

UNIVERSIDAD NACIONAL
SISTEMA DE ESTUDIOS DE POSGRADO
INSTITUTO INTERNACIONAL EN CONSERVACIÓN
Y MANEJO DE VIDA SILVESTRE

ECOLOGÍA TRÓFICA DE TIBURONES TORO JUVENILES (*Carcharhinus leucas*) EN DOS
SISTEMAS ESTUARINOS DE COSTA RICA

Edna De la Lata Quiroga

Heredia, mayo del 2021

Tesis sometida a consideración del Tribunal Examinador de Posgrado
de la Universidad Nacional, para optar al título de Magister Scientiae
en Conservación y Manejo de Vida Silvestre

ECOLOGÍA TRÓFICA DE TIBURONES TORO JUVENILES (*Carcharhinus leucas*) EN DOS
SISTEMAS ESTUARINOS DE COSTA RICA

Edna De la Llata Quiroga

Tesis presentada para optar al grado de Magister Scientiae en Conservación y Manejo de
Vida Silvestre. Cumple con los requisitos establecidos por el Sistema de Estudios de
Posgrado de la Universidad Nacional. Heredia. Costa Rica.

MIEMBROS DEL TRIBUNAL EXAMINADOR

Dr. José Vega Baudrit
Representante del Consejo Central de Posgrado

Dr. Luis Diego Alfaro Alvarado
Coordinador del posgrado o su representante

Dr. Arturo Tripp Valdez
Tutor de tesis

M.Sc. Elpis Joan Chávez Calderón
Miembro del Comité Asesor

Dra. Laura Porras Murillo
Miembro del Comité Asesor

Edna De la Llata Quiroga
Sustentante

RESUMEN

El tiburón toro (*Carcharhinus leucas*) es un depredador tope capaz de moverse entre ambientes de agua dulce y agua salada en zonas tropicales y subtropicales del mundo. Esta especie utiliza los sistemas estuarinos como áreas de crianza durante los primeros años de vida. Conocer la ecología trófica de los tiburones juveniles dentro de ecosistemas altamente productivos, es particularmente importante para comprender el rol que ocupan como depredadores dentro de estos sitios, así como para inferir las posibles consecuencias ecosistémicas que tendrían futuras reducciones en sus poblaciones. En Costa Rica aún existe muy poca información sobre la biología y ecología de los tiburones toro, lo que ha dificultado el desarrollo de estrategias adecuadas para su manejo y conservación. Se analizó la ecología trófica de tiburones toro juveniles en dos sistemas estuarinos de Costa Rica con distintas categorías de protección: el estero Coyote (n=24; sin protección) y el estero Bongo (n=3; protegido). Se realizaron análisis de isótopos estables de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ en el plasma, células rojas y músculo de los tiburones. Los valores isotópicos para el plasma de los tiburones del estero Coyote fueron de $-14.56\text{‰ } \delta^{13}\text{C}$ y $16.17\text{‰ } \delta^{15}\text{N}$, mientras que para los tiburones del estero Bongo fueron de $-14\text{‰ } \delta^{13}\text{C}$ y $16.08\text{‰ } \delta^{15}\text{N}$. Los valores isotópicos del tejido muscular reflejaron la dieta materna, mientras que el plasma reflejó la dieta de los tiburones toro juveniles de tallas $>95\text{ cm LT}$ y con cicatriz umbilical cerrada. No se observó una diferencia entre la dieta de los tiburones machos y hembras. Sin embargo, si existieron diferencias entre tiburones con diferentes estadios de cicatriz umbilical. Los tiburones con cicatriz umbilical abierta reflejaron parte de la dieta materna, mientras que los individuos con cicatriz umbilical cerrada reflejaron su propia dieta en los tejidos con alta tasa de recambio (plasma y células rojas). Los tiburones toro del estero Coyote se alimentaron principalmente de los peces teleósteos *Arius* sp. y *Ophichthus* sp., que fueron las especies más abundantes capturadas en el estero. Por su parte, los tiburones toro del estero Bongo se alimentaron mayormente de *Genyatremus pacifici*, *Selene brevoortii*, *Cynoscion* spp, *Centropomus* spp, *Caranx caninus* y *Trachinotus rhodopus*. En ambos esteros, los tiburones toro juveniles presentaron una posición trófica elevada $\geq 4.0\text{ PT}$, lo que indica que estos se alimentan de niveles tróficos altos y fungen como depredadores tope dentro de los sitios de estudio. Los esteros Coyote y Bongo son sitios de importancia para la alimentación de los tiburones toro juveniles en el Pacífico de Costa Rica.

ABSTRACT

The bull shark (*Carcharhinus leucas*) is a top predator capable of moving between freshwater and saltwater environments in tropical and subtropical areas of the world. This species uses estuarine systems as nursery areas during its first years of life. Knowing the trophic ecology of juvenile sharks within highly productive ecosystems is particularly important to understand the role they occupy as predators within these sites, as well as to infer the possible ecosystem consequences that future reductions in their population would have. In Costa Rica, there is still very little information on the biology and ecology of bull sharks, which has made it difficult to develop adequate strategies for their management and conservation. The trophic ecology of juvenile bull sharks in two estuarine systems of Costa Rica with different protection categories was analyzed: Coyote estuary (n=24; non-protected area) and Bongo estuary (n=3, protected). Stable isotope analyses of $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ were performed in the plasma, red blood cells and muscle of sharks. The isotopic values of the plasma of the Coyote estuary bull sharks were -14.56‰ $\delta^{13}\text{C}$ and 16.17‰ $\delta^{15}\text{N}$, and the values of the bull sharks of Bongo estuary were -14‰ $\delta^{13}\text{C}$ and 16.08‰ $\delta^{15}\text{N}$. The isotopic values of the muscle tissue reflected the maternal diet, while the plasma reflected the diet of the juvenile bull sharks of $>95\text{ cm}$ LT size and with a closed umbilical scar. There was no difference between the diet of male and female sharks. However, there were differences between sharks with different umbilical scar stages. Sharks with open umbilical scar reflected part of the maternal diet, while individuals with closed umbilical scar reflected their own diet in tissues with a high turnover rate. The bull sharks of the Coyote estuary fed mainly on the teleost fish *Arius* sp. and *Ophichthus* sp., which were the most abundant species captured in the estuary. The bull sharks of the Bongo estuary fed mainly on *Genyatremus pacifici*, *Selene brevoortii*, *Cynoscion* spp, *Centropomus* spp, *Caranx caninuns* and *Trachinotus rhodopus*. In both estuaries, Juvenile bull sharks presented a high trophic position ≥ 4.0 PT. They feed on high trophic levels and act as top predators within the study sites. The Coyote and Bongo estuaries are important feeding sites for juvenile bull sharks in the Pacific of Costa Rica.

AGRADECIMIENTOS

A Elpis Chávez, por todo su apoyo y confianza durante este proceso, por ayudarme con la logística del trabajo de campo, por sus consejos y enseñanzas.

A Arturo Tripp Valdez, por todo su apoyo, paciencia y tutoría. Gracias por enseñarme sobre isótopos estables y sobre los modelos de mezcla. Sin usted esto no hubiera sido posible.

A Laura Porras por interesarse en este proyecto, por su asesoría en este trabajo.

A Manuel Spinola por su asesoría, paciencia y consejos para llevar a cabo esta tesis.

A Randall Arauz, por permitirme ser parte de la familia de CREMA durante este tiempo, por todo el apoyo logístico y financiero para que este proyecto pudiera llevarse a cabo.

Al capitán Amado, por compartir conmigo todos esos días y noches de muestreo, por todas sus enseñanzas sobre pesca, sin su ayuda no hubiera sido posible muestrear todas las especies. Gracias por todo su apoyo.

Muchas gracias a doña Irene por todo su apoyo y ánimos.

A Elias Barquero, por interesarse en el proyecto y ayudarme con la liofilización de las muestras. ¡Muchas gracias!

A Marco Medina, por guiarme en la identificación de especies.

A Álvaro Morales, por prestarme las redes de plancton.

A los voluntarios de CREMA que me brindaron su ayuda en Coyote y en Bongo.

A Ricardo Sanchez, por permitirme hacer uso de las instalaciones del laboratorio para procesar las muestras y por costear el envío de las muestras a Estados Unidos.

A Valentina Peña Moreno y Julio Martínez Ayala, por enseñarme sobre el procesamiento de las muestras.

A Fernando Elorriaga, por recibirme en su clase sobre isótopos estables.

A Alberto Sánchez por su asesoría con fitoplancton y zooplancton.

A Elena Tamburin y Abel Trejo, por sus consejos y por ayudarme con las dudas.

A mi familia y amigos, por creer en mí y estar siempre para mí en los momentos felices y difíciles. ¡Los quiero!

A mis compañeros de la promoción XXVIII, por qué aprendí de cada uno de ustedes, y por compartir conmigo estos años. Les deseo éxito a todos.

A Rufford Foundation, CREMA, IDEA WILD y Fins Attached por brindar el financiamiento para llevar a cabo esta investigación.

DEDICATORIA

A mi hermana, Karla De la Llata Quiroga y mis abuelos, quienes desde el cielo guían mi camino. A mis padres, por su apoyo y fortaleza, por siempre creer en mí. Muchos de mis logros se los debo a ustedes, entre los que se incluye este.

“The future belongs to those who believe in the beauty of their dreams.”

Eleanor Roosevelt

CONTENIDO

	Página
RESUMEN.....	I
ABSTRACT	II
AGRADECIMIENTOS	III
DEDICATORIA.....	IV
LISTA DE CUADROS	VII
LISTA DE FIGURAS	VIII
INTRODUCCIÓN.....	1
Antecedentes.....	4
Justificación	7
OBJETIVOS	8
Objetivo general	8
Objetivos específicos	8
ÁREA DE ESTUDIO.....	9
Estero Coyote.....	9
Estero Bongo.....	10
METODOLOGÍA.....	12
Colecta de muestras	12
Especies base de la cadena trófica.....	12
Presas potenciales del tiburón toro	13
Muestreo de tiburones	13
Registro de pesca y almacenamiento de muestras.....	15
Procesamiento de muestras.....	15
Fitoplancton	15
Zooplancton.....	15
Músculo y sangre.....	16
Análisis de laboratorio.....	17
Análisis de datos.....	17
Caracterización isotópica de los sitios de estudio	17
Caracterización isotópica de los tiburones toro	18
Amplitud del nicho isotópico de los tiburones toro juveniles	18
Contribución de las presas a la dieta de los tiburones toro juveniles.....	19
Posición trófica del tiburón toro en los esteros Bongo y Coyote.....	20

RESULTADOS	21
Caracterización isotópica de los sitios de estudio	21
Estero Coyote	21
Estero Bongo	22
Comparación entre los esteros Coyote y Bongo	25
Caracterización isotópica de los tiburones toro juveniles	27
Estero Coyote	27
Estero Bongo	30
Nicho y traslapo isotópico	32
Estero Coyote	32
Estero Bongo	35
Contribución de las presas a la dieta de los tiburones toro juveniles	35
Estero Coyote	35
Estero Bongo	40
Posición trófica	43
DISCUSIÓN.....	44
Caracterización isotópica y comparación entre los sitios de estudio.....	44
Caracterización y nicho isotópico de los tiburones toro juveniles	46
Estero Coyote	47
Estero Bongo	49
Contribución de las presas a la dieta de los tiburones toro juveniles	51
Estero Coyote	51
Estero Bongo	51
Posición trófica	52
Implicaciones para el manejo y conservación de la vida silvestre.....	53
CONCLUSIONES	55
RECOMENDACIONES Y ESTUDIOS COMPLEMENTARIOS	56
ANEXOS	58
Anexo A. Valores isotópicos de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de las especies muestreadas en el estero Coyote	58
Anexo B. Valores isotópicos de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de las especies muestreadas en el estero Bongo	59
LITERATURA CITADA	60

LISTA DE CUADROS

Cuadro	Página
Cuadro 1. Cantidad de especies muestreadas en los esteros Coyote y Bongo.....	21
Cuadro 2. Valores isotópicos de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de los tiburones toro juveniles en estero Coyote, correspondientes a los distintos tejidos analizados para las diferentes categorías. Los valores están representados en medias ($\pm$ desviación estándar). Junio-noviembre 2019.	28
Cuadro 3. Valores de desempeño de los modelos mixtos, de acuerdo a los valores de AIC. Se muestran los cinco mejores modelos para cada variable respuesta.....	29
Cuadro 4. Valores isotópicos de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de los tiburones toro juveniles en estero Bongo, en tejido sanguíneo y músculo. Los valores están representados en medias ($\pm$ desviación estándar). Junio-noviembre 2019.	31
Cuadro 5. Valores isotópicos de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ (media $\pm$ desviación estándar) de los grupos de presas potenciales de tiburones toro juveniles en el estero Coyote. Junio-noviembre 2019.....	36
Cuadro 6. Proporción de contribución de las presas a la dieta de los tiburones toro juveniles del estero Coyote encontrados en el plasma sanguíneo. Se presentan la media de los valores obtenidos en general y por categoría. Junio-noviembre 2019.....	40
Cuadro 7. Valores isotópicos de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ (media $\pm$ desviación estándar) de los grupos de presas potenciales de los tiburones toro juveniles en el estero Bongo. Junio-noviembre 2019. Junio-noviembre 2019.....	41
Cuadro 8. Proporción de contribución de las presas a la dieta de los tiburones toro juveniles del estero Bongo, encontrados en el plasma sanguíneo. Se presentan la media de los valores obtenidos en general y por categoría. Junio-noviembre 2019.....	42
Cuadro 9. Valores de posición trófica (PT) de tiburón toro en el estero Coyote, en tejido sanguíneo y músculo para las diferentes categorías. Junio-noviembre 2019.	43
Cuadro 10. Valores de posición trófica (PT) del tiburón toro en el estero Bongo. Junio-noviembre 2019.	43

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
Figura 1. Ubicación de los esteros Coyote y Bongo, Guanacaste, Costa Rica.....	11
Figura 2. Abundancia relativa de las especies capturadas por arte de pesca en estero Bongo y estero Coyote, Guanacaste, Costa Rica. Junio-noviembre 2019.	23
Figura 3. Valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ (‰) de los organismos filtradores en los esteros Coyote y Bongo, Guanacaste, Costa Rica. Junio-noviembre 2019.....	24
Figura 4. Valores isotópicos de $\delta^{15}\text{N}$ (‰) de los organismos filtradores en los esteros Coyote y Bongo, Guanacaste, Costa Rica. Junio-noviembre 2019.....	24
Figura 5. Valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de los esteros Coyote y Bongo, tomando en cuenta las mismas especies muestreadas para cada estero. El punto representa el valor isotópico medio. Las líneas representan el intervalo de confianza. Junio-noviembre 2019.	26
Figura 6. Valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de los esteros Coyote, Bongo y el mar, tomando en cuenta el plancton y organismos filtradores. El punto representa el valor isotópico medio. Las líneas corresponden al intervalo de confianza. Junio-noviembre 2019..	26
Figura 7. Valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de los distintos tejidos de tiburones toro en estero Coyote. El punto representa el valor isotópico medio. Las líneas corresponden al intervalo de confianza. Junio-noviembre 2019.	29
Figura 8. Valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de los tiburones toro juveniles de estero Coyote: A) por estado de cicatriz umbilical, B) por sexo. El punto representa el valor isotópico medio. Las líneas corresponden al intervalo de confianza. Junio-noviembre 2019.....	30
Figura 9. Valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ y de $\delta^{15}\text{N}$ de los distintos tejidos de tiburones toro en el estero Bongo. El punto representa el valor isotópico medio, las líneas corresponden al intervalo de confianza. Junio-noviembre 2019.....	31
Figura 10. Nicho isotópico y traslape trófico de los tejidos de los tiburones toro en el estero Coyote. Junio-noviembre 2019.....	33
Figura 11. Nicho isotópico y traslape trófico observado en plasma de tiburones toro juveniles del estero Coyote: A) por estado de cicatriz umbilical, B) por sexo. Junio-noviembre 2019.....	34

Figura 12. Contribución de presas potenciales en la dieta de los tiburones toro juveniles del estero Coyote encontradas en el plasma sanguíneo. Junio-noviembre 2019.	37
Figura 13. Contribución de las presas a la dieta de los tiburones toro juveniles del estero Coyote al analizar el plasma mediante el modelo de mezcla: A) Cicatriz umbilical abierta, B) Cicatriz umbilical cerrada. Junio-noviembre 2019.	38
Figura 14. Contribución de las presas a la dieta de los tiburones toro juveniles del estero Coyote al analizar el plasma mediante el modelo de mezcla: A) Hembras, B) Machos. Junio-noviembre 2019.	39
Figura 15. Contribución de las presas a la dieta de los tiburones toro juveniles del estero Bongo al analizar el plasma mediante el modelo de mezcla. Junio-noviembre 2019.	42

INTRODUCCIÓN

Los seres vivos dependen de la cantidad de energía y nutrientes que obtienen a través de los alimentos para satisfacer sus necesidades biológicas básicas (Almany et al. 2007). El estudio de la dieta y ecología trófica de las especies es esencial para entender el papel que ocupa un depredador dentro de un ecosistema, conocer sus flujos de energía, comprender las interacciones entre los miembros de la comunidad e inferir las conductas y movimientos de la especie (Estupiñán-Montaña et al. 2009, Payán et al. 2011, Jaime-Rivera et al. 2014). Dicha información es importante para el correcto manejo de las especies (Schindler et al. 2002).

Algunas especies de tiburones actúan como depredadores tope en los ecosistemas que habitan, por lo que juegan un papel importante en el equilibrio de los mismos (Heithaus et al. 2008, Ceccarelli y Ayling 2010, Bornatowski et al. 2014). Los tiburones son capaces de regular poblaciones y estructurar comunidades marinas, a través de diferentes mecanismos directos (p. ej. depredación) e indirectos (p. ej. competencia e interferencia), con lo que contribuyen al mantenimiento y estabilidad de las redes tróficas (Stevens et al. 2000, Bornatowski et al. 2014).

A pesar de la importancia ecológica que tienen los tiburones dentro de los ecosistemas marinos y costeros, se ha observado un declive considerable en sus poblaciones a escala global, debido principalmente a la sobrepesca, la contaminación y la degradación del hábitat (Stevens et al. 2000, Kitchell et al. 2002, Roff et al. 2018). El declive en las poblaciones de tiburones provoca cambios que afectan no solo a la supervivencia de las especies, sino también a la abundancia y distribución de sus presas (Stevens et al. 2000, O'Connell et al. 2007, Bornatowski et al. 2014).

Algunos estudios han documentado efectos de cascada trófica y un aumento significativo de presas, ocasionados por la reducción poblacional de tiburones en las redes tróficas (Ward y Myers 2005, Myers et al. 2007, O'Connell et al. 2007, Heithaus et al. 2008, 2014, Bornatowski et al. 2014, Rizzari et al. 2014). En un estudio a largo plazo realizado por Myers et al. (2007) en el este de Estados Unidos, se encontró que la disminución poblacional de 11 especies de tiburones ocasionó un aumento significativo en las poblaciones de sus principales presas (i.e. pequeños tiburones y peces de la familia Rajidae), lo que ocasionó un efecto de cascada trófica. En estudios similares, Rizzari et al. (2014) y Rasher et al. (2017) evaluaron los efectos que tienen los depredadores de la Gran Barrera de Coral en Australia y en un arrecife de coral en Fiji respectivamente, ambos autores encontraron que los tiburones

regulan las poblaciones de los niveles tróficos más bajos solo con su presencia al generar un riesgo de depredación, lo que demuestra su importancia en estos sistemas.

El tiburón toro, *Carcharhinus leucas*, (Müller y Henle 1839), una especie de elasmobranquio de la familia Carcharhinidae (Compagno et al. 2006), es considerado un depredador tope y es una de las pocas especies de elasmobranquios capaces de moverse entre ambientes de agua dulce y agua salada en zonas tropicales y subtropicales del mundo debido a su capacidad de osmorregulación (especie eurihalina) (Myers 1952, Jenson 1976, Martin 2005, Simpfendorfer y Burgess 2009, Heupel et al. 2015). Esta especie posee hábitos principalmente costeros y permanece frecuentemente entre 1 m a 30 m de profundidad, pudiendo llegar hasta los 150 m de profundidad (Compagno et al. 2006). Es posible encontrarlo dentro de ríos y estuarios, incluso se han encontrado tiburones toro hasta 4000 km dentro del río Amazonas en Perú (Thorson 1972).

El tiburón toro alcanza la madurez sexual entre los 157-226 cm de longitud total (LT) para machos (14-20 años) y 180-230 cm LT para hembras (> 18 años), y pueden llegar a medir hasta 340 cm LT y pesar hasta 230 kg (Branstetter y Stiles 1987, Compagno et al. 2006). Los neonatos miden entre 56-81 cm LT y presentan una cicatriz umbilical abierta, mientras que los juveniles machos miden entre 81-157 cm LT y las hembras entre 81-180 cm LT, los juveniles pueden presentar una cicatriz umbilical cerrada o parcialmente cerrada dependiendo de su edad (Compagno et al. 2006, Llerena et al. 2012).

En cuanto a la reproducción, el tiburón toro es vivíparo placentario con saco vitelino, lo que significa que las crías se alimentan a través de la placenta, la cual les proporciona los nutrientes necesarios para su crecimiento (Compagno et al. 2006). Las hembras dan a luz cerca de la boca de estuarios y ríos entre los meses de mayo y julio. En un parto las hembras pueden tener hasta 13 crías, las cuales nacen generalmente tras 10-12 meses de gestación (Snelson et al. 1984). Una vez que las hembras dan a luz, abandonan el estero, ya que en esta especie no hay cuidado parental (Snelson et al. 1984), mientras que las crías permanecen dentro de los ríos o esteros durante sus primeros años de vida (Simpfendorfer et al. 2005, Heupel et al. 2010, Heupel y Simpfendorfer 2011).

Los ecosistemas estuarinos son reconocidos como uno de los sistemas naturales más productivos del mundo (Ortiz-Araya et al. 2018). En ellos se encuentra una elevada biodiversidad de flora y fauna, además de proveer de hábitat, alimento y refugio a distintas especies de peces, tortugas, crustáceos, bivalvos, entre otros (Ishikawa et al. 2003).

Diversos sistemas estuarinos ubicados en zonas tropicales y subtropicales del mundo han sido identificados como zonas de crianza para el tiburón toro (Thorson 1971, Snelson et al.

1984, Heupel y Simpfendorfer 2011). Las áreas de crianza brindan beneficios clave para el desarrollo de las especies, tales como, refugio, bajos niveles de depredación y presencia abundante de presas (Branstetter y Stiles 1987). Es probable que al permanecer dentro de los sistemas estuarinos durante sus primeros años de vida, los tiburones toro juveniles jueguen un papel importante en la regulación de estos sistemas de gran importancia ecológica a través de sus hábitos alimentarios.

Numerosos estudios han realizado análisis de contenido estomacal para determinar los hábitos alimentarios de los tiburones (Rojas 2006, Zanella et al. 2010, Wetherbee y Cortés 2012, Estupiñán-Montaña et al. 2017). Aunque los estudios de contenido estomacal proporcionan información importante sobre la dieta de los tiburones, este es un método altamente invasivo, ya que a menudo requiere el sacrificio del animal. Además, es común encontrar estómagos vacíos durante estos estudios (Tuma 1976, Snelson et al. 1984, Cliff y Dudley 1991, Wetherbee y Cortés 2012, Estupiñán-Montaña et al. 2017), lo que presenta una limitante importante para el análisis de la dieta.

Un método menos invasivo y costo efectivo utilizado para inferir la ecología trófica de las especies, es el análisis de isótopos estables (SIA, por sus siglas en inglés) (Carlisle et al. 2012, Heithaus et al. 2013, Gallagher et al. 2017, Espinoza et al. 2019). Los isótopos estables son átomos no radioactivos de un mismo elemento químico que tienen el mismo número de protones, pero difieren en el número de neutrones, por lo que tienen un mismo número atómico pero distinta masa atómica (Fry 2006).

Los isótopos estables funcionan como elementos traza a través de la cadena trófica, los cuales permiten determinar el flujo energético a través de las redes tróficas, conocer la posición trófica de un organismo e inferir cambios de hábitat (Hussey et al. 2011, Syväranta et al. 2013, Jaime-Rivera et al. 2014, Li et al. 2016). Estos isótopos, permiten conocer el origen del alimento asimilado, ya que los tejidos almacenan la información isotópica del sitio de alimentación (Hussey et al. 2011).

El análisis de isótopos estables puede ser una herramienta alternativa o complementaria a los análisis de contenido estomacal (Rosas y Andrade 2015). A diferencia del análisis de contenido estomacal donde es frecuente encontrar estómagos vacíos, el análisis de isótopos estables proporciona información en cada muestra (Shiffman et al. 2012, Rossman et al. 2016). El análisis de isótopos estables se puede realizar en individuos vivos mediante una pequeña muestra de tejido y tiene la ventaja de registrar cambios en la dieta de los organismos a mediano y largo plazo dependiendo del tejido que se analice (Rosas y Andrade 2015).

Los tejidos con una alta tasa de recambio metabólico, como el plasma y el hígado, reflejan cambios en la dieta de forma más rápida que los tejidos menos activos metabólicamente, como el músculo y las células rojas, por lo que ésta técnica proporciona información en distintas ventanas de tiempo (Macneil et al. 2005, Kim et al. 2012b). En el caso de los tiburones, los tejidos con tasas de recambio altas como el plasma tienen una incorporación de la dieta de aproximadamente de 22-33 días, mientras que los metabólicamente menos activos como los glóbulos rojos y el músculo tienen una incorporación de la dieta de aproximadamente 130 días y 250-488 días respectivamente (Macneil et al. 2005, Kim et al. 2012b, Caut et al. 2013). Cabe destacar que en todos los tejidos la tasa de recambio es más rápida en $\delta^{13}\text{C}$ que en $\delta^{15}\text{N}$ (Malpica-cruz et al. 2012).

En estudios de ecología trófica, los isótopos estables más utilizados son los de nitrógeno (N) y de carbono (C) (Clementz y Koch 2001), cuyas razones se expresan en valores delta (δ) como la relación de una muestra desconocida a un estándar conocido y se expresan en partes por mil (‰). Los materiales estándar utilizados como referencia para establecer dicha relación isotópica son Vienna PeeDee Belemnite (V-PDB) para el carbono, y nitrógeno molecular atmosférico (N_2) para el nitrógeno (Peterson y Fry 1987).

La razón de los isótopos $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ expresada como $\delta^{15}\text{N}$ es utilizada para determinar relaciones tróficas entre depredadores y sus presas, debido a que existe un enriquecimiento de alrededor de 2-4‰ en los tejidos de los consumidores sobre sus presas (fraccionamiento isotópico) (Post 2002). Mientras que, la razón de los isótopos $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ expresada como $\delta^{13}\text{C}$ presenta un enriquecimiento de 0-1‰ en cada nivel trófico y es utilizada para determinar las fuentes de alimentación, ya que la señal isotópica de estos dependerá de la localidad en que se alimentan (Vander Zanden et al. 1997, Werry et al. 2011, Carlisle et al. 2012, Munroe et al. 2015). La técnica de análisis de isótopos estables en tiburones se ha utilizado principalmente para conocer sus hábitos alimenticios, así como para predecir su posición trófica y grado de especialización (Matich et al. 2011, Tillett et al. 2014, Trystram et al. 2016, Sánchez 2017).

Antecedentes

Las investigaciones sobre el tiburón toro en el mundo, se han centrado principalmente en la biología y ecología de la especie. Se han realizado estudios en el Golfo de México (Branstetter y Stiles 1987, Cruz-Martínez et al. 2004, Neer et al. 2005), Brasil (Sadowsky 1971, Thorson 1972), Australia (Werry et al. 2011, Espinoza et al. 2016), Sudáfrica (Daly

et al. 2014) y Florida (Snelson et al. 1984, Simpfendorfer et al. 2005, Curtis et al. 2011) principalmente. En Centroamérica, se han realizado estudios sobre la biología y el estado poblacional del tiburón toro, principalmente en Nicaragua (Thorson 1971, 1976, Tuma 1976) y en Panamá (Vásquez y Thorson 1982). En Costa Rica, las investigaciones sobre el tiburón toro se han enfocado principalmente en aspectos biológicos (Bussing 1998), así como en el estudio de sus movimientos y uso de hábitat en zonas costeras (Chávez 2017).

En cuanto a los estudios sobre la ecología trófica de los tiburones toro, se han realizado diversos trabajos a nivel mundial mediante la técnica de análisis de contenido estomacal (Tuma 1976, Snelson et al. 1984, Cliff y Dudley 1991, Estupiñán-Montaña et al. 2017). Estos estudios han reportado que la dieta de los tiburones toro adultos y juveniles en el lago San Juan, Nicaragua; Florida, Estados Unidos, y en la costa este de Sudáfrica consiste principalmente de peces teleósteos de varias familias (i.e. Ariidae, Centropomidae, Characidae, Cichlidae, Eleotridae, Lepisoistidae, Lutjanidae, Megalopidae, Mugilidae, Haemulidae), elasmobranquios, mamíferos, cefalópodos y crustáceos (Tuma 1976, Snelson et al. 1984, Cliff y Dudley 1991), se han encontrado incluso restos de tortugas, aves y tiburones pequeños (80-90 cm LT) en el estómago de tiburones adultos (Cliff y Dudley 1991). Además, se ha reportado la presencia de objetos no alimenticios como papel, vidrio, plástico y piedras en los estómagos de los tiburones toro (Cliff y Dudley 1991, Lowe et al. 1996, Tillett et al. 2014).

Cliff y Dudley (1991) analizaron el contenido estomacal de 524 tiburones toro en Sudáfrica, encontraron una diferencia en la alimentación entre tiburones de distintas tallas. A medida que la talla aumentaba existía un cambio en la dieta de los tiburones, de peces teleósteos a elasmobranquios en términos de frecuencia de ocurrencia.

Estupiñán-Montaña et al. (2017) analizaron el contenido estomacal de tiburones toro adultos en Ecuador, y encontraron una diferencia entre sexos. Las hembras consumieron principalmente tortugas marinas (*Lepidochelys olivacea*) y especies de peces como *Umbrina roncadore*, *Mugil cephalus* y *Xiphias gladius*, mientras que los tiburones machos se alimentaron principalmente de peces de la familia Ophichthidae y de especies como *Tylosurus pacificus*, *Katsuwonus pelamis*, así como de tortugas marinas (Cheloniidae).

Por su parte, Matich et al. (2011) y Trystram et al. (2016) utilizaron el análisis de isótopos estables para comparar los niveles de especialización en la dieta de los tiburones toro. Los autores encontraron que los tiburones mostraron cierta especialización a nivel individual, aunque a nivel poblacional consumieron una mayor variedad de presas comportándose como generalistas.

Tanto Cortés (1999) como Estupiñán-Montaña et al. (2017) registraron un nivel trófico para el tiburón toro de 4.3 obtenido de un promedio ponderado proveniente de la revisión de literatura científica a nivel global y de un estudio realizado en Ecuador respectivamente. De acuerdo con la información recabada, los autores estimaron que el tiburón toro es un consumidor terciario y ocupa una posición alta en las cadenas trófica de las costas del sudeste Pacífico y del Pacífico ecuatoriano.

Por su parte, Daly et al. (2013) utilizaron el análisis de isótopos estables para comparar el nivel de depredación de tiburones toro adultos y sub-adultos en el Océano Índico, encontrando que los individuos adultos presentaron un nivel trófico mayor (4.6) al de los individuos sub-adultos (4.4), así como valores de ^{13}C más enriquecidos para individuos adultos. Además, los autores registraron una mayor amplitud de nicho isotópico en tiburones toro adultos (3.1) que en individuos subadultos (2.1), con un traslape del 60%, lo que indica que existen cambios de alimentación conforme el individuo crece.

Tillett et al. (2014) también encontraron que los tiburones toro adultos de la costa norte de Australia presentaron valores de $\delta^{15}\text{N}$ más altos que los tiburones toro juveniles, quienes se alimentan principalmente de peces teleósteos, crustáceos y otros elasmobranquios. Sin embargo, los autores reportaron que los valores de $\delta^{13}\text{C}$ fueron similares entre individuos adultos y juveniles, lo que indica que estos se alimentan en los mismos sitios.

Diversos estudios han señalado que los tiburones neonatos retienen la marca isotópica de la madre por cierto tiempo, conforme crecen van adquiriendo su propia marca isotópica (Matich et al. 2010, Olin et al. 2011, Belicka et al. 2012). Por ejemplo, Matich et al. (2010) y Belicka et al. (2012) encontraron que los tejidos con tasa de recambio lenta (i.e. músculo, sangre y tejido de la aleta dorsal) dejan de ser influenciados por la dieta de la madre cuando los tiburones toro alcanzan tallas de alrededor de los 100 cm LT. Por su parte, Olin et al. (2011) sugieren que los tejidos con tasa de recambio lenta (i.e. músculo e hígado) dejan de ser influenciados por la dieta de la madre cuando la cicatriz umbilical esta cerrada y es poco visible. Debido a lo anterior, Matich et al. (2015) sugieren el uso de plasma para estimar ecología trófica en tiburones menores a un año (70-90 cm LT) como una manera de minimizar la posibilidad de obtener valores isotópicos de la madre.

En Costa Rica, se han realizado pocos estudios sobre la ecología trófica de especies marinas (Espinoza y Wehrtmann 2008, Naranjo 2016). En específico para tiburones, se han realizado estudios en el Golfo de Nicoya con tiburón enano (*Mustelus dorsalis*) (Rojas 2006) y tiburón martillo (*Sphyrna lewini*) (Zanella et al. 2010) los cuales se han centrado en el análisis de contenido estomacal.

Justificación

El tiburón toro es considerado como una especie casi amenazada según la IUCN (Simpfendorfer y Burgess 2009). Al encontrarse tanto en ambientes de agua dulce como en ambientes de agua salada, los tiburones toro son altamente susceptibles a ser capturados por pesquerías recreativas y comerciales (Arauz et al. 2004). Esto se ha reportado principalmente en Nicaragua, Golfo de México y el Océano Atlántico (Vásquez y Thorson 1982, Cortés 2002, Chávez 2017). Aunque en Costa Rica el tiburón toro no forma parte de la pesca comercial, se han reportado capturas incidentales principalmente por prácticas de pesca inadecuadas (Arauz et al. 2004, Chávez 2017).

Diversos estudios han confirmado la presencia de filopatría en tiburones toro (Karl et al. 2011, Tillett et al. 2012, Laurrabaquio et al. 2019) por lo que una reducción poblacional de los tiburones toro se vería reflejada en las áreas de crianza. El identificar los sitios de alta importancia para la alimentación, desarrollo y supervivencia de los tiburones toro es esencial para generar medidas efectivas para la conservación de la especie (Tillett et al. 2012).

Dado que los juveniles de tiburón toro se pueden encontrar en zonas costeras con distintos niveles de impacto humano y categorías de protección, resulta indispensable evaluar la importancia de estos sitios en la conservación de la especie, así como conocer el papel que juegan en el equilibrio de dichos ecosistemas. A pesar de que es conocida la presencia de tiburones toro juveniles en sistemas estuarinos, aún existe muy poca información sobre su biología y ecología, lo que ha dificultado el desarrollo de estrategias adecuadas para su manejo y conservación. Analizar los hábitos alimentarios de los tiburones toro juveniles en los sistemas estuarinos puede ayudar a identificar el potencial impacto negativo que podría tener la pesca en los mismos, así como inferir sobre las consecuencias que podrían tener futuras reducciones de sus poblaciones dentro de estos sistemas de gran importancia ecológica.

En el presente trabajo se determinó la ecología trófica de tiburones toro juveniles en dos sistemas estuarinos con distintas categorías de protección, ubicados al sur de la península de Nicoya, en el Pacífico de Costa Rica, a partir del uso de técnicas de análisis de isótopos estables. Esta investigación representa el primer estudio formal sobre la ecología trófica del tiburón toro en hábitats estuarinos de Costa Rica, y contribuye sustancialmente al conocimiento que se tiene de la especie en las áreas de estudio.

OBJETIVOS

Objetivo general

Analizar los hábitos alimentarios del tiburón toro (*Carcharhinus leucas*) en los esteros Bongo y Coyote, Guanacaste, Costa Rica.

Objetivos específicos

- I. Realizar una caracterización isotópica de los esteros Bongo y Coyote, Guanacaste, Costa Rica.
- II. Determinar la amplitud del nicho isotópico de los tiburones toro juveniles en el estero Coyote, Costa Rica.
- III. Evaluar la contribución de las presas a la dieta de los tiburones toro juveniles en los esteros Bongo y Coyote, Costa Rica.
- IV. Determinar el nivel trófico de los tiburones toro juveniles en los esteros Bongo y Coyote, Costa Rica.

ÁREA DE ESTUDIO

La investigación se llevó a cabo en dos sistemas estuarinos con distintos niveles de protección, ubicados al suroeste de la península de Nicoya, provincia de Guanacaste, Costa Rica: estero Coyote y estero Bongo. La distancia entre la boca de ambos sistemas estuarinos es de 6 km en línea recta. Según la clasificación de zonas de vida de Holdridge (1967), la vegetación circundante de los sitios de estudio se clasifica como bosque húmedo premontano. Estas zonas poseen un clima estacional con una temporada seca de diciembre a mayo y una temporada lluviosa de junio a noviembre (Carrión-Cortez et al. 2013). En ambos esteros se ha registrado presencia de tiburones toro juveniles previamente.

Esteros Coyote

Esteros de gran importancia ecológica ubicado en la provincia de Guanacaste, Costa Rica (9°46'50" N, 85°16'02" W) (Zamora-Trejos y Cortés 2009) (Figura 1). Este sistema estuarino no cuenta con ninguna categoría de protección a pesar de que se encuentra ubicado entre dos refugios nacionales de vida silvestre, al norte del Refugio Nacional de Vida Silvestre Caletas-Arío y al sur del Refugio Nacional de Vida Silvestre Camaronal.

El estero Coyote tiene una longitud aproximada de tres kilómetros y una profundidad de entre dos a cuatro metros en la mayor parte del estero. Al ser un sistema altamente dinámico, su profundidad varía significativamente con las mareas. Durante la marea baja algunas zonas pueden secarse, mientras que en marea alta algunas pozas pueden llegar a los 10 m de profundidad (Chávez 2017). En las zonas costeras cercanas al estero Coyote, la actividad económica principal es la pesca artesanal. Dentro del estero se llevan a cabo actividades de pesca deportiva y de subsistencia, así como actividades relacionadas con el turismo (Carrión-Cortez et al. 2013).

La vegetación predominante al borde del estero se encuentra compuesta principalmente de manglar. Se pueden encontrar especies de mangle blanco (*Laguncularia racemosa*), mangle negro (*Avicennia germinans*), mangle botoncillo (*Conocarpus erectus*), mangle rojo (*Rhizophora mangle*) y el mangle piñuela (*Pelliciera rhizophorae*) (Chávez 2017). La fauna que se encuentra dentro del estero está conformada por distintas especies de aves, entre las que destacan la garza real (*Ardea alba*), garza tigre (*Trigostoma mexicanum*), garza azul (*Egretta caerulea*), pelícano pardo (*Pelecanus occidentalis*), martín pescador (*Megascops asio*); bivalvos, como las pianguas (*Anadara tuberculosa*) y ostras (*Saccostrea palmula*);

reptiles, entre los que se encuentran el cocodrilo (*Crocodylus acutus*), la iguana verde (*Iguana iguana*) y garrobo (*Ctenosaura similis*); así como mamíferos pequeños, crustáceos, elasmobranquios y una gran variedad de peces de interés comercial de las familias Centropomidae, Lutjanidae, Mugilidae, entre otras.

Estero Bongo

El estero Bongo funciona como límite entre las provincias de Guanacaste y Puntarenas (9°43'60" N, 85° 13' 60" W) (Zamora-Trejos y Cortés 2009). Este sitio forma parte del Refugio Nacional de Vida Silvestre Caletas-Arío, creado en el 2006 (Decreto 33232-MINAE 2006). Este refugio de vida silvestre cuenta con 201.59 km² de zona protegida, de los cuales 198.46 km² corresponden al área marina protegida. El estero Bongo tiene influencia de dos ríos, el río Bongo y el río Arío. Desde la unión de ambos ríos hasta su desembocadura hacia el mar existe una longitud de 2.15 km con profundidades variables dependiendo de la marea.

En las zonas aledañas al estero Bongo se llevan a cabo actividades agropecuarias, como la ganadería y la siembra de teca (*Tectona grandis*). En la desembocadura del estuario se permite la pesca de subsistencia y deportiva con cuerda de mano y caña, siempre que se cuente con una licencia de pesca y únicamente en horario de 7:00-17:00 h. Dentro del estero se prohíben las embarcaciones con motor y las artes de pesca consideradas como insostenibles como la pesca por arrastre, uso de trasmallo, atarrayas y el buceo con compresor (PRETOMA y ASOBEJUCO 2013, CONAC 2017).

La vegetación del sitio está compuesta por distintas especies de mangle, incluidos el mangle caballero (*Rhizophora racemosa*), mangle salado (*Avicennia bicolor*), mangle rojo, mangle piñuela, mangle blanco, mangle negro y mangle botoncillo (Zamora-Trejos y Cortés 2009). Al igual que en el estero Coyote, la fauna que se encuentra en este sitio está conformada por una gran variedad de especies de aves, entre las que destacan la garza real (*Casmerodius albis*) y la espátula rosada (*Platalea ajaja*) (Picón et al. s/f); reptiles; pequeños mamíferos; bivalvos; crustáceos; peces de importancia comercial como el pargo y el robalo, y elasmobranquios, entre los que se encuentra el tiburón toro.

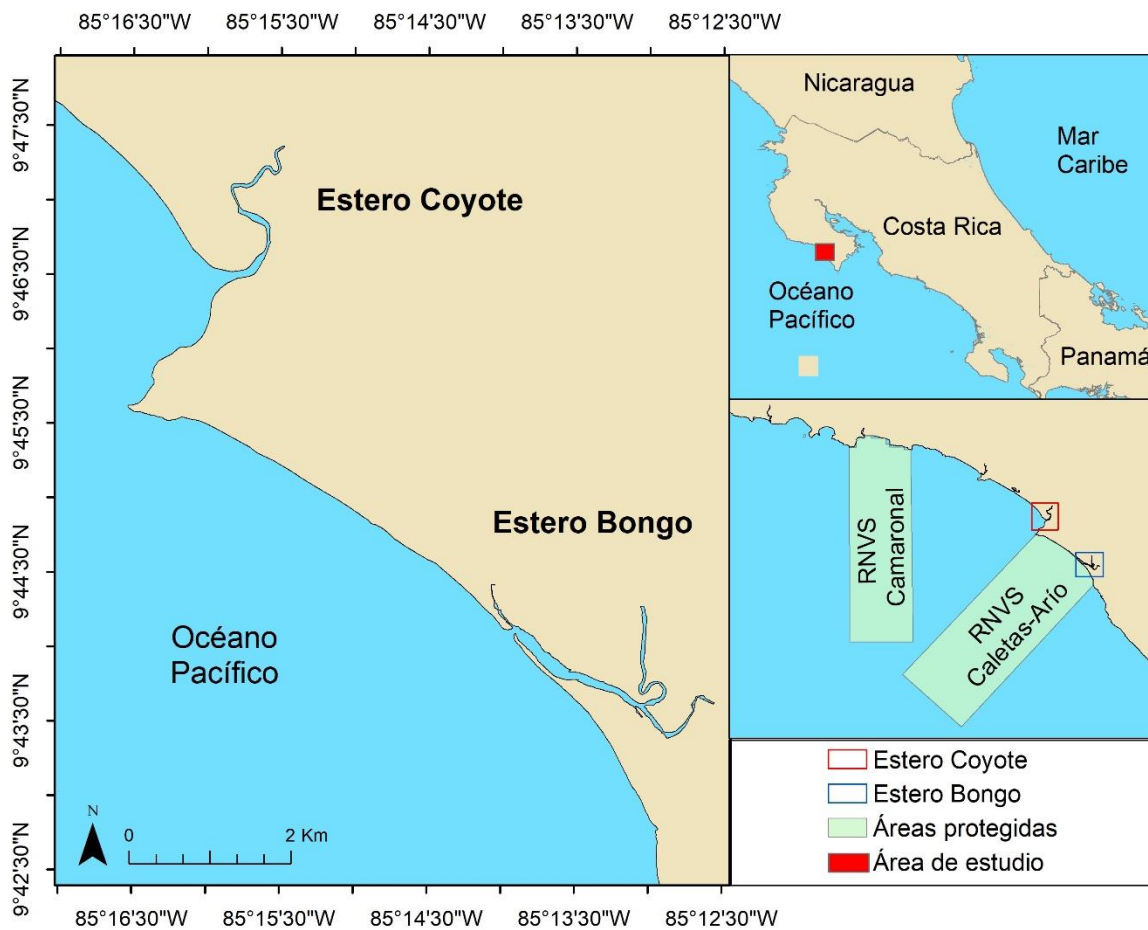


Figura 1. Ubicación de los esteros Coyote y Bongo, Guanacaste, Costa Rica.

METODOLOGÍA

Para determinar la dieta del tiburón toro y caracterizar isotópicamente los sitios de estudio se realizó un análisis de isótopos estables de nitrógeno y carbono de los tejidos del tiburón toro, sus presas potenciales y de las especies más representativas de los sitios de estudio. El isótopo de nitrógeno ($\delta^{15}\text{N}$) se analizó para definir la posición trófica del tiburón toro y analizar la composición de su dieta (Hussey et al. 2011, Daly y Smale 2013), mientras que el isótopo de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) fue analizado para determinar las fuentes de alimentación del tiburón toro (Créach et al. 1997, Daly et al. 2013).

El análisis de isótopos estables se realizó en músculo y sangre del tiburón toro ya que la tasa de incorporación de los isótopos varía según el tipo de tejido (Bearhop et al. 2004, Kim et al. 2012a). Dado que únicamente fueron muestreados individuos neonatos y juveniles dentro de los esteros, la marca isotópica del músculo de los tiburones juveniles podría reflejar la dieta de la madre (Olin et al. 2011).

Colecta de muestras

Los muestreos se llevaron a cabo durante la época lluviosa, de junio del 2019 a noviembre 2019. Todos los muestreos se realizaron bajo los permisos pertinentes otorgados por INCOPESCA (AJDIP/330-2019 y AJDIP/495-2019) y por el MINAE-SINAC (ACT-OR-DR-002-19).

Especies base de la cadena trófica

Las especies que se encuentran en la base de la cadena trófica como el plancton, el mangle y los organismos filtradores permiten caracterizar los sitios de estudio al ser indicadores de cambios en el ecosistema, y pueden reflejar diferencias entre distintas temporadas en un mismo sitio (Fortunato 2016). Las muestras de mangle reflejan la información isotópica de la base de la cadena trófica, mientras que las muestras de fitoplancton y de zooplancton establecen los valores isotópicos base de la red alimentaria (Post 2002).

Para la colecta de plancton se utilizaron una red de 30 micras para fitoplancton y una red de 500 micras para zooplancton. Las colectas se realizaron a lo largo de ambos esteros durante la marea alta. Los arrastres se realizaron en intervalos de dos minutos para la red de fitoplancton y en intervalos de 10 min para la red de zooplancton. Además, se tomaron

muestras de fitoplancton y zooplancton en el mar, a un kilómetro de la boca de los esteros. El zooplancton colectado no se separó por grupos taxonómicos.

Las hojas de mangle rojo y mangle blanco (especies más representativas dentro ambos esteros), así como los bivalvos filtradores se colectaron de forma manual. Las muestras se tomaron en tres zonas dentro de cada estero: zona más cercana al río, zona centro del estero y zona más cercana a la desembocadura hacia el mar, esto para tener mayor representación de los sitios de estudio. Se registró la fecha, hora, coordenadas y medidas de cada organismo muestreado.

Presas potenciales del tiburón toro

Para la captura de las presas potenciales se consideraron únicamente especies que han sido registradas en la literatura como presas del tiburón toro (Tuma 1976, Snelson et al. 1984, Cliff y Dudley 1991, Estupiñán-Montaña et al. 2017, Sánchez 2017). El muestreo de camarones y peces pequeños como lisas y sardinas se llevó a cabo utilizando una red tipo atarraya, la cual se lanzó en distintos puntos de los esteros. Para el muestreo de rayas y peces teleósteos de tamaño pequeño y mediano se utilizó una línea de fondo de 40 m de largo con 40 anzuelos tipo “J” número 11, los cuales se sujetaron a la línea madre mediante una cuerda de monofilamento. Los anzuelos se colocaron a una distancia de un metro entre ellos y se cebaron con sardina gallera (*Ophistonema* spp). La línea de fondo se colocó en distintas pozas dentro de los esteros y durante la marea vaciante y seca. Los cangrejos se colectaron de forma manual.

Todos los individuos capturados se midieron e identificaron hasta el nivel taxonómicamente más bajo posible mediante el uso de las guías de identificación disponibles (Fischer et al. 1995, Allen y Robertson 1998, Froese y Pauly 1999). Las rayas se sexaron mediante la identificación de sus estructuras sexuales (mixopterigios). Se tomó una muestra de músculo de todos los organismos utilizando un punzón para biopsia de 6 mm de diámetro. Se registró la fecha, hora, arte de pesca y sitio (coordenadas geográficas) de captura de cada individuo muestreado.

Muestreo de tiburones

La captura de tiburones, peces medianos y grandes se realizó mediante redes de pesca tipo trasmallo y con líneas de fondo tipo palangre. La red de pesca utilizada tenía una luz de malla de 4.5 pulgadas, 3 m de alto y 30 m de largo, y fue colocada a lo ancho de los esteros. Para evitar la mortalidad y minimizar el daño de los individuos capturados, el trasmallo fue

monitoreado constantemente y revisado cada 30 min o al detectar algún movimiento de las boyas.

Para la línea de fondo se utilizaron anzuelos circulares número 12/0, 13/0 y 14/0, los cuales se cebaron con sardina gallera, barrilete melvera (*Auxis rochei*) y caballa (*Scomber japonicus*). Los anzuelos se sujetaron a la línea madre por un cable de acero inoxidable de 30 cm (reinal) unido a una línea de monofilamento de 100 cm empotrada en una gasilla metálica. La cantidad de anzuelos utilizados en cada lance varió de 37 a 47 dependiendo de la amplitud del sitio de pesca seleccionado, con un promedio de 45 anzuelos por lance.

El palangre se colocó a lo ancho del cauce de los esteros Coyote y Bongo en sitios con una profundidad poco variable para evitar que los anzuelos quedaran en terreno seco durante la marea baja. Durante los eventos de pesca se revisó la línea cada 1 a 1.5 horas dependiendo de la carnada utilizada y de las condiciones ambientales, con un promedio de revisión de cada 1.44 horas, esto para minimizar la mortalidad y daño de los tiburones y otras especies capturadas (Curtis 2008, Heupel et al. 2010, Chávez 2017).

Al capturar un tiburón toro, este se subió a la embarcación y se colocó boca arriba en una tina con agua para inducir un estado de inmovilidad tónica y minimizar su estrés. La inmovilidad tónica permite disminuir el tiempo de manipulación del individuo al facilitar su muestreo y brinda una recuperación más rápida comparado con el uso de otros métodos de anestesia (Henningssen 1994). Se registró la longitud total (LT), longitud de horquilla (LH) y longitud precaudal (LP) de todos los tiburones muestreados. Los tiburones se sexaron mediante la identificación de estructuras sexuales en los machos (mixopterigios). Adicionalmente, se determinó el estado de madurez de los neonatos y juveniles con base en el estado de la cicatriz umbilical (cerrada o abierta). Para cada tiburón capturado se registró la fecha, hora, sitio de captura (coordenadas), sexo, estado de la cicatriz umbilical, medidas y arte de pesca utilizado.

Para evitar muestrear al mismo tiburón dos veces, se colocó una marca visual tipo spaghetti (SDD Hallprint, Australia) en la base de la aleta dorsal de los individuos capturados. Se obtuvo una muestra de tejido muscular de cada tiburón mediante el uso de un punzón para biopsia de 6 mm, similar al utilizado para la toma de muestra de músculo de mamíferos marinos (Kinney et al. 2011). La muestra de músculo se tomó justo por detrás de la primera aleta dorsal para evitar lastimar al individuo (Jaime-rivera y Hoyos-padilla 2013) y se almacenó en viales Eppendorf de 2 ml.

Las muestras de sangre de los tiburones toro fueron obtenidas por medio de una venopunción de la vena caudal. Para la toma de sangre se utilizó una aguja de 21G x 1 ¼"

con la cual se obtuvieron 4 ml de sangre. Se trató de que el procedimiento durara menos de 30 segundos para minimizar el estrés en el individuo.

La sangre colectada se almacenó en tubos de 6 ml con anticoagulante de heparina de litio. Se ha demostrado que este anticoagulante no altera los valores isotópicos de las muestras y asegura una mejor separación de los componentes de la sangre (Kim y Koch 2012). Posteriormente, la muestra de sangre se centrifugó con ayuda de una centrífuga (Unico C829 PoweSpin) a 3000 rpm durante un minuto para separar el plasma de las células rojas. Todas las muestras colectadas se mantuvieron en hielo durante el muestreo en campo, y posteriormente se almacenaron en un congelador a -20°C. Una vez en el laboratorio, las muestras se congelaron a una temperatura de -50°C para su posterior procesamiento (Matich y Heithaus 2014, Campbell 2015).

Registro de pesca y almacenamiento de muestras

Durante cada evento de pesca se registró el arte de pesca utilizada, la fecha, el sitio, las coordenadas geográficas, la hora de inicio y la hora final de la pesca. Para las líneas de pesca se anotó el número y tipo de anzuelos utilizados, así como la carnada utilizada durante la pesca. Además, se registraron todas las especies capturadas en cada arte de pesca.

Procesamiento de muestras

Fitoplancton

Las muestras de fitoplancton se filtraron utilizando filtros de microfibra de vidrio Whatman (0,7µm) previamente esterilizados (550°C por 30 minutos) y una bomba de vacío (KNF Neuberger, LABOPORT, 300mm Hg). Durante la filtración las muestras se enjuagaron con agua desionizada y se removieron los detritus del filtro. Una vez filtrado el fitoplancton, la muestra se calcinó a 60°C por 24h. Finalmente, las muestras se pesaron (0.4-0.6mg) y se encapsularon en cápsulas de estaño (Munroe et al. 2015).

Zooplancton

Las muestras de zooplancton se limpiaron manualmente para retirar residuos como pasto marino o macroalgas. El zooplancton se liofilizó a una temperatura de -48.6°C y una presión de 85 mTorr por 24 h (SP Scientific, Sentry 2.0). Las muestras liofilizadas se trituraron con

un mortero de Ágata, se pesaron en una balanza analítica y se almacenaron en cápsulas de estaño.

Músculo y sangre

La humedad de las muestras de músculo, plasma, células rojas y tejido vegetal fue extraída mediante un liofilizador (SP Scientific, Sentry 2.0) programado a una temperatura promedio de -50°C y una presión de 85 mTorr durante 48 h. Entre 0.4-0.6 mg de las muestras liofilizadas y trituradas fueron almacenadas en cápsulas de estaño de 8x5 mm para ser enviadas posteriormente al laboratorio para su análisis isotópico.

Extracción de urea. Para realizar el análisis de isótopos estables en tejido muscular de elasmobranquios se recomienda realizar una extracción de urea previo al análisis de las muestras (Carlisle et al. 2017), ya que los elasmobranquios mantienen altos niveles de urea y de óxido de trimetilamina (TMAO) en sus tejidos con el propósito de mantener el balance osmótico (Olson 1999, Hazon et al. 2003). La urea al ser un producto de desecho del metabolismo puede disminuir los niveles de ^{15}N , lo que resulta en un valor de $\delta^{15}\text{N}$ más bajo en los resultados y por lo tanto una estimación de la posición trófica más baja de lo esperado (Fisk et al. 2002). Para realizar la extracción de urea de las muestras de músculo de tiburón se siguió la metodología propuesta por Kim y Koch (2012).

Extracción de lípidos. Los tiburones no cuentan con vejiga natatoria, por lo que regulan su flotabilidad mediante la acumulación de lípidos principalmente en el hígado (Ballantyne 1997). Los lípidos en los tejidos están enriquecidos con ^{12}C , lo que puede afectar a los valores finales de $\delta^{13}\text{C}$ sesgándolos hacia lo negativo (Post et al. 2007, Hussey et al. 2012). Además, se ha reportado que la extracción de lípidos puede alterar los valores de $\delta^{15}\text{N}$ (Post et al. 2007).

Post (2002) establece que si la relación C:N de las muestras es menor a 3.5 no es necesario realizar una extracción de lípidos. Sin embargo, otros autores consideran necesaria la extracción lipídica a pesar de que dicha relación se encuentre por debajo de 3.5 (Kim y Koch 2012, Li et al. 2016, Carlisle et al. 2017). Por esta razón, cada muestra de músculo se separó en dos, a una parte se le extrajo solamente urea y se utilizó para el análisis de isótopo de $\delta^{15}\text{N}$, mientras que a la otra mitad se le extrajeron lípidos para obtener los valores de $\delta^{13}\text{C}$. Para la extracción de lípidos se siguió la metodología de Kim y Koch (2012).

Análisis de laboratorio

Una vez procesadas las muestras, se enviaron al laboratorio de isótopos estables en la Universidad de California, Santa Cruz, Estados Unidos en donde se determinó la abundancia de isótopos estables de carbono y nitrógeno. Para obtener los valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ se utilizó la ecuación propuesta por (Deniro y Epstein 1980) en la cual la composición isotópica se expresó como: $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ en partes por mil ‰:

$$\delta^h X = \left[\left(\frac{R_{\text{muestra}}}{R_{\text{estándar}}} \right) - 1 \right] * 1000$$

Donde:

X= es el elemento de interés (C ó N)

h = el número de masa más alto

R muestra= proporción entre los isótopos $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ o $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ de la muestra

R estándar= Valores estándar de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$, para $\delta^{15}\text{N}$ es el nitrógeno atmosférico y para $\delta^{13}\text{C}$ Pee Dee Belemnita (VPDB).

Análisis de datos

Caracterización isotópica de los sitios de estudio

Se obtuvo la firma isotópica de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de los individuos colectados en cada estero, los cuales representaron todos los niveles de la cadena trófica en cada sistema estuarino. Se efectuó un análisis estadístico descriptivo de los valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$. Para determinar si existieron diferencias entre los esteros Coyote y Bongo, se ajustaron modelos lineales, tomando como variable respuesta los isótopos $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ y como variables explicativas los sistemas estuarinos. Se probaron los supuestos de normalidad y homocedasticidad. La comparación entre esteros se realizó tomando en cuenta todas las especies encontradas en cada estero.

Así mismo, se ajustaron modelos lineales para determinar la diferencia entre los sistemas estuarinos y el mar, tomando como variable respuesta $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ y como variables explicativas los sistemas estuarinos y el mar. La comparación entre los esteros y el mar se realizó tomando en cuenta solamente el plancton y organismos filtradores. Estos organismos

permiten caracterizar la base de la cadena trófica de cada sitio, y sus valores isotópicos no se ven influenciados por la entrada o salida de otras especies a los esteros.

Se generó un mapa de interpolación de los isótopos de $\delta^{13}\text{C}$ y de $\delta^{15}\text{N}$ de los organismos filtradores en ambos esteros para conocer los cambios isotópicos a lo largo de los mismos. Para el mapa de interpolación se utilizó el método geoestadístico “kriging”, el cual se basa en modelos estadísticos que incluyen autocorrelación.

Adicionalmente, se calculó la abundancia relativa de las especies capturadas durante todo el periodo de estudio. La abundancia relativa se estimó por arte de pesca y se calculó dividiendo el número de individuos de una especie capturada en un arte de pesca entre el total de individuos de todas las especies capturadas en la misma arte de pesca multiplicado por 100. Los análisis estadísticos se realizaron en el programa R (R Core team 2020).

Caracterización isotópica de los tiburones toro

Se registraron los valores isotópicos $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de los tiburones toro muestreados en cada estero y se efectuó un análisis estadístico descriptivo de los datos. Se ajustaron modelos mixtos considerando los individuos como efecto aleatorio, se tomaron como variable respuesta $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ y como variables explicativas el tipo de tejido, estado de cicatriz umbilical y sexo de los tiburones toro juveniles, se escogió el mejor modelo con base en el criterio de información de Akaike (AIC). Los modelos se realizaron con el software R (R Core team 2020).

Amplitud del nicho isotópico de los tiburones toro juveniles

Se analizó la amplitud de nicho isotópico de los tiburones toro juveniles por tipo de tejido, estado de cicatriz umbilical y sexo. Para determinar la amplitud del nicho isotópico se empleó un modelo de elipses bayesianas SIBER (Stable Isotope Bayesian Ellipses in R) (Jackson et al. 2011). SIBER se basa en modelos bayesianos que determinan el nicho isotópico por medio del área de un polígono que utiliza medidas basadas en elipses. Las elipses son utilizadas para los casos bivariados, como la desviación estándar para el caso univariado. La elipse de una serie de datos bivariados se calcula mediante una matriz de covarianza que define la forma y el área, mientras la media de los datos determina su ubicación (Jackson et al. 2011).

Las elipses generadas con el método de SIBER no se ven influenciadas por el tamaño de la muestra por lo que su estimación a través de la inferencia bayesiana permite hacer una comparación entre conjuntos de datos que comprenden diferentes tamaños de muestra

(Jackson et al. 2011). Con este modelo también se obtiene el área de la elipse corregida (SEAc) mediante secuencias replicadas aleatoriamente, esta elipse no subestima el área en caso de muestras pequeñas, considerando que valores entre 0.66-1 indican un traslape alto, valores entre 0.30-0.65 una superposición media y valores por debajo de 0.29 una superposición baja (Jackson et al. 2011).

Para conocer la amplitud de nicho se consideraron los criterios de Bearhop et al. (2004) y Newsome et al. (2007), los cuales mencionan que la amplitud de nicho puede ser calculada por la varianza de los valores de $\delta^{15}\text{N}$, siendo los valores inferiores a 1 correspondientes a poblaciones de hábitos especialistas, mientras que valores superiores a 1 caracterizan hábitos generalistas (Jaeger et al. 2009).

Contribución de las presas a la dieta de los tiburones toro juveniles

Para determinar el grado de contribución de las presas consumidas a la dieta del tiburón toro, se utilizó un modelo de mezcla (SIMMR v0.4.1) (Parnell 2019). Este es un modelo de tipo bayesiano que unifica los parámetros de modelos de mezcla existentes, relacionando los valores medios y desviación estándar de las señales isotópicas de las presas y del depredador, así como el fraccionamiento isotópico presente entre ambos. El modelo utiliza los valores isotópicos $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de las muestras para calcular el porcentaje de contribución que tiene una presa en la dieta del depredador (Stock y Semmens 2016).

Para cada tejido muestreado, se analizó la contribución de las presas a la dieta de los tiburones y se realizó una comparación por sexo y estado de cicatriz umbilical. Para el modelo de mezcla se utilizaron los factores de discriminación trófica para plasma y células rojas propuestos por Kim et al. (2012), mientras que para el tejido muscular se utilizó el factor de discriminación trófica propuesto por Hussey et al. (2010). Se realizó una agrupación de las presas potenciales de los tiburones toro juveniles dentro de los esteros Coyote y Bongo de acuerdo con sus similitudes en los valores isotópicos de ^{15}N y $\delta^{13}\text{C}$ entre las especies, su clasificación taxonómica y sus hábitos alimentarios. Únicamente se consideraron las especies que se han registrado en la literatura como presas del tiburón toro (Tuma 1976, Snelson et al. 1984, Cliff y Dudley 1991, Estupiñán-Montaña et al. 2017, Sánchez 2017).

Posición trófica del tiburón toro en los esteros Bongo y Coyote, Costa Rica.

Para calcular la posición trófica de los tiburones toro se utilizó el paquete “tRophicPosition” (Quezada-Romegialli et al. 2018). Este paquete incorpora un modelo bayesiano para calcular la posición trófica del consumidor utilizando isótopos estables con una o dos líneas base. Para este estudio se utilizaron dos líneas base para el cálculo de la posición trófica: el zooplancton, considerado como el mejor indicador de $\delta^{15}\text{N}$ base y $\delta^{13}\text{C}$ base (Post 2002) y la olomina (*Poeciliopsis turrubarensis*), ambos con un nivel trófico de 2 (Wischnath 1993, Post et al. 2000, Froese y Pauly 2019). Para este análisis se utilizaron los factores de discriminación trófica reportados por Kim et al. (2012a) para plasma y glóbulos rojos y de Hussey et al. (2010) para músculo. Los análisis fueron realizados en el software R (R Core team 2020).

RESULTADOS

Caracterización isotópica de los sitios de estudio

Estero Coyote

En el estero Coyote se muestrearon 33 especies y 329 individuos, de los cuales 24 fueron tiburones toro (Cuadro 1). La especie más capturada en estero Coyote tanto en el trasmallo como en el palangre fue el cuminate (*Arius* sp.), con una abundancia relativa de 33.5% y 58.2% respectivamente. La especie más abundante en la captura con atarraya fue el pejerrey (*Atherinella argentea*) con una abundancia relativa de 30.8% (Figura 2).

Los valores isotópicos de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de las especies muestreadas en estero Coyote se presentan en el Anexo A. El promedio y la desviación estándar ($\pm$) de todos los individuos muestreados en el estero fue de -20.70 ± 3.60 ‰ de $\delta^{13}\text{C}$ y 11.13 ± 3.49 ‰ de $\delta^{15}\text{N}$. En cuanto a los valores isotópicos de plancton y organismos filtradores, estero Coyote presentó un promedio y desviación estándar ($\pm$) de -21.37 ± 1.71 ‰ de $\delta^{13}\text{C}$ y 8.52 ± 0.86 ‰ de $\delta^{15}\text{N}$ (Figuras 3 y 4).

Cuadro 1. Cantidad de especies muestreadas en los esteros Coyote y Bongo.

Grupo taxonómico	Estero Coyote		Estero Bongo	
	Cantidad de especies	Individuos muestreados	Cantidad de especies	Individuos muestreados
Mangle	2	16	2	19
Peces cartilaginosos	2	40	2	15
Bivalvos	3	53	1	14
Crustáceos	4	46	5	45
Peces teleósteos	20	166	20	156
Gasterópodos	0	0	1	5
Plancton	2	8	2	5

Estero Bongo

En el estero Bongo se muestrearon 33 especies y 259 individuos, de los cuales 3 fueron tiburones toro (Cuadro 1). Al igual que en estero Coyote, la especie más abundante capturada en el palangre fue el cuminate, con una abundancia relativa de 86%. Las especies más abundantes capturadas en el trasmallo fueron el cuminate y el palmito (*Eucinostomus* spp.), ambos con una abundancia relativa del 18.8%. La especie más abundante capturada en la atarraya fue el pejerrey con una abundancia relativa de 19.5% (Figura 2).

Los valores isotópicos de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de las especies muestreadas en estero Bongo se presentan en el Anexo B. El promedio y la desviación estándar ($\pm$) de todos los individuos muestreados en el estero fue de -21.58 ± 3.85 ‰ de $\delta^{13}\text{C}$ y 10.22 ± 3.21 ‰ de $\delta^{15}\text{N}$. En cuanto al plancton y organismos filtradores, estero Bongo presentó un promedio de -20.74 ± 0.88 ‰ de $\delta^{13}\text{C}$ y 8.05 ± 1.09 ‰ de $\delta^{15}\text{N}$ (Figuras 3 Y 4). Los valores promedio y desviación estándar ($\pm$) de las muestras de plancton tomadas en el mar fueron de -18.89 ± 0.36 ‰ de $\delta^{13}\text{C}$ y 9.83 ± 1.20 ‰ de $\delta^{15}\text{N}$.

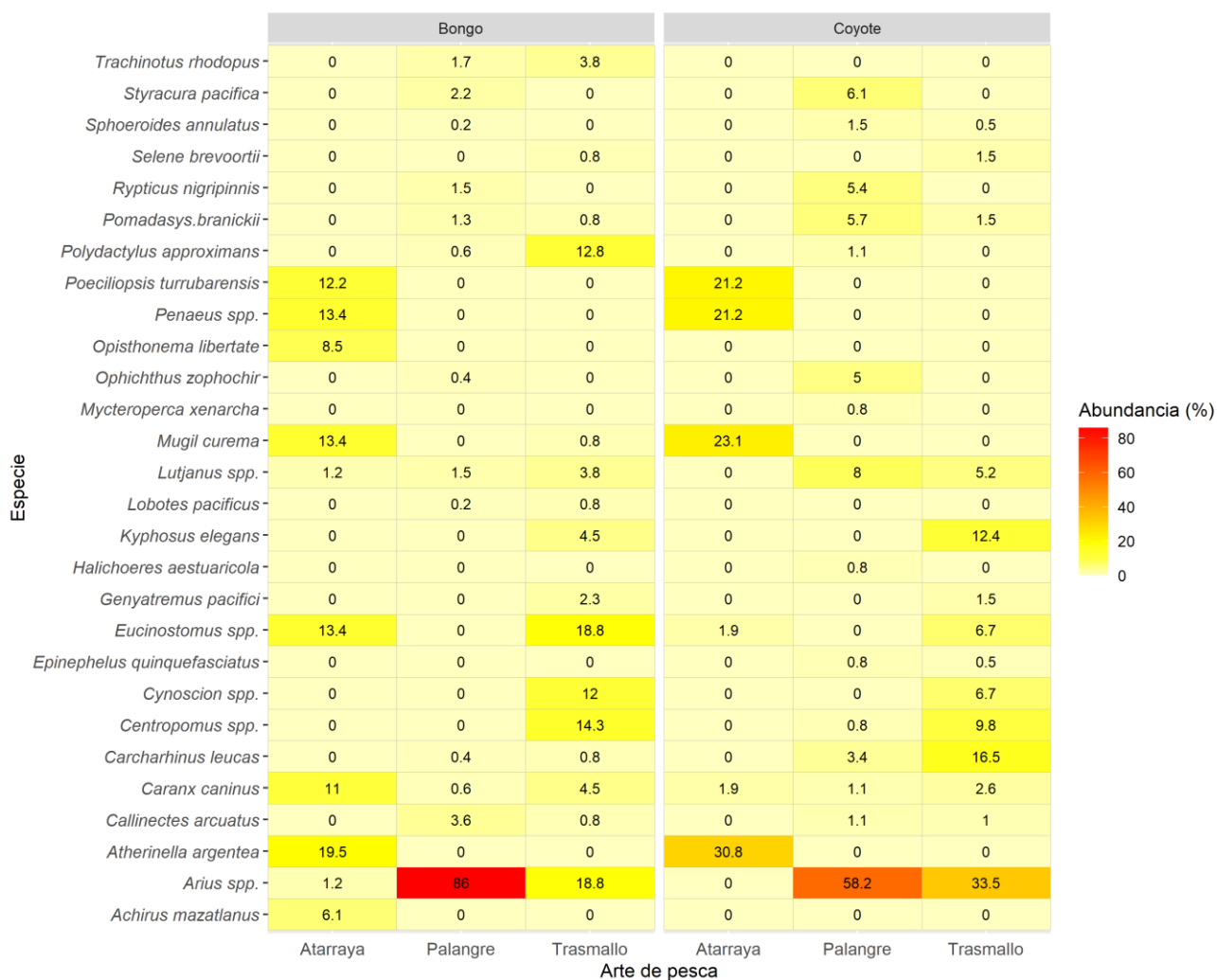


Figura 2. Abundancia relativa de las especies capturadas por arte de pesca en estero Bongo y estero Coyote, Guanacaste, Costa Rica. Junio-noviembre 2019.

Comparación entre los esteros Coyote y Bongo

La composición de especies fue diferente en ambos esteros. En el estero Coyote se observaron especies que no fueron capturadas en estero Bongo: almeja miona (*Polymesoda inflata*), botete diana (*Sphoeroides annulatus*), mero (*Epinephelus quinquefasciatus*), piangua (*Anadara* spp.) y señorita de manglar (*Halichoeres aestuaricola*). Mientras que en el estero Bongo se observaron especies que no se capturaron en estero Coyote durante el muestreo, como el berrugate (*Lobotes pacificus*), camarón de río (*Macrobrachium tenellum*), caracol (*Cerithidea montagnei*), lenguado (*Achirus mazatlanus*), pámpano (*Trachinotus rhodopus*), sardina gallera (*Opisthonema libertate*).

Tomando en cuenta los valores isotópicos de todas las especies muestreadas en los sistemas estuarinos, el estero Coyote presentó valores de $\delta^{13}\text{C}$ más elevados por 0.88 ‰, (IC 95% 0.15, 1.62, t: 2.37, p <0.05) y valores de $\delta^{15}\text{N}$ más elevados por 0.90 ‰ (IC 95% 0.24, 1.56, t: 2.69, p <0.01) que estero Bongo (Figura 5). Sin embargo, al analizar únicamente el plancton y los organismos filtradores para caracterizar los sistemas estuarinos, no se encontraron diferencias significativas entre los valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ (-0.63‰, IC95%: -1.49, 0.22, p:0.14), ni de $\delta^{15}\text{N}$ (0.40‰, IC95%: -0.27, 1.22, p: 0.2) de ambos esteros.

Por su parte, si se encontraron diferencias significativas entre los esteros y el mar. El estero Coyote presentó valores de $\delta^{13}\text{C}$ más bajos que el mar por 2.48 ‰ (IC 95%: -3.37, -1.58, t: -5.59, p: <0.01) y valores de $\delta^{15}\text{N}$ más bajos que el mar por 1.30 ‰ (IC 95%: -2.12, -0.48, t: -3.19, p: <0.05). Estero Bongo presentó valores de $\delta^{13}\text{C}$ más bajos que el mar por 1.84 ‰ (IC 95%: -2.34, -1.34, t: -7.51, p: <0.01), así como valores de $\delta^{15}\text{N}$ más bajos que el mar por 1.78 ‰, (IC 95%: -2.60, -0.95, t: -4.35, p: <0.01) (Figura 6).

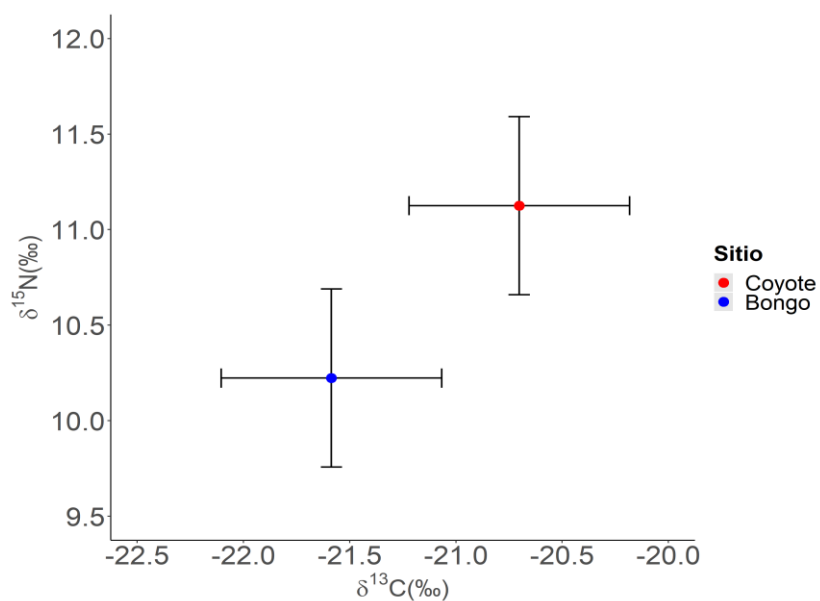


Figura 5. Valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de los esteros Coyote y Bongo, tomando en cuenta las mismas especies muestreadas para cada estero. El punto representa el valor isotópico medio. Las líneas representan el intervalo de confianza. Junio-noviembre 2019.

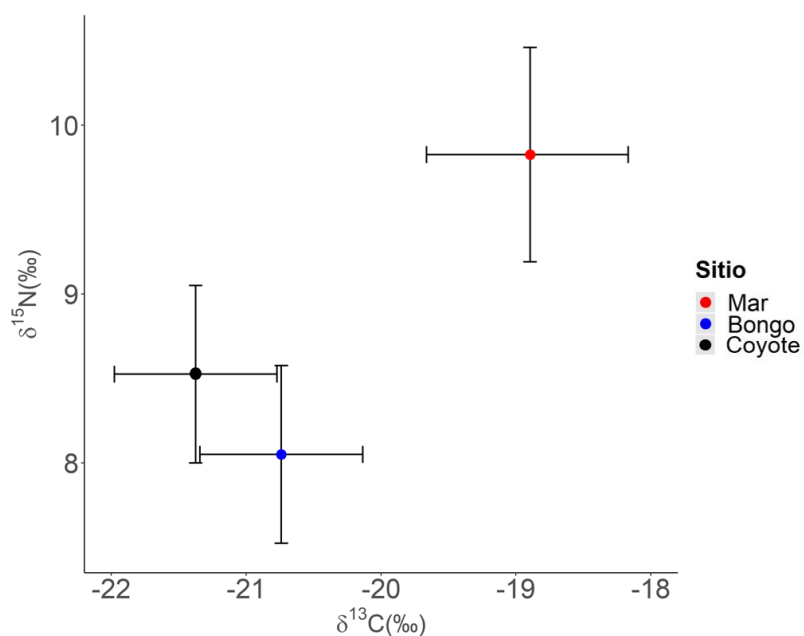


Figura 6. Valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de los esteros Coyote, Bongo y el mar, tomando en cuenta el plancton y organismos filtradores. El punto representa el valor isotópico medio. Las líneas corresponden al intervalo de confianza. Junio-noviembre 2019.

Caracterización isotópica de los tiburones toro juveniles

Estero Coyote

En estero Coyote se muestrearon 24 tiburones toro (14 hembras, 10 machos) de entre 81 a 103 cm LT, de los cuales se obtuvieron 24 muestras de músculo, 19 muestras de células rojas, y 19 muestras de plasma. De los tiburones toro muestreados 19 contaban con cicatriz umbilical abierta (< 98 cm LT) y 5 con cicatriz umbilical cerrada ($\geq$ 98 cm LT) (Cuadro 2).

De acuerdo al mejor modelo seleccionado (Cuadro 3) se registró una diferencia isotópica entre los tejidos de músculo y plasma. En comparación con el plasma, el músculo presentó valores de $\delta^{13}\text{C}$ más bajos (-0.54 ‰, IC 95%: -0.04, -0.93, t: 2.18, p: 0.03) y valores de $\delta^{15}\text{N}$ más altos (0.77 ‰, IC 95%: 0.35, 1.19, t: 3.66, p: <0.05).

No se observaron diferencias en los valores de $\delta^{13}\text{C}$ entre el músculo y las células rojas (0.27‰, IC95%: -0.20, 0.73, t:1.16, 18, p: 0.25). Sin embargo, el músculo presentó valores más elevados de $\delta^{15}\text{N}$ por 1.05 ‰ (IC 95%: 0.63, 1.47, t: 4.97, p: <0.05) que las células rojas. No se observaron diferencias significativas de $\delta^{13}\text{C}$ (-0.22‰, IC 95%: -0.71, 0.28, t: -0.88, p:0.38) ni de $\delta^{15}\text{N}$ (0.28‰, IC 95%: -0.17, 0.72, t:1.24, p:0.22) entre los tejidos de plasma y células rojas (Figura 7). Al existir una diferencia significativa entre el tejido muscular y el plasma, se consideró que el músculo de los tiburones toro juveniles muestreados representa los valores isotópicos de la madre, por lo que se consideraron únicamente los análisis realizados en plasma como representativos de la dieta de los tiburones toro juveniles.

En el plasma de los tiburones toro juveniles de estero Coyote no hubo diferencia en los valores de $\delta^{13}\text{C}$ (0.61‰, IC 95%: -0.14, 1.35, t: 2.40, p: 0.18) ni de $\delta^{15}\text{N}$ (0.41‰, IC 95%: -0.25, 1.08, t: 1.80, p: 0.47) entre sexos (Figura 8). Sin embargo, si se reportó una diferencia entre tiburones con cicatriz umbilical abierta y cicatriz umbilical cerrada. Los individuos con cicatriz umbilical abierta presentaron valores de $\delta^{13}\text{C}$ y de $\delta^{15}\text{N}$ más altos que los individuos con cicatriz umbilical cerrada (Figura 8), con una diferencia entre ellos de 1.04 ‰ $\delta^{13}\text{C}$ (IC 95%: 0.17, 1.89, t: 3.57, p: 0.01) y 2.00 ‰ $\delta^{15}\text{N}$ (IC 95%: 1.49, 2.51, t: 11.62, p: <0.001).

Cuadro 2. Valores isotópicos de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de los tiburones toro juveniles en estero Coyote, correspondientes a los distintos tejidos analizados para las diferentes categorías. Los valores están representados en medias ($\pm$ desviación estándar). Junio-noviembre 2019.

Tejido		Categoría	$\delta^{15}\text{N}\text{‰}$	$\delta^{13}\text{C}\text{‰}$
Músculo	Promedio		16.94 (± 0.25)	-15.05 (± 0.47)
	Sexo	Hembras	16.99 (± 0.21)	-14.94 (± 0.47)
		Machos	16.88 (± 0.29)	-15.20 (± 0.44)
	Cicatriz umbilical	Cerrada (≥ 98 cm LT)	16.98 (± 0.46)	-15.53 (± 0.60)
		Abierta (< 98 cm LT)	16.93 (± 0.20)	-14.95 (± 0.38)
Células rojas	Promedio		15.94 (± 0.66)	-14.73 (± 0.91)
	Sexo	Hembras	16.01 (± 0.47)	-14.54 (± 0.61)
		Machos	15.71 (± 0.78)	-15.11 (± 1.10)
	Cicatriz umbilical	Cerrada (≥ 98 cm LT)	15.05 (± 0.57)	-15.92 (± 0.90)
		Abierta (< 98 cm LT)	16.18 (± 0.32)	-14.40 (± 0.47)
Plasma	Promedio		16.17 (± 1.03)	-14.56 (± 0.88)
	Sexo	Hembras	16.32 (± 0.91)	-14.30 (± 0.67)
		Machos	15.99 (± 1.17)	-14.86 (± 1.02)
	Cicatriz umbilical	Cerrada (≥ 98 cm LT)	14.64 (± 0.61)	-15.34 (± 0.77)
		Abierta (< 98 cm LT)	16.71 (± 0.32)	-14.29 (± 0.76)

Cuadro 3. Valores de desempeño de los modelos mixtos, de acuerdo a los valores de AIC. Se muestran los cinco mejores modelos para cada variable respuesta.

Variable respuesta	ID	Modelo	AIC	Porcentaje de desempeño
$\delta^{13}\text{C}$	Mod_17	$\delta^{13}\text{C} \sim \text{tejido} * \text{cicatriz} + \text{sexo} + \text{tejido}$	93.85	93.76%
	Mod_14	$\delta^{13}\text{C} \sim \text{tejido} * \text{cicatriz} + \text{sexo}$	93.85	93.76%
	Mod_10	$\delta^{13}\text{C} \sim \text{cicatriz} * \text{tejido} + \text{sexo} + \text{tejido}$	93.85	93.76%
	Mod_02	$\delta^{13}\text{C} \sim \text{cicatriz} + \text{sexo} + \text{tejido}$	93.85	93.76%
	Mod_5	$\delta^{13}\text{C} \sim \text{largo.total} + \text{cicatriz} + \text{sexo}$	99.24	79.00%
$\delta^{15}\text{N}$	Modn_17	$\delta^{15}\text{N} \sim \text{tejido} * \text{cicatriz} + \text{sexo} + \text{tejido}$	33.96	99.70%
	Modn_14	$\delta^{15}\text{N} \sim \text{tejido} * \text{cicatriz} + \text{sexo}$	33.96	99.70%
	Modn_12	$\delta^{15}\text{N} \sim \text{cicatriz} * \text{tejido} + \text{sexo}$	33.96	99.70%
	Modn_10	$\delta^{15}\text{N} \sim \text{cicatriz} * \text{tejido} + \text{sexo} + \text{tejido}$	33.96	99.70%
	Modn_16	$\delta^{15}\text{N} \sim \text{tejido} * \text{cicatriz}$	39.33	84.43%

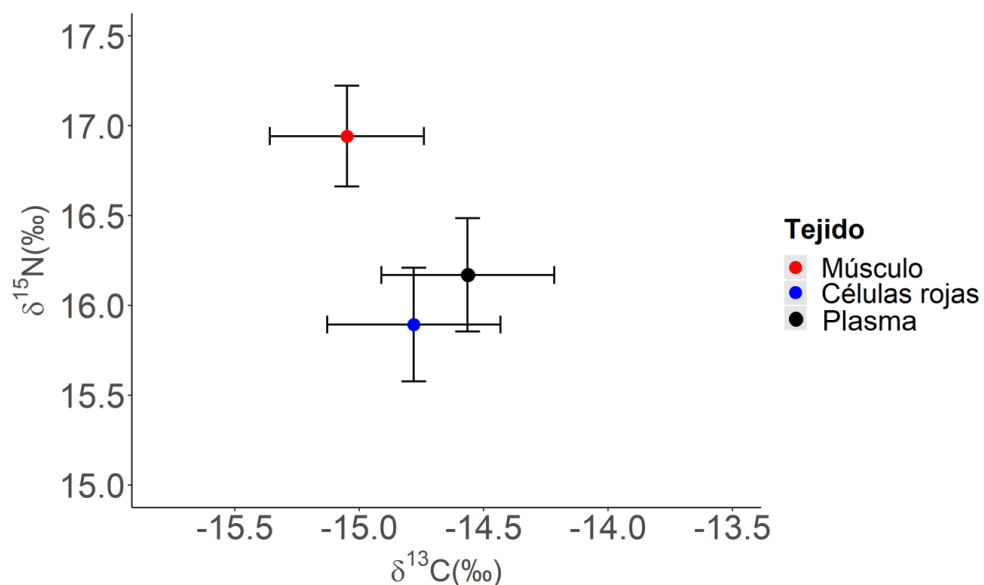


Figura 7. Valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de los distintos tejidos de tiburones toro en estero Coyote. El punto representa el valor isotópico medio. Las líneas corresponden al intervalo de confianza. Junio-noviembre 2019.

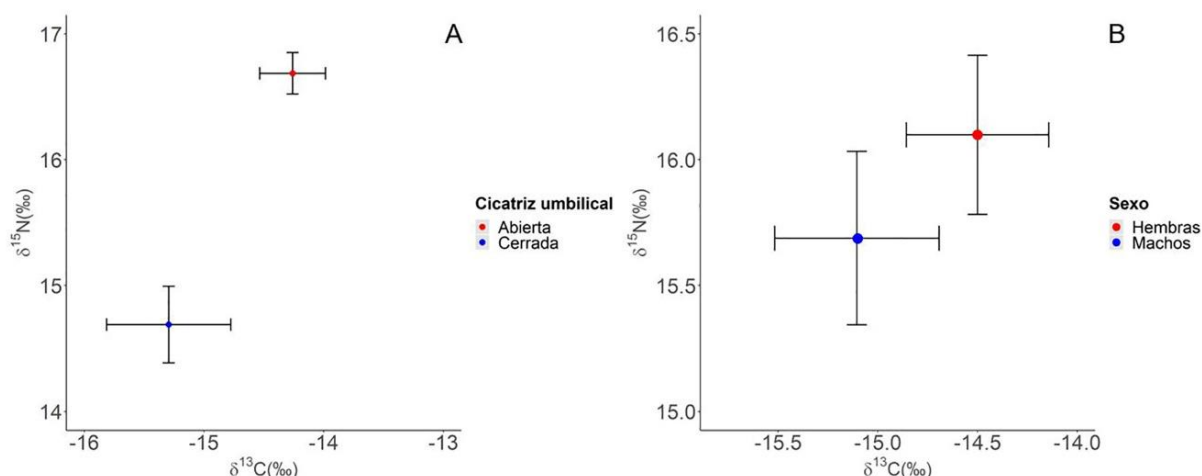


Figura 8. Valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de los tiburones toro juveniles de estero Coyote: A) por estado de cicatriz umbilical, B) por sexo. El punto representa el valor isotópico medio. Las líneas corresponden al intervalo de confianza. Junio-noviembre 2019.

Estero Bongo

En el estero Bongo se muestrearon únicamente 3 tiburones toro juveniles (dos hembras, un macho) de entre 85 a 93 cm LT, de los cuales se obtuvieron tres muestras de músculo, dos de células rojas y dos de plasma. Todos los tiburones toro muestreados contaron con cicatriz umbilical abierta (< 98 cm LT). Los valores isotópicos de los tiburones toro muestreados en estero Bongo fueron de 17.31 ± 0.32 ‰ $\delta^{15}\text{N}$, -14.76 ± 0.12 ‰ $\delta^{13}\text{C}$ para músculo, de 16.07 ± 0.34 ‰ $\delta^{15}\text{N}$, -13.99 ± 1.20 ‰ $\delta^{13}\text{C}$ para plasma y de 15.83 ± 0.54 ‰ $\delta^{15}\text{N}$, -14.00 ± 0.89 ‰ $\delta^{13}\text{C}$ para células rojas (Cuadro 4). Para los tiburones del estero Bongo no se pudo hacer una comparación entre sexos ni entre distintos estados de cicatriz umbilical debido al bajo número de muestras.

No se observaron diferencias en los valores de $\delta^{13}\text{C}$ entre los tejidos de músculo y plasma (0.77 ‰, IC 95%: -1.24, 2.78, t: 1.06, p: 0.35), entre los tejidos de músculo y células rojas (0.76 ‰, IC 95%: -1.25, 2.77, t: 1.05, p: 0.36), ni entre los tejidos de células rojas y plasma (0.01 ‰, IC 95%: -2.19, 2.22, t: 0.02, p: 0.98). Sin embargo, si se observaron diferencias en los valores de $\delta^{15}\text{N}$ entre los tejidos de plasma y músculo, y entre los tejidos de músculo y células rojas.

El músculo presentó valores de $\delta^{15}\text{N}$ más altos que el plasma con una diferencia de 1.24 ‰ de $\delta^{15}\text{N}$ (IC 95%: 0.25, 2.23, t: 3.46, p: <0.05) y más altos que las células rojas por 1.48 ‰

(IC 95%: 0.49, 2.47, t: 4.14, p: <0.05). Al comparar los valores de $\delta^{15}\text{N}$ del tejido plasma y células rojas no se observó ninguna diferencia (0.24‰, IC 95%: -0.84, 1.33, t: 0.62, p: 0.57) (Figura 9).

Cuadro 4. Valores isotópicos de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de los tiburones toro juveniles en estero Bongo, en tejido sanguíneo y músculo. Los valores están representados en medias ($\pm$ desviación estándar). Junio-noviembre 2019.

Tejido	Sexo	$\delta^{15}\text{N}$ ‰	$\delta^{13}\text{C}$ ‰
Músculo	Promedio	17.31 (± 0.32)	-14.76 (± 0.12)
	Hembras	17.36 (± 0.43)	-14.82 (± 0.50)
	Machos	17.21 (± 0.00)	-14.64 (± 0.00)
	Promedio	15.83 (± 0.54)	-14.00 (± 0.89)
Células rojas	Hembras	15.45 (± 0.00)	-14.63 (± 0.00)
	Machos	16.21 (± 0.00)	-13.37 (± 0.00)
	Promedio	16.07 (± 0.34)	-13.99 (± 1.20)
	Hembras	15.83 (± 0.00)	-14.84 (± 0.00)
Plasma	Machos	16.32 (± 0.00)	-13.14 (± 0.00)

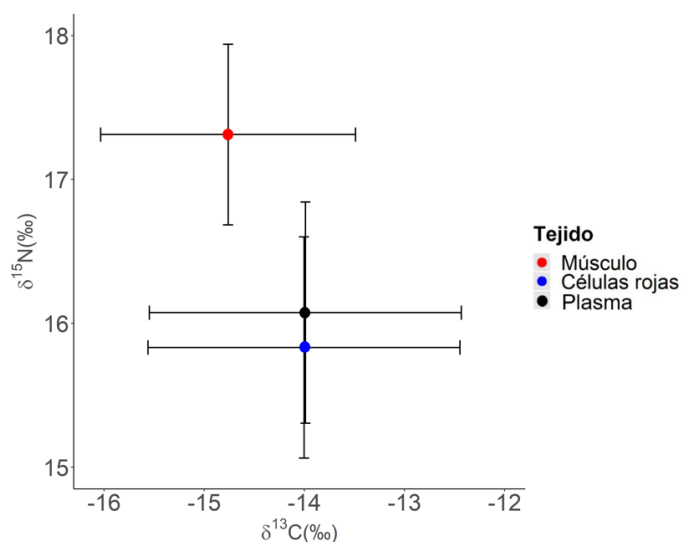


Figura 9. Valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ y de $\delta^{15}\text{N}$ de los distintos tejidos de tiburones toro en el estero Bongo. El punto representa el valor isotópico medio, las líneas corresponden al intervalo de confianza. Junio-noviembre 2019.

Nicho y traslapo isotópico

Estero Coyote

El tamaño de nicho isotópico registrado en el plasma de los tiburones toro juveniles del estero Coyote fue más amplio que en el resto de los tejidos analizados, con un área total (TA) de 4.45‰^2 , un área de la elipse (SEA) de 1.82‰^2 y un área de la elipse corregida (SEAc) de 1.93‰^2 . Mientras que las células rojas (TA: 1.28‰^2 , SEAc: 0.43‰^2 , SEA: 0.41‰^2) y el músculo (TA: 1.41‰^2 , SEAc: 0.34‰^2 , SEA: 0.33‰^2) presentaron un tamaño de nicho isotópico similar. De acuerdo con las áreas de las elipses generadas, el plasma y el músculo tuvieron un traslape bajo (0.12), mientras que el músculo y las células rojas no presentaron traslape (0.03), y el plasma y las células rojas presentaron un traslape moderado (0.32). El músculo presentó una amplitud de nicho con una variación horizontal (zonas de alimentación), mientras que el plasma y las células rojas presentaron una amplitud de nicho con variación horizontal y vertical (nivel trófico) (Figura 10).

Al analizar el plasma de los tiburones toro del estero Coyote, los machos presentaron una amplitud de nicho isotópico mayor (TA: 3.25‰^2 , SEA: 2.11‰^2 , SEAc: 2.41‰^2) que el de las hembras (TA: 2.46‰^2 , SEA: 1.45‰^2 , SEAc: 1.63‰^2), con un traslape alto entre ambos sexos (0.61) (Figura 11). En el plasma se registró una amplitud de nicho mayor en individuos con cicatriz umbilical cerrada (TA: 0.67‰^2 , SEA: 0.66‰^2 , SEAc: 0.88‰^2) que en individuos con cicatriz umbilical abierta (TA: 1.45‰^2 , SEA: 0.55‰^2 , SEAc: 0.60‰^2) con un traslape bajo entre ellos (0.04) (Figura 11).

Al analizar el plasma, los tiburones toro juveniles del estero Coyote presentaron hábitos generalistas ($\sigma^2 \delta^{15}\text{N} = 1.06$). Sin embargo, al analizar por separado a los tiburones toro con cicatriz umbilical cerrada y a los tiburones con cicatriz umbilical abierta, estos presentaron hábitos especialistas ($\sigma^2 \delta^{15}\text{N} = 0.38$ y 0.20 respectivamente).

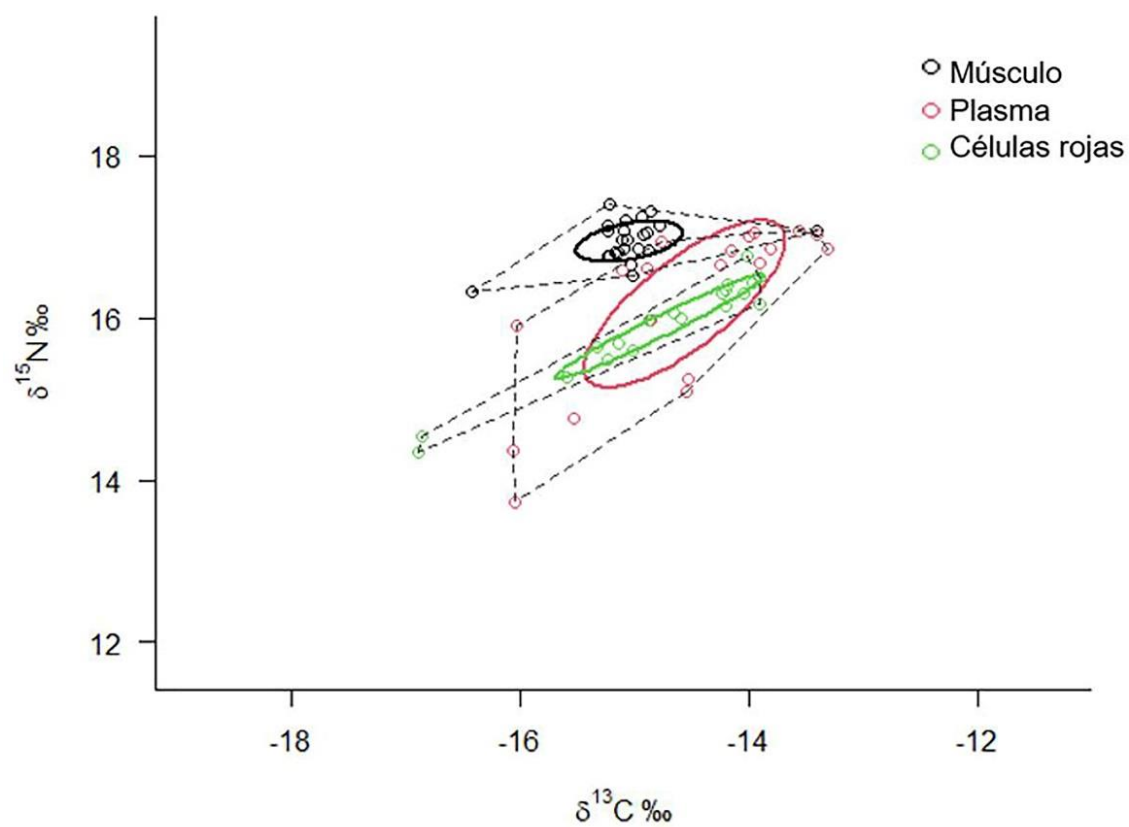


Figura 10. Nicho isotópico y traslape trófico de los tejidos de los tiburones toro en el estero Coyote. Junio-noviembre 2019.

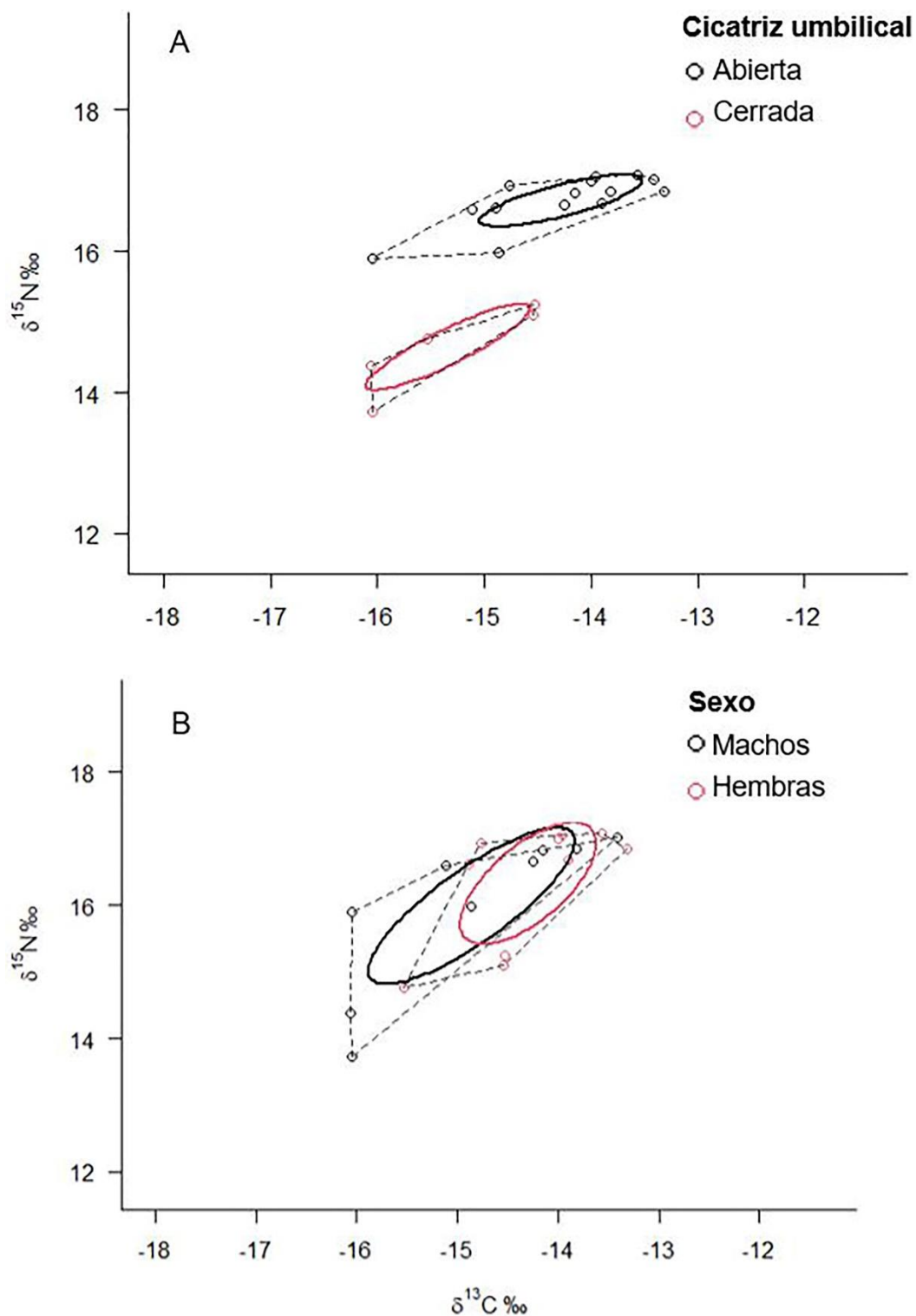


Figura 11. Nicho isotópico y traslape trófico observado en plasma de tiburones toro juveniles del estero Coyote: A) por estado de cicatriz umbilical, B) por sexo. Junio-noviembre 2019.

Estero Bongo

Debido al bajo número de tiburones toro muestreados en estero Bongo no se pudo evaluar la amplitud del nicho isotópico de esos tiburones. El modelo de elipses bayesianas (SIBER) requiere de un mínimo absoluto de tres individuos para calcular las métricas y las elipses, y de un mínimo de 5 individuos para calcular las dos medias y la matriz de covarianza de 2x2 y no quedarse sin grados de libertad (Jackson et al. 2011).

Para los tiburones del estero Bongo se consideraron como depredadores con hábitos especialistas de acuerdo con la varianza de los datos isotópicos de nitrógeno del plasma ($\sigma^2 \delta^{15}\text{N} = 0.12$). Sin embargo, estos resultados deben ser tomados con cautela debido al bajo número de muestras.

Contribución de las presas a la dieta de los tiburones toro juveniles

Estero Coyote

Las presas potenciales de los tiburones toro del estero Coyote se clasificaron en nueve grupos: Peces carcinófagos, peces carcinófagos II, crustáceos, *Callinectes* sp., *Arius* sp., *Mugil* sp., *Ophichthus* sp., *Rypticus* sp. y *Styracura* sp. (Cuadro 5). A pesar de la variabilidad presente en los hábitos alimentarios de *Epinephelus quinquefasciatus* y *Eucinostomus* spp. ambos se incluyeron dentro del grupo “carcinófagos II” debido a la similitud en su marca isotópica y a que se ha registrado que en su estado juvenil el género *Epinephelus* suele permanecer dentro de los esteros donde se alimenta principalmente de cangrejos (Linde et al. 2004, Artero et al. 2015, Malinowski 2019).

Al analizar el plasma de los tiburones toro juveniles del estero Coyote, se observó que *Arius* sp. registró la mayor contribución a la dieta (media = 65%, SD=7.2%, IC 95% = 50%, 78%), seguido por *Ophichthus* sp. (media = 7.3%, SD=6.6%, IC 95% = 0.1%, 25%). Los crustáceos presentaron una menor contribución (media = 2.5%, SD=1.7%, IC 95% = 0%, 6.7%) (Figura 12, Cuadro 6).

Al comparar la dieta de los tiburones toro con cicatriz umbilical abierta y con cicatriz umbilical cerrada en el plasma, se observó una variación en el lugar de importancia de las especies que contribuyen a la dieta, así como en la proporción de estas. En individuos con cicatriz umbilical abierta la presa que más contribuyó a la dieta fue *Arius* sp. (media = 71%, SD=6.0%, IC 95% = 59%, 82%), seguido por el grupo de peces carcinófagos (media = 5.3%, SD=4.7%, IC 95% = 0.5%, 17.5%). En individuos con cicatriz umbilical cerrada, la presa que registró una mayor contribución fue *Ophichthus* sp. (media = 21%, SD=17%, IC 95% = 1.3%,

65%), seguido por *Arius* sp. (media = 14%, SD=11%, IC 95% = 1.2%, 40 (Figura 13, Cuadro 6).

Al comparar el plasma de los tiburones toro hembras y machos no existió variación en las especies de mayor contribución a su dieta ni en la proporción de las mismas. En ambos sexos la presa que más contribuyó a la dieta fue *Arius* sp. (media = 67%, SD=8.4%, IC 95% = 49%, 82%), seguido por *Ophichthus* sp. (media = 6.3%, SD=5.8%, IC 95% = 0.6%, 22%) y *Styracura* sp. (media = 5.2%, SD=4.9%, IC 95% = 0.5%, 19%) (Figura 14, Cuadro 6).

Cuadro 5. Valores isotópicos de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ (media $\pm$ desviación estándar) de los grupos de presas potenciales de tiburones toro juveniles en el estero Coyote. Junio-noviembre 2019.

Grupo	Especies	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)
Peces carcinófagos	<i>Genyatremus pacifici</i>	13.76 $\pm$ 0.59	-18.76 $\pm$ 1.32
	<i>Selene brevoortii</i>		
	<i>Pomadasys branickii</i>		
	<i>Cynoscion</i> spp.		
	<i>Centropomus</i> spp.		
	<i>Caranx caninus</i>		
Peces carcinófagos II	<i>Lutjanus</i> spp.	12.5 $\pm$ 1.2	-21.01 $\pm$ 1.51
	<i>Eucinostomus</i> spp.		
Crustáceos	<i>Epinephelus quinquefasciatus</i> (juveniles)	7.69 $\pm$ 1.75	-23.53 $\pm$ 1.62
	<i>Aratus pisonii</i>		
	<i>Goniopsis pulchra</i>		
<i>Callinectes</i> sp.	<i>Penaeus</i> spp.	12.14 $\pm$ 2.02	-18.89 $\pm$ 2.58
<i>Callinectes</i> sp.	<i>Callinectes arcuatus</i>		
<i>Arius</i> sp.	<i>Arius</i> sp.	15.18 $\pm$ 0.79	-16.89 $\pm$ 1.23
<i>Mugil</i> sp.	<i>Mugil curema</i>	9.9 $\pm$ 1.28	-21.09 $\pm$ 2.35
<i>Ophichthus</i> sp.	<i>Ophichthus zophochir</i>	12.46 $\pm$ 0.57	-17.8 $\pm$ 0.18
<i>Rypticus</i> sp.	<i>Rypticus nigripinis</i>	12.07 $\pm$ 1.23	-19.53 $\pm$ 1.33
<i>Styracura</i> sp.	<i>Styracura pacifica</i>	12.78 $\pm$ 0.78	-18.38 $\pm$ 1.64

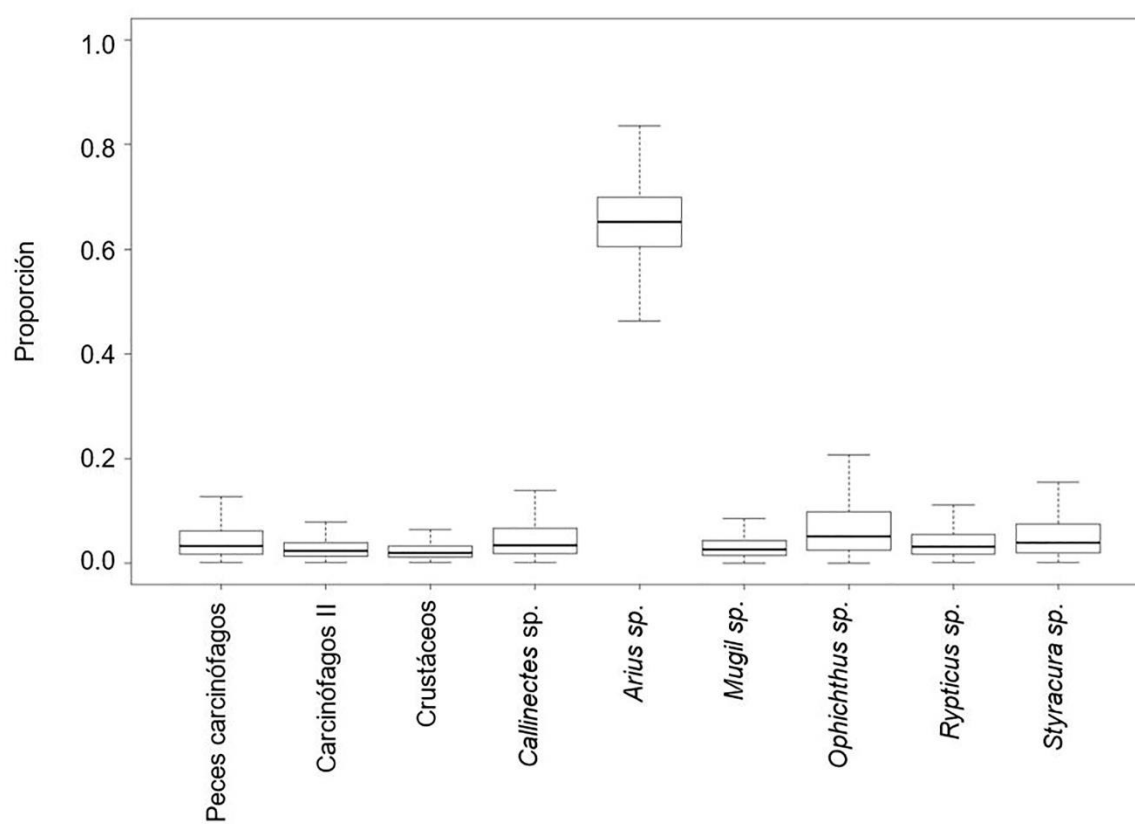


Figura 12. Contribución de presas potenciales en la dieta de los tiburones toro juveniles del estero Coyote encontradas en el plasma sanguíneo. Junio-noviembre 2019.

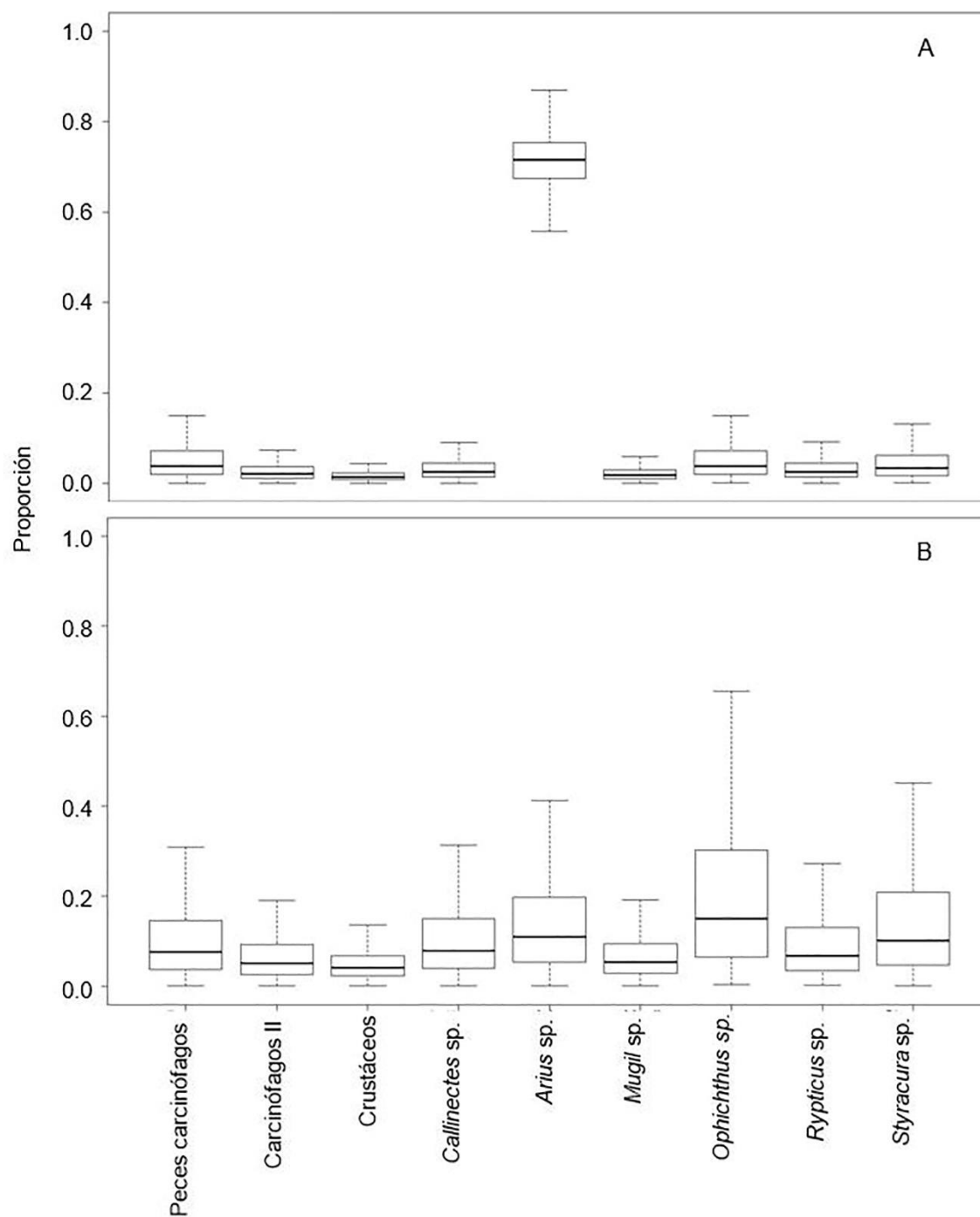


Figura 13. Contribución de las presas a la dieta de los tiburones toro juveniles del estero Coyote al analizar el plasma mediante el modelo de mezcla: A) Cicatriz umbilical abierta, B) Cicatriz umbilical cerrada. Junio-noviembre 2019.

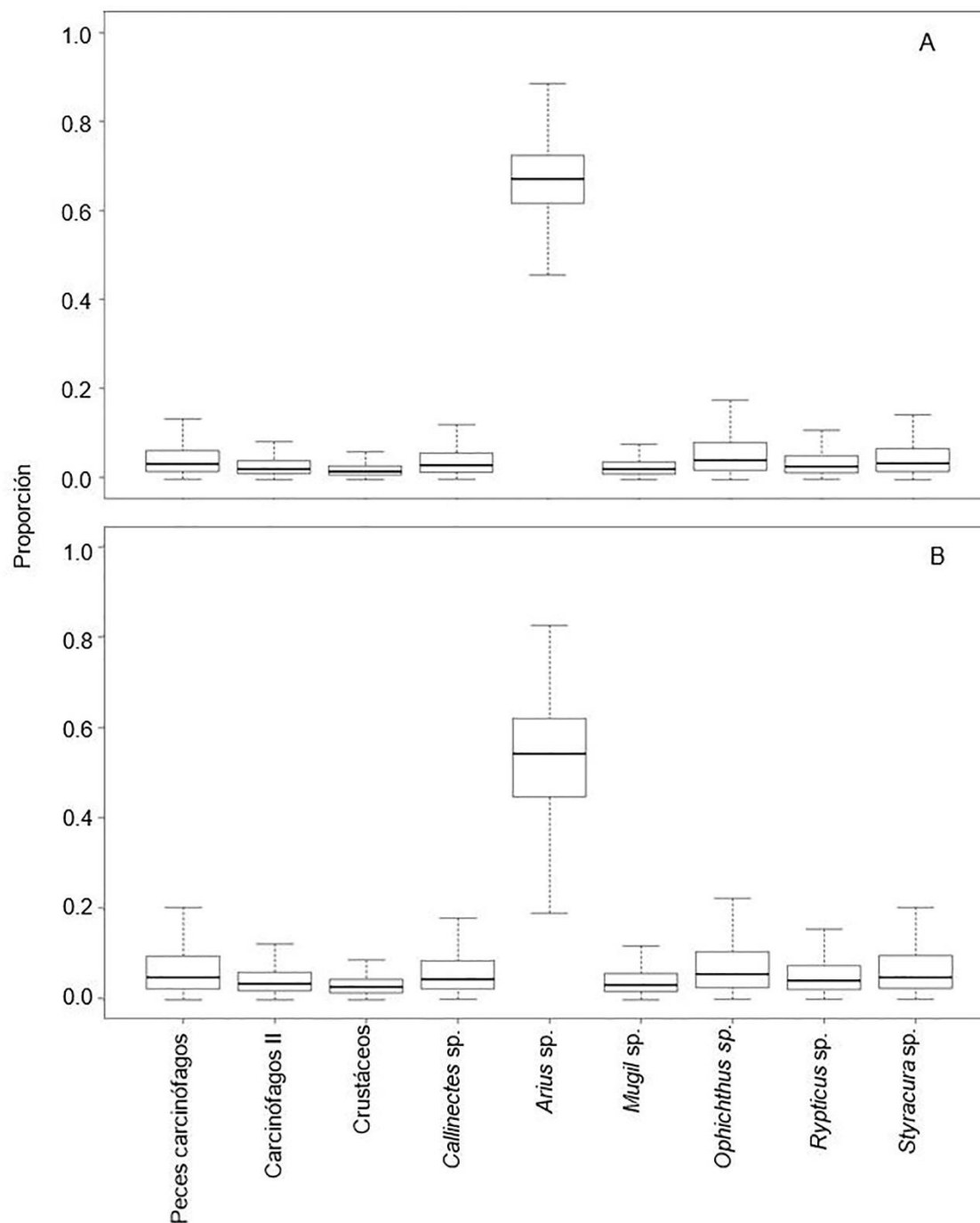


Figura 14. Contribución de las presas a la dieta de los tiburones toro juveniles del estero Coyote al analizar el plasma mediante el modelo de mezcla: A) Hembras, B) Machos. Junio-noviembre 2019.

Cuadro 6. Proporción de contribución de las presas a la dieta de los tiburones toro juveniles del estero Coyote encontrados en el plasma sanguíneo. Se presentan la media de los valores obtenidos en general y por categoría. Junio-noviembre 2019.

Presas	General	Estado de cicatriz umbilical		Sexo	
		Abierta	Cerrada	Hembras	Machos
Peces carcinófagos	0.046	0.052	0.108	0.050	0.077
Carcinófagos II	0.030	0.028	0.073	0.032	0.046
Crustáceos	0.025	0.017	0.053	0.024	0.034
<i>Callinectes</i> sp.	0.048	0.034	0.104	0.045	0.064
<i>Arius</i> sp.	0.650*	0.713*	0.139	0.665*	0.522*
<i>Mugil</i> sp.	0.032	0.023	0.072	0.030	0.043
<i>Ophichthus</i> sp.	0.071	0.054	0.208*	0.063	0.082
<i>Rypticus</i> sp.	0.042	0.033	0.100	0.040	0.057
<i>Styracura</i> sp.	0.056	0.047	0.144	0.052	0.076

* Presas que presentaron la mayor proporción en cada categoría.

Esterio Bongo

Las presas potenciales de los tiburones toro de estero Bongo se agruparon en nueve grupos: Peces carcinófagos, peces carcinófagos II, crustáceos, peces malacófagos, *Arius* sp, *Callinectes* sp., *Mugil* sp., *Ophichthus* sp., *Rypticus* sp. y *Styracura* sp. (Cuadro 7). Al analizar el tejido plasma de los tiburones toro juveniles de estero Bongo, se observó que, de las presas elegidas para el modelo de mezcla, el grupo de peces carcinófagos registró la mayor contribución a la dieta de los tiburones toro juveniles (media = 13%, SD=14%, IC 95% = 1%, 54%), seguido por *Styracura* sp. (media = 11%, SD=11%, IC 95% = 0,9%, 41,6%) y el grupo de peces malacófagos (media = 10%, SD=11%, IC 95% = 0,8%, 41%). Las presas que presentaron una menor contribución a la dieta de los tiburones toro juveniles en el tejido plasma fueron el grupo de los crustáceos (media = 8,4%, SD=8%, IC 95% = 0,9%, 30%) y *Mugil* sp. (media = 8,8%, SD=8,1%, IC 95% = 0,9%, 31%) (Figura 15, Cuadro 8).

Cuadro 7. Valores isotópicos de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ (media $\pm$ desviación estándar) de los grupos de presas potenciales de los tiburones toro juveniles en el estero Bongo. Junio-noviembre 2019. Junio-noviembre 2019.

Grupo	Especies	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)
Peces carcinófagos	<i>Genyatremus pacifici</i>	14.011 ± 0.96	-17.39 ± 1.28
	<i>Selene brevoortii</i>		
	<i>Cynoscion spp.</i>		
	<i>Centropomus spp.</i>		
	<i>Caranx caninus</i>		
	<i>Trachinotus rhodopus</i>		
Peces carcinófagos 2	<i>Eucinostomus spp.</i>	12.02 ± 0.56	-21.89 ± 1.17
	<i>Lutjanus spp.</i>		
Peces malacófagos	<i>Achirus mazatlanus</i>	11.25 ± 1.15	-19.32 ± 1.30
	<i>Pomadasys branickii</i>		
Crustáceos	<i>Aratus pisonii</i>	7.19 ± 0.85	-23.40 ± 0.65
	<i>Goniopsis pulchra</i>		
	<i>Penaeus spp.</i>		
<i>Arius sp.</i>	<i>Arius seemani</i>	11.25 ± 1.2	-23.11 ± 2.22
<i>Callinectes sp.</i>	<i>Callinectes arcuatus</i>	9.48 ± 0.86	-22.04 ± 2.5
<i>Mugil sp.</i>	<i>Mugil curema</i>	8.75 ± 2.83	-20.33 ± 2.89
<i>Ophichthus sp.</i>	<i>Ophichthus zophochir</i>	10.4 ± 0.01	-21.82 ± 0.01
<i>Rypticus sp.</i>	<i>Rypticus nigripinis</i>	12.06 ± 0.16	-20.82 ± 1.1
<i>Styracura sp.</i>	<i>Styracura pacifica</i>	12.19 ± 0.69	-18.39 ± 1.07

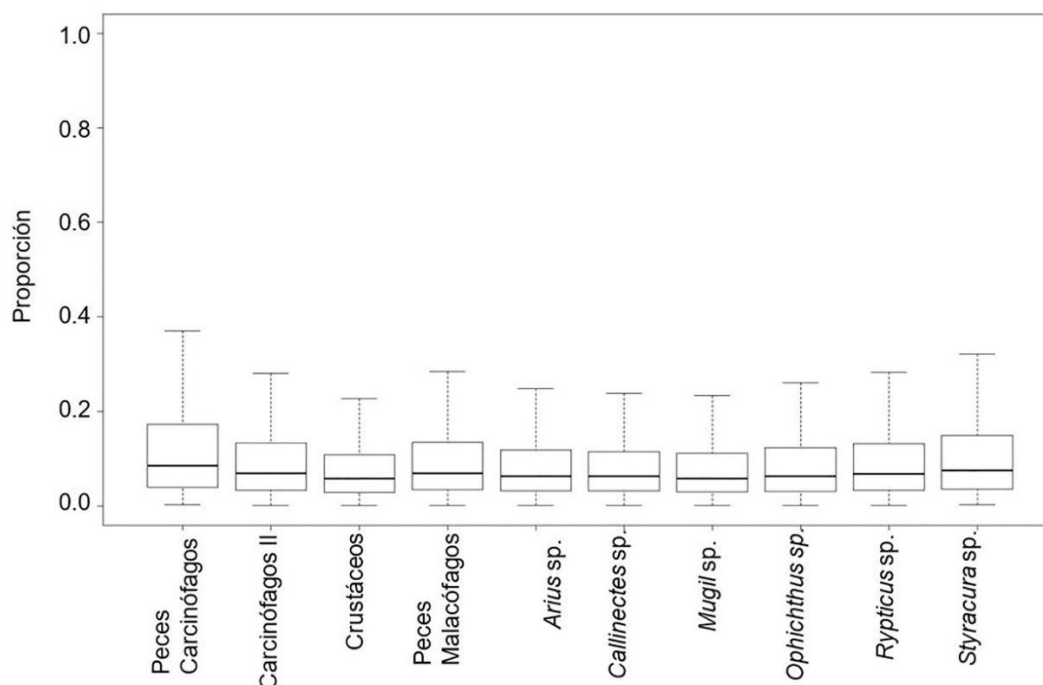


Figura 15. Contribución de las presas a la dieta de los tiburones toro juveniles del estero Bongo al analizar el plasma mediante el modelo de mezcla. Junio-noviembre 2019.

Cuadro 8. Proporción de contribución de las presas a la dieta de los tiburones toro juveniles del estero Bongo, encontrados en el plasma sanguíneo. Se presentan la media de los valores obtenidos en general y por categoría. Junio-noviembre 2019.

Presas	Plasma	Células rojas
Peces carcinófagos	0.137*	0.138*
Peces carcinófagos II	0.099	0.101
Peces malacófagos	0.107	0.106
Crustáceos	0.081	0.081
<i>Arius</i> sp.	0.096	0.095
<i>Callinectes</i> sp.	0.090	0.090
<i>Mugil</i> sp.	0.086	0.088
<i>Ophichthus</i> sp.	0.091	0.091
<i>Rrypticus</i> sp.	0.103	0.100
<i>Styracura</i> sp.	0.110	0.110

* Presas con mayor proporción en la dieta de cada categoría.

Posición trófica

Tanto en el estero Coyote como en el estero Bongo los tiburones toro juveniles presentaron una posición trófica alta, $PT \geq 4.0$, fungiendo como depredador tope dentro de los sistemas estuarinos (Cuadro 9 y 10).

Cuadro 9. Valores de posición trófica (PT) de tiburón toro en el estero Coyote, en tejido sanguíneo y músculo para las diferentes categorías. Junio-noviembre 2019.

Tejido	Categoría		PT
Músculo	General		4.5
	Sexo	Hembras	4.5
		Machos	4.5
		Cerrada (≥ 98 cm LT)	4.5
		Abierta (< 98 cm LT)	4.5
Células rojas	General		4.1
	Sexo	Hembras	4.1
		Machos	4.1
		Cerrada (≥ 98 cm LT)	4.1
		Abierta (< 98 cm LT)	4.0
Plasma	General		4.2
	Sexo	Hembras	4.2
		Machos	4.2
		Cerrada (≥ 98 cm LT)	4.0
		Abierta (< 98 cm LT)	4.3

Cuadro 10. Valores de posición trófica (PT) del tiburón toro en el estero Bongo. Junio-noviembre 2019.

Tejido	PT
Músculo	4.8
Células rojas	4.3
Plasma	4.4

DISCUSIÓN

Caracterización isotópica y comparación entre los sitios de estudio

La diferencia en la presencia de especies en ambos esteros responde a los distintos parámetros del agua entre ambos sitios (Rojas et al. 1994, Monge-Nájera 2004). Un ejemplo de lo anterior es la ausencia de *Anadara tuberculosa* en el estero Bongo. *A. tuberculosa* es una especie altamente sensible a los cambios de salinidad con una preferencia por ambientes con niveles de salinidad de aproximadamente 25 ppt (Wong et al. 1997). El estero Bongo tiene la influencia del agua dulce proveniente de dos ríos, el río Arío y el río Bongo, mientras que estero Coyote solo recibe la influencia del río Coyote, lo cual hace que el estero Bongo presente niveles de salinidad más bajos que el estero Coyote (Bravo 2005). Dichas condiciones justificarían la ausencia de *A. tuberculosa* en el estero Bongo.

Durante el periodo de muestreo, se observó que el flujo de agua dentro de estero Bongo fue muy dinámico, llegando incluso a cerrarse la boca del estero a mediados de agosto, tiempo durante el cual no se logró capturar tiburones y se observó una disminución en la captura de peces teleósteos. El acceso al estero Coyote fue constante durante todo el periodo de muestreo.

En ambos esteros la especie con un mayor número de capturas tanto en el trasmallo como en el palangre fue *Arius* sp., conformando entre el 33.5% y 58.2% del total de la pesca. Lo anterior coincide con lo reportado por Rojas et al. (1994) y Monge-Nájera (2004), quienes registraron que en los manglares del Golfo de Nicoya la familia Ariidae representa el 31% de los peces dentro de esos sistemas. *Arius* sp. se reproduce durante gran parte del año (Ortega et al. 1996), en el transcurso de esta investigación se observó hembras preñadas y machos cuidando a los huevos dentro de su cavidad bucal, dado su alto potencial reproductivo no es raro que sea la especie más abundante. La familia Atherinidae fue la especie más capturada con atarraya en ambos esteros, esto es debido a que esta arte de pesca es selectiva para la captura de especies pequeñas. Así mismo, la presencia de peces de la familia Atherinidae se ha reportado en los esteros del golfo de Nicoya (Rojas et al. 1994).

En los esteros Coyote y Bongo los valores isotópicos de plancton y organismos filtradores fueron similares, con una media de -21.37 ‰ de $\delta^{13}\text{C}$ y 8.52 ‰ de $\delta^{15}\text{N}$, lo que coincide con lo reportado en otros estudios realizados en sistemas estuarinos de Estados Unidos y Uruguay (Jara-Marini et al. 2004, Bergamino et al. 2017). Además, se observaron

variaciones en los valores isotópicos a lo largo de los esteros, lo que sugiere diferencias en la composición de la materia orgánica a lo largo de los mismos. Los valores más negativos de $\delta^{13}\text{C}$ en los sitios más cercanos al río se relacionan con la influencia de agua dulce proveniente del río, la cual se asocia con una mayor cantidad de material orgánico de origen continental, como plantas vasculares y fitoplancton dulceacuícola, los cuales debido a su tipo de fotosíntesis tienden a presentar valores de $\delta^{13}\text{C}$ entre -25 ‰ y -30 ‰ y valores de -26 ‰ de $\delta^{13}\text{C}$ respectivamente (Pinnegar y Polunin 2000, Garcia et al. 2002, Darnaude et al. 2004, Jara-Marini et al. 2004, Mateo et al. 2004, Muzuka y Shunula 2006, Bergamino et al. 2017).

Los valores de $\delta^{13}\text{C}$ cercanos a la boca de los esteros fueron más positivos, esto se explica por la influencia de fuentes marinas, como el plancton marino, el cual presenta por lo general valores característicos entre -21 y -18 ‰ de $\delta^{13}\text{C}$ (Jara-Marini et al. 2004, Smith et al. 2008). Así mismo, los sitios más cercanos a la boca del estero son menos afectados por descargas de agua dulce que favorecen el aumento de material orgánico de origen continental (Bergamino et al. 2017).

En cuanto a los valores de $\delta^{15}\text{N}$, estos fueron homogéneos a lo largo de los esteros. Esto se explica debido a que los valores de $\delta^{15}\text{N}$ reflejan las relaciones tróficas entre los depredadores y sus presas, y no del sitio de alimentación, como lo hace el $\delta^{13}\text{C}$ (Post 2002). Jara-Marini et al. (2004) registraron valores de $\delta^{15}\text{N}$ en el Golfo de California, México de 9.3 ‰ para zooplancton y de 9.02 para mangle, los cuales fueron similares a los presentados en el estero Coyote (8.52 ± 0.86 ‰ $\delta^{15}\text{N}$) y en el estero Bongo (8.05 ± 1.09 ‰ $\delta^{15}\text{N}$).

La razón por la que no se presentaron diferencias significativas en los organismos base entre los esteros, puede ser su cercanía, así como la influencia de fuentes dulceacuícolas y marinas. Sin embargo, al realizar el análisis de los valores isotópicos de los sistemas estuarinos considerando todos los organismos muestreados, si fue posible observar diferencias isotópicas entre ellos. Estas diferencias pueden explicarse por la presencia de distintas especies en cada sitio, así como por la variación en la marca isotópica de algunas especies.

Arius sp. presentó valores más negativos en el estero Bongo (-23.11 ‰ $\delta^{13}\text{C}$), lo que indica que la especie se está alimentando en las partes más cercanas a la desembocadura de los ríos, mientras que en estero Coyote presentaron valores más positivos (-16.89 ‰ $\delta^{13}\text{C}$), indicando que se alimentan en zonas costeras o cerca de la boca del estero. Así mismo, varias especies (p. ej. *Polydactylus approximans*, *Genyatremus pacifici*) presentaron valores isotópicos correspondientes a ambientes costeros o cercanos a la boca de los esteros, lo cual puede indicar que muchas de las especies capturadas dentro de los esteros

Coyote y Bongo se alimentan en hábitats costeros y entran al estero en busca de protección o para desovar (Berasategui et al. 2004, Elliott et al. 2007, Hastings y Findley 2007).

Como era de esperarse, los valores isotópicos del mar, comparado con los valores de los esteros Coyote y Bongo fueron diferentes. Debido a las condiciones de pH en el ambiente marino, existe una menor disponibilidad de CO_2 , lo que provoca una mayor utilización de HCO_3 por parte del fitoplancton y por consiguiente valores más positivos de $\delta^{13}\text{C}$ en comparación con el fitoplancton de agua dulce (Bergamino et al. 2017). En sitios menos productivos el CO_2 disuelto es más abundante y se empobrece el ^{13}C , por lo que zonas oceánicas o sitios de agua dulce presentan valores más negativos de $\delta^{13}\text{C}$ que zonas costeras (West et al. 2009).

Caracterización y nicho isotópico de los tiburones toro juveniles

En este estudio fue posible muestrear tiburones con diferentes estadíos de crecimiento, lo cual fue evidente por el estado de la cicatriz umbilical. Los tiburones toro neonatos y juveniles de esteros Coyote y Bongo presentaron tallas mayores a las reportadas en la literatura. Se capturaron tiburones con cicatriz umbilical abierta de hasta 91 cm LT e individuos con cicatriz umbilical cerrada de hasta 103 cm LT, mientras lo reportado en la literatura para tiburones toro al nacer es de 56-81cm LT (Thorson y Lacy 1982, Compagno et al. 2006). La tasa de crecimiento anual estimada por Thorson y Lacy (1982) para los tiburones toro del río San Juan, Costa Rica y del lago de Nicaragua fue de 11-12 cm por año durante los primeros dos años de vida y de 9 -10 cm los siguientes años. El rápido crecimiento de los tiburones en los sitios de estudio podría deberse a la alta disponibilidad de recursos alimentarios (Freitas et al. 2006).

En ambos esteros, los valores isotópicos encontrados en las células rojas y en el plasma de los tiburones toro juveniles fueron similares entre ellos y distintos a los valores isotópicos del músculo, esto se explica debido a que la tasa de recambio es distinta para cada tejido. El plasma tiene una incorporación a la dieta de 22-33 días, las células rojas una tasa de recambio de aproximadamente 130 días, mientras que el músculo tiene una tasa de recambio lenta de aproximadamente 250-388 días (Macneil et al. 2005, Kim et al. 2012b, Caut et al. 2013, Matich et al. 2015).

Olin et al. (2011) sugieren que los tejidos con tasa de recambio lenta dejan de ser influenciados por la dieta de la madre cuando los tiburones toro alcanzan tallas de ~90cm LT y cuando la cicatriz umbilical es poco visible. En el presente estudio, se comprobó que los

valores isotópicos encontrados en el músculo de los tiburones toro juveniles reflejaron la dieta de la madre. Por su parte, la alta tasa de recambio de las células rojas y el plasma, hacen que estos tejidos sean ideales para estudiar la dieta de los individuos juveniles menores de un año (70-90 cm) (Bearhop et al. 2004, Matich et al. 2015).

Estero Coyote

El nicho isotópico es una representación del nicho ecológico, en el cual el ^{13}C representa componentes ambientales y el ^{15}N los componentes tróficos (Newsome et al. 2007). El traslape bajo entre los nichos isotópicos de los tejidos de músculo y plasma de los tiburones toro del estero Coyote reflejan el uso diferencial del hábitat observado entre tiburones juveniles y adultos. El plasma representa los hábitos de los tiburones toro juveniles quienes tienden a permanecer en áreas costeras y sistemas estuarinos durante sus primeros años de vida, en los cuales encuentran protección y alimento (Curtis 2008, Chávez 2017). Mientras que el músculo representa la dieta de tiburones toro adultos quienes se alimentan de niveles tróficos mayores que los tiburones juveniles (Espinoza et al. 2019). Estos resultados son similares a lo reportado por Sánchez (2017) quien encontró que los tiburones toro adultos presentan un nicho trófico con variación horizontal, con un mayor rango geográfico de alimentación y los tiburones toro juveniles presentan una variación vertical con un traslape trófico bajo entre ellos. El traslape que se presenta entre el tejido de células rojas y el plasma indica que comparten el mismo nicho isotópico, por lo que ambos tejidos reflejan la dieta de los tiburones dentro del estero.

Los valores de $\delta^{15}\text{N}$ en el músculo fueron mayores que los encontrados en el plasma y células rojas. Al reflejar la dieta de la madre, el músculo presenta valores más positivos al alimentarse de individuos de niveles tróficos mayores, mientras que el plasma al reflejar la dieta de individuos juveniles indica que se alimentan de organismos con niveles tróficos menores. Estos resultados coinciden con lo reportado por Daly et al. (2013), Gallagher et al. (2017) y Espinoza et al. (2019) en que los individuos adultos se alimentan de niveles tróficos mayores. Los autores resaltan los cambios en la dieta y en los hábitats que utilizan los tiburones toros conforme crecen (cambios ontogénicos).

Los valores de $\delta^{13}\text{C}$ encontrados en el músculo de los tiburones toro juveniles del estero Coyote sugieren que las hembras adultas se alimentan de especies con firmas isotópicas costeras (valores aproximados a -15‰) (West et al. 2009, Bergamino et al. 2017). Estos valores isotópicos son similares a los reportados para tiburones toro adultos y subadultos del

océano Índico (Daly et al. 2013), Australia (Espinoza et al. 2019), Florida, Estados Unidos (Gallagher et al. 2017) y de la península de Yucatán, México (Sánchez 2017).

En cuanto a la amplitud isotópica en los distintos tejidos de los tiburones toro juveniles de estero Coyote, el plasma presentó un área de polígono de nicho isotópico más amplia que lo observado en músculo y células rojas, con una variación tanto horizontal como vertical. Esta variación puede deberse a que las presas de los tiburones juveniles se originan de una comunidad con $\delta^{13}\text{C}$ más enriquecido (Daly et al. 2013) y a que algunos individuos aún reflejan una influencia isotópica materna (individuos con cicatriz umbilical abierta), por lo que se observa la dieta de la transición entre individuos adultos e individuos juveniles (Olin et al. 2011).

Después del nacimiento, los tiburones permanecen en los sistemas estuarinos durante los primeros años de vida (Wiley y Simpfendorfer 2007, Heithaus et al. 2009, Chávez 2017). Al alimentarse dentro del estero, los valores de $\delta^{13}\text{C}$ del plasma de los tiburones toro de estero Coyote reflejaron una alimentación de organismos con marca isotópica costera, lo que indica que se estarían alimentando en las partes más cercanas a la boca del estero y de especies costeras que ingresan a este. Los resultados coinciden con lo reportado por Matich y Heithaus (2014), quienes reportan que durante la época lluviosa los valores de $\delta^{13}\text{C}$ son más positivos y durante época seca los valores de $\delta^{13}\text{C}$ son más negativos, por lo que sugieren que durante época lluviosa los tiburones se alimentan de presas marinas y estuarinas, y durante época seca se alimentan mayormente de presas cercanas al río.

De acuerdo con los valores de $\delta^{13}\text{C}$ y de $\delta^{15}\text{N}$ encontrados en el plasma, los tiburones toro machos y hembras presentaron un uso de hábitat trófico similar con un traslape de medio a considerable, lo que indica que ambos sexos hacen uso de las mismas zonas y fuentes de alimentación. Este resultado concuerda con lo reportado por Daly et al. (2013) en el sureste de Mozambique, por Estupiñán-Montaña et al. (2017) en Ecuador y por Espinoza et al. (2019) en Australia, quienes no encontraron diferencias entre sexos en la dieta de tiburones toro subadultos y adultos. En otros estudios realizados en Florida, Estados Unidos y en Nueva Caledonia (Snelson y Williams 1981, Werry y Clua 2013) los autores reportan una segregación por sexo en tiburones toro adultos, esto debido a que las hembras visitan aguas someras y estuarios para encontrar áreas de crianza, por alimentación y para evitar depredación.

Los valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ encontrados en el plasma de tiburones con cicatriz umbilical cerrada y cicatriz umbilical abierta presentaron un traslape isotópico bajo y ambos presentaron un nicho isotópico reducido. El nicho isotópico reducido estaría indicando que

los tiburones muestreados se alimentan de individuos con niveles tróficos similares y en sitios establecidos (Espinoza et al. 2019). Los tiburones con cicatriz umbilical abierta presentaron valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ más positivos que los tiburones con cicatriz umbilical cerrada, lo que indica un consumo de presas de individuos con firma isotópica más costera y de niveles tróficos altos, mientras que los tiburones con cicatriz umbilical cerrada presentaron valores de $\delta^{13}\text{C}$ más negativos, reflejando un consumo de presas con valores isotópicos más cercanos al estero (Matich y Heithaus 2014).

A pesar de que el plasma presenta una tasa de recambio muy rápida para la familia Carcharhinidae ($-0.82\text{‰ } \delta^{13}\text{C}/\text{cm LT}$ y $-0.24\text{‰ } \delta^{15}\text{N}/\text{cm LT}$) (Matich et al. 2010), en este estudio este tejido estaría reflejando una transición entre la dieta de la madre y la dieta de los tiburones juveniles en los tiburones toro con cicatriz umbilical abierta de estero Coyote. Esto coincide con lo reportado por Olin et al. (2011), Belicka et al. (2012) y por Hussey et al. (2012), quienes encontraron que los valores isotópicos de individuos con cicatriz umbilical abierta en tejidos con una tasa de recambio lenta estarían influenciados en parte por la dieta materna. Mientras que, en los tiburones toro con tallas $>70\text{-}90\text{ cm}$ (Matich et al. 2015) y con cicatriz umbilical cerrada (Olin et al. 2011) el plasma refleja de forma certera la firma isotópica de los individuos juveniles.

Los tiburones toro juveniles de estero Coyote presentaron hábitos generalistas según el análisis de plasma. Estos resultados coinciden con lo registrado por Tuma (1976), Estupiñán-Montaña et al. (2017) y Sánchez (2017), quienes reportan al tiburón toro como una especie generalista. Sin embargo, al analizar por separado a los tiburones con cicatriz umbilical abierta y cicatriz umbilical cerrada, se observaron hábitos especialistas en ambos grupos. Matich et al. (2011) y Trystram et al. (2016) mostraron que a pesar de que los tiburones toro son considerados como generalistas pueden presentar especialización a nivel individual.

Esterio Bongo

Debido a que la boca del estero Bongo se cerró a mediados de agosto, impidiendo la entrada de tiburones toro durante gran parte del tiempo de muestreo, solo fue posible capturar tres tiburones toro con tallas $>85\text{ cm}$, todos con cicatriz umbilical abierta. Por lo que es importante enfatizar que los resultados de estos tiburones deben tomarse con especial cautela, ya que los valores isotópicos de los individuos muestreados no representan a la población general.

Al igual que en el estero Coyote los valores de $\delta^{13}\text{C}$ y de $\delta^{15}\text{N}$ del músculo de los tiburones toro muestreados en el estero Bongo reflejaron la dieta de la madre, con resultados similares a lo reportado para tiburones toro adultos (Daly et al. 2013, Sánchez 2017, Espinoza et al. 2019). Los valores de $\delta^{15}\text{N}$ del músculo de los tiburones toro del estero fueron más enriquecidos que lo reportado en la literatura (Davenport y Bax 2002, Ward-paige et al. 2005, Alderete 2010), debido a que la marca isotópica de los organismos base de estero Bongo fue mayor a lo reportado para el sureste de Australia; Florida, Estados Unidos y México (3.4 - 6‰ $\delta^{15}\text{N}$)

La composición de nitrógeno de los productores primarios establece los valores de $\delta^{15}\text{N}$ en la base de la cadena trófica y son dependientes de la fuente de nutrientes (N_2 , nitrato, amonio), transformaciones biológicas (fijación de N_2 , desnitrificación) y del fraccionamiento isotópico. De manera que, en regiones con bajos niveles de clorofila, la fijación de N_2 genera materia orgánica con valores de $\delta^{15}\text{N}$ bajos (-3 a 3 ‰). Mientras que, en sitios tropicales o cálidos como es el caso de Costa Rica, existe una mayor desnitrificación, por lo tanto, un mayor enriquecimiento de la señal isotópica de $\delta^{15}\text{N}$ de los organismos base (West et al. 2009, Cochran et al. 2019).

Los valores de $\delta^{15}\text{N}$ en plasma y en células rojas fueron mayores a lo reportado por Olin et al. (2011), Daly et al. (2013) y Espinoza et al. (2019) (~14‰), esto debido a que los organismos base del estero Bongo presentan resultados de $\delta^{15}\text{N}$ más positivos que los sitios de estudio presentados por los autores. Los valores de $\delta^{13}\text{C}$ en el presente estudio reflejan una alimentación de organismos con marca isotópica costera, dentro del estero los tiburones se estarían alimentando en las partes más cercanas a la boca y de especies costeras que ingresan a este, lo que coincide con lo reportado por Matich y Heithaus (2014) para los tiburones toro juveniles en Florida, Estados Unidos. Davias et al. (2014) mencionan que el hábitat y el tipo de alimentación pueden causar una variación en la composición isotópica de una especie.

En el estero Bongo no se pudo realizar un análisis de amplitud de nicho trófico mediante elipses bayesianas debido al bajo número de individuos muestreados. De acuerdo al criterio de Bearhop et al. (2004), los tiburones presentaron hábitos especialistas. Sin embargo, el modelo de mezcla reflejó que los tiburones toro se alimentaron de distintas presas, lo que podría indicar que los tiburones muestreados se alimentan de diversas especies pero de niveles tróficos similares. Una alimentación basada en diferentes presas con razones isotópicas similares podría reflejar una dieta con hábitos especialistas (Bearhop et al. 2004). Debido al bajo número de muestras estos resultados deben ser tomados con cautela.

Contribución de las presas a la dieta de los tiburones toro juveniles

Estero Coyote

Al analizar el plasma, las presas de los tiburones toro estuvo compuesta principalmente de peces teleósteos (*Arius* sp. y *Opichthus* sp.), seguida por condrictrios (*Styracura pacifica*). Diversos estudios han reportado estos mismos resultados (Tuma 1976, Cortés 1999, Daly y Smale 2013, Sánchez 2017). Tillett et al. (2014) reportaron que los tiburones toro de Australia se alimentan de peces teleósteos, principalmente de *Arius* sp., así mismo, Estupiñán-Montaño et al. (2017) encontraron que los tiburones toro de Ecuador se alimentan de peces teleósteos, principalmente de la familia Ophichthidae.

Arius sp. y *Opichthus* spp. fueron las especies que presentaron el mayor índice de abundancia en el estero Coyote, lo que indica que los tiburones toro se alimentan de las especies más abundantes dentro del estero, lo cual coincide con diversos estudios donde se menciona que al tiburón toro como una especie oportunista (Tuma 1976, Estupiñán-Montaño et al. 2017, Sánchez 2017). Un declive en la población de tiburones toro dentro del estero podría causar un aumento poblacional de sus principales presas. La familia Ariidae se alimenta principalmente de crustáceos, peces pequeños, detritus e incluso de huevos de peces (Benítez-Mondragón et al. 2019), un aumento en sus poblaciones podría ocasionar un desequilibrio ecosistémico. Al consumir las especies más abundantes, los tiburones toro de estero Coyote contribuyen a mantener el equilibrio ecosistémico, ya que se reduce la competencia por alimentación y espacio entre los peces (Myers et al. 2007, Bornatowski et al. 2014).

Estero Bongo

Para plasma solo se obtuvieron muestras de dos individuos, las cuales reflejan que la contribución a la dieta de los tiburones toro muestreados es ligeramente mayor para el grupo de peces carcinófagos, similar a lo reportado por Matich et al. (2011), en el que *Caranx bajonado* registra una contribución a la dieta de los tiburones toro de un 75%. Así mismo, nuestros resultados coinciden con diversos estudios, en los que se menciona que la dieta principal de los tiburones toro está compuesta por peces teleósteos (Tuma 1976, Daly et al. 2013, Tillett et al. 2014, Estupiñán-Montaño et al. 2017, Sánchez 2017). Sin embargo, al ser tiburones con cicatriz umbilical abierta los resultados podrían estar sesgados por la influencia de la dieta materna (Olin et al. 2011).

Aunque no fue posible hacer una comparación entre ambos esteros, debido al bajo número de tiburones capturados en estero Bongo, si se observó que la dieta de los tiburones en estero Bongo fue distinta a la de los tiburones de estero Coyote. Esto puede deberse a las diferencias ambientales (salinidad, ancho) entre ambos sitios, ya que estas influyen en las especies que ingresan a cada uno de los esteros y por ende, en la alimentación de los individuos (Bruno et al. 2013, Davias et al. 2014, Matich y Heithaus 2014, Wang et al. 2019). Además, algunas de las especies de presas potenciales del tiburón toro, presentan valores isotópicos distintos entre ambos esteros (p. ej. *Arius* sp. en estero Coyote: 15.18 ‰ $\delta^{15}\text{N}$, -16.89 ‰ $\delta^{13}\text{C}$ y en estero Bongo: 11.25 ‰ $\delta^{15}\text{N}$, -23.11 ‰ $\delta^{13}\text{C}$), lo que evidencia que algunas de las presas se están alimentando de formas distintas en cada uno de los sitios.

Posición trófica

Los tiburones de estero Coyote presentaron una posición trófica alta, al igual que lo reportado por Cortés (1999), Estupiñán-Montaña et al. (2017) y Sánchez (2017), quienes encontraron una PT de 4.3. Así mismo, Daly et al. (2013) establecen una PT para tiburones toro adultos de 4.6 y de 4.4 para sub adultos. Esto es similar a los resultados presentados en este estudio, con una PT de 4.5 para músculo y 4.2 para plasma. La poca variabilidad entre los valores de PT de los tiburones toro del estero Coyote con los reportados en otros estudios, indican que los tiburones toro se alimentan de presas de niveles tróficos similares. Además, los tiburones toro presentan valores de PT similares a los de otros depredadores tope, como *Galeocerdo cuvier*, *Isurus oxyrinchus* y *Carcharodon carcharias* juveniles (Cortés 1999, Hussey et al. 2012a, Dicken et al. 2017, Estupiñán-Montaña et al. 2017, Tamburin et al. 2019).

La diferencia de la PT entre los distintos tejidos, puede deberse al reflejo de la transferencia materna en tejidos con tasas de recambio lentas, como el músculo. Los cambios en la PT de los distintos tejidos confirman cambios ontogénicos en la dieta, lo que implica que los tiburones toro se alimentan de distintos niveles tróficos y juegan distintos roles durante las distintas etapas de su vida (Hussey et al. 2015, Navia et al. 2017), como lo reportado por Cortés (1999), quien menciona que la PT de los tiburones se relaciona con la talla del organismo.

Al igual que lo reportado por Estupiñán-Montaña et al. (2017), los tiburones toro machos y hembras del presente estudio presentaron la misma PT, lo que indica que se alimentan de niveles tróficos y sitios similares. En cuanto a los estados de cicatriz umbilical, los tiburones

con cicatriz umbilical abierta aún presentan cierta influencia materna, por lo que reflejan una posición trófica más alta, mientras que los individuos con cicatriz umbilical cerrada presentan su propia dieta, con un nivel trófico menor (Olin et al. 2011, Hussey et al. 2015).

En el estero Bongo, la PT de los tiburones muestreados fue ligeramente más elevada que la de los tiburones del estero Coyote, registrando valores que coinciden con otras especies de tiburones consideradas como depredadores tope (Cortés 1999, Hussey et al. 2012a, Dicken et al. 2017, Estupiñán-Montaña et al. 2017, Tamburin et al. 2019) y con valores cercanos a los reportados para tiburón toro por Daly et al. (2013) de 4.6 PT. Los valores de PT elevados, se explican debido a los distintos patrones de alimentación, los tiburones muestreados en estero Bongo se alimentaron de presas con un nivel trófico mayor que las presas de estero Coyote. Como se mencionó anteriormente, los resultados obtenidos de los tiburones muestreados en el estero Bongo deben tomarse con cautela, ya que únicamente reflejan los valores isotópicos, de los individuos muestreados y no podrían extrapolarse a toda la población.

Tanto en el estero Coyote como en el estero Bongo, los tiburones toro juveniles presentaron valores de $PT \geq 4$ en todos los tejidos, esto indica que los tiburones toro juveniles de ambos sistemas estuarinos fungen como depredadores tope y consumidores terciarios, esto concuerda con lo reportado por Cortés (1999), Daly et al. (2013), Sánchez (2017) y Espinoza et al. (2019), quienes catalogan al tiburón toro como un depredador tope.

Implicaciones para el manejo y conservación de la vida silvestre

Los resultados obtenidos en este estudio tienen implicaciones importantes para el correcto manejo de la especie, ya que los depredadores tope tienen un papel importante en la regulación y control de especies en niveles tróficos inferiores (Stevens et al. 2000, Myers et al. 2007, Heithaus et al. 2008). Se ha demostrado que los sistemas estuarinos son sitios de importancia para las pesquerías costeras y de profundidad (Rönnbäck et al. 1999, Primavera 2000, Holguin y Bashan 2007). Su importancia radica en el papel que juegan estos sistemas como zonas de crianza, refugio y alimentación para peces y crustáceos de importancia comercial (Loneragan et al. 1997), que después saldrán al mar y serán reclutados en las pesquerías.

La reducción en las poblaciones de tiburón toro podría causar efectos estructurales en las redes tróficas de los sistemas estuarinos y derivar indirectamente en un efecto de cascada trófica (Myers et al. 2007, Ferretti et al. 2010, Rizzari et al. 2014), afectando especies de

peces comerciales que habitan en ellos, pudiendo ocasionar una reducción en la productividad y en los beneficios económicos obtenidos por los pescadores. En estudios anteriores se ha comprobado que las reducciones de las poblaciones de tiburones han tenido efectos negativos en la pesca comercial (O'Connell et al. 2007, Heithaus et al. 2008, 2014, Bornatowski et al. 2014, Rizzari et al. 2014). Myers et al. (2007) reportaron una disminución en la pesquería de moluscos en el este de Estados Unidos, ocasionado por un aumento en las poblaciones de rayas derivado de las reducciones poblacionales de 11 especies de tiburones, por lo que es importante conservar estos sitios y a los tiburones.

A pesar de que estero Bongo se encuentra en un área protegida, se observó una menor abundancia de tiburones que en estero Coyote durante el periodo de muestreo. También, se observó el uso de artes de pesca insostenibles como atarrayas y trasmallos dentro del estero, por lo que es de gran importancia implementar las medidas ya establecidas en el plan general de manejo en estero Bongo (CONAC 2017).

Al ser estero Coyote un sitio de importancia para la alimentación del tiburón toro y un sitio sin ninguna categoría de protección, es necesario aplicar medidas de protección que garanticen la conservación de los tiburones toro. La protección de estero Coyote garantizaría no solo la conservación de la población de tiburones sino también de otras especies de interés comercial.

Debido a la importancia de estero Coyote para la supervivencia de los tiburones toro y el papel que estos juegan dentro del estero para lograr un equilibrio dentro del mismo, se sugiere incrementar las acciones de conservación en la zona marino-costera del sitio. La inclusión de las 15,000 hectáreas de aguas desprotegidas y el mejoramiento en el diseño de las áreas marinas protegidas ya existentes podrían brindar una mayor protección a los tiburones toro neonatos y juveniles, así como a las especies de interés comercial que utilizan los esteros como sitios de crianza. Es necesario mantener informada a la población local, autoridades y organizaciones enfocadas en la conservación de los sitios sobre la importancia del tiburón toro en la zona, para evitar su captura y promover acciones para la conservación de la especie.

CONCLUSIONES

- Este es el primer estudio sobre ecología trófica de los tiburones toro juveniles en sistemas estuarios en Costa Rica. Los tiburones toro juveniles se alimentan de niveles tróficos altos, fungiendo como depredadores tope en los esteros Coyote y Bongo.
- A pesar de la cercanía entre los esteros Coyote y Bongo, ambos presentan características físicas distintas que influyen en la composición de peces dentro de los mismos y en la variación isotópica de las especies.
- El tejido muscular de los tiburones toro juveniles reflejó la dieta materna, por lo que tejidos con una tasa de recambio lenta no deben ser utilizados para conocer la firma isotópica de individuos juveniles.
- El plasma, que presenta una tasa de recambio alta, refleja la dieta de los individuos muestreados. Los tiburones juveniles con cicatriz umbilical abierta mostraron una transición entre la dieta de la madre y su propia dieta, aún en tejidos con tasa de recambio alta como el plasma. Por lo que, para estimar ecología trófica de los tiburones toro juveniles es recomendable muestrear individuos con cicatriz umbilical cerrada y con LT >95 cm.
- Tanto los tiburones machos como hembras se alimentan de especies y sitios similares, por lo que sus firmas isotópicas no varían entre sexos.
- Los tiburones toro de ambos esteros se alimentan de especies que reflejan marcas isotópicas más costeras, es decir peces que entran del mar a los esteros, esto coincide con las especies de peces más abundantes durante el tiempo de muestreo y con lo reportado para la época lluviosa.
- Los tiburones toro juveniles reflejan un nicho isotópico pequeño, por lo que se están alimentando de presas con niveles tróficos similares y no se observa variación en sus sitios de alimentación.
- Los tiburones toro juveniles del estero Coyote se alimentan de las especies más abundantes (*Arius* sp.), por lo que juegan un rol importante en la regulación de sus poblaciones. Al consumir las presas más abundantes, los tiburones toro reducen la competencia de las especies de peces comerciales, con lo que contribuyen a la salud de sus poblaciones y favorecen las pesquerías locales.

- El estero Coyote es un importante sitio de alimentación para los tiburones toro juveniles. En estudios previos hechos en la zona, se observó que los tiburones permanecen en el sitio durante los primeros años de vida, y en este estudio se puede concluir que lo utilizan como una zona de alimentación.
- Los tiburones toro juveniles muestreados en estero Bongo se alimentan principalmente de peces carcinófagos, fungiendo como importantes reguladores de estas especies en la cadena trófica. Sin embargo, debemos tomar con cautela estos resultados, ya que solo se muestrearon tres individuos y solo se obtuvieron dos muestras de plasma.
- El reconocer la importancia que tienen los esteros Bongo y Coyote en la supervivencia y desarrollo de los tiburones toro, servirá para tomar conciencia sobre la importancia de las pesquerías sostenibles, como lo es la pesca artesanal, y entender como las pesquerías insostenibles podrían poner en riesgo las poblaciones de tiburones y otras especies marinas de la zona. Debido a la importancia de estos sitios para la supervivencia de los tiburones toro juveniles es necesaria una mayor protección de estos sitios.

RECOMENDACIONES Y ESTUDIOS COMPLEMENTARIOS

Se recomienda realizar un análisis de la dieta de los tiburones toro juveniles en época seca, para evaluar si existen variaciones entre temporadas. Se esperaría que los tiburones toro juveniles se alimenten de sitios y especies más cercanas al río durante la época seca ya que se ha observado que durante los meses de octubre a marzo los tiburones en estero Coyote se localizan principalmente en la parte superior del estero (Chávez 2017).

Para comprender mejor la dieta y obtener resultados contundentes sobre la alimentación de los tiburones toro juveniles en estero Bongo es recomendable muestrear una mayor cantidad de tiburones de tallas >95 cm LT y con cicatriz umbilical cerrada. Además, se recomienda utilizar el plasma para analizar la dieta de los tiburones toro juveniles de estero Bongo.

Durante el periodo de muestreo se encontró una gran cantidad de desechos inorgánicos (e. i. botellas plásticas, envases de herbicidas, etc.) dentro del estero Bongo y en las playas cercanas. Es importante realizar una mayor concientización ambiental en las comunidades cercanas y mejorar la vigilancia dentro del área protegida y en las parcelas aledañas.

A pesar de que el estero Bongo se encuentra dentro de un área protegida, no se cumplen con las medidas establecidas en el Plan General de Manejo del Refugio Nacional de vida silvestre Caletas-Arío (CONAC 2017). Durante este estudio se pudieron observar actividades prohibidas en dicho plan, como el uso de botes de motor dentro del estero, la pesca sin permisos, así como el uso de artes de pesca insostenibles dentro del estero como atarrayas y trasmallos. Es importante que las autoridades responsables implementen las medidas establecidas en el plan general de manejo, para cumplir con los objetivos de conservación del sitio.

La técnica de isótopos estables puede ayudar a mejorar nuestro conocimiento sobre las dinámicas tróficas que tienen lugar en sistemas estuarinos. La información aquí presentada puede ser utilizada para desarrollar otros proyectos de investigación en la zona, como estudios de ecología trófica de otros depredadores presentes en el sitio, como los cocodrilos (*Crocodylus acutus*) y las rayas (*Styracura pacifica*), con lo cual se logrará obtener un mejor panorama sobre la estructura trófica de estos sistemas.

Como estudios complementarios, se recomienda realizar muestreos de presas potenciales de tiburones toro en el mar, para conocer cuál es la contribución de las presas a la dieta de los tiburones toro adultos. Así mismo, se recomienda realizar un estudio de uso de hábitat de los tiburones toro juveniles del estero Bongo mediante telemetría acústica, para conocer cuánto tiempo permanecen dentro del sistema estuarino.

ANEXOS

Anexo A. Valores isotópicos de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de las especies muestreadas en el estero Coyote, Guanacaste, Costa Rica. Los valores están representados en promedios ($\pm$ desviación estándar).

Especie	Nombre común	Tejido	n	$\delta^{15}\text{N} \text{‰}$	$\delta^{13}\text{C} \text{‰}$	C:N
<i>Anadara</i> spp.	Piangua	Músculo	23	9.67 (± 0.47)	-20.17 (± 2.25)	5.0
<i>Aratus pisonii</i>	Cangrejo marinera	Músculo	13	5.77 (± 1.58)	-23.91 (± 0.87)	3.7
<i>Arius</i> spp.	Cuminata	Músculo	29	15.18 (± 0.79)	-16.89 (± 1.23)	3.2
<i>Atherinella argentea</i>	Pejerrey argentea	Músculo	10	13.11 (± 0.17)	-18.79 (± 0.37)	3.2
<i>Callinectes arcuatus</i>	Jaiba	Músculo	11	12.14 (± 2.02)	-18.89 (± 2.58)	3.3
<i>Caranx caninus</i>	Jurel	Músculo	9	13.60 (± 0.78)	-19.07 (± 2.45)	3.1
<i>Carcharhinus leucas</i>	Tiburón toro	Músculo	24	16.94 (± 0.25)	-15.05 (± 0.47)	3.3
<i>Carcharhinus leucas</i>	Tiburón toro	Plasma	19	16.17 (± 1.03)	-14.56 (± 0.88)	1.9
<i>Carcharhinus leucas</i>	Tiburón toro	Cel. rojas	19	15.94 (± 0.66)	-14.73 (± 0.91)	2.8
<i>Centropomus</i> spp.	Robalo	Músculo	10	13.74 (± 1.13)	-19.00 (± 2.05)	3.1
<i>Cynoscion</i> spp.	Corvina	Músculo	8	13.75 (± 0.16)	-18.81 (± 0.20)	3.2
<i>Epinephelus quinquefasciatus</i>	Mero	Músculo	3	12.58 (± 1.43)	-20.90 (± 1.34)	2.9
<i>Eucinostomus</i> spp.	Palmito	Músculo	9	12.42 (± 1.00)	-21.25 (± 1.69)	3.1
Fitoplancton	Fitoplancton	Todo	2	8.04 (± 0.85)	-21.45 (± 0.38)	6.3
<i>Genyatremus pacifici</i>	Pez frijol	Músculo	3	13.76 (± 0.24)	-18.40 (± 0.58)	3.3
<i>Goniopsis pulchra</i>	Cangrejo de mangle	Músculo	11	8.49 (± 1.15)	-22.70 (± 2.04)	3.4
<i>Halichoeres aestuaricola</i>	Señorita de manglar	Músculo	8	13.74 (± 0.55)	-17.03 (± 0.95)	3.1
<i>Kyphosus elegans</i>	Chopa	Músculo	10	13.59 (± 1.95)	-19.19 (± 2.86)	3.3
<i>Laguncularia racemosa</i>	Mangle blanco	Hojas	9	4.91 (± 1.94)	-29.59 (± 1.57)	28.3
<i>Litopenaeus</i> spp.	Camarón blanco	Músculo	11	8.38 (± 0.75)	-21.08 (± 1.49)	3.1
<i>Lutjanus</i> spp.	Pargo	Músculo	14	13.64 (± 0.92)	-18.98 (± 2.22)	3.3
<i>Mugil curema</i>	Lisa	Músculo	10	9.90 (± 1.28)	-21.09 (± 2.40)	3.1
<i>Mycteroperca xenarcha</i>	Cabrilla	Músculo	2	14.25 (± 0.53)	-16.82 (± 1.35)	3.2
<i>Ophichthus zophochir</i>	Anguila	Músculo	2	12.46 (± 0.57)	-17.80 (± 0.18)	2.8
<i>Poeciliopsis turrubarensis</i>	Oolomina	Músculo	11	11.34 (± 0.60)	-21.72 (± 0.90)	3.2
<i>Polydactylus approximans</i>	Pez bobo	Músculo	3	15.09 (± 0.45)	-15.65 (± 0.69)	3.1
<i>Polymesoda inflata</i>	Almeja miona	Músculo	15	9.26 (± 0.44)	-20.13 (± 1.94)	4.8
<i>Pomadasys branickii</i>	Roncador	Músculo	10	13.86 (± 0.71)	-18.79 (± 1.37)	3.3
<i>Rhizophora mangle</i>	Mangle rojo	Hojas	7	6.15 (± 0.62)	-28.87 (± 0.93)	26.4
<i>Rypticus nigripinnis</i>	Pez jabón	Músculo	7	12.07 (± 1.23)	-19.53 (± 2.18)	2.9
<i>Saccostrea palmula</i>	Ostra	Músculo	15	8.24 (± 0.53)	-19.53 (± 2.18)	6.3
<i>Selene brevoortii</i>	Palometa jorobada	Músculo	3	14.02 (± 0.19)	-18.30 (± 0.36)	3.4
<i>Sphoeroides annulatus</i>	Botete diana	Músculo	5	14.97 (± 0.77)	-16.40 (± 1.06)	3.2
<i>Styracura pacifica</i>	Raya coluda del pacífico	Músculo	16	12.78 (± 0.76)	-18.38 (± 1.66)	3.3
Zooplancton	Zooplancton	Todo	6	9.67 (± 1.39)	-20.46 (± 0.72)	4.7

Anexo B. Valores isotópicos de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de las especies muestreadas en el estero Bongo, Guanacaste, Costa Rica. Los valores están representados en promedios ($\pm$ desviación estándar).

Especie	Nombre común	Tejido	n	$\delta^{15}\text{N} \text{ ‰}$	$\delta^{13}\text{C} \text{ ‰}$	C:N
<i>Achirus mazatlanus</i>	Lenguado	Músculo	5	11.66 (± 1.40)	-18.90 (± 1.26)	3.1
<i>Aratus pisonii</i>	Cangrejo marinera	Músculo	13	5.20 (± 1.36)	-24.28 (± 0.67)	3.7
<i>Arius</i> spp.	Cuminata	Músculo	16	11.25 (± 1.20)	-23.11 (± 2.22)	3.2
<i>Atherinella argentea</i>	Pejerrey argentea	Músculo	7	11.82 (± 2.32)	-20.62 (± 2.12)	3.2
<i>Callinectes arcuatus</i>	Jaiba	Músculo	10	9.48 (± 0.86)	-22.04 (± 2.50)	3.1
<i>Caranx caninus</i>	Jurel	Músculo	11	14.61 (± 1.79)	-16.53 (± 1.63)	3.2
<i>Carcharhinus leucas</i>	Tiburón toro	Músculo	3	17.31 (± 0.32)	-14.76 (± 0.12)	3.3
<i>Carcharhinus leucas</i>	Tiburón toro	Plasma	2	16.07 (± 0.34)	-13.99 (± 1.20)	1.6
<i>Carcharhinus leucas</i>	Tiburón toro	Cel. rojas	2	15.83 (± 0.54)	-14.00 (± 0.89)	2.8
<i>Centropomus</i> spp.	Robalo	Músculo	12	13.86 (± 1.91)	-18.32 (± 2.90)	3.1
<i>Cerithidea montagnei</i>	Caracol	Músculo	5	6.93 (± 0.18)	-18.79 (± 0.93)	3.8
<i>Cynoscion</i> spp.	Corvina	Músculo	12	14.30 (± 0.71)	-17.21 (± 1.29)	3.2
<i>Eucinostomus</i> spp.	Palmito	Músculo	11	11.35 (± 0.97)	-22.26 (± 1.95)	2.9
Fitoplancton	Fitoplancton	Todo	1	8.18 (± 0.0)	-21.23 (± 0.0)	6.3
<i>Genyatremus pacifici</i>	Pez frijol	Músculo	3	14.12 (± 1.09)	-16.95 (± 1.51)	3.2
<i>Goniopsis pulchra</i>	Cangrejo de mangle	Músculo	11	8.84 (± 0.74)	-23.73 (± 0.87)	3.5
<i>Kyphosus elegans</i>	Chopa	Músculo	3	12.61 (± 0.54)	-19.31 (± 2.57)	3.2
<i>Laguncularia racemosa</i>	Mangle blanco	Hojas	9	4.70 (± 1.14)	-29.40 (± 0.95)	26.1
<i>Litopenaeus</i> spp.	Camarón blanco	Músculo	7	7.54 (± 0.44)	-22.20 (± 0.42)	3.1
<i>Lobotes pacificus</i>	Berrugate	Músculo	2	14.43 (± 1.33)	-18.04 (± 2.03)	3.2
<i>Lutjanus</i> spp.	Pargo	Músculo	11	12.69 (± 0.14)	-21.51 (± 0.39)	3.3
<i>Macrobrachium tenellum</i>	Camarón de río	Músculo	4	7.13 (± 0.61)	-26.95 (± 0.61)	3.5
<i>Mugil curema</i>	Lisa	Músculo	11	8.75 (± 2.83)	-20.33 (± 2.89)	3.3
<i>Ophichthus zophochir</i>	Anguila	Músculo	1	10.49 (± 0.00)	-21.82 (± 0.00)	2.8
<i>Opisthonema libertate</i>	Sardina gallera	Músculo	6	8.83 (± 2.43)	-24.47 (± 3.14)	3.3
<i>Poeciliopsis turubarensis</i>	Oolomina	Músculo	10	10.44 (± 0.64)	-22.27 (± 0.66)	3.4
<i>Polydactylus approximans</i>	Pez bobo	Músculo	11	14.56 (± 0.22)	-16.58 (± 0.26)	3.1
<i>Pomadasys branickii</i>	Roncador	Músculo	11	11.46 (± 0.89)	-19.74 (± 1.35)	3.3
<i>Rhizophora mangle</i>	Mangle rojo	Hojas	10	4.31 (± 0.94)	-30.32 (± 1.93)	26.7
<i>Rypticus nigripinnis</i>	Pez jabón	Músculo	2	12.06 (± 0.16)	-20.82 (± 1.10)	2.9
<i>Saccostrea palmula</i>	Ostra	Músculo	14	7.69 (± 0.48)	-19.74 (± 1.35)	4.3
<i>Selene brevoortii</i>	Palometa jorobada	Músculo	1	13.60 (± 0.00)	-17.22 (± 0.00)	3.1
<i>Styracura pacifica</i>	Raya coluda del pacífico	Músculo	12	12.19 (± 0.69)	-18.39 (± 1.07)	3.3
<i>Trachinotus rhodopus</i>	Pámpano	Músculo	10	13.59 (± 0.31)	-18.08 (± 0.36)	3.1
Zooplancton	Zooplancton	Todo	3	10.57 (± 0.38)	-20.62 (± 1.05)	4.4

LITERATURA CITADA

- Alderete, M. . 2010. Ecología Trófica del Tiburón Ballena (*Rhincodon typus*) en zonas de agregación de la Isla Holbox, Quintana Roo (tesis de maestría). Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, La Paz, Baja California Sur, México.
- Allen, G. R., y D. R. Robertson. 1998. Peces del Pacífico oriental tropical. Segunda ed. Conabio, Agrupación Sierra Madre y Cemex, Ciudad de México, México.
- Almany, G. R., L. F. Peacock, C. Syms, M. I. McCormick, y G. P. Jones. 2007. Predators target rare prey in coral reef fish assemblages. *Oecologia* 152:751–761.
- Arauz, R., Y. Cohen, B. J. A. Bolaños, y M. Pérez. 2004. Decline of shark populations in the Exclusive Economic Zone of Costa Rica. International Symposium on Marine Biological Indicators for Fisheries Management. UNESCO, FAO, Paris, France.
- Artero, C., C. C. Koenig, P. Richard, R. Berzins, G. Guillou, C. Bouchon, y L. Lampert. 2015. Ontogenetic dietary and habitat shifts in goliath grouper *Epinephelus itajara* from French Guiana. *Endangered Species Research* 27:155–168.
- Ballantyne, J. S. 1997. Jaws : The Inside Story . The Metabolism of Elasmobranch Fishes. *Comparative Biochemistry & Physiology* 118:703–742.
- Bearhop, S., C. E. Adams, S. Waldron, R. A. Fuller, y H. Macleod. 2004. Determining trophic niche width: A novel approach using stable isotope analysis. *Journal of Animal Ecology* 73:1007–1012.
- Belicka, L. L., P. Matich, R. Jaffé, y M. R. Heithaus. 2012. Fatty acids and stable isotopes as indicators of early-life feeding and potential maternal resource dependency in the bull shark *Carcharhinus leucas*. *Marine Ecology Progress Series* 455:245–256.
- Benítez-Mondragón, B. D., C. M. Aguilar-Betancourt, G. González-Sansón, G. Lucano-Ramírez, J. R. Flores-Ortega, S. Ruíz-Ramírez, y D. Kosonoy-Aceves. 2019. Diet composition and its relation to the characteristics of the digestive tract of the blue sea

- catfish, *Ariopsis guatemalensis* (Actinopterygii: Ariidae), in Barra de Navidad Lagoon, Jalisco, México. *Ciencias Marinas* 45:151–162.
- Berasategui, A. ., M. Acha, y N. Fernández-Aráoz. 2004. Spatial patterns of ichthyoplankton assemblage in the Río de la Plata Estuary (Argentina-Uruguay). *Estuarine Coastal and Shelf Science* 60:599–610.
- Bergamino, L., A. Tudurí, C. Bueno, E. Brugnoli, L. Valenzuela, A. Martínez, L. Perez-Becoña, F. Scarabino, y F. García-Rodríguez. 2017. Aplicación de isótopos estables como indicadores de flujos de energía en ambientes costeros de Uruguay. *Revista del laboratorio Tecnológico del Uruguay* 13:9–18.
- Bornatowski, H., A. F. Navia, R. B. Rennó, V. Albihoa, y M. F. Corrêa Maia. 2014. Ecological importance of sharks and rays in a structural foodweb analysis in southern Brazil. *ICES Journal of Marine Science* 71:1586–1592.
- Branstetter, S., y R. Stiles. 1987. Age and growth estimates of the bull shark, *Carcharhinus leucas*, from the northern Gulf of Mexico. *Environmental Biology of Fisheries* 20:1–13.
- Bravo, J. 2005. Manglares de la península de Nicoya, Costa Rica. *Tropical Journal of Environmental Sciences* 30:59–63.
- Bruno, D. O., S. A. Barbini, J. M. Díaz de Astarloa, y P. Martos. 2013. Fish abundance and distribution patterns related to environmental factors in a choked temperate coastal lagoon (Argentina). *Brazilian Journal of Oceanography* 61:43–53.
- Bussing, W. 1998. Peces de las aguas continentales de Costa Rica. Segunda ed. Editorial Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.
- Campbell, T. 2015. Blood Sample Collection and Preparation in Fish. Páginas 183–186 *en*. *Exotic animal hematology and cytology*. Wiley-Blackwell.
- Carlisle, A. B., S. L. Kim, B. X. Semmens, D. J. Madigan, S. J. Jorgensen, C. R. Perle, S. D. Anderson, T. K. Chapple, P. E. Kanive, y B. A. Block. 2012. Using stable isotope analysis

to understand the migration and trophic ecology of northeastern Pacific white sharks (*Carcharodon carcharias*). PLoS ONE 7:1–15.

- Carlisle, A., S. Litvin, M. Daniel, K. Lyons, J. Bigman, M. Ibarra, y J. Bizzarro. 2017. Interactive effects of urea and lipid content confound stable isotope analysis in elasmobranch fishes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 74:419–428.
- Carrión-Cortez, J., C. Canales-Cerro, R. Arauz, y R. Riosmena-Rodríguez. 2013. Habitat Use and Diet of Juvenile Eastern Pacific Hawksbill Turtles (*Eretmochelys imbricata*) in the North Pacific Coast of Costa Rica. *Chelonian Conservation and Biology* 12:235–245.
- Caut, S., M. J. Jowers, L. Michel, G. Lepoint, y A. T. Fisk. 2013. Diet- and tissue-specific incorporation of isotopes in the shark *Scyliorhinus stellaris*, a North Sea mesopredator. *Marine Ecology Progress Series* 492:185–198.
- Ceccarelli, D. M., y T. Ayling. 2010. Role, importance and vulnerability of top predators on the Great Barrier Reef – A review. *Great Barrier Reef Marine Park Authority* 105:150.
- Chávez, E. J. 2017. Movimientos y uso del hábitat del tiburón toro (*Carcharhinus leucas*) en el estero Coyote, Guanacaste, Costa Rica (tesis de maestría). Universidad Nacional, Heredia, Heredia, Costa Rica.
- Clementz, M. T., y P. L. Koch. 2001. Differentiating aquatic mammal habitat and foraging ecology with stable isotopes in tooth enamel. *Oecologia* 129:461–472.
- Cliff, G., y S. F. Dudley. 1991. Sharks caught in the protective gill nets off Natal, South Africa. *South African Journal of Marine Science* 10:253–270.
- Cochran, J. ., H. . Bokuniewicz, y P. . Yager. 2019. *Encyclopedia of Ocean Sciences*. 3rd edición. Academic Press.
- Compagno, L., M. Dando, y S. Fowler. 2006. *Guía de campo de los tiburones del mundo*. Primera ed. Omega, Barcelona, España.

- CONAC. 2017. Plan General de Manejo del Refugio Nacional de Vida Silvestre Caletas-Arío. Costa Rica.
- Cortés, E. 1999. Standardized diet compositions and trophic levels of sharks. *Journal of Marine Science* 56:707–717.
- Cortés, E. 2002. Incorporating uncertainty into demographic modeling: Application to shark populations and their conservation. *Conservation Biology* 16:1048–1062.
- Créach, V., M. T. Schricke, G. Bertru, y A. Mariotti. 1997. Stable isotopes and gut analyses to determine feeding relationships in saltmarsh macroconsumers. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 44:599–611.
- Cruz-Martínez, A., X. Chiappa-Carrara, y V. Arenas-Fuentes. 2004. Age and growth of the bull shark, *Carcharhinus leucas*, from southern Gulf of Mexico. *Journal of Northwest Atlantic Fishery Science* 35:367–374.
- Curtis, T. B. 2008. Distribution, movements and habitat use of bull sharks (*Carcharhinus leucas*, Müller and Henle 1839) in the Indian River Lagoon System, Florida (Tesis de maestría). University of Florida, Gainesville, Florida, Estados Unidos.
- Curtis, T. H., D. H. Adams, y G. H. Burgess. 2011. Seasonal distribution and habitat associations of bull sharks in the Indian River Lagoon, Florida: A 30-year synthesis. *Transactions of the American Fisheries Society* 140:1213–1226.
- Daly, R., P. W. Froneman, y M. J. Smale. 2013. Comparative feeding ecology of bull sharks (*Carcharhinus leucas*) in the coastal waters of the southwest Indian Ocean inferred from stable isotope analysis. *Plos One* 8:1–11.
- Daly, R., y M. Smale. 2013. Evaluation of an underwater biopsy probe for collecting tissue samples from bull sharks *Carcharhinus leucas*. *African Journal of Marine Science* 35:129–132.
- Daly, R., M. J. Smale, P. D. Cowley, y P. W. Froneman. 2014. Residency patterns and

migration dynamics of adult bull sharks (*Carcharhinus leucas*) on the east coast of Southern Africa. PLoS ONE 9:1–11.

Darnaude, A. M., C. Salen-Picard, N. Polunin, y M. L. Harmelin-Vivien. 2004. Trophodynamic linkage between river runoff and coastal fishery yield elucidated by stable isotope data in the Gulf of Lions (NW Mediterranean). *Oecologia* 138:325–332.

Davenport, S. ., y N. . Bax. 2002. A trophic study of a marine ecosystem off southeastern Australia using stable isotopes of carbon and nitrogen. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 59:514–530.

Davias, L. A., M. S. Kornis, y D. L. Breitburg. 2014. Environmental factors influencing $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ in three Chesapeake Bay fishes. *Journal of Marine Science* 71:689–702.

Decreto 33232-MINAE. 2006. La Gaceta 154, Costa Rica, 11 de agosto del 2006.

Deniro, M. J., y S. Epstein. 1980. Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals. *Geochimica et cosmochimica acta* 45:341–351.

Dicken, M., N. Hussey, H. Christiansen, M. Smale, N. Nkabi, G. Cliff, y S. Wintner. 2017. Diet and trophic ecology of the tiger shark (*Galeocerdo cuvier*) from South African Waters. *Plos One* 12:e0177897.

Elliott, M., A. Whitfield, I. Potter, S. Blaber, D. Cyrus, F. Nordlie, y T. Harrison. 2007. The guild approach to categorizing estuarine fish assemblages: a global review. *Fish and fisheries* 8:241–268.

Espinoza, M., M. R. Heupel, A. J. Tobin, y C. A. Simpfendorfer. 2016. Evidence of Partial Migration in a Large Coastal Predator: Opportunistic Foraging and Reproduction as Key Drivers? PLoS ONE 11:1–22.

Espinoza, M., J. Matley, M. R. Heupel, A. J. Tobin, A. T. Fisk, y C. A. Simpfendorfer. 2019. Multi-tissue stable isotope analysis reveals resource partitioning and trophic relationships of large reef-associated predators. *Marine Ecology Progress Series* 615:159–176.

- Espinoza, M., y I. S. Wehrtmann. 2008. Stomach content analyses of the threadfin anglerfish *Lophiodes Spilurus* (Lophiiformes: Lophiidae) associated with deepwater shrimp fisheries from the central Pacific of Costa Rica. *Biologia Tropical* 56:1959–1970.
- Estupiñán-Montaña, C., L. G. Cedeño-Figueroa, y F. Galván-Magaña. 2009. Hábitos alimentarios del tiburón martillo *Sphyrna lewini* (Griffith & Smith, 1834) (Chondrichthyes) en el Pacífico ecuatoriano. *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 44:379–386.
- Estupiñán-Montaña, C., J. F. Estupiñán-Ortiz, L. G. Cedeño-Figueroa, F. Galván-Magaña, y C. J. Polo-Silva. 2017. Diet of the bull shark, *Carcharhinus leucas*, and the tiger shark, *Galeocerdo cuvier*, in the eastern Pacific Ocean. *Turkish journal of Zoology* 41:1111–1117.
- Ferretti, F., B. Worm, G. L. Britten, M. R. Heithaus, y H. K. Lotze. 2010. Patterns and ecosystem consequences of shark declines in the ocean. *Ecology Letters* 13:1055–1071.
- Fischer, W., F. Krupp, W. Schneider, C. Sommer, K. E. Carpenter, y V. H. Niem. 1995. Guía FAO para la identificación de especies para los fines de la pesca: Pacífico Centro-Oriental. Italia, Roma.
- Fisk, A. T., J. L. Tittlemier, J. L. Pranschke, y R. J. Norstrom. 2002. Using anthropogenic contaminants and stable isotopes to assess the feeding ecology of the Greenland shark. *Ecology* 83:2162–2172. Johns Hopkins University Press.
- Fortunato, H. 2016. Mollusks: Tools in Environmental and Climate Research. *American Malacological Bulletin* 33:1–15.
- Freitas, R. A. ., R. . Rosa, S. . Gruber, y B. . Wetherbee. 2006. Early growth and juvenile population structure of lemon sharks *Negaprion brevirostris* in the Atol das Rocas Biological Reserve , off north-east Brazil. *Journal of Fish Biology* 68:1319–1332.
- Froese, R., y D. Pauly. 1999. FishBase 99: conceptos, estructura y fuentes de datos. ICLARM 322. <<http://www.fishbase.org/>> Consultado el 2 de mayo del 2020.

- Froese, R., y D. Pauly. 2019. Fishbase. World Wide Web electronic publication. <www.fishbase.org>. Consultado el 2 de mayo del 2020.
- Fry, B. 2006. Stable Isotope Ecology. Springer Science & Business Media, New York, Estados Unidos.
- Gallagher, A. J., D. S. Shiffman, E. E. Byrnes, C. M. Hammerschlag-peyer, y N. Hammerschlag. 2017. Patterns of resource use and isotopic niche overlap among three species of sharks occurring within a protected subtropical estuary. *Aquatic Ecology* 51:435–448. Springer Netherlands.
- Garcia, E., M. Duarte, C, y J. . Middelburg. 2002. Carbon and nutrient deposition in a Mediterranean seagrass (*Posidonia oceanica*) meadow. *Limnology and oceanography* 47:23–32.
- Hastings, P. A., y L. T. Findley. 2007. Marine Fishes of the Upper Gulf Biosphere Reserve, Northern Gulf of California. Página 382 *en* R. Felger y B. Broyles, editores. Dry Borders. Great Natural Reserves of the Sonoran Desert. 1st edición. University of Utah Press.
- Hazon, N., A. Wells, R. D. Pillans, J. P. Good, W. G. Anderson, y C. E. Franklin. 2003. Urea based osmoregulation and endocrine control in elasmobranch fish with special reference to euryhalinity. *Comparative Biochemistry and Physiology* 136:685–700.
- Heithaus, M. R., T. Alcoverro, R. Arthur, D. A. Burkholder, K. A. Coates, M. J. A. Christianen, N. Kelkar, S. A. Manuel, A. J. Wirsing, W. J. Kenworthy, y J. W. Fourqurean. 2014. Seagrasses in the age of sea turtle conservation and shark overfishing. *Frontiers in Marine Science* 1:1–6.
- Heithaus, M. R., B. K. Delius, A. J. Wirsing, y M. M. Dunphy-daly. 2009. Physical factors influencing the distribution of a top predator in a subtropical oligotrophic estuary. *Limnology and oceanography* 54:472–482.
- Heithaus, M. R., A. Frid, A. J. Wirsing, y B. Worm. 2008. Predicting ecological consequences of marine top predator declines. *Trends in Ecology and Evolution* 23:202–210.

- Heithaus, M. R., J. J. Vaudo, S. Kreicker, C. A. Layman, M. Krützen, D. A. Burkholder, K. Gastrich, C. Bessey, R. Sarabia, K. Cameron, A. Wirsing, J. A. Thomson, y M. M. Dunphy-daly. 2013. Apparent resource partitioning and trophic structure of large-bodied marine predators in a relatively pristine seagrass ecosystem. *Marine Ecology Progress Series* 481:225–237.
- Henningsen, A. D. 1994. Tonic immobility in 12 elasmobranchs: Use as an aid in captive husbandry. *Zoo Biology* 13:325–332.
- Heupel, M. R., y C. A. Simpfendorfer. 2011. Estuarine nursery areas provide a low-mortality environment for young bull sharks *Carcharhinus leucas*. *Marine Ecology Progress Series* 433:237–244.
- Heupel, M. R., C. A. Simpfendorfer, M. Espinoza, A. F. Smoothey, A. Tobin, y V. Peddemors. 2015. Conservation challenges of sharks with continental scale migrations. *Frontiers in Marine Science* 2:1–7.
- Heupel, M. R., B. G. Yeiser, A. B. Collins, L. Ortega, y C. A. Simpfendorfer. 2010. Long-term presence and movement patterns of juvenile bull sharks , *Carcharhinus leucas* , in an estuarine river system. *Marine and Freshwater Research* 61:1–10.
- Holdridge, L. R. 1967. Life zone ecology. Tropical Science Center. San José, Costa Rica.
- Holguin, G., y Y. Bashan. 2007. La importancia de los manglares y su microbiología para el sostenimiento de las pesquerías costeras. Páginas 239–253 *en* R. Ferrera-Cerrato y A. Alarcon, editores. *Microbiología agrícola: hongos, bacterias, micro y macrofauna, control biológico, planta-microorganismo*. Editorial Trillas, Ciudad de México, México.
- Hussey, N. E., J. Brush, I. D. McCarthy, y A. T. Fisk. 2010. $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ diet-tissue discrimination factors for large sharks under semi-controlled conditions. *Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology* 155:445–453.
- Hussey, N. E., S. F. Dudley, I. D. McCarthy, G. Cliff, y A. T. Fisk. 2011. Stable isotope profiles of large marine predators: viable indicators of trophic position, diet, and movement

- in sharks? Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 68:2029–2045.
- Hussey, N. E., M. A. MacNeil, M. C. Siple, B. N. Popp, S. F. J. Dudley, y A. T. Fisk. 2015. Expanded trophic complexity among large sharks. Food Webs 4:1–7.
- Hussey, N., H. McCann, G. Cliff, S. Dudley, S. Wintner, y A. T. Fisk. 2012a. Size-Based Analysis of Diet and Trophic Position of the White Shark, *Carcharodon carcharias*, in South African Waters. Página 567 *en* M. L. Domeier, editor. Global perspectives on the biology and life history of the white shark. CRC Press.
- Hussey, N., J. A. Olin, M. J. Kinney, B. C. Mcmeans, y A. T. Fisk. 2012b. Lipid extraction effects on stable isotope values ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$) of elasmobranch muscle tissue. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 434–435:7–15.
- Ishikawa, Y., T. Sakamoto, y K. Mizuhara. 2003. Effect of density of riparian vegetation on effective tractive force. Journal of Forest Research 8:235–246.
- Jackson, A. L., R. Inger, A. C. Parnell, y S. Bearhop. 2011. Comparing isotopic niche widths among and within communities: SIBER-Stable Isotope Bayesian Ellipses in R. Journal of Animal Ecology 80:595–602.
- Jaeger, A., P. Blanchard, P. Richard, y Y. Cherel. 2009. Using carbon and nitrogen isotopic values of body feathers to infer inter- and intra-individual variations of seabird feeding ecology during moult. Marine Biology 156:1233–1240.
- Jaime-Rivera, M., J. Caraveo-Patiño, M. Hoyos-Padilla, y F. Galván-Magaña. 2014. Feeding and migration habits of white shark *Carcharodon carcharias* (Lamniformes: Lamnidae) from Isla Guadalupe inferred by analysis of stable isotopes $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$. Biología Tropical 62:637–647.
- Jaime-rivera, M., y M. Hoyos-padilla. 2013. Evaluation of biopsy systems for sampling white shark. Revista de Biología Marina y Oceanografía 48:345–351.
- Jara-Marini, M., F. Páez-Osuna, y M. Soto-Jiménez. 2004. Trophic Relationships within a

- Subtropical Estuarine Food Web from the SoJara-Marini, M., F. Páez-Osuna, y M. Soto-Jiménez. 2004. Trophic Relationships within a Subtropical Estuarine Food Web from the Southeast Gulf of California through Analysis of Srabl. Páginas 69–79 en F. Amezcua y B. Bellgraph, editores. Fisheries Management of Mexican and Cenral American Estuaries. Springer, Dordrecht.
- Jenson, N. H. 1976. Reproduction of the Bull Shark , *Carcharhinus leucas*, in the Lake Nicaragua-Rio San Juan System. *Investigations of the Ichthyofauna Lakes* 40:539–559.
- Karl, S. A., A. L. F. Castro, J. A. Lopez, P. Charvet, y G. H. Burgess. 2011. Phylogeography and conservation of the bull shark (*Carcharhinus leucas*) inferred from mitochondrial and microsatellite DNA. *Conservation Genetics* 12:371–382.
- Kim, S. L., D. R. Casper, F. Galván-magaña, R. Ochoa-díaz, S. B. Hernández-Aguilar, y P. L. Koch. 2012a. Carbon and nitrogen discrimination factors for elasmobranch soft tissues based on a long-term controlled feeding study. *Environmental Biology of Fisheries* 95:37–52.
- Kim, S. L., y P. L. Koch. 2012. Methods to collect, preserve, and prepare elasmobranch tissues for stable isotope analysis. *Environmental Biology of Fishes* 95:53–63.
- Kim, S. L., C. Martínez, D. Casper, y P. L. Koch. 2012b. Isotopic incorporation rates for shark tissues from a long-term captive feeding study. *The Journal of Experimental Biology* 215:2495–2500.
- Kinney, M. J., N. E. Hussey, A. T. Fisk, A. J. Tobin, y C. A. Simpfendorfer. 2011. Communal or competitive? Stable isotope analysis provides evidence of resource partitioning within a communal shark nursery. *Marine Ecology Progress Series* 439:263–276.
- Kitchell, J. F., T. E. Essington, C. H. Boggs, D. E. Schindler, y C. J. Walters. 2002. The Role of Sharks and Longline Fisheries in a Pelagic Ecosystem of the Central Pacific. *Ecosystems* 5:202–216.
- Laurrabaquio, A, N. S., V. Islas-Villanueva, D. H. Adams, M. Uribe-Alcocer, J. R. Alvarado-

- Bremer, y P. Díaz-Jaimes. 2019. Genetic evidence for regional philopatry of the Bull Shark (*Carcharhinus leucas*), to nursery areas in estuaries of the Gulf of Mexico and western North Atlantic ocean. *Fisheries Research* 209:67–74.
- Li, Y., Y. Zhang, N. E. Hussey, y X. Dai. 2016. Urea and lipid extraction treatment effects on $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ values in pelagic sharks. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 30:1–8.
- Linde, M., A. Grau, F. Riera, y E. Massutí-Pascual. 2004. Analysis of trophic ontogeny in *Epinephelus marginatus* (Serranidae). *Cybium* 28:27–35.
- Llerena, Y., E. Espinoza, y C. Peñaherrera. 2012. Manual para el monitoreo y marcaje en tiburones juveniles de las zonas de mangalar de la Reserva Marina de Galápagos. Galápagos, Ecuador.
- Loneragan, N. R., S. E. Bunn, y D. M. Kellaway. 1997. Are mangroves and seagrasses sources of organic carbon for penaeid prawns in a tropical Australian estuary? A multiple stable-isotope study. *Marine Biology* 130:289–300.
- Lowe, C. G., B. M. Wetherbee, G. L. Crow, y A. L. Tester. 1996. Ontogenetic dietary shifts and feeding behavior of the tiger shark, *Galeocerdo cuvier*, in Hawaiian waters. *Environmental Biology of Fishes* 47:203–211.
- Macneil, M. A., G. B. Skomal, y A. T. Fisk. 2005. Stable isotopes from multiple tissues reveal diet switching in sharks. *Marine Ecology Progress Series* 302:199–206.
- Malinowski, C. 2019. Florida State University Libraries Spawning Patterns , Trophic Ecology , and Toxicology : Conservation Related Research of an Iconic Reef Fish , the Atlantic Goliath Grouper (doctoral thesis). Florida State University, Florida, United States.
- Malpica-cruz, L., S. Z. Herzka, O. Sosa-nishizaki, y J. P. Lazo. 2012. Tissue-specific isotope trophic discrimination factors and turnover rates in a marine elasmobranch : empirical and modeling results. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 69:551–564.

- Martin, R. A. 2005. Conservation of freshwater and euryhaline elasmobranchs : a review. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 85:1049–1073.
- Mateo, M. A., P. Ferrio, y J. . Araus. 2004. Isótopos estables en fisiología vegetal. Páginas 113–160 en M. . Reigosa, N. Pedrol, y A. Sánchez, editores. *La ecofisiología vegetal, una ciencia de síntesis*. 1a edición. Paranimfo, S.A, Madrid, España.
- Matich, P., y M. R. Heithaus. 2014. Multi-tissue stable isotope analysis and acoustic telemetry reveal seasonal variability in the trophic interactions of juvenile bull sharks in a coastal estuary. *The Journal of animal ecology* 83:199–213.
- Matich, P., M. R. Heithaus, y C. A. Layman. 2010. Size-based variation in intertissue comparisons of stable carbon and nitrogen isotopic signatures of bull sharks (*Carcharhinus leucas*) and tiger sharks (*Galeocerdo cuvier*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 67:877–885.
- Matich, P., M. R. Heithaus, y C. A. Layman. 2011. Contrasting patterns of individual specialization and trophic coupling in two marine apex predators. *Journal of Animal Ecology* 80:294–305.
- Matich, P., J. J. Kiszka, M. R. Heithaus, J. Mourier, y S. Planes. 2015. Short-term shifts of stable isotope ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$) values in juvenile sharks within nursery areas suggest rapid shifts in energy pathways. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 465:83–91.
- Monge-Nájera, J. 2004. *Historia Natural de Guanacaste*. 1a edición. Esitorial Universidad Estatal a Distancia, San José, Costa Rica.
- Munroe, S. E. M., M. R. Heupel, A. T. Fisk, M. Logan, y C. A. Simpfendorfer. 2015. Regional movement patterns of a small-bodied shark revealed by stable-isotope analysis. *Journal of Fish Biology* 86:1567–1586.
- Muzuka, A. N. N., y J. P. Shunula. 2006. Stable isotope compositions of organic carbon and nitrogen of two mangrove stands along the Tanzanian coastal zone. *Estuarine Coastal*

- and Shelf Science 66:447–458.
- Myers, G. 1952. Sharks and sawfishes in the Amazon. *Copeia* 4:268–269.
- Myers, R., J. K. Baum, T. D. Shepherd, S. P. Powers, y C. H. Peterson. 2007. Cascading effects of the loss of apex predatory sharks from a coastal ocean. *Science* 315:1846–1850.
- Naranjo, B. 2016. Ecología trófica de la trucha arcoíris *Oncorhynchus mykiss* (Salmonidae) en el Río Savegre, San Gerardo de Dota, Costa Rica (Tesis de maestría). Universidad de Costa Rica, San José, San José, Costa Rica.
- Navia, A. F., P. A. Mejía-Falla, J. López-García, A. Giraldo, y V. H. Cruz-Escalona. 2017. How many trophic roles can elasmobranchs play in a marine tropical network ? *Marine and Freshwater Research* 68:1–12.
- Neer, J. A., B. A. Thompson, y C. K. 2005. Age and growth of *Carcharhinus leucas* in the northern Gulf of Mexico: incorporating variability in size at birth. *Fish Biology* 67:370–383.
- Newsome, S. D., C. Martinez del Río, S. Bearhop, y D. L. Phillips. 2007. A niche for isotopic ecology. *Frontiers in Ecology and the Environment* 5:429–436.
- O’Connell, M. T., T. D. Shepherd, A. M. U. O’Connell, y R. A. Myers. 2007. Long-term declines in two apex predators, bull sharks (*Carcharhinus leucas*) and alligator gar (*Atractosteus spatula*), in Lake Pontchartrain, an oligohaline estuary in southeastern Louisiana. *Estuaries and Coasts* 30:567–574.
- Olin, J. A., N. E. Hussey, M. Fritts, M. R. Heupel, C. A. Simpfendorfer, G. R. Poulakis, A. T. Fisk, y P. Charlotte. 2011. Maternal meddling in neonatal sharks : implications for interpreting stable isotopes in young animals. 1008–1016.
- Olson, K. R. 1999. Rectal gland and volume homeostasis. Páginas 329–352 *en* W. C. Hamlett, editor. *The biology of elasmobranch fishes*. Johns Hopkins University Press, Baltimore, Maryland, Estados Unidos.

- Ortega, A., J. C. Escobar & E. A. Rubio. 1996. Aspectos sobre el crecimiento y la reproducción del "canchimalo" *Arius seemanni* (Pisces: Siluriformes. Ariidae) en el manglar de la bahía de Buenaventura. *III Simposio colombiano de Ictiología*. Barranquilla, Colombia.
- Ortiz-Araya, S., J. Chacón-Guzmán, R. Viquez-Portugués, y J. A. Sibaja-Cordero. 2018. Spatial and temporal structure of the ichthyofauna of the estuary of tamarindo, las baulas national marine park, Costa Rica. *Revista de Biología Tropical* 66:255–268.
- Parnell, A. 2019. A Stable Isotope Mixing Model. R Foundation for statistical computing. <<https://cran.r-project.org/web/packages/simmr/simmr.pdf>>.
- Payán, L. F., A. F. Navia, E. A. Rubio, y P. A. Mejía-falla. 2011. Biología de la raya guitarra *Rhinobatos leucorhynchus* (Günther, 1867) (Rajiformes: Rhinobatidae) en el Pacífico colombiano. *Latin American Journal of Aquatic Research* 39:286–296.
- Peterson, B. J., y B. Fry. 1987. Stable Isotopes in Ecosystem Studies. *Annual Review of Ecology and Systematics* 18:293–320.
- Picón, J. C., R. Rodríguez, y J. Braco. s/f. Diagnóstico socio ambiental en los sectores refugio nacional de vida silvestre camaronal, refugio nacional de vida silvestre Caletas-Arío y humedales de la cuenca Nandamojo. Centro Mesoamericano para el Desarrollo Sostenible del Trópico Seco, Universidad Nacional. Costa Rica.
- Pinnegar, J. ., y N. V. C. Polunin. 2000. Contributions of stable-isotope data to elucidating food webs of Mediterranean rocky littoral fishes. *Oecologia* 122:399–409.
- Post, D. M. 2002. Using stable isotopes to estimate trophic position: models, methods and assumptions. *Ecological Society of America* 83:703–718.
- Post, D. M., C. A. Layman, D. A. Arrington, G. Takimoto, J. Quattrochi, y C. G. Montaña. 2007. Getting to the fat of the matter: Models, methods and assumptions for dealing with lipids in stable isotope analyses. *Oecologia* 152:179–189.

- Post, D. M., M. L. Pace, y N. G. Hairston. 2000. Ecosystem size determines food-chain length in lakes. *Nature* 405:1047–1049.
- PRETOMA, y ASOBEJUCO. 2013. Propuesta para la creación del Área Marina de Manejo “Los Pargos,” en Nandayure, Costa Rica, basada sobre los principios de la pesca sostenible. Costa Rica.
- Primavera, J. H. 2000. Development and conservation of Philippine mangroves: institutional issues. *Ecological Economics* 35:91–106.
- Quezada-Romegialli, C., L. Jackson, A. B. Hayden, K. K. Kahilainen, C. Lopes, y C. Harrod. 2018. trophicPosition, an R package for the Bayesian estimation of trophic position from consumer stable isotope ratios. *Methods in Ecology and Evolution* 9:1592–1599.
- R Core team. 2020. R: A language and environment for statistical computing. Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <<https://www.r-project.org/>>.
- Rasher, D. B., A. S. Hoey, y M. E. Hay. 2017. Cascading predator effects in a Fijian coral reef ecosystem. *Scientific Reports* 1–10.
- Rizzari, J. R., A. J. Frisch, A. S. Hoey, y M. I. McCormick. 2014. Not worth the risk: apex predators suppress herbivory on coral reefs. *Oikos* 123:829–836.
- Roff, G., C. J. Brown, M. A. Priest, y P. J. Mumby. 2018. Decline of coastal apex shark populations over the past half century. *Communications Biology* 1:1–11.
- Rojas, J., M. Pizarro, y M. Castro. 1994. Diversidad y abundancia íctica en tres áreas de manglar en el Golfo de Nicoya, Costa Rica. *Biología Tropical* 42:663–672.
- Rojas, J. R. 2006. Reproducción y alimentación del tiburón enano *Mustelus dorsalis* (Pisces Triakidae) en el Golfo de Nicoya, Costa Rica: Elementos para un manejo sostenible. *Biología Tropical* 54:861–871.
- Rönnbäck, P. 1999. The ecological basis for economic value of seafood production

- supported by mangrove ecosystems. *Ecological Economics* 29:235–252.
- Rönnbäck, P., M. Troell, N. Kautsky, y J. H. Primavera. 1999. Distribution pattern of shrimp and fish among *Avicennia* and *Rhizophora* microhabitats in the Pagbilao Mangroves, Philippines. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 48:223–234.
- Rosas, L. R., y P. L. Andrade. 2015. Isotopos estables de nitrógeno y carbono para entender la ecología trófica de los organismos marinos. *Boletín de la Asociación Argentina de Malacología* 4:19–22.
- Rossmann, S., P. H. Ostrom, F. Gordon, y E. F. Zipkin. 2016. Beyond carbon and nitrogen: Guidelines for estimating three-dimensional isotopic niche space. *Ecology and Evolution* 6:2405–2413.
- Sadowsky, V. 1971. Notes on the bull shark; *Carcharhinus leucas*; in the lagoon region of Carmanea; Brazil. *Instituto oceanografia. São Paulo* 20:71–78.
- Sánchez, M. K. 2017. Hábitat trófico del tiburón toro *Carcharhinus leucas*, tiburón tigre *Galeocerdo cuvier* y tiburón martillo *Sphyrna mokarran* en el caribe mexicano (tesis de maestría). Instituto Politécnico Nacional, La Paz, Baja California Sur, México.
- Schindler, D. E., T. E. Essington, J. F. Kitchell, C. Boggs, y R. Hilborn. 2002. Sharks and tunas: fisheries impacts on predators with contrasting life histories. *Ecological Society of America* 12:735–748.
- Shiffman, D. S., A. J. Gallagher, M. D. Boyle, C. M. Hammerschlag-Peyer, y N. Hammerschlag. 2012. Stable isotope analysis as a tool for elasmobranch conservation research: A primer for non-specialists. *Marine and Freshwater Research* 63:635–643.
- Simpfendorfer, C. A., G. G. Freitas, T. R. Wiley, y M. R. Heupel. 2005. Distribution and habitat partitioning of immature bull sharks (*Carcharhinus leucas*) in a Southwest Florida estuary. *Estuaries* 28:78–85.
- Simpfendorfer, C., y G. H. Burgess. 2009. *Carcharhinus leucas*. The IUCN Red List of

Threatened Species. <www.iucnredlist.org> Consultado el 2 de mayo del 2020.

- Smith, S. V, S. E. Ibarra-obando, V. Díaz-castañeda, F. J. Aranda-manteca, J. D. Carriquiry, B. N. Popp, y O. Gonzalez-yajimovich. 2008. Sediment Organic Carbon in Todos Santos Bay , Baja California , Mexico. 31:719–727.
- Snelson, F., T. Mulligan, y S. Williams. 1984. Food habits, occurrence, and population structure of the bull shark, *Carcharhinus leucas*, in Florida coastal lagoons. *Bulletin of Marine Science* 34:71–80.
- Snelson, F., y S. E. Williams. 1981. Notes on the Occurrence, Distribution, and Biology of Elasmobranch Fishes in the Indian River Lagoon System, Florida. *Estuaries* 4:110–120.
- Stevens, J. D., R. Bonfil, N. K. Dulvy, y P. A. Walker. 2000. The effects of fishing on sharks, rays, and chimaeras (chondrichthyans), and the implications for marine ecosystems. 476–494.
- Stock, C., y B. X. Semmens. 2016. MixSIAR GUI User Manual. Scripps Institution of Oceanography, UC San Diego, San Diego, United States.
- Syväranta, J., A. Lensu, T. J. Marjomäki, S. Oksanen, y R. I. Jones. 2013. An Empirical Evaluation of the Utility of Convex Hull and Standard Ellipse Areas for Assessing Population Niche Widths from Stable Isotope Data. *PLoS ONE* 8:1–8.
- Tamburin, E., S. Kim, F. Elorriaga-Verplancken, D. Madigan, M. Hoyos-Padilla, A. Sánchez-González, Alberto Hernández-Herrera, J. L. Castillo-Geniz, C. J. Godinez-Padilla, y F. Galván-Magaña. 2019. Isotopic niche and resource sharing among young sharks (*Carcharodon carcharias* and *Isurus oxyrinchus*) in Baja California, México. *Marine Ecology Progress Series* 613:107–124.
- Thorson, T. B. 1971. Movement of Bull Sharks, *Carcharhinus leucas*, between Caribbean Sea and Lake Nicaragua. *Copeia* 336–338.
- Thorson, T. B. 1972. The Status of the Bull Shark , *Carcharhinus leucas* , in the Amazon River. *Copeia* 1972 601–605.

- Thorson, T. B. 1976. The Status of the Lake Nicaragua Shark: An Updated Appraisal. Investigations of the Ichthyofauna of Nicaraguan Lakes 561–574.
- Thorson, T. B., y E. J. Lacy. 1982. Age , Growth Rate and Longevity of *Carcharhinus leucas* Estimated from Tagging and Vertebral Rings. American Society of Ichthyologists and Herpetologists (ASIH) 110–116.
- Tillett, B. J., M. G. Meekan, y I. C. Field. 2014. Dietary overlap and partitioning among three sympatric carcharhinid sharks. *Endangered Species Research* 25:283–293.
- Tillett, B. J., M. G. Meekan, I. C. Field, D. C. Thorburn, y J. R. Ovenden. 2012. Evidence for reproductive philopatry in the bull shark *Carcharhinus leucas*. *Journal of Fish Biology* 80:2140–2158.
- Trystram, C., K. Rogers, M. Soria, y S. Jaquemet. 2016. Feeding patterns of two sympatric shark predators in coastal ecosystems of an oceanic island. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 0:1–12.
- Tuma, R. E. 1976. An Investigation of the Feeding Habits of the Bull Shark , *Carcharhinus leucas* , in the Lake Nicaragua- Rio San Juan System. *Sciences-New York* 533–538.
- Vásquez, R., y T. B. Thorson. 1982. The bull shark (*Carcharhinus leucas*) and largetooth sawfiish (*Pristis perotteti*) in Lake Bayano, a tropical man-made impoundment in Panamá. *Environmental Biology of Fishes* 7:341–347.
- Wang, S., T. Jin-Peng, S. Lin-Hui, F. Jing-Jing, C. Hao-Yen, W. Tuan-Tuan, y W. Lin. 2019. Fish feeding groups , food selectivity , and diet shifts associated with environmental factors and prey availability along a large subtropical river , China. *Aquatic Sciences* 81–31.
- Ward-paige, C. A., M. J. Risk, y O. A. Sherwood. 2005. Reconstruction of nitrogen sources on coral reefs : $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ in gorgonians from Florida Reef Tract. *Marine Ecology Progress Series* 296:155–163.

- Ward, P., y R. Myers. 2005. Shifts in open-ocean fish communities coinciding with the commercial fishing. *Ecology* 86:835–847.
- Werry, J. ., y E. Clua. 2013. Sex-based spatial segregation of adult bull sharks , *Carcharhinus leucas* , in the New Caledonian great lagoon. *Aquatic Living Resources* 26:281–288.
- Werry, J. M., S. Y. Lee, N. M. Otway, Y. Hu, y W. Sumpton. 2011. A multi-faceted approach for quantifying the estuarine nearshore transition in the life cycle of the bull shark, *Carcharhinus leucas*. *Marine and Freshwater Research* 62:1421–1431.
- West, B. ., G. . Bowen, T. . Dawson, y K. . Tu. 2009. *Isoscapes: Understanding movement, pattern, and process on Earth through isotope mapping*. Springer Science & Business Media.
- Wetherbee, B., y E. Cortés. 2012. Food Consumption and Feeding Habits. Páginas 223–244 *en*. *Biology of Sharks and Their Relatives*.
- Wiley, T. R., y C. A. Simpfendorfer. 2007. The ecology of elasmobranchs occurring in the Everglades National Park , Florida : Implications for conservation and management. *Bulletin of Marine Science* 80:171–189.
- Wischnath, L. 1993. *Atlas of livebearers of the world*. T.F.H, Estados Unidos.
- Wong, E., G. M, F. Antillón, y E. Glenn. 1997. Efectos de varios agentes, a diferentes niveles de pH, sobre la tasa de filtración de la piangua, *Anadara tuberculosa* (Mollusca: Arcidae). *Biología Tropical* 45:1453–1457.
- Zamora-Trejos, P., y J. Cortés. 2009. Costa Rica mangroves: The north Pacific | Los manglares de Costa Rica: El Pacífico norte. *Revista de Biología Tropical* 57:473–488.
- Vander Zanden, M. J., G. Cabana, y J. B. Rasmussen. 1997. Comparing trophic position of freshwater fish calculated using stable nitrogen isotope ratios ($\delta^{15}\text{N}$) and literature dietary data. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 54:1142–1158.

Zanella, I., A. López, y R. Arauz. 2010. La alimentación de tiburones martillo juvenes (*Sphyrna lewini*) capturados en el Golfo De Nicoya, Costa Rica. Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras 39:447–453.