (2001). Dimorfismo sexual e tendencia alométrica em *Urotrygon microphthalmum* Delsman, 1941 (Elasmobranchii: Urolophidae). *Boletim do Laboratório de Hidrobiologia*. 13(1): 67-81.
- Pollerspöck, J., y Straube, N. (2021). Bibliography database of living/fossil sharks, rays and chimaeras (Chondrichthyes: Elasmobranchii, Holocephali)—List of Valid Extant Species; List of Described Extant Species; Statistic. *World Wide Web electronic publication, Version, 3, 2021*.
- Poortvliet, M., Olsen, J. L., Croll, D. A., Bernardi, G., Newton, K., Kollias, S., O'Sullivan, J., Fernando, D., Stevens, G., Galván Magaña, F., Seret, B., Wintner, S. & Hoarau, G. (2015). A dated molecular phylogeny of manta and devil rays (Mobulidae) based on mitogenome and nuclear sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 83, 72-85.
- Ramírez-Hernández, E., & González-Pages, A. (1976). Catálogo de peces marinos mexicanos. *México, Secretaría de Industria y Comercio, Instituto Nacional de la Pesca*.
- Rambaut, A., Drummond, A. J., Xie, D., Baele, G. & Suchard, M. A. (2018). Posterior summarization in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. *Systematic biology* 67, 901.
- Ricker, K.E. (1959) Mexican shore and pelagic fishes collected from Acapulco to Cape San Lucas during the 1957 cruise of the "Marijean". *Museum Contributions, Institute of Fisheries, University of British Columbia*, 3, 1–18.

- Rodríguez-Olarte, D., Corzo, J. I. M., & Baechele, D. C. T. (2011). Fifteen. Northern South America Magdalena and Maracaibo Basins. In *Historical biogeography of Neotropical freshwater fishes* (pp. 243-258). University of California Press.
- Rohlf, F. J., & Bookstein, F. L. (1987). A comment on shearing as a method for "size correction". *Systematic Zoology*, 36(4), 356-367.
- Rambaut, A., Drummond, A. J., Xie, D., Baele, G., & Suchard, M. A. (2018). Posterior summarization in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. *Systematic biology*, 67(5), 901.
- Ronquist, F., Huelsenbeck, J., Teslenko, M., & Nylander, J. A. A. (2011). MrBayes version 3.2 manual: tutorials and model summaries. *Available with the software distribution at mrbayessourcefor genet/mb32_manualpdf*.
- Ronquist, F., Forshage, M., Häggqvist, S., Karlsson, D., Hovmöller, R., Bergsten, J., ... & Gärdenfors, U. (2020). Completing Linnaeus's inventory of the Swedish insect fauna: Only 5,000 species left?. *PloS one*, 15(3), e0228561.
- Rutledge, K. M. (2019). A new guitarfish of the genus *Pseudobatos* (Batoidea: Rhinobatidae) with key to the guitarfishes of the Gulf of California. *Copeia*, 107(3), 451-463.
- Sabaj, M. H. (2016). Standard symbolic codes for institutional resource collections in herpetology and ichthyology: an Online Reference. *Version*, 6(16), 802-832.
- Saitou, N., & Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular biology and evolution*, 4(4), 406-425.
- Santander-Neto, J., Araújo, M. L. G., & Lessa, R. P. (2016). Reproductive biology of *Urotrygon microphthalmum* (Batoidea: Urotrygonidae) from north-eastern Brazil, tropical west Atlantic Ocean. *Journal of fish biology*, 89(1), 1026-1042.
- Schultz, L. P. (1949). A further contribution to the ichthyology of Venezuela. *Proceedings of the United States National Museum*.
- Seidel, R., Lyons, K., Blumer, M., Zaslansky, P., Fratzl, P., Weaver, J. C., & Dean, M. N. (2016). Ultrastructural and developmental features of the tessellated endoskeleton of elasmobranchs (sharks and rays). *Journal of Anatomy*, 229(5), 681-702.
- Smith, W. D., Bizzarro, J. J., Richards, V. P., Nielsen, J., Márquez-Flarías, F., y Shivji, M. S. (2009). Morphometric convergence and molecular divergence: the taxonomic

- status and evolutionary history of *Gymnura crebripunctata* and *Gymnura marmorata* in the eastern Pacific Ocean. *Journal of Fish Biology*, 75(4), 761-783.
- Smith, D. G. (2018). Fishes collected by Captain John M. Dow mainly on the Pacific coast of Central America (1861-1865) and deposited in the National Museum of Natural History, Smithsonian Institution. *Proceedings of the Biological Society of Washington*. 131(1): 65-89.
- Spalding, M. D., Fox, H. E., Allen, G. R., Davidson, N., Ferdaña, Z. A., Finlayson, M., Halpern, B. S., Jorge, M. A., Lombana, A., Lourie, S. A., Martin, K. D., McManus, E., Molnar, J., Recchia, C. A. Robertson, J. (2007). Marine Ecoregions of the World: A Bioregionalization of Coastal and Shelf Areas. *BioScience*. 57(7): 573-583.
- Spieler, R. E., Fahy, D. P., Sherman, R. L., Sulikowski, J. A., & Quinn, T. P. (2013). The yellow stingray, *Urobatis jamaicensis* (Chondrichthyes: Urotrygonidae): a synoptic review. *Caribbean Journal of Science*, 47(1), 67-97.
- Stelbrink, B., von Rintelen, T., Cliff, G., & Kriwet, J. (2010). Molecular systematics and global phylogeography of angel sharks (genus *Squatina*). *Molecular phylogenetics and evolution*, 54(2), 395-404.
- Tamura, K., Battistuzzi, F. U., Billings-Ross, P., Murillo, O., Filipowski, A., & Kumar, S. (2012). Estimating divergence times in large molecular phylogenies. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(47), 19333-19338.
- Ter Steege, H. (2010). Will tropical biodiversity survive our approach to global change?. *Biotropica*, 42(5), 561-562.
- Thiel, R., Eidus, I., & Neumann, R. (2009). The Zoological Museum Hamburg (ZMH) fish collection as a global biodiversity archive for elasmobranchs and actinopterygians as well as other fish taxa. *Journal of Applied Ichthyology*, 25, 9-32.
- Toffoli, D., Hrbek, T., Araújo, M. L. G. D., Almeida, M. P. D., Charvet-Almeida, P., & Farias, I. P. (2008). A test of the utility of DNA barcoding in the radiation of the freshwater stingray genus *Potamotrygon* (Potamotrygonidae, Myliobatiformes). *Genetics and Molecular Biology*, 31, 324-336.
- Torres-Palacios, K., Mejia-Falla, P. A., Navia, A. F., Cruz-Escalona, V. H., Felix-Uraga, R., & Quinonez-Velazquez, C. (2019). Age and growth parameters of the Panamic

- stingray (*Urotrygon aspidura*). *Fishery Bulletin*, 117(3), 169-180.
- Valentin, S. V. (2009). *Urotygon rogersi*. The IUCN Red List of Threatened Species 2009: e.T161335A5400946
- Vaz, D. F., y de Carvalho, M. R. (2018). New Species of Squatina (Squatiniformes: Squatinidae) from Brazil, with comments on the taxonomy of angel sharks from the Central and Northwestern Atlantic. *Copeia*, 106(1), 144-160.
- Viana, S. T., de Carvalho, M. D., & Gomes, U. L. (2016). Taxonomy and morphology of species of the genus *Squalus* Linnaeus, 1758 from the Southwestern Atlantic Ocean (Chondrichthyes: Squaliformes: Squalidae). *Zootaxa*, 4133(1), 1-89.
- Villalobos-Segura E. y Underwood C.J. (2020). Radiation and divergence times of Batoidea, *Journal of Vertebrate Paleontology*, DOI: 10.1080/02724634.2020.1777147
- Ward, R. D., Zemlak, T. S., Innes, B. H., Last, P. R., & Hebert, P. D. (2005). DNA barcoding Australia's fish species. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 360(1462), 1847-1857.
- Weigmann, S. (2016). Annotated checklist of the living sharks, batoids and chimaeras (Chondrichthyes) of the world, with a focus on biogeographical diversity. *Journal of Fish Biology* 88, 837-1037.
- Weigmann, S. (2017). Reply to Borsa (2017): Comment on 'Annotated checklist of the living sharks, batoids and chimaeras (Chondrichthyes) of the world, with a focus on biogeographical diversity by Weigmann (2016)'. *Journal of Fish Biology* 90, 1176-1181.
- Wesselingh, F. P., & Hoorn, C. (2011). Three. Geological Development of Amazon and Orinoco Basins. In *Historical biogeography of Neotropical freshwater fishes* (pp. 59-68). University of California Press.
- White, W. T., y Sommerville, E. (2010). Elasmobranchs of tropical marine ecosystems. In *Sharks and their relatives II* (pp. 175-256). CRC Press.
- White, W. T. y& Naylor, G. J. (2016). Resurrection of the family Aetobatidae (Myliobatiformes) for the pelagic eagle rays, genus *Aetobatus*. *Zootaxa* 4139, 435-438.
- White, W. T., Corrigan, S., Yang, L., Henderson, A. C., Bazinet, A. L., Swofford, D. L. &

- Naylor, G. J. (2017). Phylogeny of the manta and devilrays (Chondrichthyes: Mobulidae), with an updated taxonomic arrangement for the family. *Zoological Journal of the Linnean Society* 182, 50-75.
- Wiley, E. O. (1978). The evolutionary species concept reconsidered. *Systematic zoology* 27, 17-26.
- Wilkinson, M. J., Marshall, L. G., Lundberg, J. G., & Kreslavsky, M. H. (2010). Megafan environments in northern South America and their impact on Amazon Neogene aquatic ecosystems. *Amazonia, landscape and species evolution: a look into the past*, 162-184.
- Wong, E. H. K., Shivji, M. S., & Hanner, R. H. (2009). Identifying sharks with DNA barcodes: assessing the utility of a nucleotide diagnostic approach. *Molecular Ecology Resources*, 9, 243-256.
- Yokota, L., & De Carvalho, M. R. (2017). Taxonomic and morphological revision of butterfly rays of the *Gymnura micrura* (Bloch & Schneider 1801) species complex, with the description of two new species (Myliobatiformes: Gymnuridae). *Zootaxa*, 4332(1), 1-74.
- Yu, Y., Harris, A. J., He, X. J. (2010). S-DIVA (statistical dispersal–vicariance analysis): a tool for inferring biogeographic histories. *Mol. Phylogenet. Evol.* 56, 848–850. doi: 10.1016/j.ympev.2010.04.011
- Yu, Y., Blair, C. & He, X. (2020). RASP 4: ancestral state reconstruction tool for multiple genes and characters. *Molecular Biology and Evolution* 37, 604-606.
- Zachos, J., Pagani, M., Sloan, L., Thomas, E., Billups, K., 2001. Trends, rhythms, and aberrations in global climate 65 Ma to present. *Science* 292, 686–693.

MANUSCRITO EHEMANN ET AL. ENVIADO 1.

LOST IN TIME WITHIN THE BLOTCHED STINGRAY COMPLEX: TAXONOMIC RESURRECTION OF *Urotrygon asterias* (Jordan & Gilbert, 1883) SUPPORTED BY INTEGRATIVE TAXONOMY.

Ehemann N.R.¹, Hernández, S.², Siccha-Ramírez, R.³, García-Rodríguez F.J.¹ & De La Cruz-Agüero, J.¹

¹ Instituto Politécnico Nacional – Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR–IPN), Colección Ictiológica, Avenida IPN s/n, Colonia Playa Palo Santa Rita, La Paz, Baja California Sur, 23096, México.

²

Corresponding author: jcruz@ipn.mx

ABSTRACT

Urotrygon asterias was the fourth eastern Pacific species described for this genus (formerly genus *Urolophus*) by D.S. Jordan and C.H. Gilbert in 1883. This species has undergone several synonymizing processes within the *Urotrygon* genus, mainly related to its conspecific *Urotrygon munda* (Gill, 1862) and *Urotrygon chilensis* (Günther, 1872). An integrative taxonomic approach (*i.e.*, meristic, morphometric, and mitochondrial DNA information) was performed to elucidate the taxonomic status of *U. asterias*. For the morphometric analyses, Correlation, Principal Components Analyses (PCA), Permutational Multivariate Analysis of Variance (PERMANOVA), Analysis of Similarities (ANOSIM), and Discriminant Analyses (DA) using forward stepwise tests were employed in this study. Additionally, meristic information was applied on tooth rows, thorns, vertebrae, soft rays of the pectoral, and pelvic fin. Mitochondrial genes information of the Nicotinamide Adenine Dinucleotide dehydrogenase subunit 2 (NADH₂), and the Cytochrome Oxidase subunit 1 (COI) region, was used for taxonomic validity and support for *U. asterias* and *U. chilensis* as distinct lineage. A total of 76 juvenile and mature specimens (five *Urotrygon munda*, 25 *U. chilensis*, and 46 *U. asterias*) were taxonomic and morphometric assessed. The multicollinearity test results reduced the 19 morphometric variables to four, used to perform the PCA. The PC1 (76.5%) and PC2 (12.1%) expressed 88.6% of the total variance. PERMANOVA ($F=15.65$; $P=0.0001$) showed a significant difference among the centroid position of the PCA analysis. ANOSIM ($R=0.2174$; $P=0.0002$) did not depict a statistical superposition of the 95% confident ellipses between the species assessed in the PCA morphospace. Both non-parametric tests are congruent that each group constitutes belongs to different taxonomic entities. Forward stepwise DA using the initial 19 morphometric variables, considered eight in its model resulting in an overall 85.7% classification accuracy (*i.e.*, *U. munda* 100.0%, *U. chilensis* 76.9%, and *U. asterias* 89.1%). Squared Mahalanobis distances from group centroids were $P=0.06$, $P=0.33$ and $P=0.59$, respectively, showing different group. *Urotrygon asterias* showed more than 90 pre-sting vertebrae and a maximal of 42 thorns along the dorsal midline, being higher than those recorded...

Roger's round ray subtropical biology

***Urotrygon rogersi* (Myliobatiformes: Urotrygonidae), from the subtropical, provides new biological, genetic, taxonomic, and distribution data for the genus *Urotrygon*.**

Ehemann N.R., García-Rodríguez F.J.* & De La Cruz-Agüero J.

Instituto Politécnico Nacional – Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR–IPN), Colección Ictiológica, Avenida IPN s/n, Colonia Playa Palo Santa Rita, La Paz, Baja California Sur, 23096, México

Corresponding author: Francisco Javier García Rodríguez fjarciar@ipn.mx

ABSTRACT

Urotrygon rogersi (Jordan & Starks, 1895) is a benthic and endemic round ray inhabiting the shallow waters of the tropical and subtropical eastern Pacific. The primary biological information described and published for this species has been obtained mainly from bycatch specimens collected from the shrimp trawl fishery along Mexican and Colombian coasts. In this study, a complete taxonomic identification was applied to 77 specimens of *Urotrygon* spp. that are housed and preserved in the two ichthyological collections of Baja California Sur (Mexico). Thirty-three new fresh material specimens collected from the local artisanal fishery in La Paz, B.C.S. were added to this study. Of all the 110 examined specimens, 50 were morphologically identified as *U. rogersi*. Of the latter, a subset of four (for NADH₂) and two (for COI) specimens were selected for DNA taxonomy validation and compared to the online DNA sequences available. Both mitochondrial gene successfully distinguished *U. rogersi* from other Urotrygonidae species. The NADH₂ specimens sequenced in this study were identical with an online database, which held cataloged biomaterial is misidentified as *Urotrygon simulatrix* (Miyake & McEachran, 1988). Similarly, COI results showed identical sequences among this study and two *Urotrygon* sp. held in public databases. Both ichthyological collections assessed presented taxonomic misidentifications of *U. rogersi*. Which most frequently occurred for juvenile specimens, showing the taxonomic complexity of this group of fishes. Fifteen of the *U. rogersi* specimens studied were longer and broader than the maximum sizes previously reported for this species. The geographic distribution of *U. rogersi* was established between the marine ecoregion (ME) of the Magdalena Transition (Mexico) and Panama Bight (Colombia), with the Cortezian zone (Gulf of California) having the highest number of records. Conversely the presence of *U. simulatrix* inhabiting Mexican waters is discarded. Similarly, *Urotrygon aspidura* (Jordan & Gilbert, 1882) spatial distribution should be restricted to the ME of the Mexican Tropical Pacific instead of Magdalena Transition and Cortezian. The new biological, taxonomic, genetic, and geographic distribution information in this study should be considered in any further evaluation regarding the conservation status of this endemic American round ray.

Keywords: DNA, Eastern Pacific, Elasmobranch, Round ray, Taxonomy.

MORPHOLOGICAL ABNORMALITIES IN SEVEN AMERICAN ROUND RAYS SPECIMENS. A REVIEW OF AMERICAS BATOMORPHS ANOMALIES.

America's batomorph abnormalities

Ehemann N.R.¹, García-Rodríguez F.J.¹ & De La Cruz-Agüero J¹.

¹Instituto Politécnico Nacional, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR-IPN), Colección Ictiológica (CI) Avenida Instituto Politécnico Nacional, s/n, Apartado Postal 592, La Paz, Baja California Sur, 23096, México.

ABSTRACT

Although morphological abnormalities in several rays and skate species around the American continents have frequently mentioned, their numbers are unknown. The present work record morphological abnormalities in four Urotrygonidae species. Two anophthalmic specimens were detected (*Urotrygon microphthalmum* and *Urobatis halleri*). Two individuals lacked caudal fins (*Urobatis maculatus* and *Urotrygon chilensis*). Two round rays showed incomplete fusion of the pectoral fin to the head (*U. microphthalmum* and *U. chilensis*). Vertebral compression and fusion were found in a 6-year-old female *Urotrygon rogersi*. In addition, 118 abnormal batomorph specimens were gathered from the available bibliography, spanning the last six decades (1959–2021). *Amblyraja doellojuradoi* was the species with the highest number of abnormalities (18). The most common anomaly was an incomplete fusion of the pectoral fin with the head. Since 2010, at least 30 anomalous batomorphs have been recorded every 5 years. Sixty-nine abnormal specimens occurred in the Northern Hemisphere (1.00–60.00 N). The Cortezian (Pacific) and Southeastern Brazil (Atlantic) marine ecoregions stood out with the highest number of these specimens. Mexico recorded 58 anomalous specimens, followed by Brazil (n = 36). Biological, abiotic and anthropogenic factors are probably the leading causes. However, additional studies are necessary to elucidate these speculations.