

# Conectividad global y caracterización genética de la tortuga Carey (*Eretmochelys imbricata*) en el Parque Nacional Natural Islas del Rosario y San Bernardo, Colombia

## Global connectivity and genetic characterization of the hawksbill turtle (*Eretmochelys imbricata*) in the Islas del Rosario and San Bernardo Natural National Park, Colombia

Nadine Hakim<sup>\*</sup>

0009-0001-9678-6014  
n.hakimd@uniandes.edu.co

Daniel Marín<sup>1</sup>

0009-0001-5849-757X  
de.marin@uniandes.edu.co

Juan E Jácome-Castro<sup>1,3</sup>

0009-0008-7059-9684  
j.jacomec@uniandes.edu.co

Yabriel Pagán-Benítez<sup>2</sup>

0009-0001-4316-4318  
yabriel@manatipr.org

Jaime Alberto Rojas<sup>3</sup>

0000-0002-1589-5404  
rojasja@yahoo.com

Nicole Hakim<sup>1</sup>

0009-0008-2062-8176  
nicolehahakim@gmail.com

Adriana Marcela-Celis<sup>1</sup>

0000-0003-3057-1966  
acelis@uniandes.edu.co

Susana Caballero<sup>1,4</sup>

0000-0002-9285-3873  
scaball1@nova.edu

\*Corresponding author; E-mail: [nadinehakim@gmail.com](mailto:nadinehakim@gmail.com)

<sup>1</sup>Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad de los Andes, Carrera 1 No. 18A-10, Bogotá, Colombia

<sup>2</sup>Caribbean Manatee Conservation Center, Inter American University of Puerto Rico, 500 Carr. Dr. John Will Harris, Bayamón, Puerto Rico 00957

<sup>3</sup>Centro de Investigaciones, Educación y Recreación de las Islas del Rosario (CEINER), Bolívar, Colombia

<sup>4</sup>Department of Marine and Environmental Sciences, Guy Harvey Oceanographic Center, Halmos College of Arts and Sciences, Nova Southeastern University, 8000 North Ocean Drive, Dania Beach, FL 33004, United States of America.

Recibido / Received: 24/07/2025

Aceptado / Accepted: 28/04/2026

**Citación / Citation:** Hakim, N.; Marín, D.; Jácome-Castro, J.E.; Pagán-Benítez, Y.; Rojas, J.A.; Hakim, N.; Marcela-Celis, A.; Caballero, S. 2026. Conectividad global y caracterización genética de la tortuga Carey (*Eretmochelys imbricata*) en el Parque Nacional Natural Islas del Rosario y San Bernardo, Colombia. Bol. Invest. Mar. Cost., 55(2): 58-81.

### RESUMEN

Comprender la dinámica poblacional de la tortuga Carey (*Eretmochelys imbricata*), una especie migratoria en peligro crítico, es esencial para una planificación de conservación efectiva. Este estudio examinó la estructura genética, la diversidad y la conectividad de tortugas Carey del PNN Islas del Rosario, Colombia, utilizando secuencias de ADN mitocondrial de la región control. Se amplificaron diecinueve muestras, que generaron diez haplotipos integrados en un conjunto de 396 secuencias que representan 1872 individuos. Una red de haplotipos construida mediante el método median-joining reveló cuatro clados filogeográficos que abarcan el Atlántico occidental, el Atlántico oriental y dos linajes del Indo-Pacífico. Las muestras de Colombia se agruparon dentro del clado del Atlántico occidental, compartiendo haplotipos con Puerto Rico, Brasil y las Antillas Menores, además de contener haplotipos novedosos. Los índices de diversidad identificaron a Colombia como una de las localidades más diversas del Atlántico occidental ( $h = 0.971 \pm 0.027$ ;  $\pi = 1\% \pm 0.005$ ), mientras que Cuba ( $h = 0.091 \pm 0.049$ ;  $\pi = 0.1\% \pm 0.001$ ) y Guadalupe ( $h = 0.131 \pm 0.053$ ;  $\pi = 0.1\% \pm 0.001$ ) mostraron menor diversidad. Los valores pareados de  $F_{st}$  y  $\Phi_{st}$  indicaron diferenciación moderada a alta en la región; dado que todas las comparaciones fueron estadísticamente significativas, los valores más cercanos a 0 reflejan mayor afinidad matrilineal (por ejemplo, Colombia–Puerto Rico,  $F_{st} = 0.102$ ), mientras que valores más altos reflejan menor afinidad (por ejemplo, Cuba–México,  $F_{st} = 0.835$ ). El Análisis de Mezcla Poblacional mostró que Colombia alberga una agregación de alimentación vinculada principalmente con Guadalupe y Costa Rica. En conjunto, estos resultados brindan un contexto filogeográfico para la especie en Colombia y resaltan la necesidad de estrategias de conservación multinacionales y coordinadas.

**Palabras clave:** zona de alimentación, diversidad genética, análisis de mezcla de poblaciones, filogeografía.

### ABSTRACT

Understanding the population dynamics of the hawksbill turtle (*Eretmochelys imbricata*), a critically endangered migratory species, is essential for effective conservation planning. This study examined the genetic structure, diversity, and connectivity of hawksbill turtles from PNN Rosario Islands, Colombia, using mitochondrial DNA sequences from the control region. Nineteen samples were amplified, yielding ten haplotypes integrated into a dataset of 396 sequences representing 1,872 individuals. A median-joining haplotype network revealed four phylogeographic clades spanning the western Atlantic, eastern Atlantic, and two Indo-Pacific lineages. Colombian samples clustered within the western Atlantic clade, sharing haplotypes with Puerto Rico, Brazil, and the Lesser Antilles while containing novel haplotypes. Diversity indices identified Colombia as one of the most diverse localities in the western Atlantic ( $h = 0.971 \pm 0.027$ ;  $\pi = 1\% \pm 0.005$ ), whereas Cuba ( $h = 0.091 \pm 0.049$ ;  $\pi = 0.1\% \pm 0.001$ ) and Guadeloupe ( $h = 0.131 \pm 0.053$ ;  $\pi = 0.1\% \pm 0.001$ ) exhibited lower diversity. Pairwise  $F_{st}$  and  $\Phi_{st}$  values indicated moderate to high differentiation across the region; because all comparisons were significant, values closer to 0 denote higher matrilineal affinity (e.g., Colombia–Puerto Rico,  $F_{st} = 0.102$ ) whereas higher values reflect reduced affinity (e.g., Cuba–Mexico,  $F_{st} = 0.835$ ). Mixed Stock Analysis showed that Colombia hosts a foraging aggregation primarily linked to Guadeloupe and Costa Rica. Together, these findings provide a phylogeographic context for hawksbill turtles in Colombia and highlight the need for coordinated, multinational conservation strategies.

**Keywords:** foraging ground, genetic diversity, mix stock analysis, phylogeography

## INTRODUCCIÓN

Las especies migratorias, como la tortuga carey (*Eretmochelys imbricata*), representan un desafío único para los investigadores debido a su comportamiento cosmopolita y a la variabilidad de su dinámica de alimentación y anidación (Monzón-Argüello *et al.*, 2010). La información sobre esta especie ha sido históricamente fragmentada, y aún se está construyendo una visión integral de sus movimientos e interacciones globales (Arantes *et al.*, 2020; Simões *et al.*, 2021).

La tortuga carey está clasificada como En Peligro Crítico por la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN) (Mortimer y Donnelly, 2008) y está protegida de la comercialización bajo el Apéndice I de la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres (CITES) (Traffic, 2002). A pesar de los esfuerzos de conservación, *E. imbricata* continúa enfrentando amenazas significativas que ponen en riesgo su supervivencia y resiliencia genética. Factores contemporáneos como la pérdida de hábitat, el cambio climático, la contaminación y el turismo están afectando a las poblaciones de formas que pueden erosionar la diversidad genética, alterar los patrones migratorios y fragmentar la conectividad ecológica (Simões *et al.*, 2021; Tanabe *et al.*, 2023; NOAA Fisheries, 2025).

Comprender la estructura genética y la conectividad entre las poblaciones de tortuga carey es fundamental para diseñar estrategias de conservación efectivas. Los estudios de ADN mitocondrial confirman dos grandes linajes de tortuga carey, el Atlántico y el Indo-Pacífico, moldeados por eventos históricos como el surgimiento del istmo de Panamá (Naro-Maciel *et al.*, 2008; Arantes *et al.*, 2020). Dentro del Atlántico occidental, las tortugas carey exhiben tanto conectividad como aislamiento, con algunas regiones que mantienen flujo de linajes matrilineales mientras que otras muestran dispersión restringida.

En el Caribe colombiano, los estudios genéticos sobre tortugas carey han sido limitados y se han enfocado principalmente en sitios de anidación dentro de los Parques Nacionales Naturales (por ejemplo, Tayrona, Corales del Rosario y San Bernardo, Cabo de la Vela, Isla Fuerte e Isla Tortuguilla) (McCormick, 1997, 1998; Arcos *et al.*, 2002; Rincón-Díaz y Rodríguez-Zárate, 2004; Ceballos-Fonseca, 2004). Sin embargo, las investigaciones que abarcan zonas de alimentación y comparaciones globales más amplias siguen siendo escasas.

## INTRODUCTION

Migratory species, such as hawksbill turtles (*Eretmochelys imbricata*), represent a unique challenge for researchers due to their cosmopolitan behavior and variable feeding and nesting dynamics (Monzón-Argüello *et al.*, 2010). Information on this species has historically been fragmented, and a comprehensive view of their global movements and interactions is still developing (Arantes *et al.*, 2020; Simões *et al.*, 2021).

The hawksbill turtle is categorized as Critically Endangered by the International Union for Conservation of Nature (IUCN) (Mortimer and Donnelly, 2008) and is protected from commercialization under Appendix I of the Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora (CITES) (Traffic, 2002). Despite conservation efforts, *E. imbricata* continues to face significant threats that jeopardize its survival and genetic resilience. Contemporary stressors including habitat loss, climate change, pollution, and tourism are impacting populations in ways that may erode genetic diversity, alter migratory patterns, and fragment ecological connectivity (Simões *et al.*, 2021; Tanabe *et al.*, 2023; NOAA Fisheries, 2025).

Understanding the genetic structure and connectivity between hawksbill turtle populations is fundamental for effective conservation strategies. Mitochondrial DNA studies confirm two major hawksbill lineages, Atlantic and Indo-Pacific, shaped by historical events such as the rise of the Isthmus of Panama (Naro-Maciel *et al.*, 2008; Arantes *et al.*, 2020). Within the western Atlantic, hawksbill turtles exhibit both connectivity and isolation, with some regions maintaining matrilineal lineage flow, while others show restricted dispersal.

In the Colombian Caribbean, genetic studies on hawksbill turtles have been limited and have primarily focused on nesting sites within National Natural Parks (e.g., Tayrona, Corales del Rosario and San Bernardo, Cabo de la Vela, Isla Fuerte, and Isla Tortuguilla) (McCormick, 1997, 1998; Arcos *et al.*, 2002; Rincón-Díaz y Rodríguez-Zárate, 2004; Ceballos-Fonseca, 2004). However, comprehensive research encompassing feeding areas and broader global comparisons remains scarce.

This study addresses these gaps by analyzing the genetic structure and diversity of hawksbill turtles in the Rosario Islands using mitochondrial DNA from the control region (d-loop). Through a combination of haplotype network analysis, population differentiation

Este estudio aborda estos vacíos analizando la estructura genética y la diversidad de las tortugas carey en las Islas del Rosario utilizando el ADN mitocondrial de la región control (d-loop). Mediante la combinación de análisis de redes de haplotipos, índices de diferenciación poblacional ( $F_{st}$  y  $\Phi_{st}$ ) y un Análisis Bayesiano de Mezcla Poblacional (MSA), se buscó caracterizar tanto la diversidad genética de la población como su conectividad ecológica y evolutiva mediada por hembras a escalas regional y global. Estos enfoques complementarios nos permitieron evaluar patrones a escala fina de flujo de linajes matrilineales y estimar los orígenes natales de los individuos encontrados en aguas colombianas. Nuestros resultados ofrecen una línea base para investigaciones futuras que exploren cómo los factores oceanográficos o ecológicos pueden influir en la estructura poblacional.

En conjunto, este trabajo contribuye a una comprensión más completa de la dinámica poblacional de *E. imbricata* y aporta información práctica para estrategias de conservación dirigidas. Al integrar la ecología molecular con el conocimiento ecológico, se destaca el papel crítico de las zonas de alimentación colombianas en el sostenimiento de la diversidad genética del Atlántico occidental y subrayando la necesidad de esfuerzos de conservación transfronterizos en un océano que cambia rápidamente.

## ÁREA DE ESTUDIO

Este estudio se realizó en el Oceanario ubicado dentro del Parque Nacional Natural Corales del Rosario y San Bernardo, en la isla San Martín de Pajares (10,11749° N, 75,77154° O), en el distrito de Cartagena, departamento de Bolívar, Colombia. El Parque forma parte de la red de áreas marinas protegidas del Caribe y alberga una variedad de ecosistemas costeros y marinos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Recolección de tejido

Las muestras de tejido se recolectaron en el Oceanario de las Islas del Rosario a partir de tortugas carey en cautiverio que habían llegado para rehabilitación, utilizando una técnica de biopsia no letal comúnmente empleada en estudios genéticos de tortugas marinas (Dutton, 1995). Con la asistencia de biólogos locales, cada una de las 19 tortugas fue manejada cuidadosamente y colocada sobre una mesa plástica baja, con dos personas restringiendo el

índices ( $F_{st}$  and  $\Phi_{st}$ ), and Bayesian Mixed Stock Analysis (MSA), we aimed to characterize both the genetic diversity of the population and its ecological and evolutionary female-mediated connectivity at regional and global scales. These complementary approaches allowed us to evaluate fine-scale patterns of matrilineal lineage flow and estimate the natal origins of individuals found in Colombian waters. Our results offer a baseline for future research exploring how oceanographic or ecological factors may influence population structure.

Collectively, this work contributes to a more complete understanding of *E. imbricata*'s population dynamics and provides actionable information for targeted conservation strategies. By integrating molecular ecology with ecological knowledge, we highlight the critical role of Colombian foraging grounds in sustaining genetic diversity across the western Atlantic and underline the necessity of transboundary conservation efforts in a rapidly changing ocean.

## STUDY AREA

This study was conducted at the Oceanarium located within the Corales del Rosario and San Bernardo National Natural Park, on San Martín de Pajares Island (10.11749° N, 75.77154° W), in the district of Cartagena, Bolívar Department, Colombia. The Park is part of the Caribbean marine protected area network and hosts a variety of coastal and marine ecosystems.

## MATERIALS AND METHODS

### Tissue collection

Tissue samples were collected at the Rosario Islands Oceanarium from hawksbill turtles in captivity that had arrived for rehabilitation, using a non-lethal biopsy technique commonly employed in sea turtle genetic studies (Dutton, 1995). With the assistance of local biologists, each of the 19 turtles was carefully handled and placed on a low plastic table, with two people restricting the animal's movement to ensure safe handling.

The sampling site was cleaned with sterile gauze soaked in 90% ethanol. A 1 mm diameter skin sample was obtained from the dorsal axial region of the left hind flipper using a sterile biopsy blade (Dutton, 1995). After collection, the wound was treated with a topical antiseptic, such as povidone iodine or chlorhexidine (Norton and Mettee, 2020). Tissue samples were preserved in 90% ethanol

movimiento del animal para garantizar un manejo seguro.

El sitio de muestreo se limpió con gasas estériles empapadas en etanol al 90%. Se obtuvo una muestra de piel de 1 mm de diámetro de la región axial dorsal de la aleta posterior izquierda utilizando una hoja de biopsia estéril (Dutton, 1995). Después de la recolección, la herida se trató con un antiséptico tópico, como yodo povidona o clorhexidina (Norton y Mettee, 2020). Las muestras de tejido se preservaron en etanol al 90% y se almacenaron a 4°C hasta su posterior análisis (Dutton, 1995).

Este método es mínimamente invasivo y se ha demostrado que proporciona una cantidad y calidad de ADN suficiente para el análisis genético en tortugas marinas (Dutton, 1995; Norton y Mettee, 2020). Siguiendo este protocolo estandarizado, se garantizó la salud y la seguridad de las tortugas mientras se obtuvieron muestras confiables para el estudio.

### Extracción de ADN, secuenciación y alineamiento

Las muestras de tejido recolectadas se digirieron durante toda la noche a 56°C usando proteinasa K (20 mg/ml) en tampón de lisis para asegurar una digestión completa (Proietti et al., 2014). La extracción de ADN se realizó utilizando el kit QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen), siguiendo el protocolo del fabricante (Qiagen, 2010).

La amplificación de fragmentos de aproximadamente 830 pb de la región D-loop del ADN mitocondrial (ADNmt) se realizó mediante PCR. Los cebadores utilizados para la amplificación fueron H950 (5'-GTCTCGGATTTAGGGGGTTTG-3') y LCM15382 (5'-GCTTAACCCTAAAGCATTGG-3'), tal como los describen Abreu-Grobois et al. (2006). Cada reacción de PCR se preparó en un volumen final de 13 µl, que incluyó 5–15 ng de ADN, tampón 10x, 2,25 mM de trifosfatos de desoxinucleótidos (dNTP), 50 mM de MgCl<sub>2</sub>, 10 µM de cada cebador y 0,2 U de Taq polimerasa. El protocolo de amplificación siguió las condiciones descritas por Tabib et al. (2011). Después de la amplificación, los productos de PCR se purificaron utilizando ExoSAP-ITR según las instrucciones del fabricante. Posteriormente, los productos de PCR se secuenciaron en ambas direcciones, forward y reverse, mediante secuenciación de Sanger en la Universidad de los Andes en Bogotá, Colombia.

Los cromatogramas de secuencia crudos se inspeccionaron visualmente para verificar su calidad, y las lecturas forward y reverse se ensamblaron en secuencias consenso utilizando Geneious Prime (Biomatters Ltd.). Las llamadas de bases ambiguas

and stored at 4°C until further analysis (Dutton, 1995).

This method is minimally invasive and has been shown to provide sufficient quality and quantity of DNA for genetic analysis in sea turtles (Dutton, 1995; Norton and Mettee, 2020). By following this standardized protocol, the health and safety of the turtles was ensured while obtaining reliable samples for the study.

### DNA extraction, sequencing and alignment

Collected tissue samples were digested overnight at 56°C using proteinase K (20 mg/ml) in lysis buffer to ensure complete digestion (Proietti et al., 2014). DNA extraction was performed using the QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen), following the manufacturer's protocol (Qiagen, 2010).

Amplification of approximately 830 bp fragments of the D-loop region of mitochondrial DNA (mtDNA) was carried out by PCR. The primers used for amplification were H950 (5'-GTCTCGGATTTAGGGGGTTTG-3') and LCM15382 (5'-GCTTAACCCTAAAGCATTGG-3'), as described by Abreu-Grobois et al. (2006). Each PCR reaction was prepared in a final volume of 13 µl, which included 5-15 ng of DNA, 10x buffer, 2.25 mM deoxynucleotide triphosphates (dNTPs), 50 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 µM of each primer and 0.2 U of Taq polymerase. The amplification protocol followed the conditions described by Tabib et al. (2011). After amplification, PCR products were purified using ExoSAP-ITR according to the manufacturer's instructions. Subsequently, PCR products were sequenced in both forward and reverse directions by Sanger sequencing (Valencia et al., 2013) at Universidad de los Andes in Bogota, Colombia.

Raw sequence chromatograms were visually inspected for quality, and forward and reverse reads were assembled into consensus sequences using Geneious Prime (Biomatters Ltd.). Ambiguous base calls were manually corrected, and sequences were trimmed to a uniform length to ensure alignment compatibility. Multiple sequence alignments were conducted using the MUSCLE algorithm (Edgar, 2004) to generate a standardized dataset for subsequent analyses.

### NCBI-retrieved mtDNA D-loop sequences and global haplotype integration

To place the genetic variation of the Rosario Islands population in a broader context, reference mtDNA D-loop sequences of *E. imbricata* exceeding 700 bp were retrieved from the NCBI GenBank

se corrigieron manualmente y las secuencias se recortaron a una longitud uniforme para garantizar la compatibilidad de alineación. Los alineamientos múltiples de secuencias se realizaron utilizando el algoritmo MUSCLE (Edgar, 2004) para generar un conjunto de datos estandarizado para los análisis subsiguientes.

### Secuencias D-loop de ADNmt obtenidas de NCBI e integración global de haplotipos

Para situar la variación genética de la población de las Islas del Rosario en un contexto más amplio, se obtuvieron secuencias de referencia de la región D-loop del ADNmt de *E. imbricata* superiores a 700 pb de la base de datos NCBI GenBank, recopiladas de estudios previamente publicados que abarcan la distribución de la especie (NCBI Resource Coordinators, 2016). El conjunto de datos global resultante comprendió 40 localidades de muestreo distribuidas en el rango de la especie (Figura 1), cada una etiquetada con una abreviatura estandarizada. Algunos países incluyeron múltiples sitios de muestreo, los cuales se agruparon bajo una sola etiqueta de país, pero se contabilizaron de acuerdo con sus puntos de muestreo distintivos. Esta estructura preserva la verdadera resolución geográfica de las secuencias disponibles a la vez que garantiza la claridad en el mapa global. Un desglose detallado de las localidades de muestreo, los números de acceso, los nombres de haplotipos y el número de individuos por sitio se proporciona en el Material Suplementario (Tabla S2).

Las muestras del Atlántico occidental incluyeron Colombia, Cuba, Puerto Rico, las Islas Vírgenes, Antigua, Barbados, Costa Rica, México, Nicaragua, Guadalupe, Brasil, los Estados Unidos y las Islas Turcas y Caicos, incluidas regiones donde el muestreo abarca múltiples cuencas oceánicas (Vélez-Zuazo *et al.*, 2008; Wood *et al.*, 2013; Trujillo-Arias *et al.*, 2014; Gaos *et al.*, 2016). Se obtuvieron secuencias adicionales que representan el Atlántico oriental de Cabo Verde y el Golfo de Guinea (Monzón-Argüello *et al.*, 2010). Las localidades del Océano Índico incluyeron Seychelles (Grupo Aldabra, Islas Amirantes, Isla Platte, Islas Graníticas), el Archipiélago de Chagos, las Islas Tortuga de Sabah, Pulau Tiga, Pulau Sipadan, el Parque Marino de Tun Sakaran y Melaka, así como secuencias reportadas de Mozambique y Madagascar (Vargas *et al.*, 2016; Sani *et al.*, 2024). Las muestras del Pacífico occidental provinieron de la Isla Redang, Johor, Malasia Oriental, Malasia Peninsular, las Islas Salomón y la Isla Milman en el norte de Queensland, Australia (Vargas *et al.*, 2016). También se incorporaron secuencias adicionales de Irán, Arabia Saudita

database and compiled from previously published studies across the species' distribution (NCBI Resource Coordinators, 2016). The resulting global dataset comprised 40 sampling localities distributed across the species' range (Figure 1), each labeled with a standardized abbreviation. Some countries included multiple sampling sites, which were grouped under a single country label but counted according to their distinct sampling points. This structure preserves the true geographic resolution of the available sequences while ensuring clarity in the global map. A detailed breakdown of sampling localities, accession numbers, haplotype names, and number of individuals per site is provided in the Supplementary Material (Table S2).

Samples from the western Atlantic included Colombia, Cuba, Puerto Rico, the Virgin Islands, Antigua, Barbados, Costa Rica, Mexico, Nicaragua, Guadeloupe, Brazil, the United States, and Turks and Caicos Islands, including regions where sampling spans multiple ocean basins (Vélez-Zuazo *et al.*, 2008; Wood *et al.*, 2013; Trujillo-Arias *et al.*, 2014; Gaos *et al.*, 2016). Additional sequences representing the eastern Atlantic were obtained from Cape Verde and the Gulf of Guinea (Monzón-Argüello *et al.*, 2010). Indian Ocean localities included Seychelles (Aldabra Group, Amirantes Islands, Platte Island, Granitic Islands), the Chagos Archipelago, Sabah Turtle Islands, Pulau Tiga, Palau Sipadan, Tun Sakaran Marine Park, and Melaka as well as sequences reported from Mozambique and Madagascar (Vargas *et al.*, 2016; Sani *et al.*, 2024). Western Pacific samples came from Redang Island, Johor, East Malaysia, Peninsular Malaysia, the Solomon Islands, and Milman Island in northern Queensland, Australia (Vargas *et al.*, 2016). Additional sequences from Iran, Saudi Arabia, and Ireland were also incorporated to broaden the global representation of hawksbill genetic diversity (Stringell, 2013; Vargas *et al.*, 2016). Eastern Pacific samples were obtained from Colombia, El Salvador, Nicaragua, and Costa Rica.

e Irlanda para ampliar la representación global de la diversidad genética de la tortuga Carey (Stringell, 2013; Vargas *et al.*, 2016). Las muestras del Pacífico oriental se obtuvieron de Colombia, El Salvador, Nicaragua y Costa Rica.



**Figura 1.** Distribución global de las 40 localidades de muestreo incluidas en el conjunto de datos de ADNmt. El mapa muestra el origen geográfico de todas las secuencias analizadas, incluidas las 19 muestras recolectadas en Colombia y las 377 secuencias obtenidas de GenBank. Las localidades se presentan con sus abreviaturas correspondientes: COL (Colombia, n = 22), CUB (Cuba, n = 65), PR (Puerto Rico, n = 378), VI (Islas Vírgenes, n = 67), ANT (Antigua, n = 72), BAR (Barbados, n = 84), CR (Costa Rica, n = 62), MEX (México, n = 20), NIC (Nicaragua, n = 128), GUA (Guadalupe, n = 74), BRA (Brasil, n = 130), USA (Estados Unidos, n = 102), TC (Turcas y Caicos, n = 5), CV (Cabo Verde, n = 5), GG (Golfo de Guinea, n = 3), SEY (Seychelles: Aldabra, Amirantes, Platte, Graníticas; n = 108), STI (Islas Tortuga de Sabah, Filipinas, n = 1), MAL (Malasia: Pulau Tiga, Sipadan, Tun Sakaran, Melaka, Redang, Malasia Oriental, Malasia Peninsular, Johor; n = 57), WA (Australia Occidental, n = 47), NEAI (Noreste de Arnhem Land, n = 61), NQ (Norte de Queensland, n = 64), EA (Australia, n = 24), SI (Islas Salomón, n = 50), ES (El Salvador, n = 58), THAI (Tailandia, n = 3), PG (Golfo Pérsico, n = 85), IRAN (Irán NO y SE, n = 82), IRLA (Irlanda, n = 2), SA (Arabia Saudita, n = 13).

Aunque las publicaciones fuente reportaron un total de 1872 individuos en todo el mundo, el número de secuencias incluidas en nuestros análisis fue menor porque varios individuos compartían el mismo haplotipo de ADNmt. GenBank almacena una secuencia representativa por haplotipo por estudio, no una secuencia por individuo. Por lo tanto, para determinar el número real de individuos asociados a cada secuencia, extrajimos los tamaños muestrales reportados en las publicaciones originales y los emparejamos con los haplotipos correspondientes en GenBank. Solamente se retuvieron 396 secuencias mayores a 700 pb para la alineación y la construcción de la red, y estas 396 secuencias representan 1872 individuos de los conjuntos de datos publicados combinados.

**Figure 1.** Global distribution of the 40 sampling localities included in the mtDNA dataset. The map shows the geographic origin of all sequences analyzed, including the 19 samples collected in Colombia and the 377 sequences retrieved from GenBank. Locations are shown with their corresponding abbreviations: for COL (Colombia, n = 22), CUB (Cuba, n = 65), PR (Puerto Rico, n = 378), VI (Virgin Islands, n = 67), ANT (Antigua, n = 72), BAR (Barbados, n = 84), CR (Costa Rica, n = 62), MEX (Mexico, n = 20), NIC (Nicaragua, n = 128), GUA (Guadeloupe, n = 74), BRA (Brazil, n = 130), USA (United States, n = 102), TC (Turks and Caicos, n = 5), CV (Cape Verde, n = 5), GG (Gulf of Guinea, n = 3), SEY (Seychelles: Aldabra, Amirantes, Platte, Granitics; n = 108), STI (Sabah Turtle Islands, Philippines, n = 1), MAL (Malaysia: Pulau Tiga, Sipadan, Tun Sakaran, Melaka, Redang, East Malaysia, Peninsular Malaysia, Johor; n = 57), WA (Western Australia, n = 47), NEAI (Northeast Arnhem Land, n = 61), NQ (North Queensland, n = 64), EA (Australia, n = 24), SI (Solomon Islands, n = 50), ES (El Salvador, n = 58), THAI (Thailand, n = 3), PG (Persian Gulf, n = 85), IRAN (Iran NW & SE, n = 82), IRLA (Ireland, n = 2), SA (Saudi Arabia, n = 13).

Although the source publications reported a total of 1,872 individuals worldwide, the number of sequences included in our analyses was lower because multiple individuals shared the same mtDNA haplotype. GenBank stores one representative sequence per haplotype per study, not one sequence per individual. Therefore, to determine the true number of individuals associated with each sequence, we extracted the sample sizes reported in the original publications and matched them to the corresponding GenBank haplotypes. Only 396 sequences longer than 700 bp were retained for alignment and network construction, and these 396 sequences represent 1,872 individuals from the combined published datasets.

## Análisis de Datos

Las secuencias obtenidas en este estudio se alinearon con aquellas obtenidas de GenBank utilizando AliView (Larsson, 2014) y MacClade (Maddison y Maddison, 2000) para asegurar la precisión y consistencia del alineamiento. Solamente se retuvieron las secuencias que excedían 700 pares de bases para los análisis posteriores, con el fin de aumentar la robustez del conjunto de datos.

Después del alineamiento, la identificación y agrupación de haplotipos se realizó utilizando MacClade. Se analizaron en total 396 secuencias de la región control (d-loop) provenientes de GenBank y de este estudio, compuestas por 377 secuencias obtenidas de GenBank y 19 secuencias generadas en este estudio. Estas secuencias representaron 40 localidades a lo largo de los océanos Atlántico, Índico y Pacífico, y resultaron en la identificación de 181 haplotipos únicos. Para fines de claridad y consistencia a lo largo de este estudio, estos haplotipos se renombraron secuencialmente de EiC1 a EiC181 (ver Material Suplementario (Tabla S1) y (Tabla S2) para correspondencia y trazabilidad de haplotipos). Este conjunto de datos curado facilitó los análisis posteriores de diversidad haplotípica, estructura poblacional y conectividad filogeográfica mediada por hembras entre cuencas oceánicas, contribuyendo a una comprensión más amplia de la historia evolutiva y los patrones demográficos de esta especie en peligro crítico.

Las secuencias generadas a partir de las muestras colombianas, etiquetadas GS115 a GS124, se integraron exitosamente en este conjunto de datos. Estas correspondieron a 10 haplotipos únicos: EiC1, EiC2, EiC3, EiC4, EiC5, EiC8, EiC9, EiC11, EiC14 y EiC15. Notablemente, estos haplotipos no se habían reportado previamente en los conjuntos de datos globales y se identificaron por primera vez a partir de individuos muestreados en las Islas del Rosario. Aunque estas tortugas fueron capturadas en aguas colombianas, sus orígenes natales permanecen desconocidos, lo que sugiere la presencia de diversidad genética no documentada previamente en la región del Atlántico occidental.

Se construyó una red de haplotipos utilizando el método *median-joining* con los 181 haplotipos identificados utilizando PopART (*Population Analysis with Reticulate Trees*) (Leigh y Bryant, 2015). Este enfoque nos permitió representar las conexiones más parsimoniosas entre haplotipos, brindando información

## Data Analysis

Sequences obtained in this study were aligned with those retrieved from GenBank using AliView (Larsson, 2014) and MacClade (Maddison and Maddison, 2000) to ensure alignment accuracy and consistency. Only sequences exceeding 700 base pairs were retained for downstream analyses to enhance dataset robustness.

After alignment, haplotype identification and grouping were performed using MacClade. A total of 396 sequences control region (d-loop) sequences from GenBank and this study were analyzed, consisting of 377 sequences obtained from GenBank and 19 sequences generated in this study. These sequences represented 40 localities across the Atlantic, Indian and Pacific oceans, and resulted in the identification of 181 unique haplotypes. For clarity and consistency throughout this study, these haplotypes were renamed sequentially from EiC1 to EiC181 (see Supplementary Material (Table S1) and (Table S2) for haplotype correspondence and traceability). This curated dataset facilitated downstream analyses of haplotype diversity, population structure, and phylogeographic female-mediated connectivity across ocean basins, contributing to a broader understanding of the evolutionary history and demographic patterns of this critically endangered species.

The sequences generated from Colombian samples, labeled GS115 to GS124, were successfully integrated into this dataset. These corresponded to 10 unique haplotypes: EiC1, EiC2, EiC3, EiC4, EiC5, EiC8, EiC9, EiC11, EiC14, and EiC15. Notably, these haplotypes had not been previously reported in global datasets and were newly identified from individuals sampled at the Rosario Islands. Although these turtles were captured in Colombian waters, their natal origins remain unknown, suggesting the presence of previously undocumented genetic diversity in the western Atlantic region.

A haplotype network was constructed using the median-joining method with 181 identified haplotypes using PopART (*Population Analysis with Reticulate Trees*) (Leigh and Bryant, 2015). This approach allowed us to represent the most parsimonious connections between haplotypes, providing information on female-mediated connectivity and evolutionary relationships. Haplotype frequencies from the control region were also used to generate site-specific haplotype visualizations in RStudio (R Core Team, 2022), using the ggplot2 package based on haplotype frequency-

sobre la conectividad mediada por hembras y las relaciones evolutivas. Las frecuencias de haplotipos de la región control también se usaron para generar visualizaciones de haplotipos específicas para cada sitio en RStudio (R Core Team, 2022), utilizando el paquete ggplot2 con base en datos ponderados por la frecuencia de haplotipos para visualizar la variación genética a escala regional. Para analizar la diversidad genética, se usó Arlequin versión 3.1 (Excoffier *et al.*, 2005) para calcular índices estándar de diversidad, incluyendo la diversidad haplotípica ( $h$ ), la diversidad nucleotídica ( $\pi$ ), los  $F_{st}$  pareados, los  $\Phi_{st}$  y el análisis de varianza molecular (AMOVA). Los valores pareados de  $F_{st}$  y  $\Phi_{st}$  se calcularon utilizando 10100 permutaciones en Arlequin, y la significancia estadística se evaluó a  $\alpha = 0,05$  sin corrección por pruebas múltiples, siguiendo la práctica estándar en estudios de tortugas marinas con un solo locus de ADNmt. Estos análisis se restringieron a un subconjunto del conjunto de datos global correspondiente a las muestras del Atlántico occidental, que comprendieron 78 haplotipos y 1117 individuos. Los individuos colombianos se agruparon exclusivamente dentro de un solo clado atlántico (Clado I), lo que confirma una divergencia profunda y antigua entre los linajes del Atlántico y del Indo-Pacífico. Como demostraron Arantes *et al.* (2020), la separación entre estas cuencas oceánicas se remonta al Plioceno temprano e impide los análisis conjuntos significativos de la diversidad genética entre cuencas. Además, los tamaños muestrales de los océanos Índico y Pacífico en nuestro conjunto de datos fueron insuficientes para estimaciones robustas a nivel poblacional y no cumplieron con los requisitos mínimos para análisis comparativos. Adicionalmente, se realizó un Análisis de Mezcla Poblacional (MSA) para estimar los orígenes natales de las tortugas carey muestreadas en Colombia. Este análisis siguió el método bayesiano propuesto por Pella y Masuda (2001), utilizando el modelo “one-to-many” implementado en el paquete MIXSTOCK en R (Bolker, 2012). El modelo comparó las frecuencias de haplotipos observadas en las muestras colombianas con datos de referencia provenientes de colonias de anidación conocidas, utilizando frecuencias de haplotipos de la región control mitocondrial (d-loop) previamente publicadas, recopiladas de estudios revisados por pares y de registros de GenBank, cubriendo principalmente colonias de anidación en todo el Atlántico occidental (por ejemplo, Vélez-Zuazo *et al.*, 2008; LeRoux *et al.*, 2012; Vargas *et al.*, 2016).

weighted data to visualize genetic variation on a regional scale. To analyze genetic diversity, Arlequin version 3.1 (Excoffier *et al.*, 2005) was used to calculate standard indices of diversity, including haplotype diversity ( $h$ ), nucleotide diversity ( $\pi$ ), paired  $F_{st}$ ,  $\Phi_{st}$ , and analysis of molecular variance (AMOVA). Pairwise  $F_{st}$  and  $\Phi_{st}$  values were calculated using 10,100 permutations in Arlequin, and statistical significance was evaluated at  $\alpha = 0.05$  without correction for multiple testing, following standard practice in single-locus mtDNA studies of marine turtles. These analyses were restricted to a subset of the global dataset corresponding to western Atlantic samples, comprising 78 haplotypes and 1,117 individuals. Colombian individuals clustered exclusively within a single Atlantic clade (Clade I), confirming a deep and ancient divergence between Atlantic and Indo-Pacific lineages. As demonstrated by Arantes *et al.*, (2020), the separation between these ocean basins dates to the early Pliocene and prevents meaningful joint analyses of genetic diversity across basins. Furthermore, sample sizes from the Indian and Pacific Oceans in our dataset were insufficient for robust population-level estimates and did not meet minimum requirements for comparative analyses. In addition, a Mixed Stock Analysis (MSA) was performed to estimate the natal origins of the hawksbill turtles sampled in Colombia. This analysis followed the Bayesian method proposed by Pella and Masuda (2001), using the “one-to-many” model implemented in the MIXSTOCK package in R (Bolker, 2012). The model compared the haplotype frequencies observed in the Colombian samples against baseline data from known rookeries using previously published mitochondrial control region (d-loop) haplotype frequencies compiled from peer-reviewed studies and GenBank records, primarily covering rookeries across the western Atlantic (e.g., Vélez-Zuazo *et al.*, 2008; LeRoux *et al.*, 2012; Vargas *et al.*, 2016).

The analysis was conducted using a Markov Chain Monte Carlo (MCMC) algorithm, with a variable burn-in period ranging from 500 to 1300 iterations, and total chain lengths between 1300 and 2500 iterations to ensure convergence and reliable posterior distributions. Relative contributions from each source rookery were estimated along with 95% confidence intervals, providing quantitative insight into the geographic origins of turtles found in the study area.

El análisis se llevó a cabo utilizando un algoritmo de Cadenas de Markov Monte Carlo (MCMC), con un período de *burn-in* variable que osciló entre 500 y 1300 iteraciones, y longitudes totales de cadena entre 1300 y 2500 iteraciones para asegurar la convergencia y obtener distribuciones posteriores confiables. Se estimaron las contribuciones relativas de cada colonia de origen junto con los intervalos de confianza del 95%, proporcionando una visión cuantitativa de los orígenes geográficos de las tortugas encontradas en el área de estudio.

## RESULTADOS

La red de haplotipos (Figura 2), construida utilizando el método *median-joining*, incluyó las 396 secuencias de alta calidad (>700 pb) retenidas para este estudio, las cuales representan una submuestra de los 1872 individuos originalmente reportados en todas las publicaciones fuente. Aunque los estudios publicados describen tamaños muestrales mayores, solamente se incorporaron al alineamiento final y al conjunto de datos de la red las secuencias mayores a 700 pb, con el fin de asegurar la comparabilidad y la robustez analítica. La red resultante identificó 181 haplotipos distribuidos en 40 localidades a nivel mundial, reflejando una amplia estructura filogeográfica global manteniendo la resolución necesaria para situar las muestras colombianas dentro del linaje del Atlántico occidental.

El Clado II representó al Indo-Pacífico, incluyendo haplotipos del Océano Índico occidental y oriental, el Océano Pacífico occidental, el Golfo Pérsico, Arabia Saudita, así como muestras de El Salvador y Nicaragua que pertenecen a poblaciones del Pacífico oriental. Este clado mostró una menor diferenciación entre haplotipos, con conexiones más cortas en la red en comparación con el Atlántico occidental.

El Clado III correspondió al Océano Pacífico occidental y al Océano Índico. Este clado mostró conexiones más largas entre haplotipos, indicando una mayor diferenciación genética. El Clado IV incluyó haplotipos del Atlántico oriental y occidental y del Océano Índico occidental, mostrando un solapamiento de linajes genéticos entre estas regiones.

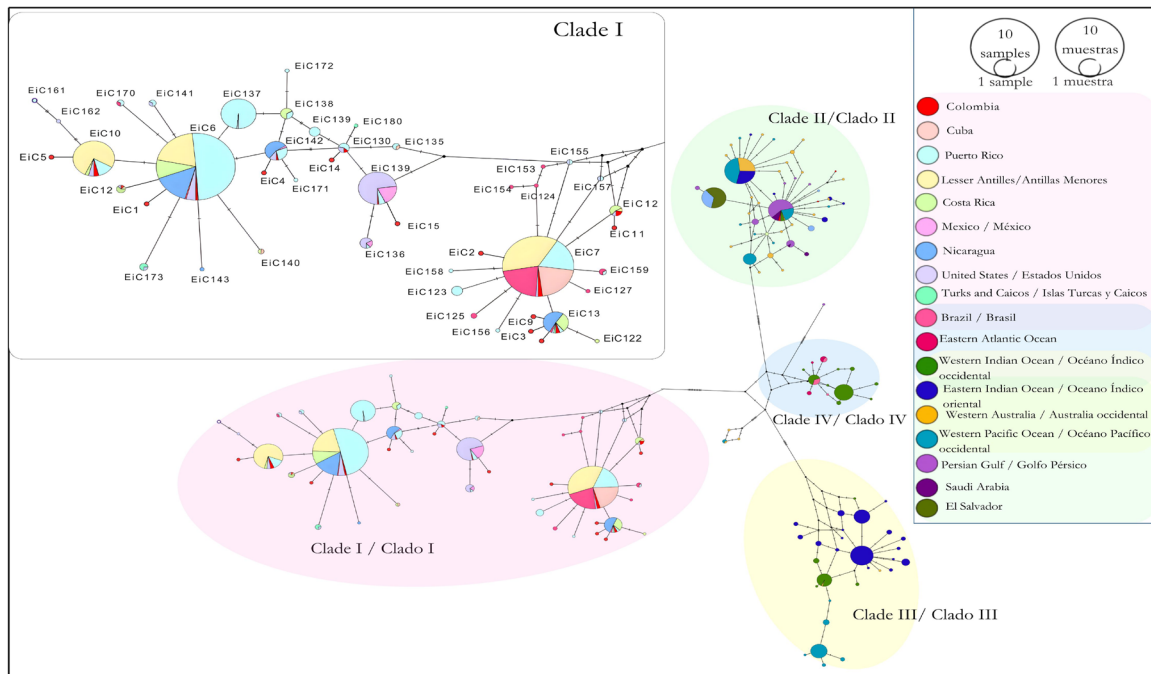
## RESULTS

The haplotype network (Figure 2), constructed using the median-joining method, included the 396 high-quality sequences (>700 bp) retained for this study, which represent a subsample of the 1,872 individuals originally reported across all source publications. While the published studies describe larger sample sizes, only sequences exceeding 700 bp were incorporated into the final alignment and network dataset to ensure comparability and analytical robustness. The resulting network identified 181 haplotypes distributed across 40 locations worldwide, reflecting broad global phylogeographic structure while maintaining the resolution necessary to position the Colombian samples within the western Atlantic lineage.

Clade I, corresponded to the western Atlantic Ocean, including haplotypes from regions such as Colombia, Cuba, Puerto Rico, the Lesser Antilles, Costa Rica, Mexico, Nicaragua, the United States, Turks and Caicos Islands, and Brazil. The Colombian samples were included in this clade and shared haplotypes with other western Atlantic populations. Rather than showing strong substructure within individual localities, the network reveals extensive haplotype sharing across western Atlantic sites, reflecting high regional female-mediated connectivity.

Clade II represented the Indo-Pacific, including haplotypes from the western and eastern Indian Ocean, the western Pacific Ocean, the Persian Gulf, Saudi Arabia, as well as samples from El Salvador and Nicaragua that belong to eastern Pacific populations. This clade showed less differentiation between haplotypes, with shorter connections in the network compared to the western Atlantic.

Clade III, corresponded to the western Pacific Ocean and the Indian Ocean. This clade showed longer connections between haplotypes, indicating greater genetic differentiation. Clade IV, included haplotypes from the eastern and western Atlantic and the western Indian Ocean, showing an overlap of genetic lineages between these regions.



**Figura 2.** Red de unión por mediana más parsimoniosa que muestra las relaciones entre los 181 haplotipos EIC registrados para la tortuga Carey en los océanos Atlántico, Pacífico e Índico. El número de mutaciones entre haplotipos está representado por los guiones en las líneas que los conectan. El tamaño de los círculos es proporcional a sus frecuencias. Los colores dentro de cada círculo indican los países donde se han detectado los haplotipos. Los pequeños círculos negros corresponden a haplotipos intermedios inferidos.

**Figure 2.** Most parsimonious median-joining network showing the relationships among the 181 EIC haplotypes recorded for hawksbill turtles in the Atlantic, Pacific and Indian Oceans. The number of mutations between haplotypes is illustrated by the dashes on the connecting lines. The size of the circles is proportional to their frequencies. The colors within each circle indicate the countries where haplotypes have been detected. The small black circles correspond to inferred intermediate haplotypes.

El Clado I correspondió al Océano Atlántico occidental, incluyendo haplotipos de regiones como Colombia, Cuba, Puerto Rico, las Antillas Menores, Costa Rica, México, Nicaragua, los Estados Unidos, las Islas Turcas y Caicos y Brasil. Las muestras colombianas se incluyeron en este clado y compartieron haplotipos con otras poblaciones del Atlántico occidental. En lugar de mostrar una subestructura marcada dentro de localidades individuales, la red revela un intercambio extenso de haplotipos entre los sitios del Atlántico occidental, reflejando una alta conectividad regional mediada por hembras.

### Diversidad genética dentro de las poblaciones

La mayor diversidad haplotípica se observó en Colombia ( $h = 0,971 \pm 0,027$ ), seguida por Nicaragua ( $h = 0,729 \pm 0,024$ ), los Estados Unidos ( $h = 0,726 \pm 0,042$ ) y Costa Rica ( $h = 0,676 \pm 0,055$ ) (Tabla 1). Entre los 181 haplotipos identificados a nivel mundial, 10 fueron únicos de Colombia, lo que resalta la contribución genética distintiva de las Islas del Rosario al acervo genético regional y global de *E. imbricata*. La menor diversidad haplotípica se detectó en Cuba ( $h = 0,091 \pm 0,049$ ) y Guadalupe ( $h = 0,131 \pm 0,053$ ).

### Genetic diversity within populations

The highest haplotype diversity was observed in Colombia ( $h=0.971\pm0.027$ ), followed by Nicaragua ( $h=0.729\pm0.024$ ), United States ( $h=0.726\pm0.042$ ), and Costa Rica ( $h=0.676\pm0.055$ ) (Table 1). Among the 181 haplotypes identified globally, 10 were unique to Colombia, highlighting the distinctive genetic contribution of the Rosario Islands to the regional and global genetic pool of *E. imbricata*. The lowest haplotype diversity was detected in Cuba ( $h=0.091\pm0.049$ ) and Guadeloupe ( $h=0.131\pm0.053$ ). The highest nucleotide diversity was found in Nicaragua ( $\pi=2.3\%\pm0.011$ ), while the lowest were recorded in Cuba ( $\pi=0.1\%\pm0.001$ ) and Guadeloupe ( $\pi=0.1\%\pm0.001$ ).

La mayor diversidad nucleotídica se encontró en Nicaragua ( $\pi = 2,3\% \pm 0,011$ ), mientras que las menores se registraron en Cuba ( $\pi = 0,1\% \pm 0,001$ ) y Guadalupe ( $\pi = 0,1\% \pm 0,001$ ).

**Tabla 1.** Índices de diversidad genética de *E. imbricata* en 13 poblaciones, mostrando la diversidad haplotípica ( $h$ ) y la diversidad nucleotídica ( $\pi$ ). Los valores se presentan a lo largo de la diagonal, con  $n$  indicando el número de individuos analizados en cada localidad. Las abreviaturas de las localidades son las mismas que se muestran en la [Figura 1](#).

	COL N = 19	BRA N = 130	CUB N = 65	MEX N = 20	PR N = 378	VI N = 67	ANT N = 72	BAR N = 84	CR N = 62	NIC N = 128	GUA N = 74	USA N = 102	TC N = 5
$h$					0.827± 0.012	0.430± 0.071		0.478± 0.049	0.676± 0.055	0.729± 0.024		0.726± 0.042	0.700± 0.218
$\pi$	1%± 0.005	1.1%± 0.006	0.1%± 0.001		0.6%± 0.003	0.4%± 0.002	0.7%± 0.004	0.7%± 0.004	1%± 0.005	2.3%± 0.011		0.4%± 0.002	1%± 0.007

**Table 1.** Genetic diversity indices of *E. imbricata* across 13 populations, showing haplotype diversity ( $h$ ) and nucleotide diversity ( $\pi$ ). Values are presented along the diagonal, with  $n$  indicating the number of individuals analyzed in each location. Same site abbreviations are shown in [Figure 1](#).

### Diferenciación genética entre poblaciones

De acuerdo con los resultados de la diferenciación genética pareada presentados en la [Tabla 2](#), se detectó una diferenciación genética baja pero significativa entre Colombia y Puerto Rico ( $F_{st} = 0,102$ ). Los valores más bajos de  $F_{st}$  se observaron entre Estados Unidos y México ( $F_{st} = 0,060$ ) y entre Brasil y Barbados ( $F_{st} = 0,059$ ). Una diferenciación alta y significativa se encontró entre Cuba y México ( $F_{st} = 0,835$ ) y entre Guadalupe y Nicaragua ( $F_{st} = 0,522$ ). Para  $\Phi_{st}$ , algunos pares de poblaciones mostraron valores muy bajos, como Estados Unidos y México ( $\Phi_{st} = 0,042$ ) y Barbados y Antigua ( $\Phi_{st} = 0,028$ ), indicando una diferenciación biológica limitada, aunque estas comparaciones aún fueron significativas. En contraste, una diferenciación genética significativa se encontró entre Cuba y México ( $\Phi_{st} = 0,881$ ).

### Genetic differentiation between populations

According to the pairwise genetic differentiation results presented in [Table 2](#), low but significant genetic differentiation was detected between Colombia and Puerto Rico ( $F_{st} = 0.102$ ). Lowest  $F_{st}$  values were in USA and Mexico ( $F_{st} = 0.060$ ) and Brazil and Barbados ( $F_{st} = 0.059$ ). High significant differentiation was found between Cuba and Mexico ( $F_{st} = 0.835$ ) and between Guadeloupe and Nicaragua ( $F_{st} = 0.522$ ). For  $\Phi_{st}$ , some population pairs showed very low values, such as the USA and Mexico ( $\Phi_{st} = 0.042$ ) and Barbados and Antigua ( $\Phi_{st} = 0.028$ ), indicating limited biological differentiation, although these comparisons were still significant. In contrast, significant genetic differentiation was found between Cuba and Mexico ( $\Phi_{st} = 0.881$ ).

**Tabla 2.** Diferenciación pareada de poblaciones de *E. imbricata* basada en valores de  $F_{st}$  (debajo de la diagonal) y  $\Phi_{st}$  (encima de la diagonal) entre 13 poblaciones. Todas las comparaciones pareadas fueron estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ). Los valores de  $p$  se obtuvieron mediante pruebas de permutación en Arlequin y se evaluaron a  $\alpha = 0,05$  sin ajuste por comparaciones múltiples. Para mayor claridad, los valores significativos se indican con un asterisco (\*).

	COL N = 19	BRA N = 130	CUB N = 65	MEX N = 20	PR N = 378	VI N = 67	ANT N = 72	BAR N = 84	CR N = 62	NIC N = 128	GUA N = 74	USA N = 102	TC N = 5
COL		0.213 <sup>*</sup>	0.514 <sup>*</sup>	0.303 <sup>*</sup>	0.212 <sup>*</sup>	0.363 <sup>*</sup>	0.085 <sup>*</sup>	0.082 <sup>*</sup>	0.085 <sup>*</sup>	0.137 <sup>*</sup>	0.553 <sup>*</sup>	0.208 <sup>*</sup>	0.097 <sup>*</sup>
BRA	0.183 <sup>*</sup>		0.079 <sup>*</sup>	0.484 <sup>*</sup>	0.563 <sup>*</sup>	0.573 <sup>*</sup>	0.192 <sup>*</sup>	0.141 <sup>*</sup>	0.376 <sup>*</sup>	0.294 <sup>*</sup>	0.644 <sup>*</sup>	0.519 <sup>*</sup>	0.417 <sup>*</sup>
CUB	0.575 <sup>*</sup>	0.125 <sup>*</sup>		0.881 <sup>*</sup>	0.636 <sup>*</sup>	0.809 <sup>*</sup>	0.310 <sup>*</sup>	0.204 <sup>*</sup>	0.550 <sup>*</sup>	0.380 <sup>*</sup>	0.905 <sup>*</sup>	0.730 <sup>*</sup>	0.836 <sup>*</sup>
MEX	0.336 <sup>*</sup>	0.473 <sup>*</sup>	0.835 <sup>*</sup>		0.363 <sup>*</sup>	0.555 <sup>*</sup>	0.462 <sup>*</sup>	0.458 <sup>*</sup>	0.267 <sup>*</sup>	0.196 <sup>*</sup>	0.754 <sup>*</sup>	0.042 <sup>*</sup>	0.529 <sup>*</sup>
PR	0.102 <sup>*</sup>	0.252 <sup>*</sup>	0.423 <sup>*</sup>	0.325 <sup>*</sup>		0.038 <sup>*</sup>	0.338 <sup>*</sup>	0.385 <sup>*</sup>	0.042 <sup>*</sup>	0.230 <sup>*</sup>	0.206 <sup>*</sup>	0.242 <sup>*</sup>	0.070 <sup>*</sup>
VI	0.317 <sup>*</sup>	0.432 <sup>*</sup>	0.700 <sup>*</sup>	0.587 <sup>*</sup>	0.240 <sup>*</sup>		0.415 <sup>*</sup>	0.465 <sup>*</sup>	0.073 <sup>*</sup>	0.204 <sup>*</sup>	0.293 <sup>*</sup>	0.369 <sup>*</sup>	0.245 <sup>*</sup>
ANT	0.259 <sup>*</sup>	0.124 <sup>*</sup>	0.321 <sup>*</sup>	0.543 <sup>*</sup>	0.296 <sup>*</sup>	0.485 <sup>*</sup>		0.028 <sup>*</sup>	0.173 <sup>*</sup>	0.217 <sup>*</sup>	0.559 <sup>*</sup>	0.408 <sup>*</sup>	0.303 <sup>*</sup>
BAR	0.252 <sup>*</sup>	0.059 <sup>*</sup>	0.171 <sup>*</sup>	0.559 <sup>*</sup>	0.282 <sup>*</sup>	0.377 <sup>*</sup>	0.183 <sup>*</sup>		0.217 <sup>*</sup>	0.245 <sup>*</sup>	0.580 <sup>*</sup>	0.414 <sup>*</sup>	0.349 <sup>*</sup>
CR	0.151 <sup>*</sup>	0.358 <sup>*</sup>	0.618 <sup>*</sup>	0.441 <sup>*</sup>	0.167 <sup>*</sup>	0.081 <sup>*</sup>	0.408 <sup>*</sup>	0.338 <sup>*</sup>		0.122 <sup>*</sup>	0.237 <sup>*</sup>	0.196 <sup>*</sup>	0.035 <sup>*</sup>
NIC	0.142 <sup>*</sup>	0.326 <sup>*</sup>	0.530 <sup>*</sup>	0.392 <sup>*</sup>	0.160 <sup>*</sup>	0.143 <sup>*</sup>	0.367 <sup>*</sup>	0.316 <sup>*</sup>	0.061 <sup>*</sup>		0.288 <sup>*</sup>	0.209 <sup>*</sup>	0.050 <sup>*</sup>
GUA	0.514 <sup>*</sup>	0.610 <sup>*</sup>	0.885 <sup>*</sup>	0.809 <sup>*</sup>	0.416 <sup>*</sup>	0.710 <sup>*</sup>	0.679 <sup>*</sup>	0.657 <sup>*</sup>	0.586 <sup>*</sup>	0.522 <sup>*</sup>		0.448 <sup>*</sup>	0.632 <sup>*</sup>
USA	0.170 <sup>*</sup>	0.327 <sup>*</sup>	0.551 <sup>*</sup>	0.060 <sup>*</sup>	0.171 <sup>*</sup>	0.404 <sup>*</sup>	0.377 <sup>*</sup>	0.393 <sup>*</sup>	0.296 <sup>*</sup>	0.270 <sup>*</sup>	0.545 <sup>*</sup>		0.249 <sup>*</sup>
TC	0.135 <sup>*</sup>	0.364 <sup>*</sup>	0.839 <sup>*</sup>	0.540 <sup>*</sup>	0.213 <sup>*</sup>	0.509 <sup>*</sup>	0.447 <sup>*</sup>	0.470 <sup>*</sup>	0.317 <sup>*</sup>	0.280 <sup>*</sup>	0.799 <sup>*</sup>	0.277 <sup>*</sup>	

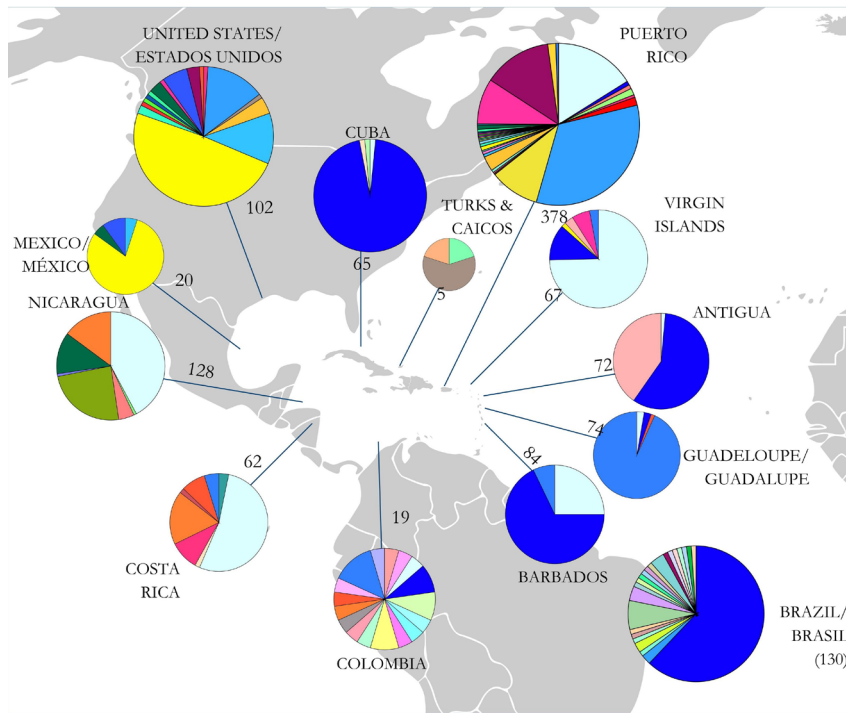
**Table 2.** Pairwise population differentiation of *E. imbricata* based on  $F_{st}$  (below-diagonal) and  $\Phi_{st}$  (above-diagonal) values among 13 populations. All pairwise comparisons were statistically significant ( $p < 0.05$ ). P-values were obtained through permutation tests in Arlequin and evaluated at  $\alpha = 0.05$  without adjustment for multiple comparisons. For clarity, significant values are marked with an asterisk (\*).

### Frecuencia de haplotipos por localidad

En el análisis de las frecuencias de haplotipos por localidad en el Atlántico occidental (Figura 3), las poblaciones colombianas mostraron la mayor diversidad haplotípica entre todas las localidades muestreadas, con 10 haplotipos únicos detectados (EiC1, EiC2, EiC3, EiC4, EiC5, EiC8, EiC9, EiC11, EiC14 y EiC15) y 5 haplotipos compartidos con otras poblaciones del Atlántico occidental (EiC6, EiC7, EiC10, EiC12 y EiC13). En contraste, las Antillas Menores mostraron mayormente niveles moderados de diversidad haplotípica, siendo Guadalupe la única con diversidad notablemente baja. México y los Estados Unidos también exhibieron una alta diversidad haplotípica, caracterizada por varios haplotipos compartidos exclusivamente entre estas dos localidades. Las poblaciones brasileñas mostraron una alta diversidad general, dominada por un único haplotipo común (EiC6).

### Haplotype frequency by locality

In the analysis of haplotype frequencies by locality in the western Atlantic (Figure 3). Colombian populations showed the highest haplotype diversity among all localities sampled, with 10 unique haplotypes detected (EiC1, EiC2, EiC3, EiC4, EiC5, EiC8, EiC9, EiC11, EiC14 and EiC15) and 5 haplotypes shared with other western Atlantic populations (EiC6, EiC7, EiC10, EiC12 and EiC13). In contrast, Lesser Antilles showed mostly moderate levels of haplotype diversity, with only Guadeloupe displaying notably low diversity. Mexico and the United States also exhibited high haplotype diversity, characterized by several haplotypes shared exclusively between these two localities. Brazilian populations showed high overall diversity, dominated by a single common haplotype (EiC6).



**Figura 3.** Diversidad y distribución de haplotipos por localidad. La diversidad y distribución de haplotipos en las poblaciones muestreadas se visualizan en gráficos circulares, donde cada color representa un haplotipo distinto y el tamaño de cada gráfico es proporcional al número de muestras disponibles en cada localidad. Los números dentro de cada gráfico indican el tamaño muestral de individuos. La visualización resalta los patrones de variabilidad genética y estructura poblacional entre las poblaciones del Atlántico occidental de *E. imbricata*.

**Figure 3.** Haplotype diversity and distribution by locality. Haplotype diversity and distribution in the sampled populations are visualized in pie charts, where each color represents a distinct haplotype and the size of each pie chart is scaled to the number of samples available for that locality. Numbers in each pie chart indicate individuals' sample size. The visualization highlights patterns of genetic variability and population structure among western Atlantic *E. imbricata*.

### Estimación del origen natal mediante el Análisis de Mezcla Poblacional

El Análisis de Mezcla Poblacional reveló que las tortugas muestreadas en Colombia representan un ensamblaje genéticamente mixto. Se estimó que la mayoría de los individuos provienen de Guadalupe (37,4%) y Costa Rica (26,7%), seguidos de contribuciones menores de Barbados (9,4%), Cuba (7,2%) y Brasil (5,1%), entre otros (Figura 4). Estos hallazgos sugieren que las zonas de alimentación colombianas actúan como zonas de convergencia para individuos provenientes de áreas de anidación distantes a lo largo de la región.

Los intervalos de confianza (95%) de estas estimaciones revelaron una variación sustancial (Figura 4), particularmente para Guadalupe (con rangos de ~0,8% a 77%) y Costa Rica (de ~0,003% a 69%), enfatizando tanto la incertidumbre inherente al modelado bayesiano de mezcla poblacional como el papel dominante de estas colonias en su contribución a la agregación de

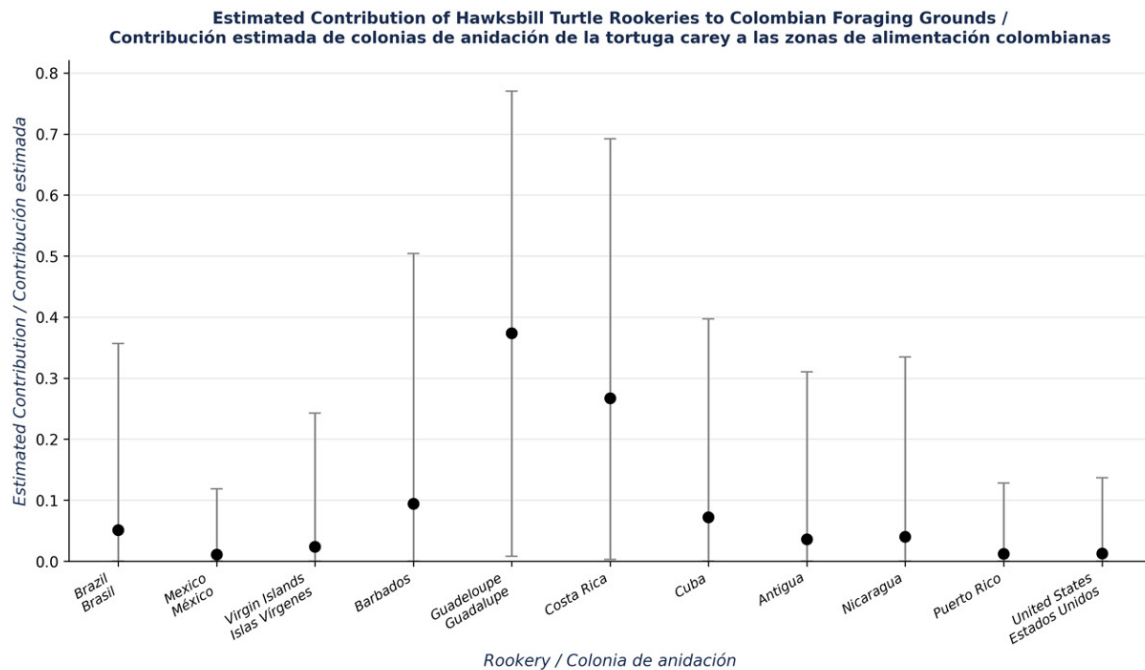
### Estimated natal origin through Mixed Stock Analysis

Mixed stock analysis revealed that the Colombian sampled turtles represent a genetically mixed assemblage. Most individuals were estimated to originate from Guadalupe (37.4%) and Costa Rica (26.7%), followed by smaller contributions from Barbados (9.4%), Cuba (7.2%), and Brazil (5.1%), among others (Figure 4). These findings suggest that Colombian foraging grounds act as convergence zones for individuals originating from distant nesting areas across the region.

Confidence intervals (95%) for these estimates revealed substantial variation (Figure 4), particularly for Guadalupe (ranging from ~0.8% to 77%) and Costa Rica (from ~0.003% to 69%), emphasizing both the uncertainty inherent in Bayesian mixed stock modeling and the dominant role of these rookeries in contributing to the foraging aggregation observed in Colombian waters. These results underscore the genetically mixed nature of the Rosario Islands hawksbill turtle population and highlight its

alimentación observada en aguas colombianas. Estos resultados subrayan la naturaleza genéticamente mixta de la población de tortuga Carey de las Islas del Rosario y resaltan sus conexiones ecológicas con múltiples playas de anidación a lo largo del Atlántico occidental, reforzando la importancia de las zonas de alimentación en Colombia como áreas clave de convergencia y respaldando la necesidad de iniciativas de conservación transfronterizas que protejan tanto los hábitats de anidación como los de alimentación de *E. imbricata*.

ecological connections to multiple nesting beaches across the western Atlantic, reinforcing the importance of foraging grounds in Colombia as key convergence zones and support the need for transboundary conservation initiatives that protect both nesting and foraging habitats of *E. imbricata*.



**Figura 4.** Contribuciones estimadas de las colonias de anidación de la tortuga Carey a las zonas de alimentación colombianas, con intervalos de confianza bayesianos del 95%.

**Figure 4.** Estimated contributions of hawksbill turtle rookeries to the Colombian foraging grounds, with 95% Bayesian confidence intervals.

## DISCUSIÓN

La red *median-joining* obtenida en este estudio (Figura 2) revela resultados consistentes con trabajos previos que documentan dos grandes linajes mitocondriales en *E. imbricata*: un linaje atlántico y un linaje del Indo-Pacífico, separados por vicarianza histórica y barreras geográficas contemporáneas (Monzón-Argüello *et al.*, 2010; Leroux *et al.*, 2012). Dentro del Atlántico occidental, la red no muestra un agrupamiento marcado, ya que muchos haplotipos se comparten entre múltiples zonas de alimentación donde individuos provenientes de diferentes colonias de anidación se mezclan ampliamente en áreas de alimentación compartidas.

## DISCUSSION

The median-joining network obtained in this study (Figure 2) reveals consistent results with previous work documenting two major mitochondrial lineages in *E. imbricata*: an Atlantic lineage and an Indo-Pacific lineage, separated by historical vicariance and contemporary geographic barriers (Monzón-Argüello *et al.*, 2010; Leroux *et al.*, 2012). Within the western Atlantic, the network does not display strong clustering, as many haplotypes are shared across multiple foraging sites where individuals from different nesting colonies mix extensively in shared feeding grounds. Although  $F_{st}$  and  $\Phi_{st}$  analyses were restricted to the western Atlantic, the global

Aunque los análisis de  $F_{st}$  y  $\Phi_{st}$  se restringieron al Atlántico occidental, la red de haplotipos global todavía proporciona una perspectiva filogeográfica a escala de cuenca y sitúa a las muestras colombianas dentro de un contexto evolutivo mundial.

Los valores significativos de  $F_{st}$  y  $\Phi_{st}$  observados indican que las colonias de anidación se mantienen demográficamente distintas, lo cual es consistente con un fuerte *homing* natal y la filopatría femenina, procesos bien documentados en tortugas marinas (Trujillo-Arias *et al.*, 2014; Vargas *et al.*, 2016). En otras palabras, la ausencia de subestructura visible en la red de haplotipos refleja la conectividad de las zonas de alimentación, mientras que la divergencia significativa en las estadísticas a nivel poblacional refleja la fidelidad a las playas de anidación y un flujo limitado de linajes matrilineales entre colonias.

Dos haplotipos, EIC6 y EIC7, se presentan con altas frecuencias en múltiples sitios y han sido reportados previamente tanto en colonias de anidación del Atlántico occidental como en agregaciones de alimentación (Monzón-Argüello *et al.*, 2010; Leroux *et al.*, 2012), lo que sugiere una presencia prolongada dentro del linaje atlántico en lugar de procesos demográficos recientes. Los individuos colombianos se agruparon dentro del Clado I y compartieron haplotipos con poblaciones de Cuba, Puerto Rico, Brasil y las Antillas Menores, un patrón consistente con corredores migratorios compartidos y una amplia conectividad regional.

Un hallazgo significativo de este estudio es la identificación de diez nuevos haplotipos en aguas colombianas, lo que subraya su importancia como un punto caliente de diversidad genética dentro del Atlántico. Estos haplotipos únicos posicionan a las Islas del Rosario como un centro clave de convergencia genética y migratoria. Sin embargo, dado el pequeño tamaño muestral ( $n = 19$ ), esta diversidad probablemente subestima la verdadera riqueza haplotípica de la población colombiana, y un muestreo adicional podría revelar una diversidad de linajes aún mayor. Este resultado resalta la relevancia de Colombia en la dinámica poblacional del Atlántico occidental y refuerza su papel en la conservación global de *E. imbricata*. La coexistencia de haplotipos compartidos y únicos indica que las costas colombianas no solo funcionan como áreas de tránsito, sino también como refugios genéticos esenciales para mantener la diversidad genética de la especie (Vélez-Zuazo *et al.*, 2008; Gaos *et al.*, 2016).

Por otra parte, los resultados de la región del Indo-Pacífico muestran

haplotype network still provides a basin-wide phylogeographic perspective and situates the Colombian samples within a worldwide evolutionary context.

The significant  $F_{st}$  and  $\Phi_{st}$  values observed indicate that rookeries remain demographically distinct, consistent with strong natal homing and female philopatry, processes well documented in marine turtles (Trujillo-Arias *et al.*, 2014; Vargas *et al.*, 2016). In other words, the lack of visible substructure in the haplotype network reflects foraging-ground connectivity, whereas the significant divergence in population-level statistics reflects fidelity to nesting beaches and limited matrilineal lineage flow among rookeries.

Two haplotypes, EIC6 and EIC7, occur at high frequencies across multiple sites and have been reported previously in both western Atlantic rookeries and foraging aggregations (Monzón-Argüello *et al.*, 2010; Leroux *et al.*, 2012), suggesting longstanding presence within the Atlantic lineage rather than recent demographic processes. Colombian individuals clustered within Clade I and shared haplotypes with populations from Cuba, Puerto Rico, Brazil, and the Lesser Antilles, a pattern consistent with shared migratory corridors and broad regional connectivity.

A significant finding of this study is the identification of ten new haplotypes in Colombian waters, underscoring its importance as a hotspot of genetic diversity within the Atlantic. These unique haplotypes position the Rosario Islands as a key center of genetic and migratory convergence. However, given the small sample size ( $n = 19$ ), this diversity likely underestimates the true haplotypic richness of the Colombian population, and additional sampling may reveal even greater lineage diversity. This result highlights the relevance of Colombia in western Atlantic population dynamics and reinforces its role in the global conservation of *E. imbricata*. The coexistence of shared and unique haplotypes indicates that the Colombian coasts not only function as transit areas, but also as essential genetic refuges for maintaining the genetic diversity of the species (Vélez-Zuazo *et al.*, 2008; Gaos *et al.*, 2016).

On the other hand, the results from the Indo-Pacific region show a different pattern, with greater phylogeographic structure and higher genetic differentiation among populations. Indo-Pacific haplotypes form deeper branches separated by more mutational steps, reflecting older divergence within this lineage. Three well-supported clades were observed in the Indo-Pacific, with haplotypes clustering strongly by geographic origin, a pattern

un patrón diferente, con una mayor estructura filogeográfica y una mayor diferenciación genética entre poblaciones. Los haplotipos del Indo-Pacífico forman ramas más profundas separadas por más pasos mutacionales, reflejando una divergencia más antigua dentro de este linaje. Se observaron tres clados bien soportados en el Indo-Pacífico, con haplotipos que se agrupan fuertemente por origen geográfico, un patrón típico de regiones con una dispersión más restringida y una mezcla limitada entre cuencas oceánicas.

La divergencia filogeográfica observada entre los clados del Atlántico y del Indo-Pacífico también tiene un fuerte respaldo evolutivo. Estudios previos estiman que esta separación ocurrió durante el Plioceno y el Pleistoceno, en respuesta al levantamiento del Istmo de Panamá, que restringió el intercambio genético entre los océanos y contribuyó a la diferenciación de linajes (Naro-Maciel *et al.*, 2008 O'Dea *et al.*, 2016; ). Los tiempos de divergencia registrados, que oscilan entre 7 Ma y 3,5 Ma, coincidieron con los eventos geológicos que moldearon la biogeografía actual de las tortugas carey.

A escala global, los cuatro clados principales recuperados en la red de haplotipos reflejan la profunda estructura filogeográfica de *E. imbricata* a través de las cuencas oceánicas. El Clado I representa el linaje del Atlántico occidental, caracterizado por distancias mutacionales relativamente cortas y un amplio intercambio de haplotipos entre las agregaciones de alimentación del Atlántico occidental. El Clado IV conectó el Atlántico occidental y oriental, con haplotipos brasileños que sirven como puente entre las poblaciones de Cabo Verde y el Golfo de Guinea, sugiriendo eventos históricos de colonización transatlántica. En contraste, los linajes del Indo-Pacífico (Clados II y III) forman ramas más profundas y bien definidas, consistente con tiempos de divergencia más antiguos y una conectividad restringida entre los océanos Índico y Pacífico. La presencia de tres clados estructurados del Indo-Pacífico concuerda con patrones filogeográficos previos que muestran una fuerte subdivisión poblacional impulsada por la filopatría, las barreras ecológicas y las vastas distancias oceánicas. En conjunto, estos patrones globales indican que mientras el Atlántico occidental muestra una alta conectividad mediada por hembras y matrilineas compartidas, el Indo-Pacífico conserva una historia evolutiva más fragmentada, subrayando la naturaleza heterogénea y dependiente de la cuenca de la divergencia de linajes en las tortugas carey.

En el Atlántico, nuestros resultados también revelan conectividad

typical of regions with more restricted dispersal and limited mixing across ocean basins.

The phylogeographic divergence observed between the Atlantic and Indo-Pacific clades also has strong evolutionary support. Previous studies estimate that this separation occurred during the Pliocene and Pleistocene, in response to the uplift of the Isthmus of Panama, which restricted genetic exchange between the oceans and contributed to lineage differentiation (Naro-Maciel *et al.*, 2008 O'Dea *et al.*, 2016). The divergence times recorded, ranging from 7 Ma to 3.5 Ma, coincided with the geological events that shaped the current biogeography of hawksbill turtles.

At a global scale, the four major clades recovered in the haplotype network reflect the deep phylogeographic structure of *E. imbricata* across ocean basins. Clade I represents the western Atlantic lineage, characterized by relatively shallow mutational distances and extensive sharing of haplotypes among western Atlantic foraging aggregations. Clade IV linked the western and eastern Atlantic with Brazilian haplotypes bridging populations from Cape Verde and the Gulf of Guinea, suggesting historical trans-Atlantic colonization events. In contrast, Indo-Pacific lineages (Clades II and III) form deeper and well-defined branches, consistent with older divergence times and restricted connectivity across the Indian and Pacific Oceans. The presence of three structured Indo-Pacific clades agrees with previous phylogeographic patterns showing strong population subdivision driven by philopatry, ecological barriers, and vast oceanic distances. Together, these global patterns indicate that while the western Atlantic shows high female-mediated connectivity and shared matrilineas, the Indo-Pacific retains a more fragmented evolutionary history, underscoring the mosaic and basin-dependent nature of lineage divergence in hawksbill turtles.

In the Atlantic, our results also reveal female-mediated connectivity between the western and eastern Atlantic. Haplotypes from Brazil connect western Atlantic populations to Clade IV, which includes Cape Verde and the Gulf of Guinea, suggesting occasional matrilineal lineage flow or historical colonization events across the Atlantic basin. Similarly, the placement of El Salvador and Nicaragua within an Indo-Pacific-associated clade (Clade II) reflects long-distance colonization patterns previously documented in other marine turtles and pelagic species, likely facilitated by equatorial currents and historical dispersal corridors. Such rare but evolutionarily important events contribute to the mosaic global phylogeographic structure of the species.

mediada por hembras entre el Atlántico occidental y oriental. Los haplotipos de Brasil conectan las poblaciones del Atlántico occidental con el Clado IV, el cual incluye a Cabo Verde y el Golfo de Guinea, sugiriendo flujo ocasional de linajes matrilineales o eventos históricos de colonización a través de la cuenca atlántica. De manera similar, la ubicación de El Salvador y Nicaragua dentro de un clado asociado al Indo-Pacífico (Clado II) refleja patrones de colonización de larga distancia previamente documentados en otras tortugas marinas y especies pelágicas, probablemente facilitados por corrientes ecuatoriales y corredores históricos de dispersión. Tales eventos raros, pero evolutivamente importantes contribuyen a la estructura filogeográfica global heterogénea de la especie.

Finalmente, nuestros resultados confirman que aunque existe una fuerte conectividad mediada por hembras entre regiones como Colombia, Puerto Rico y Brasil, una diferenciación genética significativa persiste con localidades como Cuba y Guadalupe, reflejando la dualidad entre el flujo de linajes matrilineales y el aislamiento poblacional específico. Estos patrones ilustran cómo la mezcla en las zonas de alimentación puede coexistir con una fuerte diferenciación a nivel de colonia impulsada por la filopatría femenina. Comprender este balance es crítico para la interpretación de la dinámica poblacional de *E. imbricata* y para el diseño de estrategias de conservación que integren tanto la conectividad migratoria mediada por hembras como la gestión específica de cada colonia.

### Estructura y diversidad genética

Los índices de diversidad genética obtenidos en este estudio confirman el papel prominente de Colombia como un centro clave de diversidad genética dentro del Atlántico occidental. Con un índice de diversidad haplotípica ( $h$ ) de  $0,971 \pm 0,027$  (Tabla 1), la población colombiana con 10 haplotipos únicos (EiC1, EiC2, EiC3, EiC4, EiC5, EiC8, EiC9, EiC11, EiC14 y EiC15) presentó la mayor diversidad entre las localidades del Atlántico occidental, como un punto de convergencia para las tortugas carey provenientes de diferentes regiones del Atlántico occidental (Vélez-Zuazo *et al.*, 2008; Wood *et al.*, 2013; Gaos *et al.*, 2016).

En contraste, las poblaciones de Cuba ( $h = 0,091 \pm 0,049$ ) y Guadalupe ( $h = 0,131 \pm 0,053$ ) exhibieron los niveles más bajos de diversidad haplotípica, lo cual coincide con los reportes de alta fidelidad al sitio y flujo restringido de linajes matrilineales (Moncada

Finally, our results confirm that although there is strong female-mediated connectivity among regions such as Colombia, Puerto Rico, and Brazil, significant genetic differentiation persists with localities such as Cuba and Guadeloupe, reflecting the duality between matrilineal lineage flow and population-specific isolation. These patterns illustrate how foraging-ground mixing can coexist with strong rookery-level differentiation driven by female philopatry. Understanding this balance is critical for interpreting the population dynamics of *E. imbricata* and for designing conservation strategies that integrate both migratory female-mediated connectivity and rookery-specific management.

### Structure and genetic diversity

The genetic diversity indices obtained in this study confirm Colombia's prominent role as a key center of genetic diversity within the western Atlantic. With a haplotypic diversity index ( $h$ ) of  $0.971 \pm 0.027$  (Table 1), the Colombian population with 10 unique haplotypes (EiC1, EiC2, EiC3, EiC4, EiC5, EiC8, EiC9, EiC11, EiC14 and EiC15) presented the highest diversity among the western Atlantic localities as a convergence point for hawksbill turtles from different western Atlantic regions (Vélez-Zuazo *et al.*, 2008; Wood *et al.*, 2013; Gaos *et al.*, 2016).

In contrast, populations in Cuba ( $h=0.091 \pm 0.049$ ) and Guadeloupe ( $h=0.131 \pm 0.053$ ) exhibited the lowest levels of haplotypic diversity, which coincides with reports of high site fidelity and restricted matrilineal lineage flow (Moncada *et al.*, 2012; Trujillo-Arias *et al.*, 2014). Rather than reflecting geographic isolation per se, these low values may be associated with demographic factors such as small nesting populations, reduced recruitment, or recent population declines. Both Cuba and Guadeloupe host relatively limited or declining hawksbill nesting activity, which can reduce the effective population size and lead to the loss of haplotypes through drift.

Similar patterns of low haplotypic diversity in small or threatened rookeries have been reported in other regions, such as certain Indo-Pacific islands (e.g., Seychelles and Redang), where reduced nesting abundance rather than geographic distance was identified as the primary driver of low genetic. Thus, the low diversity observed in Cuba and Guadeloupe likely reflects localized demographic processes rather than basin-wide isolation.

Nucleotide diversity in Colombia ( $\pi = 1\% \pm 0.005$ ) was comparable to that of Puerto Rico and the Virgin Islands, indicating that Colombia hosts a genetically diverse foraging aggregation despite

*et al.*, 2012; Trujillo-Arias *et al.*, 2014). En lugar de reflejar un aislamiento geográfico per se, estos valores bajos podrían estar asociados con factores demográficos como poblaciones de anidación pequeñas, reclutamiento reducido o disminuciones poblacionales recientes. Tanto Cuba como Guadalupe albergan una actividad de anidación de tortuga carey relativamente limitada o en declive, lo que puede reducir el tamaño efectivo poblacional y llevar a la pérdida de haplotipos por deriva.

Patrones similares de baja diversidad haplotípica en colonias de anidación pequeñas o amenazadas se han reportado en otras regiones, como en ciertas islas del Indo-Pacífico (por ejemplo, Seychelles y Redang), donde la baja abundancia de anidación, más que la distancia geográfica, fue identificada como el principal factor impulsor de la baja diversidad genética. Por lo tanto, la baja diversidad observada en Cuba y Guadalupe probablemente refleja procesos demográficos locales en lugar de un aislamiento a escala de cuenca.

La diversidad nucleotídica en Colombia ( $\pi = 1\% \pm 0,005$ ) fue comparable a la de Puerto Rico y las Islas Vírgenes, indicando que Colombia alberga una agregación de alimentación genéticamente diversa a pesar de la presencia de haplotipos regionalmente únicos. Por el contrario, los valores extremadamente bajos de  $\pi$  registrados en Cuba ( $\pi = 0,1\% \pm 0,001$ ) y Guadalupe ( $\pi = 0,1\% \pm 0,001$ ) refuerzan la presencia de pequeños tamaños efectivos poblacionales y contracciones demográficas recientes en estas localidades, en concordancia con los patrones reportados para poblaciones pequeñas de islas en el Indo-Pacífico (Vargas *et al.*, 2016).

### Diferenciación poblacional

Los análisis de  $F_{st}$  y  $\Phi_{st}$  en este estudio revelaron estructura genética en varias localidades. Colombia mostró una diferenciación matrilineal relativamente baja con Puerto Rico ( $F_{st} = 0,102$ ), indicando afinidades más cercanas entre estas dos agregaciones de alimentación. Este patrón podría estar influenciado por corredores ecológicos y rutas migratorias compartidas que facilitan el intercambio genético, un fenómeno observado en el Atlántico occidental (Vélez-Zuazo *et al.*, 2008; Gaos *et al.*, 2016).

La baja diversidad en colonias de anidación pequeñas o disminuidas, como las documentadas en partes de Cuba y Guadalupe, se ha asociado con eventos fundadores, inestabilidad demográfica a largo plazo o cuellos de botella poblacionales

the presence of regionally unique haplotypes. Conversely, the extremely low  $\pi$  values recorded in Cuba ( $\pi = 0.1\% \pm 0.001$ ) and Guadeloupe ( $\pi = 0.1\% \pm 0.001$ ) further support the presence of small effective population sizes and recent demographic contraction in these localities, consistent with patterns reported for small island populations in the Indo-Pacific (Vargas *et al.*, 2016;).

### Population differentiation

$F_{st}$  and  $\Phi_{st}$  analyses in this study revealed genetic structure in several localities. Colombia showed relatively low matrilineal differentiation with Puerto Rico ( $F_{st} = 0.102$ ), indicating closer affinities between these two foraging aggregations. This pattern may be influenced by shared ecological corridors and migratory routes that facilitate genetic exchange, a phenomenon observed in the western Atlantic (Vélez-Zuazo *et al.*, 2008; Gaos *et al.*, 2016)

Low diversity in small or depleted rookeries, such as those documented in parts of Cuba and Guadeloupe, has been associated with founder events, long-term demographic instability, or recent population bottlenecks caused by historical overexploitation (Monzón-Argüello *et al.*, 2010). Therefore, the differentiation observed in this study likely reflects the combined effects of natal homing, reduced effective population size, and past anthropogenic pressure, rather than physical isolation imposed by marine currents.

Compared to Monzón-Argüello *et al.* (2010), who documented a strong Atlantic vs Indo-Pacific break, our results reveal finer-scale structure within the western Atlantic, with restricted female-mediated connectivity among several Lesser Antilles populations, particularly Guadeloupe, Antigua, and Barbados where moderate to high  $F_{st}/\Phi_{st}$  values were observed. These findings indicate localized genetic subdivision driven by demographic history and philopatry, similar to patterns detected in the Colombian Pacific (Trujillo-Arias *et al.*, 2014).

### Mixed Stock Analysis

The Mixed Stock Analysis (MSA) provides ecological context complementing the genetic differentiation results. The Colombian foraging aggregation was shown to be genetically mixed, primarily composed of individuals from Guadeloupe (37.4%) and Costa Rica (26.7%), with additional contributions from Barbados, Cuba, Nicaragua, and others. This supports Colombia's role as a multi-source foraging ground and aligns with its high haplotypic diversity.

The relatively low  $F_{st}$  values between Colombia and Puerto

recientes causados por la sobreexplotación histórica (Monzón-Argüello *et al.*, 2010). Por lo tanto, la diferenciación observada en este estudio probablemente refleja los efectos combinados del *homing* natal, el tamaño efectivo poblacional reducido y la presión antropogénica histórica, en lugar del aislamiento físico impuesto por las corrientes marinas.

En comparación con Monzón-Argüello *et al.* (2010), quienes documentaron una marcada ruptura entre el Atlántico y el Indo-Pacífico, nuestros resultados revelan una estructura a escala más fina dentro del Atlántico occidental, con conectividad mediada por hembras restringida entre varias poblaciones de las Antillas Menores, particularmente Guadalupe, Antigua y Barbados, donde se observaron valores moderados a altos de  $F_{st}/\Phi_{st}$ . Estos hallazgos indican una subdivisión genética localizada impulsada por la historia demográfica y la filopatría, similar a los patrones detectados en el Pacífico colombiano (Trujillo-Arias *et al.*, 2014).

### Análisis de Mezcla Poblacional

El Análisis de Mezcla Poblacional (MSA) proporciona un contexto ecológico que complementa los resultados de la diferenciación genética. Se demostró que la agregación de alimentación colombiana es genéticamente mixta, compuesta principalmente por individuos provenientes de Guadalupe (37,4%) y Costa Rica (26,7%), con contribuciones adicionales de Barbados, Cuba, Nicaragua y otras. Esto respalda el papel de Colombia como una zona de alimentación de múltiples fuentes y se alinea con su alta diversidad haplotípica.

Los valores relativamente bajos de  $F_{st}$  entre Colombia y Puerto Rico ( $F_{st} = 0,102$ ) se alinean con los patrones del MSA, sugiriendo un movimiento frecuente de individuos entre las zonas de alimentación a lo largo del Atlántico occidental. Mientras tanto, la combinación paradójica de baja diversidad en Guadalupe con una alta contribución a las zonas de alimentación de Colombia podría reflejar un fuerte *homing* natal en las playas de anidación de Guadalupe combinado con una amplia dispersión durante las etapas juvenil y subadultas.

Los amplios intervalos de confianza observados en el MSA bayesiano, particularmente para Guadalupe y Costa Rica, resaltan la naturaleza probabilística de estas asignaciones y la resolución limitada del ADNmt. Debido a que muchas colonias de anidación caribeñas comparten haplotipos comunes, el MSA puede tener dificultades para distinguir las contribuciones de las colonias con

Rico ( $F_{st} = 0,102$ ) align with MSA patterns, suggesting frequent movement of individuals among foraging areas across the western Atlantic. Meanwhile, the paradoxical combination of low diversity in Guadeloupe but high contribution to Colombia's foraging grounds may reflect strong natal homing at Guadeloupe's nesting beaches combined with broad dispersal during juvenile and subadult stages.

The wide confidence intervals observed in the Bayesian MSA, particularly for Guadeloupe and Costa Rica, highlight the probabilistic nature of these assignments and the limited resolution of mtDNA. Because many Caribbean rookeries share common haplotypes, the MSA can struggle to distinguish contributions from rookeries with overlapping genetic signatures. As a result, proportional estimates should be interpreted cautiously, acknowledging that they represent probability distributions rather than precise population-level contributions.

Together, these elements demonstrate the layered nature of hawksbill connectivity: long-term genetic structure shaped by philopatry coexists with contemporary ecological mixing at foraging areas. This interplay, combined with uncertainty derived from shared haplotypes, emphasizes the importance of integrating multiple markers and broader geographic sampling in future female-mediated connectivity studies.

### Conservation Implications

The genetic patterns identified here highlight the ecological importance of Colombian waters for hawksbills in the western Atlantic. Although mtDNA reflects only female-mediated structure, the high haplotypic diversity found in Colombia, including ten newly identified haplotypes, suggests that the Rosario Islands function as a regional diversity area receiving individuals from several Caribbean rookeries. Mixed Stock Analysis supports this pattern, indicating contributions from Guadeloupe, Costa Rica, and Cuba, though estimates must be interpreted cautiously due to broad confidence intervals.

In contrast, the low diversity and marked differentiation observed in Cuba and Guadeloupe point to demographic vulnerability likely associated with reduced nesting, historical exploitation, or small effective population sizes. Strengthening habitat protection, reducing anthropogenic pressure, and improving nesting success will be essential for preserving matrilineal diversity in these regions.

Colombia's role as a recipient of turtles from multiple nesting

firmas genéticas superpuestas. Como resultado, las estimaciones de proporciones deben interpretarse con cautela, reconociendo que representan distribuciones de probabilidad en lugar de contribuciones precisas a nivel poblacional.

En conjunto, estos elementos demuestran la naturaleza estratificada de la conectividad de la tortuga carey: la estructura genética a largo plazo, moldeada por la filopatría, coexiste con la mezcla ecológica contemporánea en las zonas de alimentación. Esta interacción, combinada con la incertidumbre derivada de los haplotipos compartidos, enfatiza la importancia de integrar múltiples marcadores y un muestreo geográfico más amplio en futuros estudios de conectividad mediada por hembras.

### Implicaciones para la conservación

Los patrones genéticos identificados aquí resaltan la importancia ecológica de las aguas colombianas para las tortugas carey en el Atlántico occidental. Aunque el ADNmt refleja únicamente la estructura mediada por hembras, la alta diversidad haplotípica encontrada en Colombia, incluyendo diez haplotipos identificados recientemente, sugiere que las Islas del Rosario funcionan como un área regional de diversidad que recibe individuos provenientes de varias colonias de anidación caribeñas. El Análisis de Mezcla Poblacional respalda este patrón, indicando contribuciones de Guadalupe, Costa Rica y Cuba, aunque las estimaciones deben interpretarse con cautela debido a los amplios intervalos de confianza.

En contraste, la baja diversidad y la marcada diferenciación observadas en Cuba y Guadalupe apuntan a una vulnerabilidad demográfica probablemente asociada con una anidación reducida, la explotación histórica o tamaños efectivos poblacionales pequeños. Fortalecer la protección del hábitat, reducir la presión antropogénica y mejorar el éxito de la anidación serán esenciales para preservar la diversidad matrilineal en estas regiones.

El papel de Colombia como receptor de tortugas de múltiples playas de anidación subraya la importancia de salvaguardar los hábitats de alimentación dentro de marcos regionales. Una gestión coordinada entre jurisdicciones, a través de áreas marinas protegidas ampliadas, una aplicación más estricta, la participación comunitaria y un turismo regulado, será clave para mantener la conectividad. Incorporar el monitoreo genético en programas de largo plazo, idealmente complementado con marcadores nucleares, ayudará a capturar el flujo génico mediado por machos y a refinar las unidades de manejo.

beaches underscores the importance of safeguarding foraging habitats within regional frameworks. Coordinated management across jurisdictions, through expanded marine protected areas, stronger enforcement, community engagement, and regulated tourism will be key to maintaining connectivity. Incorporating genetic monitoring into long-term programs, ideally complemented with nuclear markers, will help capture male-mediated gene flow and refine management units.

## CONCLUSIONS

This study situates Colombian hawksbill turtles within a global phylogeographic framework, showing how local matrilineal patterns align with broader Atlantic and Indo-Pacific lineages while revealing fine-scale structure in the western Atlantic. By combining newly generated Colombian haplotypes with worldwide reference data, the results highlight the ecological relevance of Colombian foraging habitats and their role in receiving individuals from multiple nesting regions. At the same time, the reduced diversity observed in populations such as Cuba and Guadeloupe points to demographic fragility that warrants targeted conservation attention. Because mtDNA reflects only maternal inheritance, future work incorporating nuclear markers will be essential for capturing male-mediated processes and refining management units. Overall, the patterns documented here reinforce the need for cooperative, region-wide conservation strategies that integrate genetic monitoring, protect key foraging areas, and support the recovery of vulnerable rookeries across the western Atlantic.

### Limitations

Several limitations must be acknowledged when interpreting these findings. First, sampling effort across regions was uneven, with some localities represented by very small sample sizes (e.g., Turks and Caicos,  $n = 5$ ). The Colombian dataset itself comprised 19 individuals yielding 10 unique haplotypes, suggesting that true haplotypic richness is likely higher than observed. As a result, the patterns reported here should be considered preliminary with respect to the full genetic landscape of Colombian hawksbill turtles.

Second, all population-level inferences  $F_{st}$ ,  $\Phi_{st}$ , haplotype networks, and MSA were derived from a single mitochondrial locus. These methods therefore capture only female-mediated ancestry and cannot detect male-driven dispersal or genome-wide structure. Because most contemporary population-genetic journals now

## CONCLUSIONES

Este estudio sitúa a las tortugas carey colombianas dentro de un marco filogeográfico global, mostrando cómo los patrones matrilineales locales se alinean con los linajes más amplios del Atlántico y del Indo-Pacífico, a la vez que revelan una estructura a escala fina en el Atlántico occidental. Al combinar los haplotipos colombianos generados recientemente con datos de referencia mundiales, los resultados resaltan la relevancia ecológica de los hábitats de alimentación colombianos y su papel en la recepción de individuos provenientes de múltiples regiones de anidación. Al mismo tiempo, la diversidad reducida observada en poblaciones como las de Cuba y Guadalupe apunta a una fragilidad demográfica que merece una atención de conservación focalizada. Debido a que el ADNmt refleja únicamente la herencia materna, los trabajos futuros que incorporen marcadores nucleares serán esenciales para capturar los procesos mediados por machos y refinar las unidades de manejo. En conjunto, los patrones documentados aquí refuerzan la necesidad de estrategias de conservación cooperativas y a escala regional que integren el monitoreo genético, protejan las zonas clave de alimentación y apoyen la recuperación de las colonias de anidación vulnerables a lo largo del Atlántico occidental.

### Limitaciones

Varias limitaciones deben reconocerse al interpretar estos hallazgos. Primero, el esfuerzo de muestreo entre regiones fue desigual, con algunas localidades representadas por tamaños muestrales muy pequeños (por ejemplo, Turcas y Caicos,  $n = 5$ ). El conjunto de datos colombiano en sí mismo comprendió 19 individuos que generaron 10 haplotipos únicos, lo que sugiere que la verdadera riqueza haplotípica es probablemente mayor a la observada. Como resultado, los patrones reportados aquí deben considerarse preliminares respecto al panorama genético completo de las tortugas carey colombianas.

Segundo, todas las inferencias a nivel poblacional ( $F_{st}$ ,  $\Phi_{st}$ , redes de haplotipos y MSA) se derivaron de un único locus mitocondrial. Por lo tanto, estos métodos capturan únicamente la ascendencia mediada por hembras y no pueden detectar la dispersión mediada por machos ni la estructura a nivel genómico. Dado que la mayoría de las revistas contemporáneas de genética de poblaciones recomiendan ahora conjuntos de datos multilocus o genómicos, los estudios futuros deberían incorporar microsatélites, SNP o

recommend multilocus or genomic datasets, future studies should incorporate microsatellites, SNPs, or whole-genome approaches to generate a more complete view of connectivity.

Third, because mtDNA haplotypes are widely shared across many Caribbean rookeries, mixed stock estimates necessarily exhibit broad confidence intervals, reflecting both ecological complexity and methodological limitations. These values should therefore be interpreted probabilistically rather than as precise proportions.

Finally, many Colombian samples were from rehabilitated turtles, and the ecological context (life stage, health, behavioral state) was not recorded. Sampling free-ranging individuals across multiple seasons would provide a more accurate representation of population structure and temporal stability. Inclusion of ecological metadata in future studies will strengthen the interpretation of genetic patterns and enhance conservation planning.



enfoques de genoma completo para generar una visión más completa de la conectividad.

Tercero, debido a que los haplotipos del ADNmt se comparten ampliamente entre muchas colonias de anidación caribeñas, las estimaciones de mezcla poblacional necesariamente exhiben amplios intervalos de confianza, reflejando tanto la complejidad ecológica como las limitaciones metodológicas. Por lo tanto, estos valores deben interpretarse de manera probabilística y no como proporciones precisas.

Finalmente, muchas de las muestras colombianas provenían de tortugas en rehabilitación, y el contexto ecológico (etapa de vida, estado de salud, comportamiento) no fue registrado. Muestrear individuos en vida libre a lo largo de múltiples estaciones proporcionaría una representación más precisa de la estructura poblacional y su estabilidad temporal. La inclusión de metadatos ecológicos en estudios futuros fortalecerá la interpretación de los patrones genéticos y mejorará la planificación de la conservación.

## **AGRADECIMIENTOS**

Expresamos nuestro más sincero agradecimiento al Parque Nacional Natural Corales del Rosario y San Bernardo (PNN Islas del Rosario y San Bernardo), a la Universidad de los Andes y a su Laboratorio de Ecología Molecular de Vertebrados Acuáticos (LEMVA), y al Oceanario de las Islas del Rosario por su apoyo financiero, técnico y logístico a lo largo del desarrollo de esta investigación.

## **ACKNOWLEDGMENTS**

We would like to express our most sincere gratitude to the Rosario and San Bernardo Corals National Natural Park (PNN Islas del Rosario y San Bernardo), the Universidad de los Andes and its Laboratory of Molecular Ecology of Aquatic Vertebrates (LEMVA), and the Oceanario of the Rosario Islands for their financial, technical, and logistical support throughout the course of this research.

## BIBLIOGRAFÍA / LITERATURE CITED

- Abreu-Grobois, F.A., Horrocks, J., Formia, A., LeRoux, R., Vélez-Zuazo, X., Dutton, P., Soares, L., Meylan, P. and Browne, D. (2006). New mtDNA D-loop primers which work for a variety of marine turtle species may increase the resolution capacity of mixed stock analysis. In: Frick, M., Panagopoulou, A., Rees, A.F. and Williams, K. (Eds.), *Proceedings of the 26th Annual Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation*. Crete, Greece, p. 179.
- Arantes, L.S., Vargas, S.M. and Santos, F.R. (2020). Global phylogeography of the critically endangered hawksbill turtle (*Eretmochelys imbricata*). *Genetics and Molecular Biology*, 43(2), e20190264. doi: 10.1590/1678-4685-GMB-2019-0264
- Arcos, M., Barrero, A., Guarín, G. and Quintero, P. (2002). Establishment and comparisons of structural characteristics of sea turtle nesting focal points already established in the Arrecifes National Natural Park sector. Research Seminar. Santa Marta: Universidad Jorge Tadeo Lozano, p. 54.
- Bolker, B. (2012). mixstock: Mixed Stock Analysis Using Bayesian MCMC. R package.
- Ceballos-Fonseca, C. (2004). Distribution of nesting beaches and feeding areas of sea turtles and their threats in the Colombian Caribbean. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras*, 33, pp. 79–99. doi: <https://doi.org/10.25268/bimc.invenmar.2004.33.0.249>
- Dutton, P.H. (1995). Simple biopsy technique for sampling skin for DNA analysis of sea turtles. *Marine Turtle Newsletter*, 69, pp. 9–10.
- Edgar, R.C. (2004). MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research*, 32(5), pp. 1792–1797. doi: <https://doi.org/10.1093/nar/gkh340>
- Excoffier, L., Laval, G. and Schneider, S. (2005). Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*, 1, pp. 47–50.
- Gaos, A.R., Lewison, R.L., Liles, M.J., Gadea, V., Altamirano, E., Henríquez, A.V., Torres, P., Urteaga, J., Vallejo, F., Baquero, A., LeMarie, C., Muñoz, J.P., Chaves, J.A., Hart, C.E., Peña de Niz, A., Chácon, D., Fonseca, L., Otterstrom, S., Yañez, I.L., LaCasella, E.L., Frey, A., Jensen, M.P. and Dutton, P.H. (2016). Hawksbill turtle terra incognita: conservation genetics of eastern Pacific rookeries. *Ecology and Evolution*, 6(4), pp. 1251–1264. doi: <https://doi.org/10.1002/ece3.1897>
- Geneious Prime. (2024). *Geneious Prime 2024.0.4*. Biomatters Ltd. <https://www.geneious.com>
- Larsson, A. (2014). AliView: a fast and lightweight alignment viewer and editor for large datasets. *Bioinformatics*, 30(22), pp. 3276–3278. doi: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu531>
- Leigh, J.W. and Bryant, D. (2015). POPART: full-feature software for haplotype network construction. *Methods in Ecology and Evolution*, 6(9), pp. 1110–1116. doi: <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12410>
- LeRoux, R.A., Dutton, P.H., Abreu-Grobois, F.A., Lagueux, C.J., Campbell, C.L., Delcroix, E., Chevalier, J., Horrocks, J.A., Hillis-Starr, Z., Troëng, S., Harrison, E. and Stapleton, S. (2012). Re-examination of population structure and phylogeography of hawksbill turtles in the wider Caribbean using longer mtDNA sequences. *Journal of Heredity*, 103(6), pp. 806–820. doi: <https://doi.org/10.1093/jhered/ess055>
- Maddison, D.R. and Maddison, W.P. (2000). *MacClade 4: analysis of phylogeny and character evolution*. Sunderland: Sinauer Associates.
- McCormick, C.C. (1997). *Because they also have the right to continue leaving their mark. Current diagnosis of sea turtles in the archipelago of San Andrés, Providencia and Santa Catalina, Phase II*. San Andrés, Colombia: Coralina, p. 67.
- McCormick, C.C. (1998). *Current diagnosis of sea turtles in the archipelago of San Andrés, Providencia and Santa Catalina*. San Andrés: Coralina, p. 41.
- Moncada, F.G., Hawkes, L.A., Fish, M.R., Godley, B.J., Manolis, S.C., Medina, Y., Nodarse, G. and Webb, G.J.W. (2012). Patterns of dispersal of hawksbill turtles from the Cuban shelf inform scale of conservation and management. *Biological Conservation*, 148(2), pp. 191–199. doi: 10.1016/j.biocon.2012.01.011
- Monzón-Argüello, C., Rico, C., Marco, A., López, P. and López-Jurado, L.F. (2010). Genetic characterization of eastern Atlantic hawksbill turtles at a foraging group indicates major undiscovered nesting populations in the region. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 387(1–2), pp. 9–14. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2010.03.004>
- Mortimer, J.A. and Donnelly, M. (2008). *Eretmochelys imbricata*. *The IUCN Red List of Threatened Species 2008: e.T8005A12881238*. <https://www.iucnredlist.org>
- Naro-Maciel, E., Le, M., FitzSimmons, N.N. and Amato, G. (2008). Evolutionary relationships of marine turtles: a molecular phylogenetic perspective. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 49(2), pp. 659–662. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2008.08.004>
- NCBI Resource Coordinators. (2016). Database resources of the National Center for Biotechnology Information. *Nucleic Acids Research*, 44(D1), pp. D7–D19. doi: <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1290>
- NOAA Fisheries. (2025). *Hawksbill turtle (Eretmochelys imbricata)*. *U.S. National Oceanic and Atmospheric Administration*. [<https://www.fisheries.noaa.gov/species/hawksbill-turtle>] [Accessed: 05.28.2026].
- Norton, T. and Mettee, N. (2020). *Sample collection techniques*. Technical Report 2.0. Illinois: WIDECAS.T.
- O'Dea, A., Lessios, H.A., Coates, A.G., Eytan, R.I., Restrepo-Moreno, S.A., Cione, A.L., Collins, L.S., de Queiroz, A., Farris, D.W., Norris, R.D., Stallard, R.F., Woodburne, M.O., Aguilera, O., Aubry, M.-P., Berggren, W.A., Budd, A.F., Cozzuol, M.A., Coppard, S.E., Duque-Caro, H., Finnegan, S., Gasparini, G.M., Grossman, E.L., Johnson, K.G., Keigwin, L.D., Knowlton, N., Leigh, E.G., Leonard-Pingel, J.S., Marko, P.B., Pyenson, N.D., Rachello-Dolmen, P.G., Soibelzon, E., Soibelzon, L., Todd, J.A., Vermeij, G.J. and Jackson, J.B.C. (2016). Formation of the Isthmus of Panama. *Science Advances*, 2(8), e1600883. doi: <https://doi.org/10.1126/sciadv.1600883>
- Pella, J. and Masuda, M. (2001). Bayesian methods for analysis of stock mixtures from genetic characters. *Fishery Bulletin*, 99(1), pp. 151–167.
- Proietti, M.C., Reisser, J.W., Marins, L.F. and Secchi, E.R. (2014). Genetic diversity of green turtles (*Chelonia mydas*) at a feeding ground in the southwestern Atlantic. *Marine Biology*, 161(1), pp. 61–73.
- Qiagen. (2010). *QIAamp DNA Mini and Blood Mini Handbook*. <https://www.qiagen.com> [Accessed: 16/06/2025].

- R Core Team. (2022). *R: a language and environment for statistical computing*. Vienna: R Foundation for Statistical Computing. <https://www.R-project.org/>
- Rincón-Díaz, M.P. and Rodríguez-Zárate, C.J. (2004). Characterization of nesting and feeding areas of sea turtles in San Bernardo Archipelago, Colombian Caribbean. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras*, 33, pp. 137–158. doi: <https://doi.org/10.25268/bimc.invemar.2004.33.0.252>
- Sani, L.M.I., Jamaludin, Hadiko, G., Herma, E., Inoguchi, E., Jensen, M.P., Madden, C.A., Nishizawa, H., Maryani, L., Farajallah, A., Subhan, B., Bengen, D.G. and Madduppa, H. (2024). Unraveling fine-scale genetic structure in endangered hawksbill turtle (*Eretmochelys imbricata*) in Indonesia: implications for management strategies. *Frontiers in Marine Science*, 11, 1358695. doi: <https://doi.org/10.3389/fmars.2024.1358695>
- Simões, T.N., dos Santos, E.M., Santos, A.S., Gaiotto, F.A., Costa, M.A., de Menezes Assis, E.T.C., da Silva Neves, V.C., de Santana Magalhães, W.M., Mascarenhas, R., Bonfim, W.A.G., Neves, J.N. and Solé, M. (2021). Low diversity and strong genetic structure between feeding and nesting areas in Brazil for the critically endangered hawksbill sea turtle. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 9, 704838. doi: <https://doi.org/10.3389/fevo.2021.704838>
- Stringell, T.B. (2013). *Population dynamics of marine turtles under harvest*. PhD thesis, University of Exeter. <https://hdl.handle.net/10871/14521>
- Tabib, M., Zolgharnein, H., Mohammadi, M., Salari-Aliabadi, M.A., Qasemi, A., Roshani, S., Rajabi-Maham, H. and Frootan, F. (2011). mtDNA variation of the critically endangered hawksbill turtle (*Eretmochelys imbricata*) nesting on Iranian islands of the Persian Gulf. *Genetics and Molecular Research*, 10(3), pp. 1499–1503. doi: 10.4238/vol10-3gmr1148
- Tanabe, L.K., Cochran, J.E.M., Williams, C.T., Garzon, F., Langner, U., Hardenstine, R.S., Hawkes, L.A., Brainard, R.E., Eweida, A.A., Marshall, P.A. and Berumen, M.L. (2023). Case report: tracking data from foraging hawksbill turtles in the northern Red Sea. *Animal Biotelemetry*, 11(1), 1. doi: <https://doi.org/10.1186/s40317-022-00314-x>
- Traffic. (2002). *CITES review of the exploitation, trade and management of sea turtles in the Lesser Antilles, Central America, Colombia and Venezuela*. Interim report commissioned by Traffic International on behalf of CITES, Santiago, p. 17.
- Trujillo-Arias, N., Amorochó, D.F., López-Álvarez, D. and Mejía-Ladino, L.M. (2014). Phylogeographic relations of some feeding and nesting hawksbill turtle rookeries (*Eretmochelys imbricata*) in the Caribbean and Pacific of Colombia. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras*, 43(1), pp. 159–182. doi: <https://doi.org/10.25268/bimc.invemar.2014.43.1.30>
- Vargas, S.M., Jensen, M.P., Ho, S.Y.W., Mobaraki, A., Broderick, D., Mortimer, J.A., Whiting, S.D., Miller, J., Prince, R.I.T., Bell, I.P., Hoenner, X., Limpus, C.J., Santos, F.R. and FitzSimmons, N.N. (2016). Phylogeography, genetic diversity, and management units of hawksbill turtles in the Indo-Pacific. *Journal of Heredity*, 107(3), pp. 199–213. doi: <https://doi.org/10.1093/jhered/esv091>
- Vélez-Zuazo, X., Ramos, W.D., van Dam, R.P., Diez, C.E., Abreu-Grobois, A. and McMillan, W.O. (2008). Dispersal, recruitment and migratory behaviour in a hawksbill sea turtle aggregation. *Molecular Ecology*, 17(4), pp. 839–853. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2007.03635.x>
- Wood, L.D., Hardy, R., Meylan, P.A. and Meylan, A.B. (2013). Characterization of a hawksbill turtle (*Eretmochelys imbricata*) foraging aggregation in a high-latitude reef community in southeastern Florida, USA. *Herpetological Conservation and Biology*, 8(1), pp. 258–275.

