

Portada y portadilla



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

LICENCIATURA EN ECOLOGÍA

Escuela Nacional de Estudios Superiores,
Unidad Morelia

Filogeografía de la raya eléctrica
Narcine brasiliensis en Atlántico
occidental.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

LICENCIADA EN ECOLOGÍA

P R E S E N T A

Ayla Gabriela Ramos Mayoral

DIRECTOR(A) DE TESIS: Dr. Píndaro Díaz Jaimes

MORELIA, MICHOACÁN

22 de febrero 2023



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Portada y portadilla



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

LICENCIATURA EN ECOLOGÍA

Escuela Nacional de Estudios Superiores,
Unidad Morelia

Filogeografía de la raya eléctrica
Narcine brasiliensis en Atlántico
occidental.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

LICENCIADA EN ECOLOGÍA

P R E S E N T A

Ayla Gabriela Ramos Mayoral

DIRECTOR(A) DE TESIS: Dr. Píndaro Díaz Jaimes

MORELIA, MICHOACÁN

22 de febrero 2023



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES, UNIDAD MORELIA
COORDINACIÓN DE LA LICENCIATURA EN ECOLOGÍA

Comité Académico
OFICIO: ECO/43/2024
ASUNTO: Asignación de jurado

MÉD. MÓNICA CORTÉS GONZÁLEZ
JEFA DEL DEPARTAMENTO DE SERVICIOS ESCOLARES
ENES, UNIDAD MORELIA
P R E S E N T E

Por medio de la presente me permito informar a usted que el **Comité Académico de la Licenciatura en Ecología** de la Escuela Nacional de Estudios Superiores (ENES) Unidad Morelia, en su sesión ordinaria **No.13** del día 22 de enero del presente año, acordó **APROBAR** la asignación de jurado para el examen profesional del alumna **Ayla Gabriela Ramos Mayoral**, con número de cuenta **420137829**, quien presenta el manuscrito titulado: **“Filogeografía de la raya eléctrica *Narcine brasiliensis* en el Atlántico Occidental”**, teniendo como tutor a el **Dr. Píndaro Díaz Jaimes**

El jurado queda integrado de la siguiente manera:

Presidente: Dr. Antonio González Rodríguez
Vocal: Dr. Omar Domínguez Domínguez
Secretario: Dr. Píndaro Díaz Jaimes
Suplente 1: Dr. Jairo Andrés Arroyave Gutiérrez
Suplente 2: Dra. Mariel Ochoa Zavala

Asimismo, informo a usted y a los honorables miembros del jurado, que el Comité Académico aprobó un plazo de hasta 30 días hábiles para recibir la revisión del manuscrito correspondiente a la opción de titulación seleccionada y, en su caso, el voto aprobatorio. Sin otro particular, agradezco su atención y envío un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E
“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU” Morelia, Michoacán, a 22 de enero de 2024.

DR. RAFAEL AGUILAR ROMERO EL PRESIDENTE DEL COMITÉ ACADÉMICO
LICENCIATURA EN ECOLOGÍA

C.c.p. Alumno
Coordinación de Área

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO, CAMPUS MORELIA Antigua Carretera a Pátzcuaro N° 8701, Col. Ex
Hacienda de San José de la Huerta C.P. 58190, Morelia, Michoacán,
México.

www.enesmorelia.unam.mx

Datos del jurado y claves de proyectos

1	Posición	Núm. Trabajador UNAM	Grado	Nombre(s)	Apellido Paterno	Apellido Materno
	PRESIDENTE	839216	Dr.	Antonio	Gonzalez	Rodriguez
Dependencia de adscripción: Nombramiento:			Instituto de Investigacion en Ecosistemas y Sustentabilidad Investigador Ordinario de Carrera Asociado "C" Tiempo completo.			
2	Posición	Núm. Trabajador UNAM	Grado	Nombre(s)	Apellido Paterno	Apellido Materno
	VOCAL		Dr.	Omar	Domínguez	Domínguez
Dependencia de adscripción: Nombramiento:			Universidad Michoacana de San Nicolas de Hidalgo Profesor investigador titular "C".			
3	Posición	Núm. Trabajador UNAM	Grado	Nombre(s)	Apellido Paterno	Apellido Materno
	SECRETARIO	126591	Dr.	Pindaro	Diaz	Jaimes
Dependencia de adscripción: Nombramiento:			Unam Investigador titular "C", Unidad de genética de organismos Acuaticos			
4	Posición	Núm. Trabajador UNAM	Grado	Nombre(s)	Apellido Paterno	Apellido Materno
	SUPLENTE 1	878573	Dr	Jairo Andres	Arroyave	Gutierrez
Dependencia de adscripción: Nombramiento:			Instituto de Biología UNAM Profesor Titular "A"			
5	Posición	Núm. Trabajador UNAM	Grado	Nombre(s)	Apellido Paterno	Apellido Materno
	SUPLENTE 2	897989	Dra.	Maried	Ochoa	Zavla
Dependencia de adscripción: Nombramiento:			Laboratorio Nacional de Síntesis Ecológica (LANASE) Investigador Ordinario de Carrera Asociado "C" Tiempo completo profesor tiempo completo			

Datos de Financiacion							
Dependencia	Programa	Tipo	Clave	Título del Proyecto	Titular	Encargado	Duración
UNAM	PAPIIT	Proyecto		Genómica poblacional y filogeografía en la conservación de las rayas del género <i>Rhinoptera</i> distribuidas en América	Paola Palacios Barreto	Dr. Píndaro Diaz Jaimes	3 años
UNAM	PAECI	Beca movilidad		<i>Filogeografía de la raya eléctrica <i>Narcine brasiliensis</i> en el Atlántico occidental</i>	Ayla Gabriela Ramos Mayoral	Dr. Píndaro Diaz Jaimes, Dr. Moises Bezerra	3 meses

Agradecimientos

Expreso mi sincero agradecimiento al Laboratorio de Ciencias del Mar y Limnología por impartirme los conocimientos que poseo, con especial reconocimiento al Dr. Píndaro Díaz Jaimés por ser mi mentor. También, agradezco al Laboratorio de Ecología Acuática LABOMAR en Brasil por brindarme la oportunidad de trabajar bajo su dirección.

Quiero destacar de manera especial la colaboración invaluable de Paola Palacios Barreto a lo largo de mi trayectoria. Sin su ayuda, la finalización de este trabajo no habría sido posible, motivo por el cual la considero como mi mentora.

Expreso mi agradecimiento sincero a Manuel Lucas por su apoyo constante durante mi estancia en la Ciudad de México, así como por su amistad invaluable que siempre estuvo a mi lado. También, agradezco a Karim Awhida por permanecer a mi lado, brindarme apoyo y alentarme para completar mi tesis. Mi reconocimiento se extiende a todas las personas que me respaldaron a lo largo de mi proyecto.



Dedicatoria

A mis abuelos, padres, Manuel y karim.

Resumen

La región del Atlántico Occidental es geomorfológica y ecológicamente diversa debido a diferencias oceanográficas a lo largo de su latitud, lo que ha creado una gran heterogeneidad ambiental. Esto ha resultado en una alta diversidad de especies marinas y endemismos. La diversidad actual es el resultado de transformaciones ambientales pasadas y aspectos ecológicos que prevalecen. Para comprender cómo se formó esta diversidad, se utilizan disciplinas como la ecología molecular y la filogeografía. La ecología molecular emplea marcadores genéticos para investigar cuestiones ecológicas y evolutivas desde una perspectiva histórica. La filogeografía usa datos moleculares para analizar la historia de la distribución de linajes de especies a lo largo del tiempo y el espacio, con un enfoque en el ADN mitocondrial.

Los batoideos son un grupo diverso el cual tiene importancia tanto económica como ecológica. Sin embargo, los estudios filogeográficos con relación a estos organismos son escasos. *Narcine brasiliensis* perteneciente al orden de los torpediniformes es considerada como especie endémica de las costas de Brasil. No obstante, de ser una especie no comercial, es muy recurrente en la pesca incidental lo que pone a sus poblaciones en peligro. Esta especie es considerada de importancia ecológica al ser un mediador ecosistémico por sus hábitos alimenticios. Por lo que es importante conocer la estructuración de sus poblaciones para poder establecer estrategias de conservación que ayuden a proteger las poblaciones y su legado evolutivo.

El presente trabajo utiliza a *Narcine brasiliensis* como objeto de estudio, la cual se distribuye en el Atlántico Occidental. Utilizando el gen mitocondrial COX1. Se encontró a *N. brasiliensis* fuera de su rango de distribución, exhibiendo evidencia de estructura genética relacionada con las provincias biogeográficas el Atlántico Occidental.

Abstract

The Western Atlantic region is geomorphologically and ecologically diverse due to oceanographic differences along its latitude, which has created great environmental heterogeneity. This has resulted in a high diversity of marine species and endemism. Current diversity is the result of past environmental transformations and prevailing ecological aspects. To understand how this diversity was formed, disciplines such as molecular ecology and phylogeography are used. Molecular ecology uses genetic markers to investigate ecological and evolutionary questions from a historical perspective. Phylogeography uses molecular data to analyze the history of the distribution of species lineages over time and space, with a focus on mitochondrial DNA. Batoids are a diverse group which has both economic and ecological importance. However, phylogeographic studies in relation to these organisms are scarce. *Narcine brasiliensis* belonging to the order Torpediniformes is considered an endemic species to the coasts of Brazil. However, since it is a non-commercial species, it is very common in bycatch, which puts its populations in danger. This species is considered of ecological importance as it is an ecosystem mediator due to its feeding habits. Therefore, it is important to know the structure of their populations in order to establish conservation strategies that help protect the populations and their evolutionary legacy. The present work uses *Narcine brasiliensis* as an object of study, which is distributed in the Western Atlantic. Using the mitochondrial gene COX1. *N. brasiliensis* was found outside its range, exhibiting evidence of genetic structure related to the Western Atlantic biogeographic provinces.

Índice

1. Introducción	10
2. Antecedentes	11
2.1 Posición taxonómica y características morfológicas.....	13
2.2 Hábitat y distribución.....	14
2.3 Edad, crecimiento y reproducción	15
2.4 Alimentación.....	17
2.5 Área de estudio.....	17
2.5.1 Eventos históricos en el Atlántico	17
2.5.2 Configuración actual del Atlántico occidental	19
2.5.2.1 Configuración biogeográfica del Atlántico occidental.....	19
2.5.2.2 Oceanografía del Atlántico occidental	21
2.5.2.3 hábitats en el Atlántico occidental.....	22
2.6 Manejo de pesquerías y conservación	23
1. 3. Objetivo General	23
3.1 Objetivos específicos	23
4. Hipótesis	24
5. Material y métodos	24
5.1 Material biológico.....	24
5.2 Extracción, amplificación y secuenciación del ADN.....	26
5.3 Análisis de las secuencias	28
5.3.2 Identificación de organismos y divergencia genética	28
5.3.3 Diversidad genética y red de haplotipos.....	29
5.3.4 Estructura genética	29
6. Resultados	30
6.1 Material Biológico obtenido	30
6.2 Identificación taxonómica de especímenes y distancias genéticas	31
6.4 Red de haplotipos.....	32
6.5 Diferenciación genética	34
6.5.1 Distancias genéticas.....	34
6.5.2 Análisis de variancia molecular (AMOVA)	35
6.5.3 Prueba de Mantel.....	36
6.5.4 Barrier.....	36
7. Discusión	37
7.5 Complejidad entre especies de <i>N. brasiliensis</i> y <i>N. bancrofti</i>	37
7.1 Agrupaciones encontradas.....	39
7.2 Segregación de la provincia Norte y Centro.....	40
7.3 Aislamiento de la provincia Sur.....	41
7. Conclusiones	44
Referencias	44

Índice de figuras y tablas

Figura 1. Posición taxonómica de <i>N. brasiliensis</i> . Tomada del libro Rays of the World (2016).	13
Figura 2. Vista dorsal de <i>Narcine brasiliensis</i> . Tomada del libro Rays of the World (2016)	14
Figura 3. Distribución actual consensuada de <i>Narcine brasiliensis</i> (White et al., 2016). ...	15

Figura 4. Mapa de la configuración tectónica del área del Golfo y la Placa del Caribe. Imagen tomada de (Cruz-Orosa, 2012).	19
Figura 5. Mapa de la configuración de provincias biogeográficas del Atlántico occidental.	20
Figura 6. Mapa de Corrientes en Atlántico occidental. CG=Corriente de Guyana, CC= Corriente del Caribe, CA=Corriente Antillana, CPG= Giro Colombia-Panamà, CY=Corriente de Yucatàn, CM= Corriente Mexicana, CL= Corriente de Lazo, CF= Corriente de Florida, CG= Corriente del Golfo.....	22
Figura 7. Mapa con los manglares y arrecifes de coral tomada de (Robertson, 2014).	23
Figura 8. Localidad de los muestreos. Las localidades están agrupadas según la provincia biogeográfica y están indicadas por el ID. En la tabla se muestra la “n” de las localidades.	25
Figura 9. Localidad de las muestras que conforman la base de datos final incluyendo las secuencias disponibles en Genbank y Bold system. Las localidades están agrupadas según la provincia biogeográfica y están indicadas por el ID. En la tabla se muestra la “n” de las localidades.	30
Figura 10 Localidades donde se obtuvieron los distintos morfotipos de Narcinidos en el Atlántico. Se comparten morfotipos aff Bancroftii y aff brasiliensis entre las diferentes provincias. Los ID de los organismos fueron propuestos inicialmente con las iniciales del género Narcine= N seguida de la inicial del epíteto o nombre específico Brasiliensis= B seguidas por las iniciales de las localidades. Los nombres que no siguen “NBC”, refieren a Narcine sp. (Esta información fue acorde con los registros previamente tomados en campo). Los porcentajes de identidad se obtuvieron en Blast (Zheng et al., 2000).	31
Figura 11. Red de haplotipos construida con la matriz final de secuencias obtenidas del material biológico colectado.....	33
Figura 12. Red de haplotipos con arreglo de las 4 provincias biogeográficas de acuerdo con Robertson y Cramer (2014). Las diferentes tonalidades de colores corresponden a localidades dentro de la provincia. Los círculos negros corresponden a haplotipos faltantes y las barras entre ramas indican mutaciones.	34
Figura 14. Prueba de mantel se muestra la correlación entre las distancias genéticas y geográficas.....	36
Figura 15. Resultados de Barrier. Las barreras geográficas están indicadas por las letras (a,b,c) en color azul. Las poblaciones se indican por los puntos rojos siguiendo la numeración 1-10 donde el Norte comienza con el número 1 y el Sur termina con el número 13.	37
Tabla 1. Primera columna corresponde al fragmento a amplificar, seguidas de la segunda y tercera que contienen la información del nombre del Primer y la secuencia obtenida.	27
Tabla 3. Índices de diversidad. Muestran los valores para cada provincia donde: n= número de secuencias, hd= diversidad haplotípica, π = diversidad nucleotídica, H= número de haplotipos, S= sitios polimórficos, K= promedio de la diferenciación nucleotídica.....	32
Tabla 4. Las distancias p no corregidas (p-distance) entre las localidades de las provincias se presentan por encima de la diagonal, mientras que las diferencias genéticas (Φ_{st}) se encuentran por debajo de la misma. Se resaltan en negritas los valores de Φ_{st} que resultan significativos ($\alpha=0.05$)......	35
Tabla 5. Tabla con los datos estadísticos de AMOVA entre las 3 fuentes de variación. $\alpha=0.05$	35

1. Introducción

Para comprender como se ha ido moldeando la diversidad de especies se combinan distintas disciplinas, para obtener resultados holísticos que puedan ayudar a entender los procesos que llevaron a la diversidad contemporánea. Una de estas disciplinas es la ecología molecular, la cual utiliza marcadores genéticos moleculares para abordar hipótesis relacionadas con la ecología y la evolución (Domínguez-Domínguez & Vázquez-Domínguez, 2009). Por otro lado, la filogeografía utiliza datos moleculares, en un ámbito espacio-temporal, para identificar la línea evolutiva que llevo a la distribución actual de los linajes de las especies, con un énfasis en los aspectos históricos que han determinado la distribución espacial de los mismos, mediante la información histórica derivada del análisis de secuencias de ADN mitocondrial (Avice, 2000). El resultado de estos análisis arroja las relaciones evolutivas entre haplotipos. Los haplotipos, son variantes del ADN mitocondrial, registran la historia matrilineal de eventos mutacionales que pueden superponerse a la distribución geográfica del grupo, lo que ayuda a comprender los procesos evolutivos que han dado lugar a la distribución actual de los linajes (Avice, 2000). Además, estas regiones genéticas se emplean para determinar la estructura genética de las diferencias poblaciones, evaluar los niveles de variabilidad intraespecífica y conectividad (Perea Aranda, S. 2017).

Los análisis de genes mitocondriales se han utilizado ampliamente tanto a nivel intra e interespecífico en diversos grupos taxonómicos para estudiar sus poblaciones y evaluar la pérdida de diversidad genética causada por alteraciones del hábitat (Quiñonez Sánchez, A. 2012). Entre los genes mitocondriales más utilizados se encuentra el gen citocromo oxidasa subunidad 1 (cox1), que es un gen bastante conservado debido a su importancia en la cadena de transporte de electrones para la respiración celular (Perta, 2021). Es de gran interés detectar diferenciación intraespecífica debido a su alta tasa de sustitución de bases en los nucleótidos de la tercera posición, lo que se traduce en una tasa de mutación más elevada y rápida, lo que también es utilizado para discriminar entre especies estrechamente relacionadas en ciertos grupos crípticos (Pavan-Kumar, 2015). Es importante destacar que los genomas mitocondriales tienen formas hereditarias y patrones evolutivos distintos en comparación con los genomas nucleares, lo que puede resultar en aproximaciones evolutivas diferentes (Rubinoff, 2006). A pesar

de algunas desventajas en ciertos grupos, el gen *cox1* sigue siendo ampliamente utilizado debido a su facilidad de aplicación en diversos grupos taxonómicos, siendo generalmente una herramienta informativa adecuada para realizar estudios a nivel poblacional (Hebert, P.R., 2003) (Quiñonez Sánchez, A. 2012) (Deagle, B.J., 2014).

El presente trabajo analiza las poblaciones de *Narcine brasiliensis*, una raya eléctrica perteneciente a el género *Narcine*, la cual es considerada una especie endémica de las costas brasileñas a las cuales se le puede encontrar en la costa de playas arenosas alimentándose de crustáceos y poliquetos, lo que la convierte en uno de los mejores reguladores biológicos.

En los últimos años se reportó la presencia frecuente de diversos morfotipos sobre los que es necesario confirmar si *N. brasiliensis* aparece en la redes de arrastre producto de la pesca incidental en regiones como el Caribe y Golfo de México. El hecho de encontrar a *N. brasiliensis* fuera de su rango de distribución es interesante puesto que la región del Atlántico Occidental se distingue por poseer características oceanográficas y geológicas muy diferentes a lo largo de todo el gradiente latitudinal, generando una heterogeneidad ambiental significativa en toda la zona (Dosso, 1999); lo que la hace un organismo de interés para analizar los factores que pudieran estar influyendo en la diferenciación genética poblacional y así establecer patrones que ayuden a comprender los procesos que han diversificado la vida marina.

El objetivo del presente trabajo busca entender la estructuración genética en las poblaciones de *N. brasiliensis* establecidas en el Atlántico Occidental evaluando si existen diferencias genéticas relacionadas con la información disponible sobre las condiciones en las provincias biogeográficas del Atlántico occidental y/o la biología de la especie.

2. Antecedentes

La familia Narcinidae, pertenece al orden de los Torpediniformes que alberga a la mayoría de las rayas eléctricas o “numbfishes”. Estos organismos se caracterizan por tener cuerpos aplanados con discos redondeados que albergan los órganos eléctricos los cuales permiten generar descargas eléctricas para la defensa (Macesic, 2009).

Estudios recientes sugieren que también se utilizan para la comunicación intraespecífica (Rolim, 2015). Esta familia comprende 5 géneros validados, *Narcinops*, *Benthobatis*, *Dipplobatis*, *Discopyge* y *Narcine* (White, 2016).

Las especies del género *Narcine* empezaron a describirse a principios de los años 90, aunque en aquel momento el género *Narcine* aún no estaba validado (von Olfers, I.F., 1831) describió a *Torpedo brasiliensis* ahora conocida como *Narcine brasiliensis* de Rio de Janeiro, Brasil colocándola dentro del género *Torpedo* siguiendo la descripción de (Kaup, J.J., 1826). Posteriormente se reconocieron posibles sinónimos de *T. brasiliensis* y *R. capensis*. Finalmente, en (Henle, J., 1834), describió el género *Narcine* sugiriendo tres “variedades” de *N. brasiliensis*. (Müller, 1841), reconociendo casi las mismas variedades de *Narcine* que (Henle, 1834) y sugirieron además para *N. brasiliensis* a *T. ocellata* y *T. bancroftii* como sinónimos. Siguiendo a (von Olfers, I.F., 1831), realizaron una división de grupos basados en el número de aletas dorsales, proponiendo 3 “variedades” de *N. brasiliensis*.

(Miranda Ribeiro, A., 1923) llevo a cabo una revisión de elasmobranquios en el Sureste del Atlántico donde se describieron especies de *Narcine* sin mucho detalle. Una de las especies encontradas *Narcine brachypleura*, fue descrita con base en un solo espécimen proveniente de Rio de Janeiro, sin mucha información, la cual fue sugerida como sinónimo de *N. brasiliensis*. A pesar del ligero enfoque que se le dio a la región, fue hasta que (Bigelow, H.B., 1953) llevó a cabo una revisión en el Noroeste del Atlántico genero claves taxonómicas para los géneros descritos en el área e incluyeron 30 especies en la familia (Torpedinidae, rayas con dos aletas dorsales) además de considerar nuevamente a *N. entemedor* como sinónimo de *N. brasiliensis*. La revisión incluyo también información relevante sobre la fisiología, desarrollo y distribución de las rayas eléctricas. En el Atlántico se realizaron muy pocos estudios para conocer la diversidad del género *Narcine* y se reconocieron 2 especies (*N. bancroftii* y *N. brasiliensis*) para las cuales la información disponible es imprecisa y confusa. *Narcine brasiliensis* es muy similar a *N. bancroftii* e históricamente se ha referido a *N. bancroftii* como sinónimo de *N. brasiliensis*.

Actualmente el rango de distribución de ambas especies continua en debate al igual que la validez oficial del número de especies del género *Narcine* que se encuentran en el Atlántico, sin embargo, el consenso actual pone a *N. brasiliensis* como especie endémica de las costas brasileñas (Rolim, 2015).

2.1 Posición taxonómica y características morfológicas

La raya eléctrica menor, conocida como *Narcine brasiliensis* (Batoidea: Torpediniformes) (Olfers, 1831) pertenece a la familia Narcinidae.

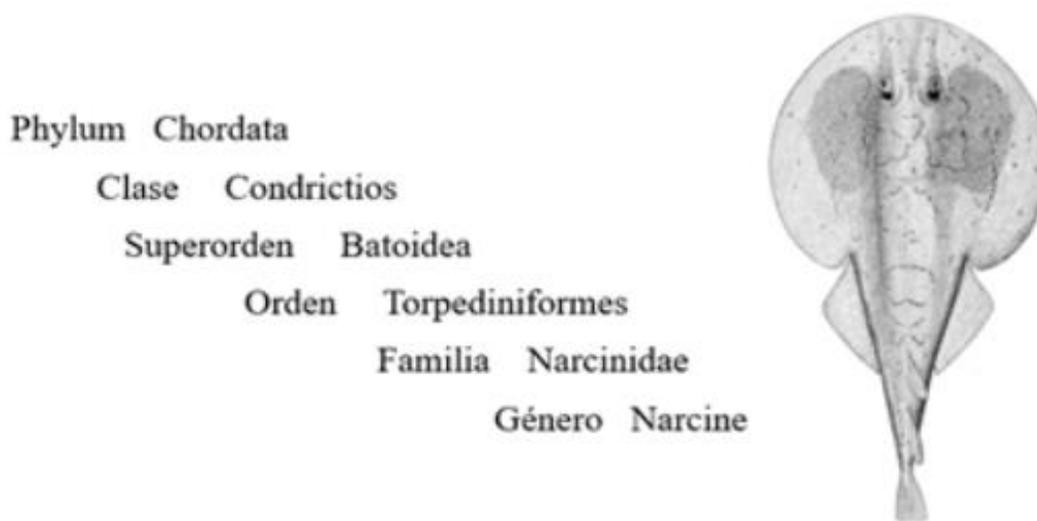


Figura 1. Posición taxonómica de *N.brasiliensis*. Tomada del libro Rays of the World (2016).

Narcine brasiliensis posee un disco sub-ovalado que suele ser más ancho que largo. Las aletas pélvicas son más anchas y redondas que largas, sobresalen unas pestañas cilíndricas que son más vistosas en adultos. Las aletas dorsales son altas y poseen ápices estrechos y redondos, la segunda aleta dorsal tiene márgenes interiores más inclinados que la primera. Posee una cola robusta y musculosa en la base que suele ser de igual tamaño que el disco, con pliegues laterales anchos. La aleta caudal tiene forma de abanico con bordes redondeados (Observar figura 2) (White, 2016). El hocico es angulado a redondeado y se encuentra en la parte anterior. Posee ojos y espiráculos grandes con bordes elevados. En organismos más pequeños las papilas son puntiagudas, en adultos son más grandes y con forma de perilla. Las fosas nasales son circulares y pequeñas. Las cortinas nasales son anchas y cortas que cubren total o

parcialmente la banda de dientes superior. Los dientes presentan 35 filas que se posicionan en bandas dentarias de igual anchura (White et al., 2016).

De acuerdo con análisis morfológicos realizados por de Carvalho, M. (1999), se menciona que la característica más distintiva a simple vista es el patrón de manchas que presentan individualmente ambas especies. *Narcine brasiliensis*, se caracteriza por tener rayas oscuras horizontalmente ovoides o circulares que no están claramente definidas sobre su disco y cola, y no presenta manchas pequeñas aisladas o parcialmente fusionadas (es decir, que son más pequeñas que el diámetro del ojo). Adicionalmente, los especímenes más pequeños de *N. brasiliensis* generalmente no tienen ocelos incompletos (una estructura ocular) (White, et al., 2016).

Narcine brasiliensis (von Olfers, 1831)

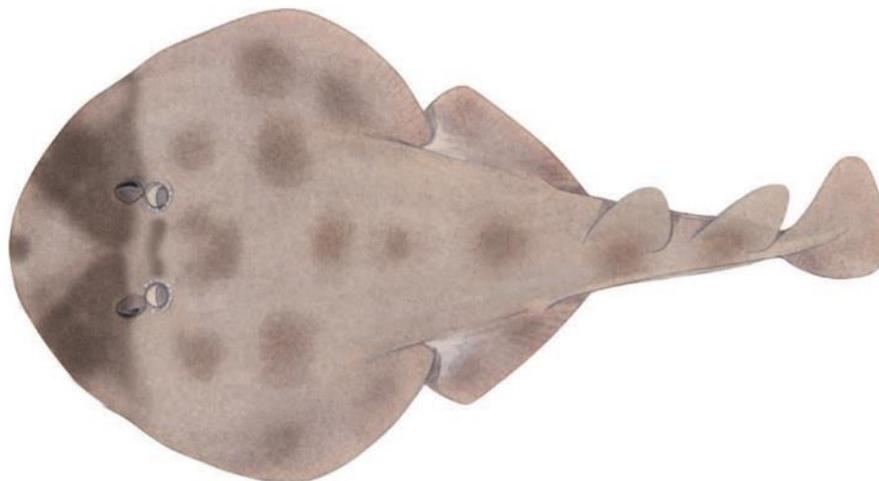


Figura 2. Vista dorsal de *Narcine brasiliensis*. Tomada del libro Rays of the World (2016)

2.2 Hábitat y distribución

Narcine brasiliensis es considerada una especie endémica de las costas de Brasil (Rolim et al., 2020). Se las puede encontrar desde el noreste de Argentina hasta las costas del sureste de Brasil, habitando en las aguas cálidas en temperaturas de 20°C y profundidades de 40-50 metros, e incluso se le puede encontrar en manglares y zonas estuarinas (Menni, 2000; White, et al., 2016; Martins, et al., 2018). A pesar de ser considerada una especie endémica, hay registros de captura por pesca incidental en el Caribe Colombiano y Mexicano, y en el Golfo de México (Grijalba-Bendeck, M.P.S, 2012; Torruco, D.G.S.G, 2018).

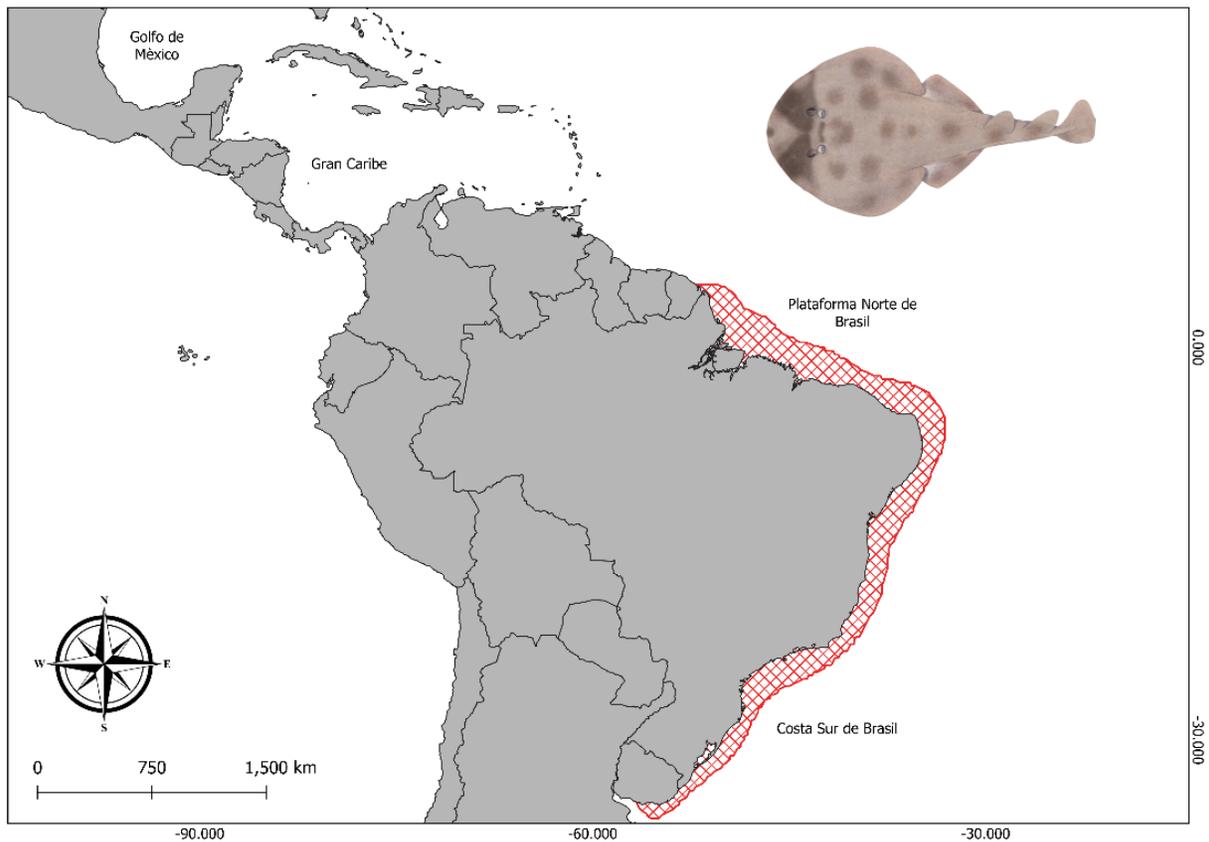


Figura 3. Distribución actual consensuada de *Narcine brasiliensis* (White et al., 2016).

2.3 Edad, crecimiento y reproducción

Las rayas del género *Narcine* en general presentan viviparidad del saco vitelino, (es decir las madres, generan huevos de gran tamaño que se transforman en sacos vitelinos, los cuales constituyen la única fuente de nutrientes para el embrión en desarrollo durante todo el período de gestación y también durante un breve lapso después del nacimiento), estudios previos reportan de 8 a 15 embriones (Bigelow, 1953). Los organismos de *N. brasiliensis* presentan dimorfismo sexual, siendo los machos más pequeños ($L_t = 236-380$ mm) en comparación con las hembras ($L_t = 237-470$ mm) (Rolim, 2015). Estudios recientes sobre la reproducción de *N. brasiliensis* apuntan a que tiene un ciclo reproductivo anual con 2 eventos al año, una sesión de cortejo durante la primavera y la etapa de nacimientos durante el verano y otoño (Rolim, 2015). En la etapa de la Pre-ovulación se observan ovarios pequeños que contienen una sustancia acuosa y presentan oviductos que son poco visibles, esta etapa se presenta durante todo el año, lo que significa que está presente durante todo el año y

no se limita a una época en específico. Sin embargo, un estudio llevado a cabo por (Rolim, 2015) indican que la mayor proporción de hembras en esta condición se produjo durante el invierno. El estadio de madurez en hembras se presenta cuando se observan ovarios con un contenido amarillento visible y se observan úteros delgados. Posterior a esto, las hembras que logran concretar las etapas de cortejo y apareamiento pasan a la etapa del embarazo que se presenta solo durante el verano y otoño. En esta etapa las hembras presentan acumulación de lípidos, durante el verano hasta inicios de otoño, esto podría indicar una transferencia de recursos a los embriones, donde se reduce la reserva energética materna que indicaría una época próxima de parto. Como lo reportan (Costa, L. &, 2006), donde esta etapa final de embarazo coincide con la presencia de neonatos en las costas. Finalmente, en la etapa de recuperación o postparto se caracteriza por presentar úteros gruesos y flácidos (Rolim, 2015).

En relación los machos, estos presentan claspers calcificados en todas las estaciones, pero el proceso de calcificación fue observado durante el verano, otoño e invierno. Durante la primavera los machos presentan una buena condición corporal (Froese, 2006), lo que sugiere una preparación previa para la etapa de cortejo, ya que una mejor condición favorecería la copula. Esto coincide con la etapa previa al embarazo de las hembras, lo que apoyaría a la noción de una posible época de apareamiento además de que se presentaron evidencias de mordidas tanto en los dorsos de hembras y machos coincidentes con esta etapa de apareamiento (Rolim et al, 2015).

Los estudios hasta el momento no han esclarecido del todo las características reproductivas de *N. brasiliensis* y la información anterior refiere a organismos de las costas brasileñas exclusivamente (Rolim, 2015). Sin embargo, parece que presenta un ciclo reproductivo similar a *N. bancroftii* (observar figura 4). Los estudios previos referentes a la edad, crecimiento y reproducción de *N. brasiliensis* llevados a cabo por (Bigelow, 1953) pudieron haber sido malinterpretados debido a la alta probabilidad de que los resultados fueran obtenidos con información de individuos de poblaciones de *N. Bancroftii* o *Narcine sp.* ya que los organismos que reportan tienen localidades en Florida, Carolina del Norte y Brasil, de donde es reconocido la presencia de *N. Bancroftii* y *Narcine spp* (Rolim, 2015).

2.4 Alimentación

Narcine brasiliensis se alimenta de pequeños crustáceos y peces además de poliquetos y anguiliformes, estos dos últimos se encuentran comúnmente enterrados en la arena (Macesic, 2009).

Narcine brasiliensis presenta una característica única en comparación con la mayoría de los elasmobranquios; una protrusión mandibular que involucra una reorientación extrema de la mandíbula. La mandíbula (tanto la superior como la inferior) funciona como una sola unidad (Dean, 2004)

Las articulaciones que estabilizan las mandíbulas superiores e inferiores están restringidas por una serie de solapas superpuestas en la cola y varios ligamentos internos, lo que a la vez limitan el movimiento de las mandíbulas, permitiendo que solo se abran y cierren en el plano sagital, es decir, de forma vertical. Este movimiento se transmite a las mandíbulas y, gracias a la unión entre ellas y a las sincondrosis especialmente flexibles, produce una compresión medial en toda la estructura mandibular. Como resultado, se reduce la distancia entre los lados izquierdo y derecho de la mandíbula y se extienden las mandíbulas formando un conducto oral que permiten la succión casi inmediata de los organismos de los que se alimenta (Dean, 2004).

2.5 Área de estudio

2.5.1 Eventos históricos en el Atlántico

La evolución oceanográfica y geomorfológica experimentada en los últimos 23 millones de años ha convertido a la región del Atlántico occidental en un entorno complejo y altamente diverso en cuanto a su historia biogeográfica, como lo respaldan los estudios de Coates (2013), Leigh (2014), O'Dea (2016) y Jaramillo (2017). La región del Noroeste Tropical Atlántico (NOTA) o Gran Caribe (GC) ha desempeñado un papel crucial en la regulación de los patrones históricos de circulación oceánica, la modulación del clima mundial y la influencia en el intercambio biótico entre los ecosistemas terrestres y marinos de América del Norte, Central y del Sur, incluyendo las Bahamas en su posición actual en el Mediterráneo (Iturralde-Vinent, 2006). A lo largo del Cenozoico, la paleogeografía del Caribe experimentó transformaciones significativas debido a la actividad tectónica, interrumpiendo el flujo genético entre

América del Norte y América del Sur. Se formaron cuencas marinas debido a la elevación de diferentes masas terrestres en la región, con consecuencias importantes para la conectividad entre las islas y el continente, así como para la diversificación y distribución de las especies (Imlay, R., 1984; Iturralde-Vinent, M. y., 2006).

Durante el Mioceno, la ausencia del Istmo de Panamá permitía una comunicación sin restricciones entre el Pacífico y el Caribe. La formación posterior del Istmo marcó el inicio del mayor intercambio de especies entre masas terrestres, estimándose su cierre completo hace aproximadamente 3.5 millones de años (O'Dea, 2016). El levantamiento del Istmo de Panamá y el cierre de la vía marítima de América Central (CAS) desempeñaron roles clave en los cambios oceanográficos de la región, estimándose que el cierre del CAS inició hace unos 10 millones de años, provocando la aparición de especies nuevas tanto en el Pacífico como en el Atlántico (Iturralde-Vinent M. y., 2006).

A finales del Plioceno, las aguas del Océano Atlántico descendieron, dando lugar a los márgenes continentales del Pleistoceno. Las fluctuaciones glacioestáticas, de amplitud significativa y alta frecuencia, afectaron el nivel del mar. Durante este período, se formaron las plataformas de carbonatos en la región de Florida-Bahamas, y se elevó el Istmo de Panamá. La interrupción entre el Pacífico y el Caribe propició la formación de nuevas especies de peces óseos y cartilaginosos. Eventos similares, como la formación de la pluma Amazonas-Orinoco, también afectaron el intercambio de especies en el Atlántico. Durante los periodos glaciales, la pluma cubría completamente la plataforma continental, bloqueando el paso de especies neríticas asociadas a aguas salinas. Sin embargo, en periodos de mayor nivel del mar, se formaban masas de agua salina por debajo de la columna sobre la plataforma continental, permitiendo el paso de organismos marinos hacia el Caribe y regiones adyacentes (Berggren, 1974).

Entre las regiones Norte y Central del Atlántico Occidental, se encuentra el Talud de Campeche-Yucatán, con una extensión de 300 km y una orientación que va desde el nor-noreste hasta el sur-suroeste. En la pared meridional de este talud se encuentra el Cañón de Campeche, cuyo origen, según Stephan (1990), parece tener una base tectónica. El cañón de Campeche podría ser el resultado de una falla con movimiento lateral izquierdo, actuando como plano de desplazamiento durante la apertura del Golfo

de México en el Jurásico medio, y actualmente funciona como una barrera [biogeográfica](#). Las áreas de Yucatán y la depresión de Caimán están vinculadas al extenso proceso geológico experimentado por la porción noroccidental del Caribe durante el Paleógeno, según lo indicaron Pindell y sus colegas en 2005. En la cuenca de Yucatán, la sección occidental se identifica como una cuenca oceánica de pull-apart o cuenca de extensión (es una característica geológica que se forma en zonas donde las placas tectónicas se separan), mientras que la porción oriental, conocida como el alto de Caimán, se formó sobre un arco volcánico extendido, según lo documentado por Rosencrantz en 1990. La depresión de Caimán, con una longitud de más de 1100 km, se considera una cuenca de pull-apart que, según Pindell y colaboradores en 2005, comenzó a desarrollarse en el Eoceno Inferior (Cruz-Orosa, 2012).

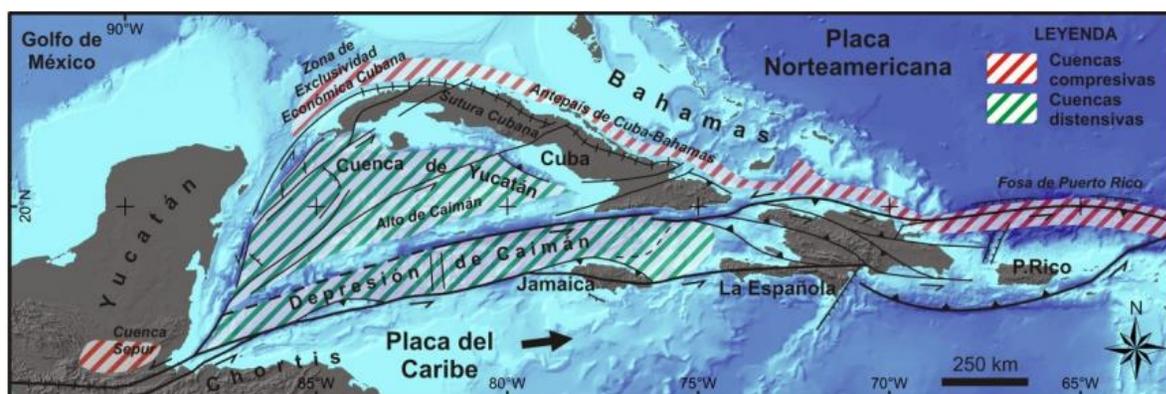


Figura 4. Mapa de la configuración tectónica del área del Golfo y la Placa del Caribe. Imagen tomada de (Cruz-Orosa, 2012).

2.5.2 Configuración actual del Atlántico occidental

2.5.2.1 Configuración biogeográfica del Atlántico occidental

El Oeste del Atlántico tropical se caracteriza por tener una plataforma continental más extensa y una costa más larga con una mayor cantidad de accidentes geográficos, lo que resulta en una mayor heterogeneidad de hábitat. El Gran Caribe es considerado un “hotspot” de la biodiversidad de tiburones y rayas en el mundo, con al menos 28 especies y un alto grado de endemismo regional (Sealey, 1999).

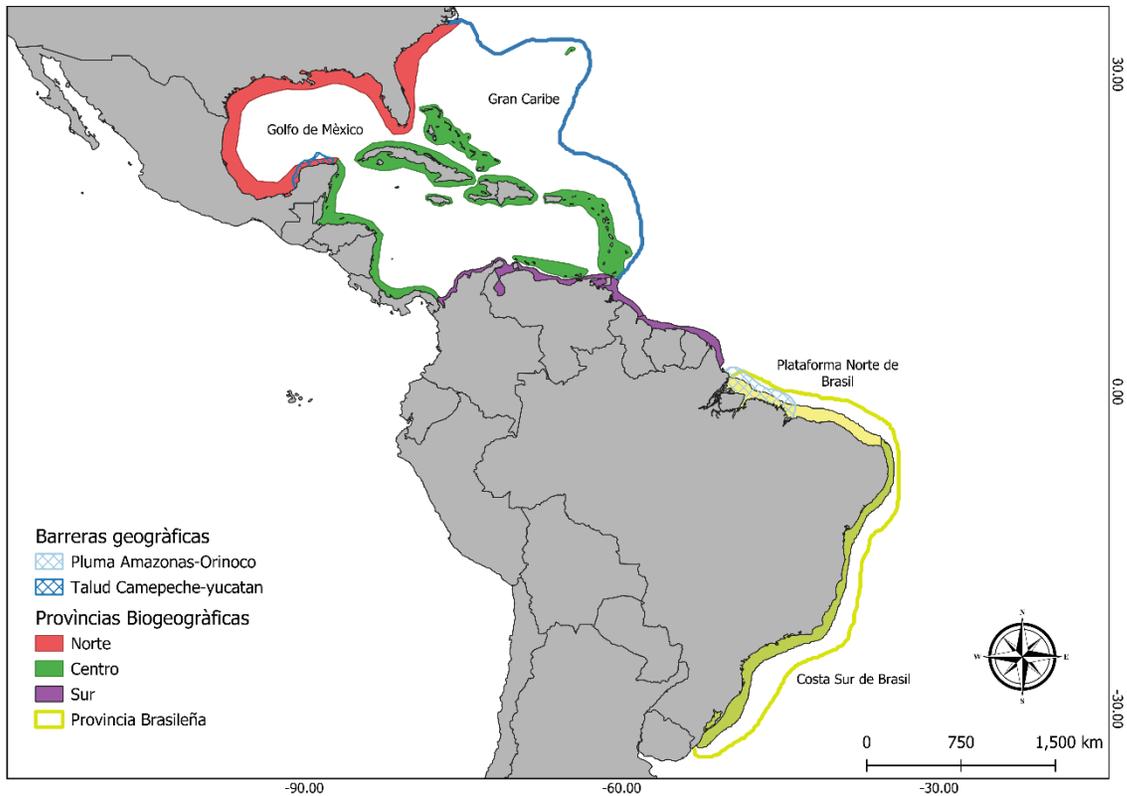


Figura 5. Mapa de la configuración de provincias biogeográficas del Atlántico occidental.

Según (Robertson, D.R., 2014), el Gran Caribe (GC) se ha dividido en tres áreas geográficas distintas. La región del norte abarca tanto el Golfo de México como Florida. La región central comprende América Central y todas las islas oceánicas. Por último, la región del sur se extiende a lo largo de toda la costa continental de América del Sur hasta el norte de Guayana. Estas áreas presentan diferentes características ambientales. La región del norte tiene temperaturas subtropicales, temperaturas promedio más bajas y es principalmente eutrófica, con pocos afloramientos de coral. La región central es deficiente en nutrientes debido a la ausencia de sistemas de surgencia y tiene temperaturas elevadas que favorecen el desarrollo de arrecifes de coral en toda la región. La región del sur, al igual que la del norte, es eutrófica debido a la desembocadura de grandes ríos, lo que resulta en aguas costeras productivas y baja salinidad. Por lo tanto, los arrecifes de coral son poco comunes en esta región. Además, debajo de la región del sur se encuentra la pluma del Amazonas-Orinoco, que marca el límite con la región brasileña, que se extiende desde la latitud 0°N hasta la latitud 28°S y presenta características muy distintas a sus regiones adyacentes. Araujo

et al, (2022), consideran a la pluma como un ecosistema por sí mismo. Las propiedades físicas y químicas hacen que se tenga una composición de flora y fauna adaptadas a estas condiciones. Las cantidades bajas de salinidad y una mayor cantidad de nutrientes permite la existencia de diversos hábitats que propician el endemismo de especies y evitan el intercambio con las regiones del Caribe y la PNB (Spalding MD, 2007). La Plataforma Norte de Brasil (PNB) ha sido identificada como un área de gran importancia para la conservación de elasmobranquios a nivel global (Dulvy, 2014). A pesar de esto, se han llevado a cabo escasos estudios en esta zona y aún existen numerosas lagunas de conocimiento, especialmente en lo que se refiere a las capturas de rayas y la posible existencia de especies crípticas (Pinhal, 2012). La PNB se separa del Caribe por la Pluma de Amazonas-Orinoco la cual se extiende 2.300 km hacia el noreste del Atlántico. Esta región recibe grandes cantidades de agua dulce provenientes de los ríos Amazonas y Orinoco, lo cual la hace una zona distinta en cuanto a la composición oceanográfica, teniendo fauna y flora propias que funcionan como barrera entre el Caribe y la PNB.

2.5.2.2 Oceanografía del Atlántico occidental

El sistema de corrientes superficiales que presenta esta región es complejo, no tiene límites definidos debido a la entrada de corrientes cálidas que entran desde el Sur, hacia el Golfo de México a través del canal de Yucatán, y salen por el Suroeste de Estados Unidos en Florida; esto funciona como conector para algunas especies de peces tropicales ya que conecta la ictiofauna de las costas de Brasil con algunas regiones del GC (Gallegos, 1996). La corriente Guayancaense es una corriente cálida que recorre el Noroeste de Sudamérica hasta el Norte del Caribe. Esta corriente principal se va dividiendo conforme recorre la región del Atlántico occidental; primeramente, una parte de la corriente fluye por el sudeste del Caribe y se mueve al Noroeste y se le conoce como Corriente Caribeña; el resto del flujo que se mueve a través del borde oriental hacia el Noroeste se le conoce como la Corriente Antillana. La Corriente Caribeña sigue su curso hacia el Noreste y entra primeramente como Corriente de Yucatán, cuando entra al Golfo de México alimenta a la Corriente Mexicana la cual recorre todo el borde continental del Golfo de México (Murphy, 1999). En el Golfo de México una parte da un giro hacia el este la cual se le conoce como Corriente de Lazo, a su vez toma rumbo

hacia el Norte de Estados Unidos pasando por el este de Florida y Cuba, conocida como la Corriente de Florida. En esta parte surge una nueva corriente que es alimentada por la Corriente de Florida y Corriente Antillana, la cual gira hacia el Noreste tomando rumbo hacia Europa central, a esta corriente se la conoce como Corriente del Golfo (Murphy, 1999).

Los sistemas de surgencia, los cuales son corrientes de agua fría que proviene de la profundidad tienen un papel importante en la distribución de nutrientes, regulación del clima y productividad biológica (Joyce, 2001). En el Atlántico los sistemas de surgencia son relativamente más pequeños si se les compara con algunos sistemas de surgencia del Pacífico. En el Atlántico existen diferentes sistemas distribuidos a lo largo de todo el Atlántico (Joyce, 2001).

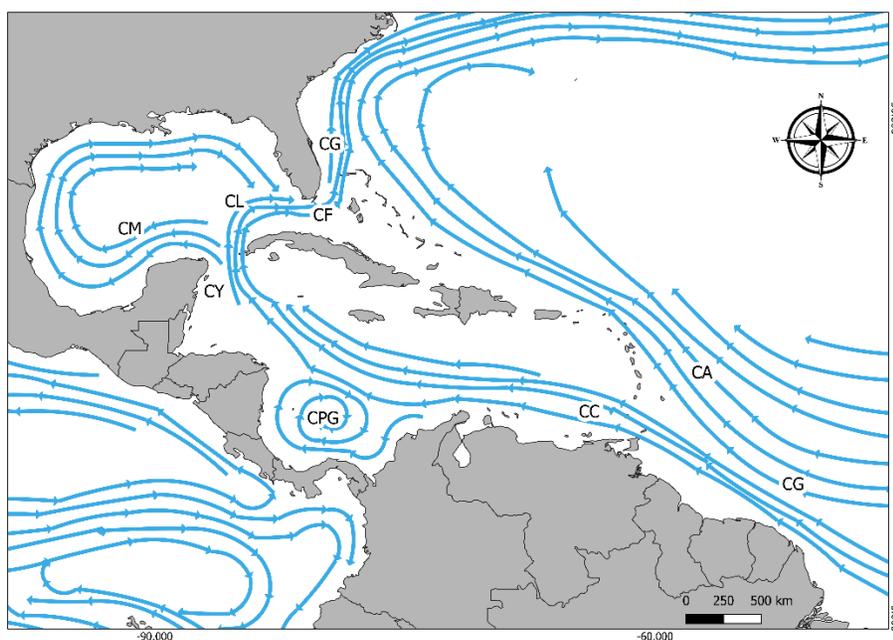


Figura 6. Mapa de Corrientes en Atlántico occidental. CG=Corriente de Guyana, CC= Corriente del Caribe, CA=Corriente Antillana, CPG= Giro Colombia-Panamà, CY=Corriente de Yucatàn, CM= Corriente Mexicana, CL= Corriente de Lazo, CF= Corriente de Florida, CG= Corriente del Golfo.

2.5.2.3 hábitats en el Atlántico occidental

En general, la región del Atlántico Occidental tiene una amplia variedad de hábitats desde arrecifes hasta manglares. Las zonas de costas blandas, es decir suelos arenosos o fangosos predominan en todo el Atlántico (Observar figura 6), se encuentran desde el Norte de Florida hasta el Sur de Colombia. Las zonas de

manglar también abundan en la zona del Sur de Florida, Sur del Golfo de México, y un 90% de América central. Las zonas rocosas y zonas de arrecifes se les encuentra predominantemente en la zona central del Caribe (Robertson, 2014).



Figura 7. Mapa con los manglares y arrecifes de coral tomada de (Robertson, 2014).

2.6 Manejo de pesquerías y conservación

Las rayas eléctricas tienen escaso o nulo valor económico, sin embargo, son muy recurrentes en las redes que normalmente están dirigidas a la captura de cangrejos, langostas y camarones (White, 2016).

Al no contar con estrategias de conservación específicas, las poblaciones de *Narcine brasiliensis* han tenido decrementos en los últimos años por diferentes factores, como la contaminación y pesca incidental (Pollom, R.B., 2020; Hauser-Davis, R.M., 2022). El desconocimiento de la diversidad de especies y patrones genético-evolutivos de *Narcine* hace complicado poder implementar planes de conservación efectivos en el Atlántico occidental, por lo que es importante conocer el número de especies/poblaciones, e identificar así unidades evolutivas de conservación para salvaguardar el legado evolutivo y conservar la diversidad de especies.

3. Objetivo General

Determinar la distribución y variación genética de *Narcine brasiliensis* a lo largo del Atlántico occidental.

3.1 Objetivos específicos

- Evaluar el rango de distribución de *Narcine brasiliensis* basados en información molecular.
- Examinar si existe estructura genética en las distintas provincias en el Atlántico Occidental.
- Evaluar si existen diferencias genéticas relacionadas con la información disponible sobre las condiciones en las provincias biogeográficas del Atlántico occidental y/o la biología de la especie.
- Proporcionar información que pueda ser útil para identificar posibles unidades evolutivas significativas con fines de conservación.

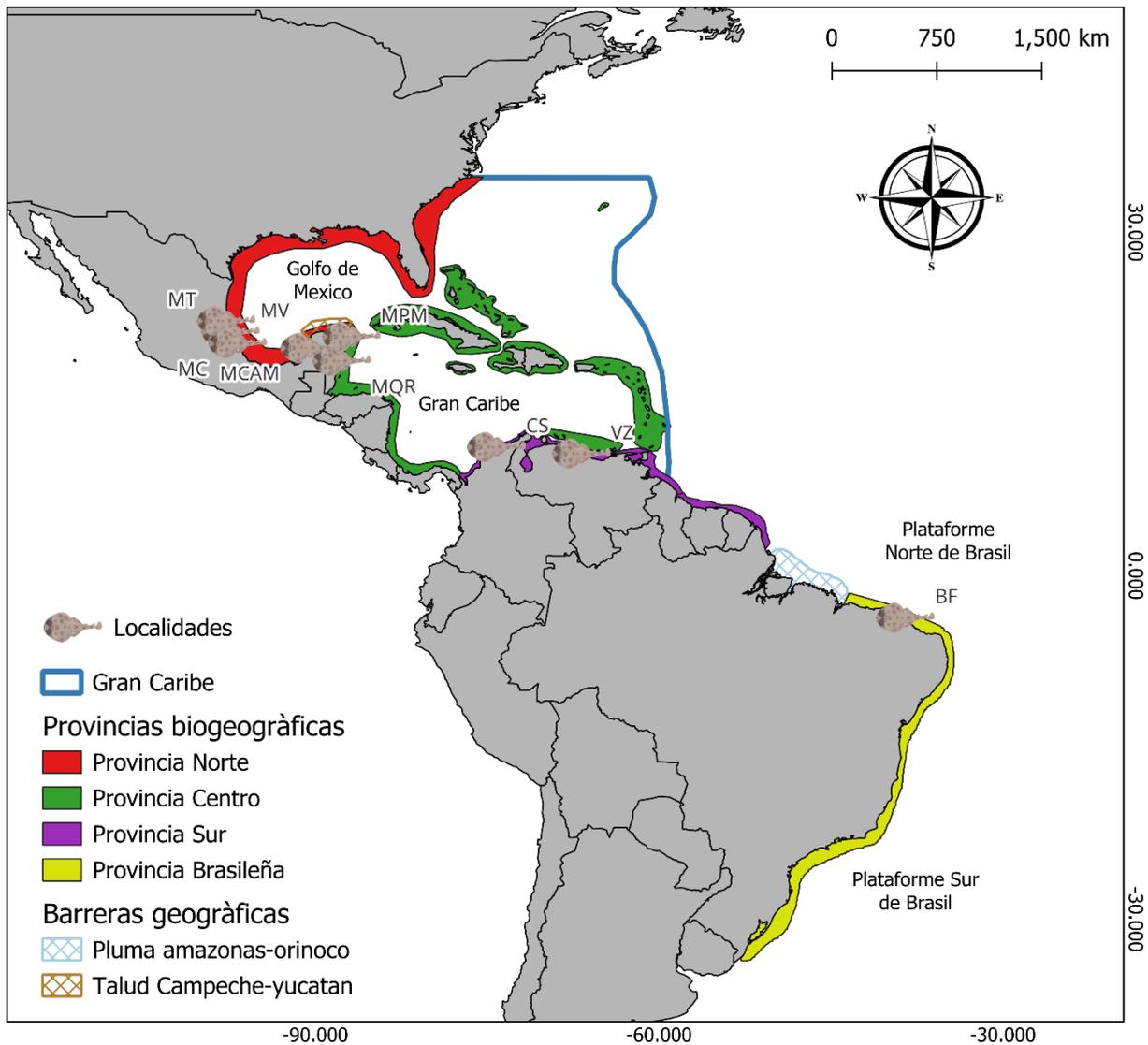
4. Hipótesis

Dada la capacidad de tolerar distintos ambientes con condiciones contrastantes como estuarios y manglares, posiblemente encontremos a *Narcine brasiliensis* fuera de su rango de distribución. Además, las poblaciones de *Narcine brasiliensis* en el Atlántico occidental mostrarán diferencias genéticas entre la provincia Norte, Centro, Sur, y Brasil, debido a las diferencias en las características oceanográficas entre provincias dadas por eventos históricos.

5. Material y métodos

5.1 Material biológico

Se obtuvieron 83 muestras de especímenes de rayas eléctricas del género *Narcine* en cinco localidades del Atlántico occidental. Las colectas se llevaron a cabo en el periodo de 2015-2023 logrando obtener tejido epitelial y muscular de individuos provenientes de la captura incidental. El tejido fue almacenado en tubos para colecta de 2ml en alcohol etílico al 70% y se refrigeraron a una temperatura de -20°C hasta su posterior procesamiento.



Provincia	ID	Localidad	Coordenadas	n
Norte	MT	Tampico, Tamaulipas	22.26461 N, -97.7929 O	9
	MV	Tamiahua, Veracruz	21.26461111 N, -87.708 O	30
	MC	Casitas, Veracruz	20.25995 N, -96.796672 O	4
	MCAM	Campeche, Campeche	19.8649 N, -90.5218 O	11
Centro	MPM	Puerto Morelos, Quintana Roo	20.845327 N, -86.7857 O	7
	MQR	Majahual, Quintana Roo	18.71571 N, -87.708 O	10
Sur	CS	Santa Marta, Colombia	11.203604 N, -74.2277 O	10
	VZ	Venezuela	10.620869 N, -66.80986 O	1
Brasil	BF	Ceára, Brasil	3.707 N, -38.4984 O	2

84

Figura 8. Localidad de los muestreos. Las localidades están agrupadas según la provincia biogeográfica y están indicadas por el ID. En la tabla se muestra la "n" de las localidades.

5.2 Extracción, amplificación y secuenciación del ADN

Se extrajo ADN genómico utilizando el protocolo estándar de extracción *fenol:cloroformo:alcohol isoamílico* (25:24:1 v/v) (Hills, 1996.). Para todas las muestras se utilizó un total de 245 mg de tejido que fue macerado en una superficie limpia y aislada, con el uso de un bisturí previamente enjuagado con alcohol al 70%. Este procedimiento se siguió entre cada muestra para evitar contaminación. El tejido se colocó en un tubo de 1.5 ml conteniendo 500 ul de *Isolation buffer* (50 mM EDTA, 50 mM tris, 150 mM NaCl, pH 8), 60 ul de SDS al 10% y 5 ul de proteinasa K, se llevaron a incubación por 12 hrs. a 37°C para la degradación de tejido. Posterior a la incubación y después de corroborar que el tejido estuviera degradado completamente, los viales se expusieron a agitación durante 10 segundos en un Vortex.

Para eliminar los restos celulares y separar los compuestos orgánicos se utilizó Fenol-Cloroformo-alcohol isoamílico para elaborar una solución de extracción y separar las proteínas y los lípidos de la muestra de ADN. El fenol actúa como un agente desnaturizante de proteínas, mientras que el cloroformo ayuda a separar los lípidos y otros compuestos no deseados de la muestra de ADN. Para separar los compuestos no deseados se aplicaron 3 lavados. El primer lavado consistió en añadir a la muestra 200 ul de Fenol y 200 ul de Cl (cloroformo:alcohol isoamílico). Los tubos se llevaron a centrifugación durante 10 minutos a 13,000 rpm para separar la fase acuosa (que contiene ADN) de la fase orgánica (lípidos y proteínas). Dicho procedimiento se repitió por segunda ocasión pero ahora añadiendo únicamente 200 ul de Cl (cloroformo:alcohol isoamílico), seguido de centrifugación durante 10 minutos. Finalmente se transfirieron 300 ul de la capa acuosa a un tubo de 1.5 ml al que se añadió el Etanol absoluto (900 ul). Se dejaron reposar las muestras en refrigeración a -20°C durante 12 horas y los tubos se llevaron a centrifugación durante 18 minutos a 13,000 rpm para precipitar los ácidos nucleicos y poder retirar el sobrenadante. Se retiró el sobrenadante con cuidado de no perder el pellet de ADN y se adicionaron 200 ul de Etanol al 70 % para diluir sales. Se centrifugó durante 5 minutos a 13,000 rpm y se retiró el Etanol. Posteriormente los tubos conteniendo el ADN se llevaron a centrifugar al vacío durante 10 minutos para retirar las posibles gotas restantes de Etanol.

Finalmente se adicionaron 50 ul de TE estéril (IDTE) para hidratar el ADN y se dejó a temperatura ambiente durante 5 horas, para después refrigerarse a 4°C.

Se verificó la calidad de ADN mediante electroforesis en un gel de agarosa al 1% (0.64g de agarosa, 25 ml de Buffer y 0.3 ul gel red). Para realizar la electroforesis en cada pozo del gel de agarosa se colocó una alícuota de 2 ul de ADN junto con 2 ul de buffer de carga. Como referencia del tamaño de los fragmentos de ADN se incluyó en el gel un marcador de pares de bases (1 kb plus DNA Ladder de Invitrogen). El gel fue visualizado mediante luz ultravioleta en un transiluminador. Similarmente, la calidad ADN fue evaluada mediante su cuantificación en un NanoDrop 2000®.

Los oligonucleótidos utilizados para la amplificación de genes mitocondriales fueron diseñados en Primer 3' tomando como referencia los 2 mitogenomas disponibles en Genbank de *N. bancroftii* NC_034772.1 y *N. brasiliensis* NC_034771.1 (Gaitán-Espitia, 2016). Se diseñaron 2 oligonucleótidos correspondientes al gen de COX1 mitcondrial (observar tabla1).

Tabla 1. Primera columna corresponde al fragmento a amplificar, seguidas de la segunda y tercera que contienen la informacion del nombre del Primer y la secuencia obtenida.

Gen	Primer	Secuencia
COX1 mitocondrial	<i>NbCOI_F</i> (forward)	5' GCA GGA ATA GTG GGA ACT GG
COX1 mitocondrial	<i>NbCOI_R</i> (reverse)	5' GGA TCA CCA CCT CCT GCT G 3'

Los fragmentos de ADN fueron amplificados por medio de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) con los oligonucleótidos propuestos. Inicialmente para el gen COI se estandarizó un protocolo (NbCOI) para la obtención de un volumen final de 12 ul por reacción conteniendo 21 ul de H2O, 3.75 ul de Buffer DreamTaq, 3.75 ul de DNTP´s a 10mM diluidos al 10%, 3 ul de PrimerF y 3 ul de PrimerR, 0.18 ul de DreamTaq 5u/ul y 1 ul de ADN.

Para la amplificación se utilizó un termociclador BioRad T100 Thermo Cycler utilizando las siguientes condiciones: un ciclo inicial a 94° de desnaturalización durante 5 minutos., seguidos de 35 ciclos a 94°C con duración de 5 minutos para la desnaturalización de ADN, 55°C durante 40 segundos para la alineación y 72° de extensión, se aplicó un ciclo extra de extensión final a 72°C durante 7 minutos. En todas las pruebas se incluyeron controles negativos para verificar la ausencia de posible contaminación.

La verificación de PCR se realizó mediante electroforesis tomando del producto de PCR y 2 ul de buffer de carga. Las muestras fueron depositadas en un gel de agarosa al 1% con GelRed y se añadieron 2 ul de ladder de 1 kb de bases como referencia del tamaño de los amplicones.

Los productos de PCR fueron depositados en una placa de 96 pozos y posteriormente fueron enviados a secuenciar a MacroGen en Seúl, Corea del Sur.

5.3 Análisis de las secuencias

5.3.1 Alineamiento de secuencias

Las secuencias fueron editadas en el programa *Bio-Edit Sequence Alignment Editor* (Hall, 1999), para determinar la longitud de las secuencias de todos los individuos, así como para verificar los sitios con indefiniciones o inconsistencias. La determinación de la región de COI fue verificada con los mitogenomas disponibles en Genbank de *Narcine brasiliensis* (NC_034771) que consta de 16,997 pb y *Narcine bancroftii* (NC_034772) y 16,971 pb respectivamente.

La alineación de las 112 secuencias se realizó en el programa *Bio-Edit Sequence Alignment Editor* (Hall, 1999).

5.3.2 Identificación de organismos y divergencia genética

Se utilizó BLAST para corroborar la identidad de los organismos con *N.brasiliensis* de las secuencias colectadas y la divergencia genética (d) donde los organismos que cayeran dentro del 2% permitido para validación de especies fueran identificados como *N.brasiliensis*.

5.3.3 Diversidad genética y red de haplotipos

La diversidad nucleotídica (π ; Nei, 1987) y diversidad haplotípica (h ; Nei, 1987) fue calculada en DNSp6 (Rozas et al, 2017) mediante DNA polymorphism. Para evaluar la distribución espacial de los haplotipos en función de su agrupamiento respecto del número de diferencias que separan a las localidades se realizó una red de haplotipos mediante el software PopART v1.7 (Bandelt et al, 1999), bajo el método de Median-Joining que implementa el método de máxima parsimonia para evaluar distancias genéticas.

5.3.4 Estructura genética

Se obtuvieron las distancias genéticas pareadas no corregidas (p-distance) (Templeton et al., 1992). Fueron calculadas en el programa MEGA X v10.2.2 (Tamura K., 2021). entre las tres regiones biogeográficas (Norte, Centro y Sur) propuestas por Robertson y Cramer (2014), con las cuales se obtienen la proporción de sitios que difieren entre secuencias.

El análisis jerárquico de varianza molecular, AMOVA se realizó en Arlequin 3.5 (Excoffier L. G., 2005) para estimar la variación genética molecular explicada por distintos niveles jerárquicos (entre grupos, entre poblaciones dentro de los grupos y dentro de las poblaciones). Los grupos se formaron con las provincias biogeográficas de la región del Atlántico Occidental (Norte, Centro, Sur y Brasil) de acuerdo con Robertson y Cramer 2014. El arreglo fue el siguiente: entre provincias biogeográficas, entre poblaciones dentro de las provincias (provincia Norte: Texas, Tampico, Tamiagua, Casitas, Ciudad del Carmen y Campeche. Provincia Centro: Isla Mujeres, Puerto Morelos y Majahual. Provincia Sur: Santa Marta y Venezuela y provincia de Brasil: Para, Rio de Janeiro y Sao Paulo) y dentro de las poblaciones. Finalmente, se realizó la prueba de Mantel (Mantel, 1967) en el programa estadístico Rstudio v4.0.4 (Rstudio team, 2022), para evaluar la asociación entre distancias geográficas y genéticas. Para graficar las barreras geográficas entre los grupos se utilizaron los F_{st} de las poblaciones y las coordenadas de cada localidad muestreadas y se probaron en BARRIER v2.2 (F.Manni, Human Biology).

6. Resultados

6.1 Material Biológico obtenido

Se colectaron un total de 112 muestras de las cuales 83 fueron obtenidas en el periodo de 2013-2023 de las que se obtuvieron las secuencias respectivas del gen COI del AND mitocondrial. Adicionalmente se obtuvieron 30 secuencias de Genbank y Bold system (figura 9). Como resultado de la edición de secuencias para el gen COI se obtuvo un fragmento con una longitud de 542 pb.

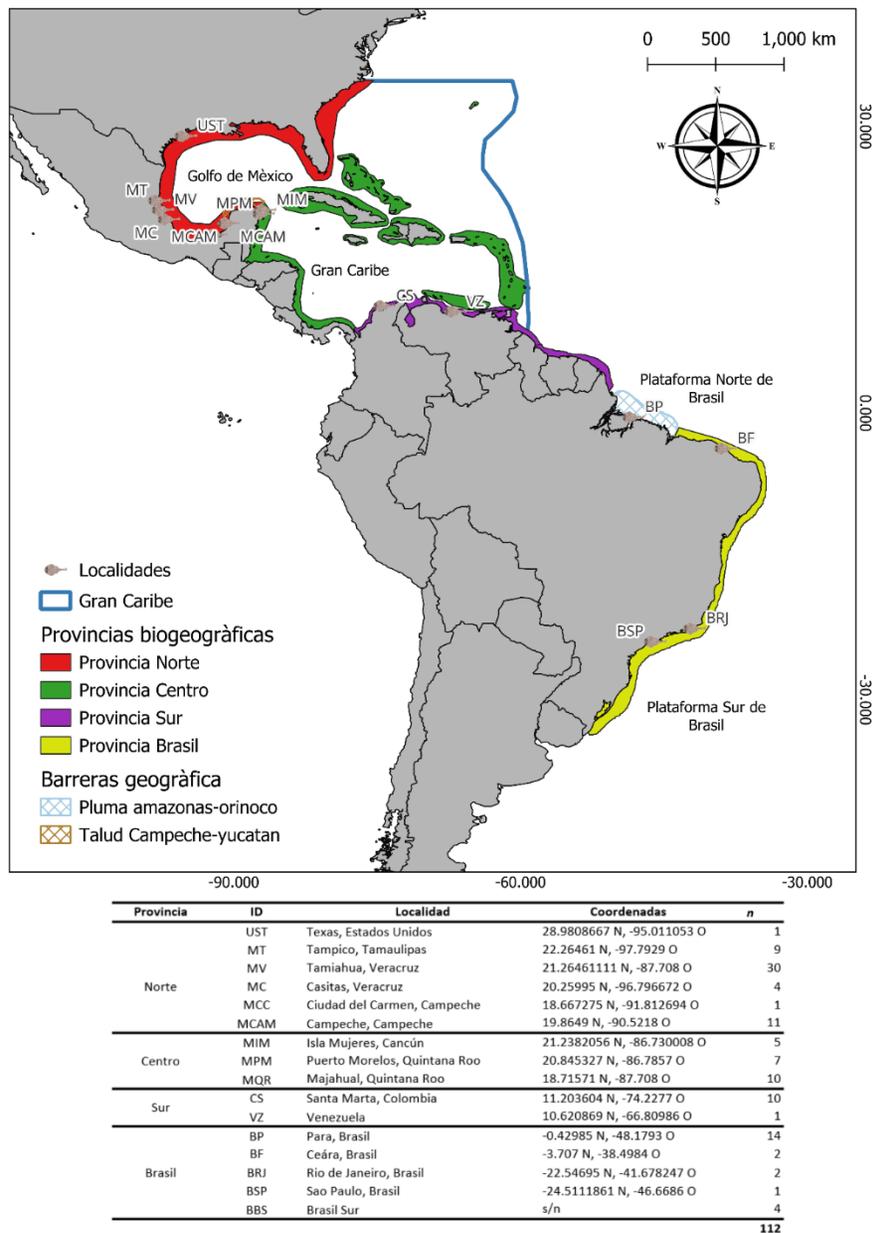


Figura 9. Localidad de las muestras que conforman la base de datos final incluyendo las secuencias disponibles en Genbank y Bold system. Las localidades están agrupadas según la provincia biogeográfica y están indicadas por el ID. En la tabla se muestra la “n” de las localidades.

6.2 Identificación taxonómica de especímenes y distancias genéticas

Se obtuvieron morfotipos de distintas localidades provenientes de los muestreos. Las diferencias entre morfotipos se puede observar el número y disposición de ocelos (Figura 9), lo que corrobora la existencia de diferenciación a nivel de especies de acuerdo con (de Carvalho, M., 1999; Naylor, G.C., 2012). Los morfotipos se asemejan al holotipo reportado tanto para *N. bancroftii* como *N. brasiliensis* en todo el rango latitudinal

Provincia	ID	Organismo	% Identidad	Morfotipo
Bahía	NTH1	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	G
	NTH2	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	G
	NTH3	<i>Narcine brasiliensis</i>	99.82	G
	NTH4	<i>Narcine brasiliensis</i>	99.82	G
	NTH5	<i>Narcine brasiliensis</i>	99.63	G
	NTH6	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	G
	NTH7	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	G
	NTH8	<i>Narcine brasiliensis</i>	99.45	G
	NTH9	<i>Narcine brasiliensis</i>	99.82	G
	NTH10	<i>Narcine brasiliensis</i>	99.82	G
	NTH4	<i>Narcine brasiliensis</i>	99.45	A
	NTH5	<i>Narcine brasiliensis</i>	99.63	A
	NTH6	<i>Narcine brasiliensis</i>	99.45	A
	NTH7	<i>Narcine brasiliensis</i>	99.82	A
	NTH8	<i>Narcine brasiliensis</i>	99.82	F
	NTH9	<i>Narcine brasiliensis</i>	99.26	F
	NTH10	<i>Narcine brasiliensis</i>	99.26	F
	NTH11	<i>Narcine brasiliensis</i>	99.82	A
	NTH12	<i>Narcine brasiliensis</i>	99.82	A
	NTH13	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	A
	NTH14	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	F
	NTH15	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	F
NTH16	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	F	
NTH17	<i>Narcine brasiliensis</i>	99.82	F	
NTH18	<i>Narcine brasiliensis</i>	99.28	F	
NTH19	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	A	
NTH20	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	A	
NTH21	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	F	
NTH22	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	F	
NTH23	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	F	
Centro	NBC1	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	S/N
	NBC2	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	S/N
	NBC3	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	S/N
	NBC4	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	S/N
	NBC5	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	S/N
	NBC6	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	S/N
	NBC7	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	S/N
	NBC8	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	S/N
	NBC9	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	S/N
	NBC10	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	S/N
	NBC11	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	S/N
	NBC12	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	S/N
Sur	NBC3	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	S/N
	NBC5	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	S/N
	NBC15	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	S/N
	NBC18	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	S/N
	NBC26	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	S/N
	NBC34	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	S/N
	NBC38	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	S/N
	NBC36	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	E
	NBC37	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	E
	NBC38	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	D
	NBC40	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	D
	NBC40	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	D
Brasil	NB br1	<i>Narcine sp.</i>	99.45	B
	NB br2	<i>Narcine sp.</i>	99.45	C

Provincia	ID	Organismo	% Identidad	Morfotipo
Centro	NPM1	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	S/N
	NPM2	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	S/N
	NPM3	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	S/N
	NPM4	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	S/N
	NPM5	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	S/N
	NPM6	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	S/N
	NPM7	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	S/N
	NPM8	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	S/N
	NBQ1	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	S/N
	NBQ2	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	S/N
	NBQ3	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	S/N
	NBQ4	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	S/N
Sur	NBC3	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	S/N
	NBC5	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	S/N
	NBC15	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	S/N
	NBC18	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	S/N
	NBC26	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	S/N
	NBC34	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	S/N
	NBC38	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	S/N
	NBC36	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	E
	NBC37	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	E
	NBC38	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	D
	NBC40	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	D
	NBC40	<i>Narcine brasiliensis</i>	100	D

Provincia	ID	Organismo	% Identidad	Morfotipo
Brasil	NB br1	<i>Narcine sp.</i>	99.45	B
	NB br2	<i>Narcine sp.</i>	99.45	C

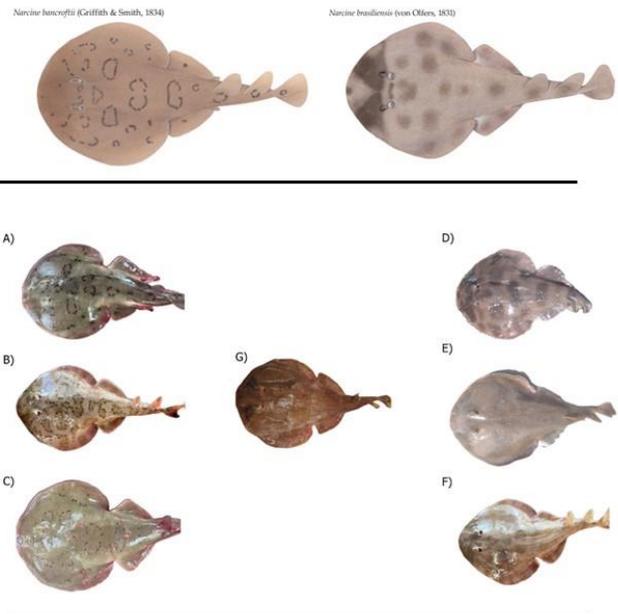


Figura 10 Localidades donde se obtuvieron los distintos morfotipos de Narcinidos en el Atlántico. Se comparten morfotipos aff *Bancroftii* y aff *brasiliensis* entre las diferentes provincias. Los ID de los organismos fueron propuestos inicialmente con las iniciales del género *Narcine*= N seguida de la inicial del epíteto o nombre específico *Brasiliensis*= B seguidas por las iniciales de las localidades. Los nombres que no siguen “NBC”, refieren a *Narcine sp.* (Esta información fue acorde con los registros previamente tomados en campo). Los porcentajes de identidad se obtuvieron en Blast (Zheng et al., 2000).

Tomando como referencia los hallazgos de una investigación realizada por Melis y colaboradores en 2023, (donde se señala la presencia exclusiva de *N. brasiliensis* en el Atlántico occidental mediante el análisis de COI), considerando además los porcentajes de identidad arrojados por BLAST donde indican que las muestras pertenecen a *N. brasiliensis* (89-100% similitud), exceptuando los dos organismos de Brasil como se

puede apreciar en la figura 8 y los valores de distancias genéticas (p -distancia) se optó por trabajar con *N. brasiliensis* como una única especie,. Para los análisis poblacionales se descartaron las dos secuencias correspondientes a *Narcine sp.*

6.3 Diversidad genética

Los análisis de diversidad genética se obtuvieron con un total de 112 secuencias analizadas que resultaron en 37 haplotipos. Los valores más altos de diversidad haplotípica y sitios polimórficos se encontraron en la provincia norte ($H_p=0.972$ y $S=22$) seguida de la provincia centro ($H_p=0.671$), mientras que la provincia brasileña y sur presentan los valores más bajos ($H_{p\text{Brasil}}= 0.557$ y $H_{p\text{sur}}=0.356$) (tabla 4). La provincia con más haplotipos fue la provincia norte con $H=26$ seguido de las provincias Centro Brasil y Sur ($H_{p\text{centro}}=7$, $H_{p\text{Brasil}}=4$ y $H_{p\text{Sur}}=2$). En general, se puede observar que todas las localidades tienen una diversidad genética moderada, pero exhiben un promedio en el número promedio de nucleótidos distintos relativamente alto siendo Norte ($k=2.215$) la más alta seguida de Brasil ($k= 2.221$), Centro ($k=1.823$) y Sur ($k=1.067$). La variabilidad a nivel nucleotídico entre pares de secuencias (π) es relativamente baja en todas las localidades ($\pi_{\text{Norte}}=0.00409$, $\pi_{\text{Centro}}=0.00337$, $\pi_{\text{Sur}}=0.00197$ y $\pi_{\text{Brasil}}=0.0014$).

Tabla 2 Indices de diversidad. Muestran los valores para cada provincia donde: n = número de secuencias, hd = diversidad haplotípica, π = diversidad nucleotídica, H = número de haplotipos, S = sitios polimórficos, K = promedio de la diferenciación nucleotídica.

Localidad	n	hd	π	H	S	k
Norte	56	0.972	0.00409	26	22	2.215
Centro	22	0.671	0.00337	7	10	1.823
Sur	11	0.473	0.00323	3	6	1.745
Brasil	21	0.557	0.0014	4	7	2.221
TOTAL	110	0.938	0.00755	38	36	4.087

6.4 Red de haplotipos

La red de haplotipos refleja 4 haplogrupos con un total de 37 haplotipos en las distintas provincias biogeográficas (figura 10 y 11).

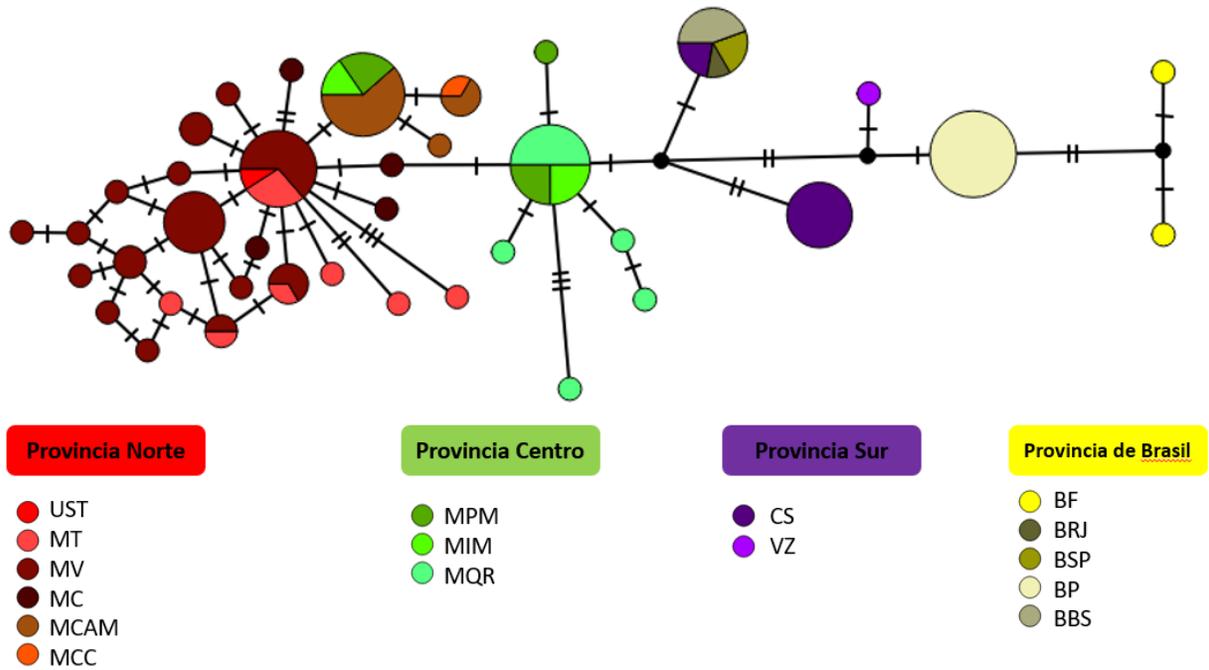


Figura 11. Red de haplotipos construida con la matriz final de secuencias obtenidas del material biológico colectado. Las localidades siguen el orden de las Provincias biogeográficas Norte (UST= Texas, MT= Tampico, MV= Tamiahua, MC= Casitas, MCAM= Campeche, MCC= Ciudad del Carmen), Sur (MPM= Puerto Morelos, MIM= Isla Mujeres, MQR= Majahual), Sur (CS= Santa Marta, VZ= Venezuela) Brasil(BF= Fortaleza, BRJ= Rio de Janeiro, BSP= Sao Paulo, BP= Para, BRS= Brasil Sur).

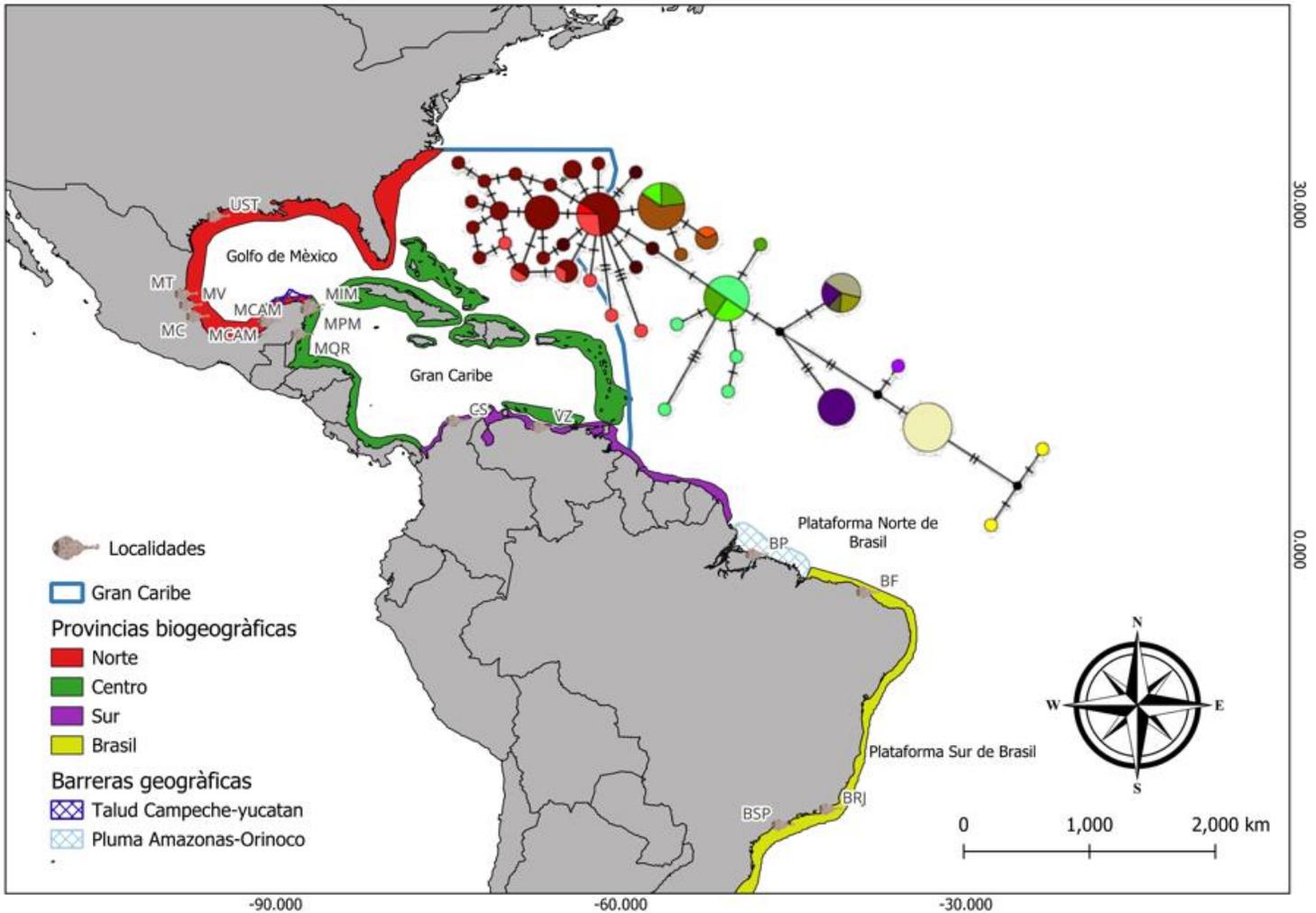


Figura 12. Red de haplotipos con arreglo de las 4 provincias biogeográficas de acuerdo con Robertson y Cramer (2014). Las diferentes tonalidades de colores corresponden a localidades dentro de la provincia. Los círculos negros corresponden a haplotipos faltantes y las barras entre ramas indican mutaciones.

6.5 Diferenciación genética

6.5.1 Distancias genéticas

Los resultados muestran una baja diferenciación en las *distancias p* no corregidas, entre las localidades Norte y Centro (Tabla 4), lo que sugiere similitud genética. Entre las provincias Norte y Sur (1.142%), Norte y Brasil (1.22%) se encuentran los valores más elevados seguidos por Centro y Brasil (0.809%). Los valores de F_{st} (Φ_{st}) más próximos a 1 indican una diferenciación alta, mientras que los valores cercanos a 0 indican similitud genética. Los resultados arrojan valores significativos para todas las provincias, donde los valores más altos y significativos nuevamente caen en Norte y

Sur ($\Phi_{st}=0.66107$) y Norte y Brasil ($\Phi_{st}=0.68219$) seguidos por Centro y Brasil ($\Phi_{st}=0.57882$).

Tabla 3. Distancias p no corregidas (p -distance) entre las localidades de las provincias se presentan por encima de la diagonal, mientras que las diferencias genéticas (Φ_{st}) se encuentran por debajo de la misma. Se resaltan en **negritas** los valores de Φ_{st} que resultan significativos ($\alpha=0.05$).

	Norte	Centro	Sur	Brasil
Norte	*	0.596	1.142	1.22
Centro	0.36320	*	0.731	0.809
Sur	0.66107	0.54678	*	0.717
Brasil	0.68219	0.57882	0.53128	*

6.5.2 Análisis de variancia molecular (AMOVA)

Tabla 4. Tabla con los datos estadísticos de AMOVA entre las 3 fuentes de variación. $\alpha=0.05$.

Hipotesis a probar	Fuente de variacion	Porcentaje de variacion	Indices de fijacion	P value
Todas las muestras	Entre poblaciones	68.26		
	Dentro de las poblaciones	31.74	F_{ST} 0.68264	0.0000±0.0000
3 grupos	Entre grupos	46.81	F_{CT} 0.42584	0.0000±0.0000
Norte vs Centro+Sur vs Brasil	Entre poblaciones dentro del grupo	30.72	F_{SC} 0.53498	0.0000±0.0000
	Dentro de las poblaciones	26.7	F_{ST} 0.73300	0.0000±0.0000
4 grupos	Entre grupos	48.49	F_{CT} 0.48491	0.0000±0.0000
Norte vs Centro vs Sur vs Brasil	Entre poblaciones dentro del grupo	24.65	F_{SC} 0.47846	0.0000±0.0000
	Dentro de las poblaciones	26.86	F_{ST} 0.73136	0.0000±0.0000

El AMOVA muestra un valor de 68.26% para la variación genética entre diferencias entre poblaciones, lo que sugiere una marcada diferenciación genética entre las poblaciones estudiadas, con $p\ value= 0.00000$, lo cual es significativo. Al dividir los grupos se obtuvieron valores de altamente significativos, ($p\ value= 0.00000$). Para los 3 grupos: Al dividir las muestras en tres grupos, el 46.81% de la variación genética total se atribuye a las diferencias entre estos grupos. Esto implica una diferenciación genética significativa entre los tres grupos. Para el Grupo 4 (Norte vs Centro + Sur vs Brasil) al dividir las muestras en cuatro grupos, el 48.49% de la variación genética total

se atribuye a las diferencias entre estos grupos. Esto sugiere una diferenciación genética significativa entre los cuatro grupos.

6.5.3 Prueba de Mantel

La prueba de mantel arrojó resultados estadísticamente significativos en la correlación entre la distancia geográfica y la genética con una estimación de $r=0.47783$ y $p=0.0006$, resultando en un ajuste al modelo de aislamiento por distancia.

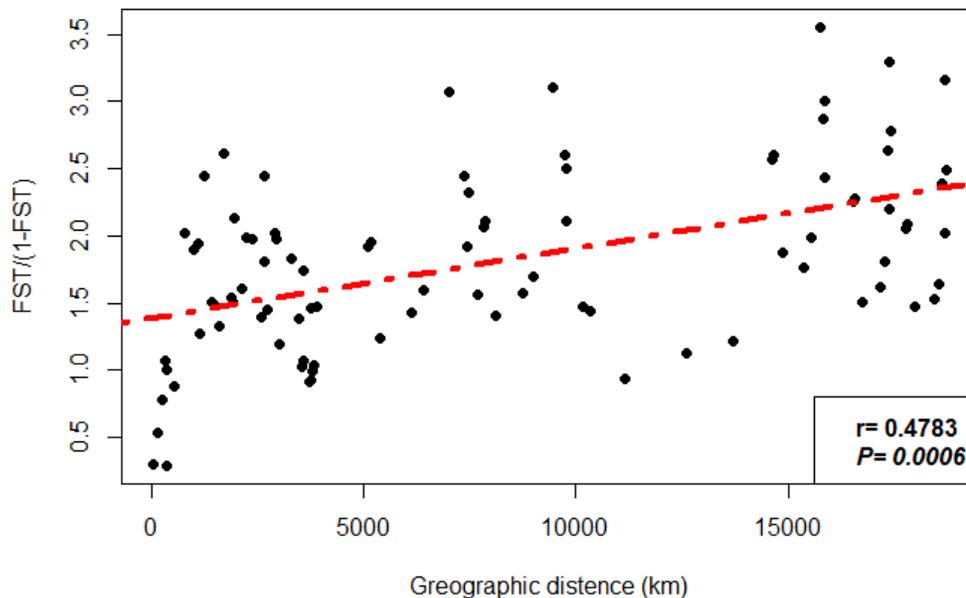


Figura 13. Prueba de mantel se muestra la correlación entre las distancias genéticas y geográficas.

6.5.4 Barrier

Los resultados revelan la presencia de tres barreras (ver Figura 13), que coinciden con las barreras geográficas ya existentes en el Atlántico occidental tropical.

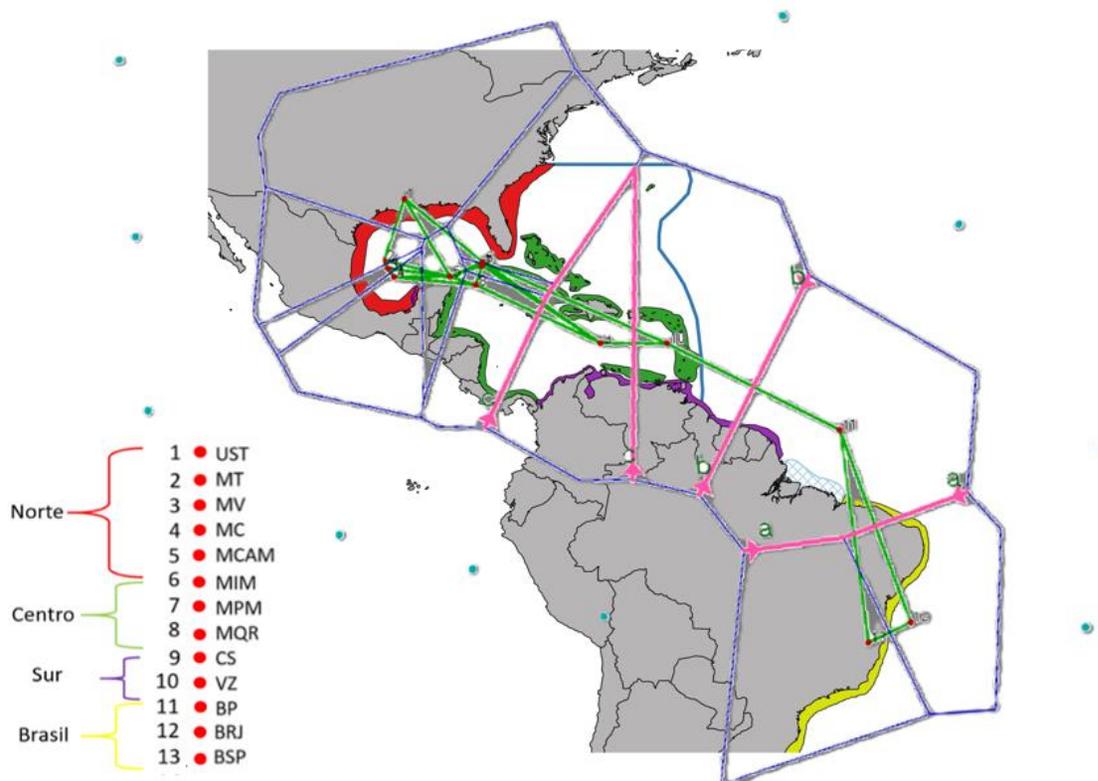


Figura 14. Resultados de Barrier. Las barreras geográficas están indicadas por las letras (a,b,c) en color azul. Las poblaciones se indican por los puntos rojos siguiendo la numeración 1-10 donde el Norte comienza con el número 1 y el Sur termina con el número 13.

7. Discusión

7.5 Complejidad entre especies de *N. brasiliensis* y *N. bancroftii*

La identificación de las secuencias del COI de los individuos recolectados mediante BLAST arrojó un resultado uniforme, indicando un 100% de identidad con la especie *N. brasiliensis*. Este hallazgo sugiere la presencia de *N. brasiliensis* fuera de su rango de distribución, cohabitando con *N. bancroftii*. La morfología reportada para la familia Narcinidae presentan esqueletos similares), tal como se menciona en el trabajo descrito por Dean & Motta (2004), donde mencionan una similitud morfológica con *N. vermiculatus* a pesar de que esta se encuentra habitando en el Pacífico. Por lo que no es extraño confundir a *N. bancroftii* con *N. brasiliensis* o incluso sugerir que se trate de mismas especies. Situaciones similares se han observado previamente en otros batoideos, donde especies que se pensaba no coexistían. Realmente son simpátricas,

como es el caso de *Rhinoptera brasiliensis* y *Rhinoptera bonasus* (Palacios-Barreto, 2017).

Se presenta una diversidad de morfotipos (ver figura 10), donde algunos especímenes comparten características con *N. bancroftii* y *N. brasiliensis*, mientras que otros no se ajustan a ningún morfotipo, sugiriendo, según de Carvalho (1999), la posibilidad de una nueva especie. Sin embargo, el marcador genético utilizado (COI) muestra una identidad del 100% con *N. brasiliensis*. La convergencia existente de los planos corporales mediada por la adaptación a los distintos hábitats y modos de alimentación está ampliamente documentada y muchas veces entorpece investigación ligada a la delimitación de especies (Aschliman, 2012). En 2023, Melis y colaboradores notaron dificultades para delimitar especies del género *Torpedo*, se utilizaron dos marcadores mitocondriales COI y NDH2 para determinar el estado taxonómico de las especies. Ambos marcadores arrojaron resultados distintos, donde las secuencias de NDH2 lograron delimitar especies de manera exitosa e incluso corrigieron algunas identidades previamente asignadas con COI. Por ejemplo, una secuencia de NADH2 de muestras del Atlántico Centro-Oriental (Senegal), inicialmente registrada como *T. marmorata*, fue identificada como una Unidad de Taxonomía Molecular (MOTU) diferente. De manera similar, otro espécimen senegalés provisionalmente identificado como *T. torpedo* se reconoció como una entidad distinta en comparación con los auténticos torpedos ocelados del Mediterráneo, sugiriendo la posibilidad de representar una especie nueva aún no descrita. En el mismo estudio, se tomaron también secuencias de COI disponibles para los narinidos del Atlántico, donde el gen COI no logró delimitar las especies, pero proporcionó un panorama más complejo del taxón. Por otro lado, NDH2 logró distinguir entre *N. brasiliensis* y *N. bancroftii* (Melis, et al., 2023). La incertidumbre taxonómica que abunda en el orden de los Torpediniformes hace complejo delimitar especies y conocer el estatus poblacional. Un caso similar con las rayas del género *Hypanus*, donde un análisis llevado a cabo en 2020 por Petean et al. resalta el descubrimiento de una nueva especie perteneciente al género *Hypanus*, la cual estaba reportada como *Hypanus americanus* en la costa brasileña debido al parecido morfológico entre ellas. Los análisis llevados a cabo con mt-ND2 reportan que muy posiblemente es una especie que este restringida a las costas aledañas a la Pluma de Amazonas-Orinoco, esto por la distribución que se tiene al Norte y Sur por las descargas de agua dulce y los sedimentos de los ríos Amazonas y La Plata (Petean,

La necesidad de abordar cuestiones filogenéticas en los Batoideos ha llevado a la preferencia de genes mitocondriales más extensos y de evolución más rápida que el gen COI, cuya tasa de evolución es relativamente baja. La elección del marcador mitocondrial está sujeta a la naturaleza específica de la pregunta que se pretenda resolver. Por ejemplo, NADH2 ha demostrado eficacia tanto para diferenciar entre especies de batoideos (Lim et al., 2015; Henderson et al., 2016) como para proporcionar estimaciones coherentes de niveles más profundos de divergencia (Naylor, G.C., 2012) de tal manera que el proyecto del árbol de la vida de los condrictios, que representa actualmente la evaluación molecular más completa de la taxonomía global de elasmobranquios hasta la fecha, utiliza NADH2 para la delimitación de especies (Naylor, G.C., 2012). Los resultados obtenidos en el presente estudio utilizando COI, no nos permitieron diferenciar entre *N. bancroftii* y *N. brasiliensis* debido al bajo número de sitios recuperados con el fragmento utilizado, sin embargo, lo que es claro es que *N. brasiliensis* está presente en las distintas provincias del Atlántico Occidental y no debe considerarse como una especie endémica. Por tanto, queda abierta la posibilidad de que mediante secuencias del ND2 sea posible una determinar de forma más consistente si *N. bancroftii* se encuentra coexistiendo en el área de distribución ampliada de *N. brasiliensis* debido a las diferencias en los patrones de pigmentación observados e incluso la descripción de nuevas especies.

7.1 Agrupaciones encontradas

Para los peces marinos, tanto óseos como cartilaginosos, se han identificado tres niveles de estructuración poblacional. En los peces de anémona de baja dispersión asociados a ecosistemas arrecifales, pertenecientes a la familia Pomacentridae, se observa un alto grado de estructura poblacional a escala de bahías y archipiélagos individuales. En el segundo nivel se encuentran los peces costeros con una amplia distribución en el Indo-Pacífico y el Atlántico, presentando estructuras poblacionales a escala de provincias biogeográficas. Ejemplos de esto incluyen el Caribe frente a Brasil, el Mar Rojo frente al Océano Índico occidental y el Archipiélago hawaiano frente al Pacífico occidental. Por último, el tercer nivel comprende a las especies pelágicas o aquellos con duración larval prolongada, como los atunes (familia Scombridae) y los

peces picudos (familia Istiophoridae), los cuales exhiben niveles de estructura genética a una escala de cuencas oceánicas. Los tiburones y rayas que carecen de larvas pelágicas se clasifican en el segundo nivel.

Los resultados obtenidos revelan una distinción evidente entre las provincias biogeográficas, según los análisis de F_{st} . Todos los resultados de estos análisis son significativos, al igual que los resultados de la p -distancia. De manera general, los valores de la p -distancia aumentan conforme se incrementa la distancia geográfica; por ejemplo, los valores son notablemente elevados, como en el caso de Norte y Brasil (1.22) o Centro y Brasil (0.809).

Estos hallazgos encuentran respaldo adicional en los resultados del AMOVA, que indican una clara diferenciación entre las provincias y son altamente significativos. Estos resultados confirman la presencia de una estructuración genética distintiva entre las provincias, sugiriendo que factores geográficos están influyendo significativamente en la variabilidad genética observada. Asimismo, la red de haplotipos muestra cuatro haplogrupos independientes entre las poblaciones de diferentes provincias (figura 10 y 11).

7.2 Segregación de la provincia Norte y Centro

Las regiones Norte y Centro muestran haplotipos compartidos y el mayor número de haplotipos ($H_{p\text{norte}}=26$ y ($H_{p\text{centro}}=7$), esto puede deberse las diferencias en el muestreo que son contrastantes con las demás provincias ($n_{\text{norte}}=56$ y $n_{\text{centro}}=22$), sin embargo, los haplotipos compartidos indicando conexión entre ambas regiones. Probablemente el movimiento es de Sur a Norte ya que solamente se comparten haplotipos con las poblaciones de Campeche, Puerto Morelos e Isla Mujeres, por lo que posiblemente esto se deba a organismos que se dispersaron con ayuda de la corriente de Yucatán y que las barreras presentes en la región (la primera barrera está asociada al talud Campeche-Yucatán (c), mientras que la segunda se relaciona con la discontinuidad en la región del Caribe (c)) no presenten realmente un impedimento para limitar la conexión entre las poblaciones. Un estudio llevado a cabo con el tiburón de puntas negras (*Cacharinus limbatus*) demostró tener estructura poblacional entre el Golfo y Caribe y esto también ha sido observado en otras especies como el mero de

Nassau (*Epinephelus striatus*) (Jackson, 2014), lo que podría estar relacionado con la presencia de la discontinuidad de en la región del Caribe. A pesar de la existencia de esta importante barrera, diversos estudios llevados a cabo en elasmobranchios demuestran que muchas veces estas barreras son permeables para estos organismos. Un estudio llevado a cabo en 2018 con *Carcharhinus signatus* resaltó la importancia de no obviar la relación de barreras geográficas con la estructuración poblacional encontrada en elasmobranchios, donde se encontró la ausencia de aislamiento poblacional con 9 loci –microsatélites entre las regiones del Atlántico occidental (Domingues, 2019), dado los resultados estadísticamente significativos arrojados por la prueba de mantel donde ($r=0.47783$ y $p=0.0006$) que se ajustan al modelo de aislamiento por distancia y los valores de F_{st} entre la provincia Norte y Centro ($\Phi_{st}=0.36320$) las barreras presentes entre la provincia del Norte y Centro podrían no estar influyendo en la estructuración genética.

7.3 Aislamiento de la provincia Sur

Los organismos de la provincia sur se quedan separados del resto posiblemente por barrera entre Colombia (b) y Venezuela, y que esta barrera está asociada a la Ciénega de Colombia. Observamos que la provincia sur presenta una diversidad haplotípica baja $H_{psur}=0.356$, esto podría deberse a procesos involucrados como la deriva génica y/o que la población atravesó recientemente por un cuello de botella, también puede ser producto del bajo número de organismos colectados. La dinámica del flujo marino en la región costera de Colombia se encuentra principalmente condicionada por la corriente del Caribe y la contracorriente del Darién, tal como indica Wurt en 1964. Aunque se registra cierta variabilidad estacional en el transporte de aguas superficiales y centrales, se identifican corrientes específicas en la Península de la Guajira, según los informes de Fajardo en 1979 y Álvarez-León y su equipo en 1995. Por otro lado, la región central de la costa colombiana experimenta predominantemente la influencia de la desembocadura del río Magdalena, mientras que la parte sur se ve afectada por las corrientes de los ríos Atrato y Sinú, según los estudios de Pujos y otros en 1986, así como los informes de Andrade y Thomas en 1988 y Molina y colaboradores en 1992. Estas particularidades hidrográficas confieren perfiles oceanográficos distintos a las dos áreas geográficas. Sin embargo, nuevamente la significancia de los resultados de

mantel y los resultados de *Fst* Sur y Norte ($\Phi_{st}=0.66107$) y Sur y Centro ($\Phi_{st}=0.54678$), que a pesar de ser significativos no son altos, indican una tendencia que entre mas se aumenta la distancia mayor es la diferencia genética. Se han documentado situaciones análogas en el Atlántico occidental para tiburones con preferencia por hábitats costeros, como lo evidencian los informes sobre *R. porosus* y *R. terranova*e por Heist E.J. et al., 1996. Además, Mendonça F.F. et al., 2009 proporcionaron información sobre la dinámica genética de la población de *R. lalandii*, el tiburón de nariz afilada de Brasil, que sugiere un patrón de correlación con la distancia geográfica y la estructuración poblacional en el área.

7.4 División de poblaciones por la pluma del Amazonas-Orinoco

Se observa que la provincia Sur y Brasil comparten haplotipos es posible que estemos observando un evento de cruce de Sur a Norte, es difícil pensar en un movimiento de Norte a Sur reciente por el sistema de corrientes superficiales y profundas que rigen el Atlántico occidental. La última etapa de desarrollo en la tasa de sedimentación del río Amazonas se inició durante el Pleistoceno, aproximadamente hace 2,4 millones de años, coincidiendo con la formación del río Amazonas en su configuración moderna. En este período, se tiene una estimación de que las tasas de deposición de sedimentos fueron 24 veces mayores que en la fase inicial y cuatro veces superiores a las de la segunda fase, con un promedio de alrededor de 1,2 metros por milenio. Por lo tanto, se plantea la posibilidad de que la barrera entre el río Amazonas y el río Orinoco fuera más permeable en las primeras etapas del desarrollo del río Amazonas debido a tasas de sedimentación relativamente moderadas (Araujo, 2022). A medida que el río maduró y las tasas de sedimentación aumentaron, la barrera se tornó gradualmente menos permeable para los organismos de arrecifes poco profundos. Debido a esto es posible que las especies que provenientes de Brasil pudieran cruzar. Diversos estudios han sugerido que las glaciaciones del Pleistoceno fueron un factor determinante en la formación de los patrones filogeográficos del ADN mitocondrial y la estructuración poblacional en especies de peces marinos. Este punto de vista ha recibido respaldo de investigaciones llevadas a cabo por diferentes equipos, como los de Brunner P.C. et al., 2001, Planes S. et al., 2001, Beheregaray L.B. et al., 2002 y (Grunwald C. et al., 2002). Un estudio donde se incluyeron 985 especies marinas demostró que el 39.5% de las

especies que son residentes en el Atlántico occidental cruzaron la Pluma de Amazonas-Orinoco, considerando a distintas cualidades de las especies como la capacidad de desplazamiento, tamaño del organismo y la duración de la larva pelágica (Luiz, 2012). Los resultados de F_{st} revelan un grado moderado de diferenciación genética Φ_{st} entre provincia Sur y Brasil= 0.53128 y una distancia alta $p=0.717$, esto muy posiblemente por la distancia geográfica entre provincias. La capacidad de *N.brasiliensis* para habitar lugares desafiantes como manglares o estuarios hacen posible que se haya producido un cruce, donde condiciones de baja salinidad, pH elevados, temperaturas de agua cambiantes etc. que representan barreras importantes para algunas especies de elasmobranquios, para *N. brasiliensis* no hayan sido realmente condiciones limitantes (Martins et al., 2018).

Este fenómeno de aislamiento por distancia también se observa en otras especies, como *S. lewini*, *N. brevirostris* y *S. tiburo*, donde, a pesar de presentar hábitos pelágicos, se observa una estructuración en tres provincias: Golfo de México, Caribe y Brasil. Aunque este patrón de diferencias usualmente es asociado a fidelidad a sitios de crianza, ya que estas especies presentan comportamiento filopátrico (Phinal et al. 2019). En el caso de las rayas eléctricas de América, no se tienen informes de filopatría para ninguna de las especies, lo que sugiere que las diferencias genéticas en estas poblaciones posiblemente se deben al aislamiento por la distancia. Sin embargo, el comportamiento reproductivo de *N.brasiliensis* debería ser abordado más a fondo para poder identificar de ser posible filopatria en la especie. Dado el hábito de las hembras de regresar a aguas poco profundas para dar a luz (Rolim et al., 2015) sería interesante identificar un comportamiento filopátrico que pudiera explicar la distribución de los haplotipos. Dado el alto nivel de significancia que se tiene en la prueba de mantel, los valores de F_{st} y las distancias genéticas no corregidas es posible que realmente la Pluma de Amazonas-orinoco no haya representado un impedimento cuando comenzaron a distribuirse en la región del Atlántico occidental.

7. Conclusiones

Es evidente que *N.brasiliensis* presenta estructura genética a nivel de provincias biogeográficas en toda la región del Atlántico occidental tropical y no debería ser considerada como una especie endémica de las aguas de Brasil. Sin embargo, el hecho de que no se haya podido evidenciar la separación de *N.brasiliensis* y *N.bancroftii* hace difícil poder plantear estrategias de conservación y manejo. Por lo que es necesario ampliar el estudio con datos más complejos incluyendo genes tanto mitocondriales como nucleares para entender la estructuración de ambas especies en el Atlántico ya que otros marcadores de ADN mitocondrial, como la región control o el NDH2, podrían proporcionar una perspectiva más detallada de los patrones de estructura poblacional observados. Además, sugerimos un muestreo riguroso en las áreas del Caribe colombiano y Brasil.

Referencias

- Araujo, G. R. (2022). La barrera Amazonas-Orinoco como impulsora de la especiación de peces de arrecife en el Atlántico occidental a través del tiempo. *Revista de Biogeografía*, 49 (8), 1407-1419.
- Aschliman, N. C. (2012). Body plan convergence in the evolution of skates and rays (Chondrichthyes: Batoidea). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 63(1), 28-42.
- Avice. (2000). Filogeografía: la historia y formación de las especies. *Prensa de la universidad de Harvard*.
- Beheregaray LB, S. P. (2002). Una rápida radiación de peces asociada con los últimos cambios del nivel del mar en el sur de Brasil: el complejo de pejerreyes *Odontesthes perugiae*. . *Proc Roy Soc Lond Ser B Biol Sci*, 269:65–73.
- Berggren, W. y. (1974). Paleogeografía, paleobiogeografía e historia de la circulación en el Océano Atlántico, en Hay, WW, ed., *Studies in paleoceanography*. *Society of Economic Paleontologists and Mineralogists*.
- Bigelow, H. B. (1953). Sawfishes, guitarfishes, skates and rays; Chi-maeroids. In *Fishes of the Western North Atlantic* (Tee-Van, J., Breder, C. M., Parr, A.E., Schroeder, W. C. & Schultz, L. P., eds). Number 1, Part Two, pp. 1.
- Brunner PC, D. M. (2001). Filogeografía holártica del salvelino ártico (*Salvelinus alpinus* L.) inferida a partir de secuencias de ADN mitocondrial. . *Evolución*, 55:573–586.
- Coates, A. R. (2013). How old is the Isthmus of Panama? . *Bulletin of Marine Science*, 89(4), 801–813. .
- Corander, J. C. (2013). BAPS: Bayesian Analysis of Population Structure. *Department of Mathematics and statistics University of Helsinki 00014*.
- Costa, L. &. (2006). Elasmobranchs caught by artisanal fishing in the southcost of Parana State and north cost of Santa Catarina State. *Brazil.Biota Neotropica*6, bn02706032006.
- Cruz-Orosa, I. V.-T. (2012). Las cuencas terciarias de Cuba como registro de la interacción entre diferentes regímenes tectónicos en el noroeste del Caribe. *research gate*.
- de Carvalho, M. (1999). Una revisión sistemática del género de rayas eléctricas *Narcine Henle*, 1834 (Chondrichthyes: Torpediniformes: Narcinidae) y las relaciones filogenéticas de nivel superior de los órdenes de peces elasmobranquios (Chondrichthyes). *Universidad de la ciudad de Nueva York*.
- Deagle, B. J. (2014). Metabarcodes de ADN y marcador de la subunidad I de la citocromo c oxidasa: no son una coincidencia perfecta. *Cartas de biología*, 10.
- Dean, M. N. (2004). Feeding behavior and kinematics of the lesser electric ray, *Narcine brasiliensis* (Elasmobranchii: Batoidea). . *Zoology*, 107(3), 171-189.

- Domingues, R. B. (2019). conectividad genética y filogeografía del tiburón nocturno (*Carcharhinus signatus*) en el Océano Atlántico occidental: implicaciones para la gestión de la conservación. *Conservación acuática: ecosistemas marinos y de agua dulce*, 29 (1), 102-114.
- Domínguez-Domínguez, O., & Vázquez-Domínguez, E. (2009). Filogeografía: aplicaciones en taxonomía y conservación animal. *Animal biodiversity and conservation*, 59-70.
- Dosso, L. B. (1999). La edad y distribución de la heterogeneidad del manto a lo largo de la Cordillera del Atlántico Medio. *Cartas sobre ciencias planetarias y de la Tierra*, 269-286.
- Dulvy, N. K. (2014). Extinction risk and conservation of the world's sharks and rays. *eLife* 3.
- Excoffier, L. G. (2005). Arlequin ver. 3.0: An integrated software .
- Excoffier, L. S. (1992). Análisis de la varianza molecular inferida a partir de distancias métricas entre haplotipos de ADN: aplicación a datos de restricción del ADN mitocondrial humano. *Genética*. 131 (2), 479-491.
- F.Manni, E. G. (Human Biology). Geographic patterns of (genetic, morphologic, linguistic) variation: how barriers can be detected by “Monmonier’s algorithm”. *2004*, 76(2): 173-190.
- Froese, R. (2006). Cube law, condition factor and weight – length relationships: history, meta-analysis and recommendations. *Journal of Applied Ichthyology*, 22, 241 – 253.
- Gaitán-Espitia, J. S.-I.-M.-G. (2016). Mitogenómica de rayos eléctricos: consideraciones evolutivas dentro de Torpediniformes (Batoidea; Chondrichthyes). . *Revista zoológica de la Sociedad Linneana* , 178.
- Gallegos, A. (1996). Oceanografía física descriptiva del Mar Caribe. *Ciencias Marinas de las Islas Pequeñas y Desarrollo Sostenible*, 36-55.
- Grijalba-Bendeck, M. P.-S. (2012). Aspectos tróficos y reproductivos de algunos batoideos capturados en Santa Marta, Mar Caribe de Colombia. . *Latin American Journal of Aquatic Research*, 40(2), 300-315. .
- Grunwald C, S. J. (2002). Genética de poblaciones del esturión de nariz corta *Acipenser brevirostrum* basada en secuencias de la región de control del ADN mitocondrial. . *Mol Ecología*, 11:1885–1898.
- Hall, T. (1999). BioEdit: un programa de análisis y editor de alineación de secuencias biológicas fácil de usar para Windows 95/98/NT. . *En Serie de simposios sobre ácidos nucleicos*, Vol. 41, No. 41, págs. 95-98.
- Hauser-Davis, R. M. (2022). La partición metálica subcelular como herramienta novedosa en evaluaciones ecotoxicológicas de elasmobrancos: el caso del pez entumecido (*Narcine brasiliensis*) afectado por el desastre de la presa Mariana en el sureste de Brasil. *Boletín de contaminación marina*, 177.
- Hebert, P. R. (2003). Código de barras de la vida animal: divergencias de la subunidad 1 del citocromo c oxidasa entre especies estrechamente relacionadas. *Actas de la Royal Society de Londres. Serie B: Ciencias Biológicas* , 96-99.
- Heist EJ, M. J. (1996). Estructura genética de la población del marrajo dientuso (*Isurus oxyrinchus*) inferida del análisis del polimorfismo de longitud de los fragmentos de restricción del ADN mitocondrial. *Can J Fish Aquatic Sci*, 53:583–5.
- Henle, J. (1834). Ueber *Narcine*, eine neue Gattung electrischer Rochen: nebst einer Synopsis der electrischen Rochen. *Eichler*.
- Hills, D. C. (1996.). *Molecular Systematic* 2da ed. Sinauer Associates. Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts. USA., 651.
- Imlay, R. (1984). Sucesiones de ammonites del Jurásico en América del Norte y las implicaciones biogeográficas, en Westermann, GEG, ed., *Biocronología y paleogeografía del Jurásico-Cretácico de América del Norte. Documento especial de la Asociación Geológica*.
- Iturralde-Vinent, M. y. (2006). Tectónica de placas del Caribe: Eventos estratigráficos, magmáticos, metamórficos y tectónicos: Proyecto PICG 433 de . *UNESCO/IUGS: Geologica Acta*, v. 4.
- Jackson, A. ., (2014). "Estructura poblacional y filogeografía del mero de Nassau (*Epinephelus striatus*), un pez marino que se agrega en masa ". *PLoS One*, 9 (5).
- Jaramillo, C. M. (2017). “Formation of the Isthmus of Panama” . *Science Advances*, 3(6).
- Joyce, T. H.-G. (2001). Circulación zonal en el Atlántico noroeste y el Caribe a partir de una sección hidrográfica meridional del Experimento de circulación oceánica mundial en 66 W. *Journal of Geophysical Research: Oceans* , 106 (C10), 22095-22113.
- Kaup, J. J. (1826). Beiträge zu Amphibiologie und Ichthyologie. *Isis (oken)*, 87-90.
- Leigh, E. G. (2014). Historical biogeography of the Isthmus of Panama. . *Biological Reviews*, 89(1), 148–172.
- Luiz, O. M. (2012). Rasgos ecológicos que influyen en la expansión del área de distribución a través de grandes barreras de dispersión oceánica: conocimientos de los peces de arrecife del Atlántico tropical. *ctas de la Royal Society B: Ciencias Biológicas*, 279 (1730), 1033-1040.

- Macesic, L. J. (2009). Electric organ morphology and function in the lesser electric ray, *Narcine brasiliensis*. *Zoology*, 442-450. .
- Martins, A. H. (2018). Viveros batoides: definición, uso e importancia. . *Serie Progreso de la Ecología Marina*, 595 , 253-267.
- Melis, R., Di Crescenzo, S., Cariani, A., Ferrari, A., Crobe, V., Bellodi, A., . . . al., e. (2023). Unravelling Population Structure of Mediterranean Electric Rays and Taxonomic Uncertainties. *Animals*, 13(18).
- Mendonça FF, O. C. (2009). Análisis de poblaciones del tiburón nariz afilada brasileño *Rhizoprionodon lalandii* (Chondrichthyes: Carcharhinidae) en la costa de São Paulo en el sur de Brasil: inferencias a partir de secuencias de ADN mt. *Neotrop Ichth* , 7(2):213–216.
- Menni, R. C. (2000). Distribution, environment and biology of batoid fishes off Argentina, Uruguay and Brazil. A review. *Revistas del Museo Argentino de Ciencias naturales*, pp. 69-109.
- Miranda Ribeiro, A. (1923). Fauna Brasiliensis. Peixes. Rio de Janeiro. *Museu Nacional do Rio de Janeiro*.
- Müller, J. &. (1841). Systematische beschreibung der Plagiostomen. . *veit*.
- Murphy, S. H. (1999). La conectividad de la variabilidad de los remolinos en el Mar Caribe, el Golfo de México y el Océano Atlántico. . *Revista de investigación geofísica: océanos*, 104 (C1), 1431-1453.
- Naylor, G. C. (2012). Filogenia de elasmobranquios: una estimación mitocondrial basada en 595 especies. *Biología de los tiburones y sus parientes*, 2 , 31-56.
- O’Dea, A. L.-M. (2016). Formation of the Isthmus of Panama. *Science advance*, 2,8.
- Palacios-Barreto, P. C.-A.-J. (2017). Molecular evidence supporting the expansion of the geographical distribution of the Brazilian cownose ray *Rhinoptera brasiliensis* (Myliobatiformes: Myliobatiformes: Rhinopteridae) in the western Atlantic. *Zootaxa*.
- Pavan-Kumar, A. G.-B. (2015). Códigos de barras de ADN de elasmobranquios de la costa de la India y su confiabilidad para delimitar especímenes geográficamente extendidos. *ADN mitocondrial*, 92-100.
- Perea Aranda, S. (2017). Filogenia, filogeografía y biogeografía histórica de las especies mediterráneas del género *Squalius* Bonaparte, 1837 (Actinopterygii, Cyprinidae).
- Perta, A. M. (2021). Efecto de la variación genética del mtDNA sobre la penetrancia de la mutación m. 11778G> A. *Meta-análisis de la literatura*.
- Petean, F. F. (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), 1120-1.
- Pinhal, D. S. (2012). Cryptic hammerhead shark lineage occurrence in the western South Atlantic revealed by DNA analysis. *Mar. Biol*.
- Planes S, D. P. (2001). Fuerte divergencia genética entre poblaciones de un pez marino con dispersión limitada, *Acanthochromis polyacanthus* , dentro de la gran barrera de coral y el mar de coral. . *Evolución*, 55:2263–2273.
- Pollom, R. B. (2020). *Narcine brasiliensis*, pez entumecido menor.
- Quiñonez Sánchez, A. (2012). Estandarización de las condiciones de PCR para la amplificación de citocromo oxidasa C, subunidad I (COI) y evaluación de su contenido informativo en dos poblaciones de *Urotrygon aspidura* del Pacífico vallecaucano.
- Robertson, D. R. (2014). Defining and dividing the Greater Caribbean: Insights from the biogeography of shorefishes. . *Shorefishes*, PLOS ONE, 9(7), e102918.
- Rolim, F. A. (2015). Notes on the reproductive biology of the Brazilian electric ray *Narcine brasiliensis* (Elasmobranchii: Narcinidae). . *Journal of Fish Biology*.
- Rubinoff, D. (2006). Utilidad de los códigos de barras del ADN mitocondrial en la conservación de especies. *Biología de la conservación* , 1026-1033.
- Sealey, S. (1999). Setting geographic priorities for marine conservation in Latin America and the Caribbean. . *The Nature Conservancy, Arlington, VA(USA)* . , 141, 1999.
- Spalding MD, F. H. (2007). Marine ecoregions of the world: a bioregionalization of coastal and shelf areas.
- Stephan, J. M. (1990). Mapas paleogeodinámicos del Caribe: 14 pasos de Lias al Presente. *Bulletin de la Société géologique de France*, 915-919.
- Tamura K., S. G. (2021). MEGA 11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular Biology and Evolution* .
- Torruco, D. G.-S.-G. (2018). Diversidad y distribución de peces y su relación con variables ambientales, en el sur del Golfo de México. *Revista de Biología Tropical*, 438-456.
- von Olfers, I. F. (1831). Die Gattung *Torpedo* in ihren naturhistorischen und antiquarischen Beziehungen erläutert. Gedruckt in der Druckerei der Königlichen . *Akademie der Wissenschaften*.
- White, W. B. (2016). *Rays of the World*. USA: En CSIRO Publishing eBooks. CSIRO Publishing.

