



**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y  
BIOLÓGICAS**  
**CARRERA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA MARINA**

**“Diversidad genética de la anchoveta *Engraulis ringens* a lo largo de la costa peruana basada en secuencias de ADN mitocondrial”**

Tesis para optar el título profesional de:

**BIÓLOGO MARINO**

Presentado por:

**Deivis Alexander Cueva Shapiama (0000-0002-1937-7452)**

Asesor:

**Giovanna Elizabeth Sotil Caycho (0000-0002-1583-8821)**

Lima – Perú

2021





**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y  
BIOLÓGICAS**  
**CARRERA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA MARINA**

**“Diversidad genética de la anchoveta *Engraulis ringens* a lo largo de la costa peruana basada en secuencias de ADN mitocondrial”**

Tesis para optar el título profesional de:

**BIÓLOGO MARINO**

Presentado por:

Deivis Alexander Cueva Shapiama (0000-0002-1937-7452)

Asesor:

Giovanna Elizabeth Sotil Caycho (0000-0002-1583-8821)

Lima – Perú

2021

**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS**

Lima, 07 de mayo de 2020.

Los integrantes del Jurado de tesis:

Presidente: Dr. PEPE ANTONIO ESPINOZA SILVERA
Miembro: Dr. HECTOR ALONSO APONTE UBILLUS
Miembro: Dr. ROGER IZIGA GOICOCHEA

Se reúnen para evaluar la tesis titulada:

**“GENETIC DIVERSITY OF THE ANCHOVY *ENGRAULIS RINGENS* ALONG PERUVIAN COAST BASED ON MITOCHONDRIAL DNA SEQUENCES”**

Presentada por el estudiante/bachiller:

- **DEIVIS ALEXANDER CUEVA SHAPIAMA**

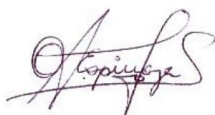
Para optar el Título Profesional de Biólogo Marino

Asesorado por: Mg. GIOVANNA ELIZABETH SOTIL CAYCHO

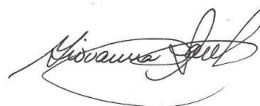
Luego de haber evaluado el informe final de tesis y evaluado el desempeño de los estudiantes de la carrera de Biología Marina en la sustentación, concluyen de manera unánime ( X ) por mayoría simple ( ) calificar a:

Tesis: <b>DEIVIS ALEXANDER CUEVA SHAPIAMA</b>			Nota (en letras): Dieciocho
Aprobado ( )	Aprobado - Muy buena ( X )	Aprobado - Sobresaliente ( )	Desaprobado ( )

Los miembros del jurado firman en señal de conformidad.



Dr. PEPE ANTONIO ESPINOZA SILVERA  
Presidente



Mg. GIOVANNA ELIZABETH SOTIL CAYCHO  
Asesora



Dr. HECTOR ALONSO APONTE UBILLUS  
Miembro 1



Dr. ROGER IZIGA GOICOCHEA  
Miembro 2

**Índice**

<b>CARÁTULA</b> .....	1
Acta de sustentación.....	4
<b>RESUMEN</b> .....	6
<b>ABSTRACT</b> .....	7
<b>CONTENIDO EN ESPAÑOL</b> .....	8
Introducción.....	10
Materiales y Métodos.....	12
Resultados.....	16
Discusión.....	20
Figuras y tablas.....	27
Material suplementario.....	37
<b>CONTENIDO EN INGLÉS</b> .....	52
Introduction.....	54
Materials and Methods.....	56
Results.....	60
Discussion.....	63
Figures and tables.....	69
Supplementary material.....	79
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	94

## Resumen

La anchoveta *Engraulis ringens* exhibe niveles abrumadores de biomasa y experimenta oscilaciones demográficas drásticas. Dada la inestabilidad poblacional observada, es crucial explorar la variabilidad genética, especialmente por la importante relación propuesta por estudios teóricos y observaciones empíricas entre los niveles de variabilidad intraespecífica y el destino de las poblaciones locales. A corto plazo, esta relación tiene implicancias en la sostenibilidad de las poblaciones explotadas; a largo plazo, en la perpetuación de las especies. Para la anchoveta, una de las especies más estudiadas en la parte Norte del Sistema de la Corriente de Humboldt, la variabilidad genética poblacional apenas se ha abordado. En el siguiente trabajo se describe la diversidad genética mitocondrial de *E. ringens* mediante evaluaciones temporales y la comparación con estimaciones reportadas para otros peces engraúlidos que habitan en entornos oceanográficos similares (sistemas de surgencia costera). Los resultados sugieren que *E. ringens* muestra los niveles más bajos de diversidad genética en relación con sus congéneres. Esta señal genética ya se había descrito en individuos del extremo sur de su rango geográfico, ahora ha sido confirmada en la parte norte del rango, que es el área donde ocurren los mayores niveles de biomasa de este recurso pesquero (costa norte y centro de Perú). Teniendo en cuenta que las inferencias basadas en ADN mitocondrial podrían reflejar tanto el efecto de la dinámica demográfica histórica o de presiones deterministas como la selección natural, se enfatiza la necesidad de generar más estudios que aporten con información basada en otros tipos de marcadores y bajo un muestreo exhaustivo para verificar la consistencia espacial y temporal de la señal genética observada.

## Abstract

The anchoveta *Engraulis ringens* exhibits overwhelming biomass and experiences drastic demographic oscillations. Given this population instability, it is crucial to explore genetic variability, especially for the important relationship proposed by theoretical studies and empirical observations between levels of intraspecific variability and the fate of local populations. In the short term, this relationship has consequences for the sustainability of harvested populations; in the long term, for the perpetuation of the species. For anchoveta, one of the most studied species in the Northern Humboldt Current System, population genetic variability has been scarcely addressed. Here, anchoveta's mitochondrial genetic diversity is described through several temporal assessments and the comparison with diversity estimates reported for other engraulid fish inhabiting similar oceanographic settings (coastal upwelling systems). Results suggest that *E. ringens* displays the lowest levels of genetic diversity in relation to their congeners. This genetic signature had already been described for individuals from the southern end of the species range; now the same signal has been confirmed to the northern of the geographic range; that is, the area where the highest biomass of this fishery resource occurs (northern and central coasts of Peru). Considering that mtDNA-based inferences could reflect both historical demographic dynamics or deterministic pressures such as natural selection, the need to generate more studies is emphasized in order to provide information based on other types of markers and under a comprehensive sampling to verify the spatial and temporal consistency of the observed genetic signal.

Diversidad genética de la anchoveta *Engraulis ringens* a lo largo de la costa peruana basada en secuencias de ADN mitocondrial

Deivis Alexander Cueva Shapiama. Laboratorio de Genética Molecular, Instituto del Mar del Perú, Esquina Gamarra y General Valle S/N Chucuito Callao. Correo electrónico: [dcueva@imarpe.gob.pe](mailto:dcueva@imarpe.gob.pe)

Giovanna Sotil. Laboratorio de Genética Molecular, Instituto del Mar del Perú, Esquina Gamarra y General Valle S/N Chucuito Callao. Correo electrónico: [gsotil@imarpe.gob.pe](mailto:gsotil@imarpe.gob.pe)

Correspondencia. Correo electrónico: [gsotil@imarpe.gob.pe](mailto:gsotil@imarpe.gob.pe)

Título corto: Diversidad genética de la anchoveta peruana

Número de palabras para el texto principal: 4465

Resumen

La anchoveta *Engraulis ringens* exhibe niveles abrumadores de biomasa y experimenta oscilaciones demográficas drásticas. Dada la inestabilidad poblacional observada, es crucial explorar la variabilidad genética, especialmente por la importante relación propuesta por estudios teóricos y observaciones empíricas entre los niveles de variabilidad intraespecífica y el destino de las poblaciones locales. A corto plazo, esta relación tiene implicancias en la sostenibilidad de las poblaciones explotadas; a largo plazo, en la perpetuación de las especies. Para la anchoveta, una de las especies más estudiadas en la parte Norte del Sistema de la Corriente de Humboldt, la variabilidad genética poblacional apenas se ha abordado. En el siguiente trabajo se describe la



diversidad genética mitocondrial de *E. ringens* mediante evaluaciones temporales y la comparación con estimaciones reportadas para otros peces engraúlidos que habitan en entornos oceanográficos similares (sistemas de surgencia costera). Los resultados sugieren que *E. ringens* muestra los niveles más bajos de diversidad genética en relación con sus congéneres. Esta señal genética ya se había descrito en individuos del extremo sur de su rango geográfico, ahora ha sido confirmada en la parte norte del rango, que es el área donde ocurren los mayores niveles de biomasa de este recurso pesquero (costa norte y centro de Perú). Teniendo en cuenta que las inferencias basadas en ADN mitocondrial podrían reflejar tanto el efecto de la dinámica demográfica histórica o de presiones deterministas como la selección natural, se enfatiza la necesidad de generar más estudios que aporten con información basada en otros tipos de marcadores y bajo un muestreo exhaustivo para verificar la consistencia espacial y temporal de la señal genética observada.

*Palabras clave:* anchoveta, genética de poblaciones, diversidad genética, ADN mitocondrial, Sistema de la Corriente de Humboldt.

## Introducción

En la búsqueda de un manejo sostenible de las poblaciones explotadas, la variación genética es un atributo importante para explorar y comprender porque permite que las poblaciones muestren flexibilidad y se adapten frente a escenarios que desafían su supervivencia y perpetuación (Frankham et al. 2002; Reed y Frankham 2003). La Anchoqueta *Engraulis ringens* es una de las especies marinas más estudiadas en Perú, con varios aspectos biológicos bien registrados para respaldar su manejo pesquero. Sin embargo, el conocimiento sobre la genética poblacional de la especie es notablemente escaso y aún se desconoce cómo se distribuye su variabilidad genética a lo largo de su rango geográfico en el Sistema de la Corriente de Humboldt (HCS).

Al principio del estudio de Anchoqueta, Tsukayama (1966) y Rojas 1971 (como se cita en Pauly et al., 1987, pág. 5) informaron diferencias merísticas y morfométricas entre individuos del centro norte y sur de Perú. Además, Jordan y Málaga (1972) mostraron desplazamientos desiguales (mediante experimentos de captura-recaptura) de individuos a lo largo de la costa peruana. A partir de estas observaciones se sugirió el manejo de dos unidades poblacionales, una correspondiente al centro-norte de Perú y la segunda al sur de Perú-norte de Chile (IMARPE 1973). Posteriormente, Mathisen (1989) propuso una organización alternativa compuesta por varias unidades locales basada en un patrón de distribución irregular que observó en mapas de densidad. El autor hipotetizó que tal agregación especial podría estar respaldada por diferencias genéticas.

Posteriormente, Mendo (1991) evaluó estas hipótesis sobre stocks de anchoqueta y respaldó la existencia de subpoblaciones centro-norte de Perú y sur de Perú-norte de

Chile, una conclusión que extrajo de los datos de captura-recaptura y variabilidad de aloenzimas, mientras que los otros tipos de datos que utilizó no mostraron una diferenciación espacial. En el trabajo de Mendo (1991) se evaluaron ocho alozimas pero solo tres loci resultaron informativos, lo que contrasta con el número habitual de marcadores utilizados cuando se explora la variación genética nuclear por este medio (Gyllensten 1985; Waples 1987; Hedgecock et al. 1994; Tudela et al. al. 1999).

En cuanto a la anchoveta del sur del rango geográfico, Ferrada et al. (2002) evaluaron la diferenciación genética entre muestras del norte y sur de Chile mediante el uso de marcadores de ADN nuclear y electroforesis, pero no detectaron una señal de diferenciación, posiblemente debido al bajo polimorfismo de los marcadores genéticos utilizados (Ferrada-Fuentes et al. 2018). Recientemente, se han realizado esfuerzos para desarrollar marcadores microsatélites para el estudio poblacional de *E. ringens*, pero pocos loci se han desarrollado con éxito a partir de muestras de Perú (Rojas 2011) y otros, más prometedores a partir de muestras de Chile (Ferrada-Fuentes et al. 2018), aún no han sido reportados bajo un diseño de estudio de poblaciones que incluya muestras de Perú.

De similar importancia que el enfoque de diferenciación genética es el estudio de la historia demográfica de *E. ringens* en el HCS, un ecosistema marino conocido por exhibir una alta variabilidad oceanográfica (Chavez y Messié 2009). Se ha notado que la distribución y biomasa de la anchoveta es variable en diferentes escalas de tiempo y aparentemente en respuesta a factores ambientales (Gutiérrez et al 2012; Chávez et al. 2003). La inferencia sobre la historia demográfica a partir de información genética podría revelar patrones demográficos pasados que ayuden a comprender la dinámica

poblacional contemporánea. Por ejemplo, Grant y Bowen (1998) estimaron la diversidad genética mitocondrial en varias especies de anchoveta, incluida *E. ringens*, y propusieron una dinámica de metapoblación para explicar la “arquitectura genética poblacional superficial” detectada en la anchoveta. El estudio de Grant y Bowen (1998) se basó en muestras de hace casi 30 años del extremo sur del rango de la especie. Por lo tanto, una actualización y verificación de esta señal genética en la parte norte del área de distribución (centro-norte de Perú) es pertinente, especialmente porque los registros de biomasa más grandes ocurren en esta área (Jordan 1971; Pauly y Tsukayama 1987; Ñiquen et al. 2000).

Aunque el estudio de la variabilidad genética de la población de anchoveta comenzó hace casi 30 años, la información generada todavía es escasa para generar inferencias poblacionales robustas porque los estudios se han basado en un número reducido de marcadores o un muestreo restringido en tiempo y/o espacio. Estas limitaciones resaltan la necesidad de incrementar los esfuerzos para cubrir este vacío de información. En este sentido, en el siguiente estudio se ha explorado la diversidad genética mitocondrial de *E. ringens* a lo largo de la costa peruana durante tres años con el fin de describir una señal genética consistente basada en réplicas temporales y selección de marcadores moleculares que nos permitan comparar la diversidad genética de la anchoveta con las reportadas para otras especies del género *Engraulis* que habitan en sistemas de surgencia costera en otras partes del mundo.

## Materiales y Métodos

### *Sitios de colecta y material biológico*

Se colectaron un total de 445 especímenes adultos de *E. ringens* frente a diferentes lugares de la costa norte, centro y sur del Perú (figura 1). El muestreo incluyó ejemplares de los dos stocks pesqueros (norte-centro y sur) gestionados en la zona económica exclusiva (ZEE) del Perú.

Con la excepción de la muestra AS1016 (Tacna, octubre del 2016), todos los muestreos fueron realizados por la Dirección General de Investigación de Recursos Pelágicos (DGIRP) del Instituto del Mar del Perú (IMARPE) a través de cruceros de investigación para la evaluación hidroacústica de recursos pelágicos desde el 2014 hasta el 2016. Las campañas de muestreo se realizaron durante los dos principales períodos de mayor actividad reproductiva habitualmente observados en el Perú (febrero-marzo y septiembre-octubre). Las muestras de Tacna provinieron de un varamiento natural de peces ocurrido en octubre de 2016.

En total se obtuvieron 13 muestras (tabla 1), cada una compuesta de 27 a 41 ejemplares de *E. ringens*. Los peces colectados se congelaron a  $-20^{\circ}\text{C}$  y luego se almacenaron para su posterior análisis. Una vez en el laboratorio, se cortó un pequeño trozo ( $0,5 \times 0,5 \text{ cm}^3$ ) de tejido muscular dorsal de cada individuo y se conservó en etanol al 96%. Los tejidos se mantuvieron a  $4^{\circ}\text{C}$  hasta su posterior procesamiento.

#### *Extracción de ADN, amplificación por PCR y secuenciación de marcadores mitocondriales*

La extracción de ADN se realizó aplicando el método CTAB2X/cloroformo-alcohol isoamílico. Se amplificaron dos regiones del ADN mitocondrial (mtDNA) mediante PCR: el dominio hipervariable 1 (HVR1) de 520 pares de bases (pb) de la región de control

con los iniciadores que Lee et al. (1995) propusieron para peces teleósteos, y un fragmento de 913 pb del gen citocromo b (Cytb) con los iniciadores utilizados por Silva et al. (2014) para la anchoveta de Europa *Engraulis encrasicolus*. Se utilizó el kit HotStart Taq Polymerase Master Mix (Qiagen) para realizar reacciones de PCR de 10  $\mu$ L, manteniendo las concentraciones de solución buffer, enzima ADN polimerasa y desoxinucleótidos trifosfato (dNTPs) de acuerdo con las recomendaciones del fabricante, mientras que las concentraciones finales de MgCl<sub>2</sub>, iniciadores y ADN molde se ajustaron para cada marcador. Los productos de PCR de cada muestra se secuenciaron bidireccionalmente en un analizador genético ABI 3500 (Applied Biosystems).

#### *Revisión y edición de electroferogramas*

Los electroferogramas fueron revisados (verificación de un buen proceso de llamada de bases) y editados (recorte de extremos) con FinchTv 1.4.0 (Equipo de investigación de Geospiza). Las secuencias de nucleótidos de HVR1 y Cytb se alinearon de forma independiente utilizando el algoritmo ClustalW implementado en Bioedit 7.0.0 (Larkin et al. 2007). Para ambos marcadores se generó una secuencia consenso por muestra basada en secuencias de las hebras sentido y antisentido.

#### *Polimorfismos de ADN y estimaciones de diversidad genética*

Se utilizó el software DnaSP (Librado y Rozas 2009) para explorar el polimorfismo de ADN (número y tipos de mutación y sitios variables) y generar datos de haplotipos. Los índices de diversidad de nucleótidos ( $\pi$ ) y de haplotipos ( $H_d$ ) se calcularon utilizando el software Arlequin 3.5.1.2 (Excoffier y Lischer 2010).

Además, se comparó la diversidad genética de *E. ringens* con estimaciones reportadas para otros miembros del género *Engraulis* que habitan en regiones de surgencia costera. Las especies nominales consideradas fueron *Engraulis encrasicolus*, *Engraulis capensis*, *Engraulis eurystole*, *Engraulis japonicus*, *Engraulis australis*, *Engraulis mordax*, *Engraulis anchoita* y *Engraulis ringens*. En los estudios recopilados la diversidad genética se calculó a partir de secuencias parciales y casi completas del gen citocromo b (de 400 a 1000 pb) y la Región Control (de 400 a 600 pb), y tamaños de muestra entre 15 y 30 individuos (tablas complementarias S4 y S5).

#### *Diferenciación y estructura genética*

La diferenciación genética se evaluó mediante comparaciones por pares del estadístico  $\Phi_{st}$  y pruebas exactas de diferenciación, utilizando Arlequin 3.5.1.2 (Excoffier y Lischer 2010). Los posibles escenarios de estructura genética (espacial y temporal) se evaluaron mediante el análisis jerárquico de la varianza molecular utilizando la prueba AMOVA implementada en Arlequin 3.5.1.2 (Excoffier y Lischer 2010). La organización de muestras por zonas frente a Perú (Norte, Centro y Sur), stocks pesqueros (norte-centro de Perú y sur de Perú-norte de Chile), campañas de muestreo (meses) y años fueron considerados como los niveles jerárquicos de comparación de la variación dentro y entre niveles.

Además, se estimó la genealogía de ambos marcadores mitocondriales mediante la construcción de redes de haplotipos utilizando el método Median-Joining (Bandelt et al. 1999) y el software PopArt (Leigh y Bryant 2015). Una red de haplotipos es una forma gráfica de mostrar las relaciones genealógicas entre variantes del mtDNA y la distribución de sus frecuencias en relación con un diseño de muestreo en particular.

### *Pruebas de neutralidad y distribución Mismatch*

Se utilizó las pruebas D de Tajima (Tajima 1989) y  $F_s$  de Fu (Fu 1997) para evaluar la hipótesis nula de evolución neutral. Además, realizamos análisis de *mismatch* para cada marcador. EL análisis *mismatch* permite inferir posibles eventos demográficos que la población pudo experimentar en el pasado. Una distribución unimodal refleja un rápido crecimiento de la población a partir de un tamaño poblacional efectivo pequeño; mientras que, una distribución multimodal refleja la estabilidad de la población a través de un largo periodo (Slatkin y Hudson 1991, Rogers y Harpending 1992).

### Resultados

#### *Polimorfismos de ADN y diversidad genética en HVR1 y Cytb*

Se encontraron 54 mutaciones en HVR1 (520 pb) de 445 individuos. El mayor número de sustituciones consistió en transiciones (46 transiciones frente a 8 transversiones). El número total de sitios variables fue 52 (50 con dos variantes de nucleótidos por sitio y dos con tres variantes por sitio). El número de singletons y sitios informativos de parsimonia fue casi proporcional (28 y 24 respectivamente). Todos estos cambios a nivel de nucleótidos generaron 84 haplotipos, de los cuales 29 (35%) estaban presentes en más de una muestra (haplotipos compartidos), mientras que 55 (65%) solo ocurrieron en sitios y fechas específicas (haplotipos privados). Los haplotipos privados presentaron baja frecuencia (tabla complementaria S1).

En la región parcial (913 pb) del gen Cytb, se encontraron 47 mutaciones en 236 individuos. Al igual que en HVR1, la mayor parte de sustituciones fueron transiciones



(44 transiciones frente a 3 transversiones). Todos los sitios variables fueron polimórficos por presentar solo dos variantes de nucleótidos por sitio, por lo que su número fue igual al número total de mutaciones. A diferencia de HVR1, el número de singletons (35) fue mayor que el número de sitios informativos de parsimonia (12). Todos los sitios variables definieron 44 haplotipos, siendo 9 (20%) compartidos y 35 (80%) privados. La mayoría de estos haplotipos también mostraron una frecuencia extremadamente baja (Tabla complementaria S1).

En general, se evidenció un mayor polimorfismo en HVR1 que en Cytb (Tabla complementaria S1). Por ejemplo, HVR1 mostró una mayor proporción de transversiones (un tipo de sustitución menos común que las transiciones), presencia de sitios variables con más de dos variantes y una menor proporción de singletons.

#### *Nivel de diversidad genética mitocondrial en E. ringens*

La diversidad total de haplotipos basada en HVR1 indicó una alta diversidad ( $H_d = 0,88$ ), mientras que la estimación con Cytb mostró un nivel regular ( $H_d = 0,50$ ). La diversidad total de nucleótidos siguió un patrón similar, siendo mayor en HVR1 ( $\pi = 0,0046$ ) en comparación con Cytb ( $\pi = 0,0008$ ). En general, ambas regiones mitocondriales indican una cantidad de regular a alta de variantes de mtDNA, la mayoría con baja frecuencia y niveles de divergencia respaldada por pocos pasos mutacionales (Tabla 2).

Entre los diferentes sitios y fechas de muestreo, la diversidad de haplotipos en HVR1 se mantuvo alta, variando entre 0,82 y 0,93; mientras que los valores de diversidad de nucleótidos oscilaron entre 0,0040 y 0,0050. Con respecto a Cytb, la diversidad de

haplotipos osciló entre 0,37 y 0,68; mientras que la diversidad de nucleótidos varió entre 0,0005 y 0,0013 (Tabla 2). No se detectó diferenciación significativa basada en las pruebas de permutación (10000 interacciones) en los estimados de diversidad genética entre sitios o fechas de colecta (Tabla complementaria S2 y S3). En general, la diversidad genética en ambos marcadores presentó rangos de variación estrechos sin señales de diferencias significativas. Incluso, al agrupar los índices de diversidad por campaña de muestreo o año resultó en una reducción mucho mayor de las diferencias (Tabla 2).

Los niveles de diversidad genética de *E. ringens* calculados en este estudio difieren notablemente de los reportados para las anchovetas del viejo mundo (OWA) y, en menor medida, de los valores reportados para la anchoveta de California (Figura 2). La anchoveta peruana mostró un  $H_d$  entre 0.37 y 0.68 mientras que las OWA en general mostraron valores superiores a 0.90. Las estimaciones de  $H_d$  para *E. mordax* también fueron más altas ( $H_d = 0,74-0,95$ ) que las de *E. ringens*, aunque ligeramente más bajas que aquellas de las OWA. Las estimaciones para *E. anchoita* ( $H_d = 0,45$ ) fueron muy similares a las de *E. ringens*; sin embargo, se basan en un solo muestreo. En términos de diversidad de nucleótidos, las OWA exhiben un amplio rango de variación que va desde 0,006 a 0,017; mientras que, el rango de  $\pi$  en *E. mordax* fue más estrecho (0,004-0,009). En contraste, *E. ringens* exhibe valores extremadamente bajos de  $\pi$  ( $\sim 0.001$ ) con una variabilidad mínima entre diferentes sitios del norte, centro y sur de Perú, y similar a las estimaciones calculadas a partir de la muestra de Talcahuano (Chile) (Tabla complementaria S4).

#### *Diferenciación y estructura genética poblacional*

Las comparaciones por pares del estadístico  $\Phi_{st}$  indicaron niveles bajos de diferenciación genética, con rangos de 0,000-0,036 usando Cytb y 0,000-0,066 usando HVR1 (Tabla complementaria S6 y S8). En ambos marcadores, algunas comparaciones por pares mostraron una diferenciación baja pero estadísticamente significativa. Para HVR1, las diferencias significativas no fueron respaldadas por las pruebas exactas de diferenciación, mientras que para Cytb algunas diferencias genéticas están respaldadas por las dos pruebas (Tabla complementaria S7 y S9, respectivamente).

En todos los escenarios de estructura genética evaluados mediante pruebas AMOVA, el porcentaje de variación siempre fue mayor dentro de poblaciones hipotéticas que entre ellas, sugiriendo ausencia de una estructura espacial (zonas frente a Perú: Norte, Centro y Sur;  $\Phi_{st} = 0.001$ , P-valor = 0,292 / Poblaciones pesqueras;  $\Phi_{st} = -0,008$ , valor P = 0,988) o temporal (campañas de muestreo;  $\Phi_{st} = -0,007$ , valor P = 0,903 / año,  $\Phi_{st} = -0,006$ , valor P = 0,982). Debido al resultado general del análisis de la varianza molecular, solo se muestran resultados de niveles jerárquicos de comparación de las siguientes organizaciones: 1) Norte, Centro y Sur a lo largo de la costa peruana; y 2) stocks pesqueros (Tabla 3 y 4).

En general, las redes de haplotipos mostraron una distribución espacial y temporal aleatoria de las variantes de mtDNA. La distribución de frecuencia de los haplotipos más comunes tanto en HVR1 como en Cytb no mostró cambios drásticos en todos los sitios y fechas de colecta (Figura. 4).

*Genealogía de haplotipos, pruebas de neutralidad y análisis mismatch*

La topología de la red Median-Joining basada en HVR1 fue reticulada y compleja, y consistió de un haplotipo dominante (30,8%) con varios haplotipos satélites (normalmente 0,2%) a su alrededor, separados por uno o dos pasos mutacionales; y un grupo de cuatro haplotipos de frecuencia intermedia (5,4-9,4%) relacionados con el haplotipo principal a través de muchos haplotipos de baja frecuencia y otros hipotéticos. Por otro lado, la red basada en Cytb exhibió claramente una topología de tipo estrella, con un solo haplotipo dominante y varios haplotipos de satélite de baja frecuencia (Figure 4). Ambos marcadores mostraron una genealogía superficial de los linajes del mtDNA (Figura 4).

Las pruebas de neutralidad generaron valores significativamente negativos del estadístico D (-2.6418, valor P <0.05) y Fs (-29.0335, valor P <0.01), rechazando la hipótesis de neutralidad (Tabla 5). Además, el análisis *mismatch* mostró distribuciones unimodales en la frecuencia de las diferencias por pares tanto en HVR1 como en Cytb (Figura 3), que se ajusta al patrón esperado en un escenario de expansión de la población.

## Discusión

### *Nivel de diversidad genética mitocondrial en E. ringens*

La diversidad genética total estimada en este estudio fue similar a aquellas reportadas por Grant y Bowen (1998), cuya muestra provino de Talcahuano, Chile, el área más austral de la distribución de *E. ringens*. Esto indica una estimación consistente espacial y temporalmente de la diversidad genética de *E. ringens*, basada en regiones codificante y no codificante del mtDNA.

Las comparaciones de la diversidad de nucleótidos y haplotipos entre los peces engrauílidos sugirieron que *E. ringens* es una de las especies con los niveles más bajos de diversidad genética entre estos pequeños peces pelágicos que habitan en los sistemas de surgencia costera. Grant y Bowen (1998) ya habían descrito esta señal genética para algunas anchovetas de Talcahuano, Chile. Ellos notaron que una coalescencia superficial (escasa divergencia entre haplotipos) de los principales linajes del mtDNA en *E. ringens* contrastaba con la profunda divergencia genética entre la anchoveta y sus taxones hermanos (*E. anchoita* de Argentina y *E. mordax* de California). Este hallazgo les llevó a descartar una colonización reciente de las poblaciones regionales de Argentina o California. En cambio, sugirieron que esta señal genética sería el resultado de eventos recurrentes de extinción y colonización a nivel intrarregional, invocando así una estructura de metapoblación. Esta posible explicación supone un alto dinamismo en la abundancia y distribución de la anchoveta y una organización poblacional compleja ¿Qué evidencia existe de esto?

Es conocido que varias poblaciones de peces clupeidos se caracterizan por exhibir una biomasa abrumadora, pero sujeta a fluctuaciones drásticas (Lluch-Belda et al 1989; Schwartzlose et al. 1999). La anchoveta no es un caso diferente, ya que muestra una alta variabilidad demográfica en diferentes escalas de tiempo, incluyendo cambios interanuales (Gutiérrez et al 2012) e interdecadales (Chávez et al. 2003). Esta variabilidad tiene sentido en la interpretación de cambios demográficos históricos inferidos a partir de secuencias de ADNmt.

En la mayoría de los estudios filogeográficos, los cambios climáticos a gran escala, como las glaciaciones durante el Pleistoceno, generalmente se sugieren como factores

que han dado forma a la arquitectura genética de las poblaciones de peces (Díaz-Viloria et al.2012; Silva et al.2014; Silva et al., 2017; Delrieu-Trottin et al.2017). En la HCS, se sabe que otros procesos climáticos a escala oceánica y global pueden explicar los cambios drásticos a escala interdecadal en la biomasa de anchoveta (Chavez et al. 2003). Además, a corto plazo, los eventos de El Niño pueden reducir drásticamente la abundancia de anchoveta (Barber y Chavez 1983; Gutiérrez et al. 1999; Ñiquen y Bouchón 2004) y hay evidencia que sugiere que estos eventos han ocurrido episódicamente en los últimos 17000 años (Rein et al. 2005). Por lo tanto, los determinantes ambientales que actúan en diferentes escalas de tiempo pueden inducir cambios demográficos radicales en *E. ringens*.

Volviendo a la propuesta de Grant y Bowen (1998), la evidencia sobre la dinámica de la población de *E. ringens* respalda cambios recurrentes en la abundancia en lugar de una estabilidad demográfica, y la teoría predice que la inestabilidad demográfica puede causar una reducción en la diversidad genética (Pannell y Charlesworth 1999). Sin embargo, la existencia de una organización poblacional compleja (metapoblación intrarregional) aún no es clara en *E. ringens*.

Es posible que la dinámica de la población de anchoveta no se ajuste estrictamente a un modelo clásico de extinción-colonización porque no se han reportado casos de extinción local, incluso en condiciones oceanográficas que desafían su supervivencia. Por ejemplo, pocos meses después de uno de los eventos de El Niño más fuertes en las últimas décadas (El Niño 97/98), ocurrió una recuperación sorprendentemente rápida de la población centro-norte de Perú, lo que sugiere que las anchovetas adultas pudieron sobrevivir a una reducción del habitat (Bertrand et al.2004).

En lugar del exterminio local, una explicación más plausible describiría un drástico colapso de la población y posterior recuperación con individuos de otras partes del área de distribución, pero también con sobrevivientes de la misma área local. Por tanto, esta posible explicación sugiere importantes niveles de conectividad en todo el rango de especies. Esta dinámica está más en línea con la definición de metapoblación que Kritzer y Sale (2004) propusieron para las poblaciones marinas, donde se enfatiza el grado de conectividad y su relevancia en el destino de la subpoblación más que los eventos de extinción/colonización.

#### *Diferenciación y estructura genética de la población*

En el HCS hay tres pesquerías importantes de anchoveta: un componente norte, centro y sur (Figura 1). En la ZEE peruana se gestiona el componente norte (stock norte-centro de Perú) y parte del componente central (stock sur Perú-norte Chile). El tercer componente, menor en términos de biomasa, ocurre en el extremo sur del rango de distribución, en el mar jurisdiccional de Chile (Stock de Chile Centro-Sur) (Cubillos et al. 2007).

En este trabajo se probaron diferentes escenarios de estructura poblacional, considerando varios niveles jerárquicos de comparación (temporal y espacial), y no se observó señal de estructuración en congruencia con los componentes pesqueros. Este resultado contrasta con el estudio de Mendo (1991), donde se describió una restricción en la dispersión entre las anchovetas del centro-norte y sur a partir de los datos de captura-recaptura. La restricción fue más pronunciada durante el invierno-primavera austral, cuando ocurre el período de mayor actividad reproductiva, lo que sugiere que el apareamiento aleatorio podría no ser siempre el caso para la anchoveta

y conlleva a la idea de posibles diferencias genéticas. De hecho, Mendo (1991) también apoyó los resultados de diferenciación con datos sobre la variación genética mediante el uso de marcadores de aloenzimas. Aunque solo tres loci polimórficos fueron informativos, mostraron diferencias significativas en la frecuencia de los alelos entre las regiones norte-centro y sur.

Las diferencias entre los resultados de mtDNA y aloenzimas no solo se deben a las diferencias en el tipo de herencia de ambos caracteres moleculares, sino que también podría estar involucrado algún tipo de dinámica de población. Grant y Leslie (1993) hicieron simulaciones sobre el efecto de los eventos periódicos de extinción-colonización sobre la variabilidad mitocondrial y de aloenzimas y surgió un patrón general: después de un número dado de generaciones, los eventos de extinción-colonización producen una erosión drástica en la variabilidad genética mitocondrial con valores de  $F_{st}$  muy cerca a cero; seguido de una lenta reducción de la variabilidad genética nuclear con valores de  $F_{st}$  manteniéndose alejado de cero. Grant y Leslie (1993) explicaron que en el contexto de metapoblación, los linajes mitocondriales son más propensos a la extinción en comparación con los nucleares debido a su naturaleza haploide y herencia uniparental (lo que reduce el tamaño efectivo de la población aproximadamente una cuarta parte con relación al del AND nuclear). Los resultados contrastantes entre el estudio de Mendo (1991) y este trabajo se ajustan a esta descripción. Por lo tanto, si la población de anchoveta experimenta este tipo de dinámica, entonces el mtDNA no es un marcador apropiado para hacer inferencias sólidas sobre la estructura genética de la población.



La evidencia hasta ahora proporciona algunas pistas sobre una posible estructura de la población de *E. ringens*, pero los estudios aún fallan en 1) cubrir completamente el rango de la especie o 2) emplear un número apropiado de marcadores genéticos. Este aspecto se encuentra aún más encriptado por la naturaleza pelágica de la anchoveta y su implicación en la dinámica de dispersión y agregación espacial. Por ejemplo, las perturbaciones del hábitat de la anchoveta (por ejemplo, eventos de El Niño o eventos cálidos similares a El Niño) hacen que los peces se muevan a diferentes escalas espaciales, desde movimientos verticales hasta desplazamientos longitudinales/latitudinales más grandes (Gutiérrez et al. 2012). En esta situación de mezcla, si los migrantes permanecen hasta el período reproductivo, la diferenciación genética sería un desafío debido al efecto amortiguador de combinar individuos de distintas subpoblaciones.

En resumen, debido a que el grado de conectividad entre las poblaciones centro-norte de Perú y el sur de Perú-norte de Chile no se ha abordado de manera exhaustiva (aquí o en estudios anteriores), no es posible concluir si la evidencia genética respalda una metapoblación o una población irregular de *E. ringens* (es decir, estructurado espacialmente pero mostrando una dinámica de población interna igualmente en todo su rango; Kritzer y Sale 2004). Sin embargo, la comparación interespecífica de la diversidad genética muestra claramente un patrón de niveles bajos en la anchoveta, y podrían invocarse explicaciones complejas para dar cuenta de eso, como por ejemplo una dinámica de metapoblación. Por lo tanto, será necesario incluir información de otros tipos de marcadores moleculares (por ejemplo, microsatélites o los generados por secuenciación masiva de ADN) así como diseños de muestreo adecuados para

verificar si la baja diversidad genética en el mtDNA de la anchoveta refleja ciertamente una

#### Agradecimientos

Agradecemos a la Dirección General de Investigación de Recursos Pelágicos (DGIRP) del Instituto del Mar del Perú (IMARPE) por ayudarnos con la colecta del material biológico.

#### Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses

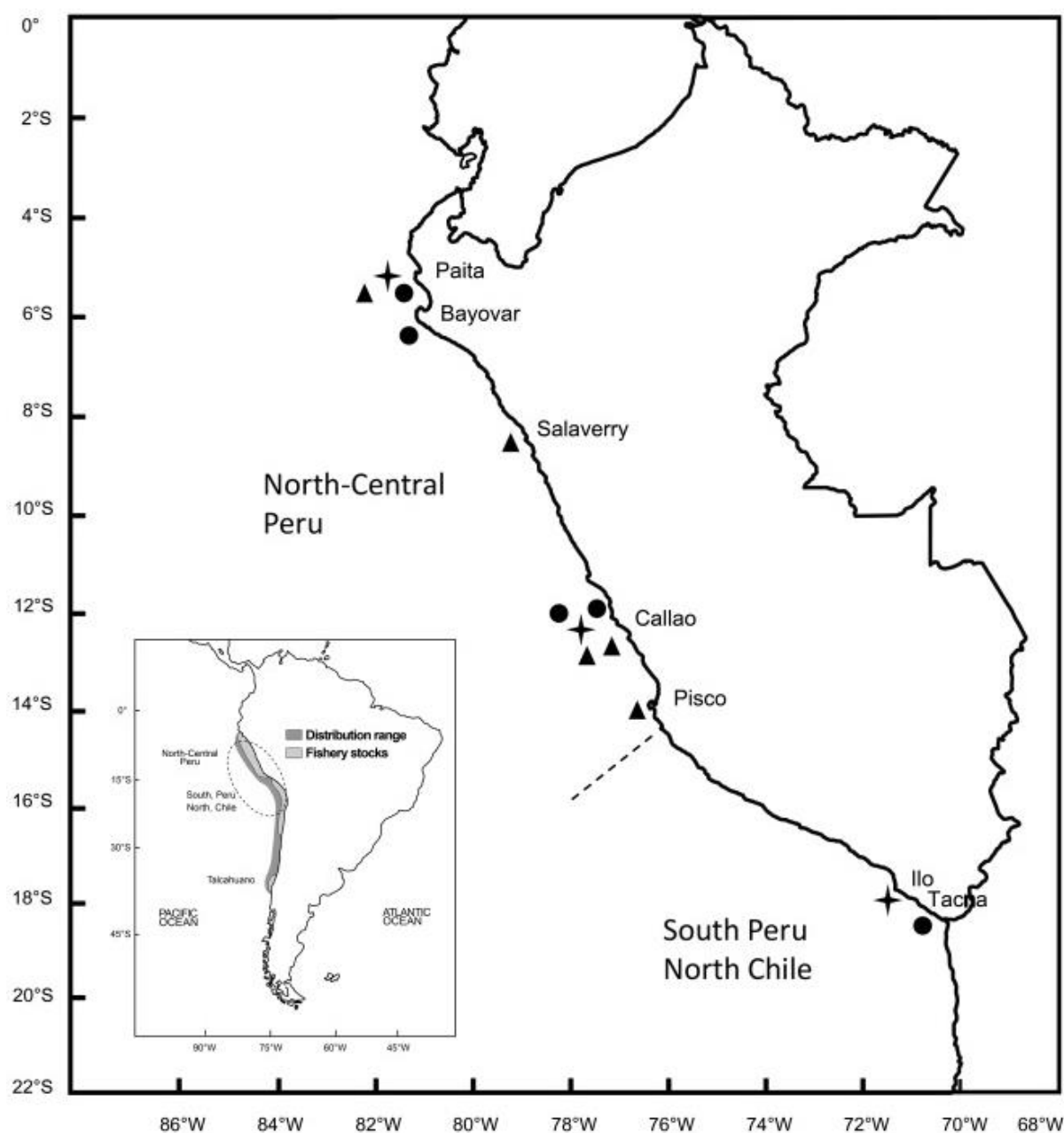
## FIGURAS Y TABLAS

**Diversidad genética de la anchoveta *Engraulis ringens* a lo largo  
de la costa peruana basada en secuencias de ADN  
mitochondrial**

D Cueva<sup>1</sup>, G Sotil<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Genética Molecular, Instituto del Mar del Peru,  
Esquina Gamarra y General Valle S/N Chucuito

E-mail: [gsotil@imarpe.gob.pe](mailto:gsotil@imarpe.gob.pe)



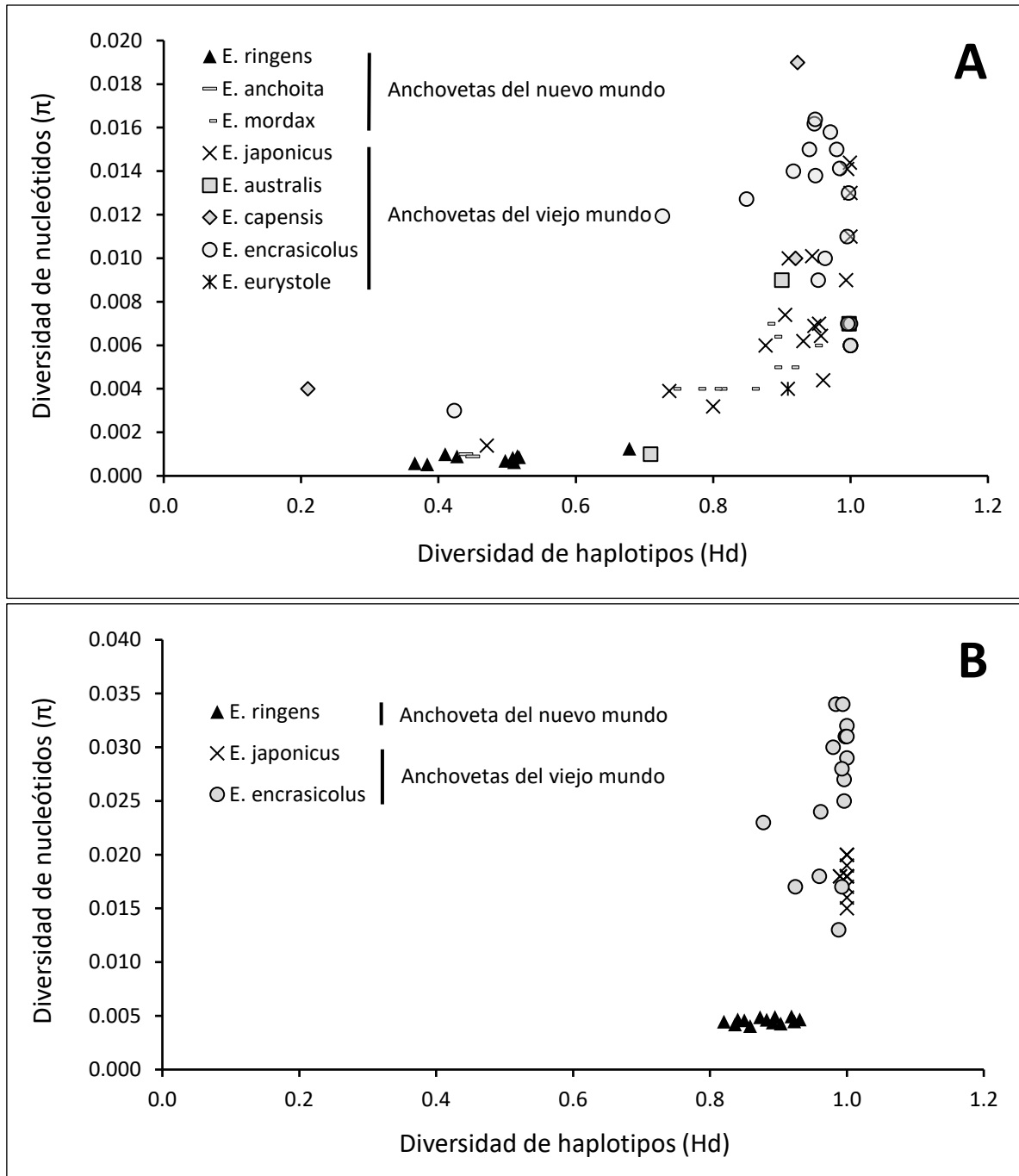
**Figura 1.** Sitios de muestreo en el mar jurisdiccional de Perú. En el panel interno (lado izquierdo inferior) se muestran el rango geográfico de *E. ringens* (gris oscuro) y los principales stocks de pesca (gris claro) en el Sistema de la Corriente de Humboldt.

**Table 1.** Características de las 13 muestras colectadas en este estudio entre 2014 y 2016. Para simplificar, el código de muestra se compone de las dos primeras letras de la región o localidad de muestreo, seguidas de dos números que indican el mes y finalmente dos números del año.

Stock pesquero	Zona latitudinal	Localidad	Fecha	Código de muestra	
Norte – Centro Perú	Norte – Perú	Paita	Febrero 2014	AP2014	
		Paita	Febrero 2015	AP0215	
		Salaverry	Agosto 2015	AN0815	
		Paita	Abril 2016	AN0416	
		Sechura	Octubre 2016	AN1016	
	Centro – Perú	Callao	Febrero 2014	AC2014	
		Callao	Febrero 2015	AC0215	
		Callao	Agosto 2015	AC0815	
		Pisco	Agosto 2015	AS0815	
		Callao	Abril 2016	AC0416	
		Callao	Octubre 2016	AC1016	
	Sur Perú – Norte Chile	Sur – Perú	Ilo	Febrero 2014	AS2014
			Tacna	Octubre 2016	AS1016

**Tabla 2.** Diversidad genética mitocondrial de *E. ringens* a lo largo de la costa peruana. Un guión (-) indica muestras en las que no se generaron secuencias de ADNmt. Para obtener una descripción general de la diversidad genética, las estimaciones también se calcularon mediante la combinación de secuencias de diferentes sitios de la misma campaña de muestreo (mes), año y como valor total.

Muestra	n		Hd ( $\pm$ s.d.)		$\pi$ ( $\pm$ s.d.)	
	HVR1	Cytb	HVR1	Cytb	HVR1	Cytb
AP2014	33	-	0.85 $\pm$ 0.05	-	0.0046 $\pm$ 0.0005	-
AP0215	39	30	0.87 $\pm$ 0.04	0.68 $\pm$ 0.09	0.0049 $\pm$ 0.0005	0.0013 $\pm$ 0.0003
AN0815	32	30	0.88 $\pm$ 0.04	0.51 $\pm$ 0.11	0.0046 $\pm$ 0.0004	0.0006 $\pm$ 0.0002
AN0416	39	30	0.84 $\pm$ 0.05	0.51 $\pm$ 0.11	0.0042 $\pm$ 0.0004	0.0009 $\pm$ 0.0003
AN1016	37	30	0.89 $\pm$ 0.04	0.51 $\pm$ 0.11	0.0044 $\pm$ 0.0003	0.0008 $\pm$ 0.0002
AC2014	27	-	0.92 $\pm$ 0.03	-	0.0045 $\pm$ 0.0005	-
AC0215	32	28	0.86 $\pm$ 0.04	0.50 $\pm$ 0.12	0.0040 $\pm$ 0.0005	0.0007 $\pm$ 0.0002
AC0815	32	30	0.84 $\pm$ 0.07	0.37 $\pm$ 3.00	0.0047 $\pm$ 0.0005	0.0006 $\pm$ 0.0002
AC0416	41	28	0.90 $\pm$ 0.04	0.38 $\pm$ 0.11	0.0049 $\pm$ 0.0004	0.0005 $\pm$ 0.0002
AC1016	31	30	0.93 $\pm$ 0.03	0.52 $\pm$ 0.11	0.0047 $\pm$ 0.0004	0.0009 $\pm$ 0.0003
AS0815	40	-	0.92 $\pm$ 0.03	-	0.0050 $\pm$ 0.0003	-
AS2014	30	-	0.90 $\pm$ 0.04	-	0.0043 $\pm$ 0.0004	-
AS1016	32	-	0.82 $\pm$ 0.06	-	0.0045 $\pm$ 0.0003	-
Febrero 2014	90	-	0.89 $\pm$ 0.02	-	0.0045 $\pm$ 0.0003	-
Febrero 2015	71	58	0.87 $\pm$ 0.03	0.59 $\pm$ 0.08	0.0045 $\pm$ 0.0003	0.0010 $\pm$ 0.0002
Agosto 2015	104	60	0.89 $\pm$ 0.03	0.44 $\pm$ 0.08	0.0048 $\pm$ 0.0002	0.0006 $\pm$ 0.0001
Abril 2016	80	58	0.86 $\pm$ 0.03	0.45 $\pm$ 0.08	0.0045 $\pm$ 0.0003	0.0007 $\pm$ 0.0002
Octubre 2016	100	60	0.88 $\pm$ 0.02	0.51 $\pm$ 0.08	0.0045 $\pm$ 0.0002	0.0009 $\pm$ 0.0002
2015	175	118	0.88 $\pm$ 0.02	0.52 $\pm$ 0.06	0.0047 $\pm$ 0.0002	0.0008 $\pm$ 0.0001
2016	180	118	0.87 $\pm$ 0.02	0.48 $\pm$ 0.06	0.0045 $\pm$ 0.0002	0.0008 $\pm$ 0.0001
Total	445	236	0.88 $\pm$ 0.01	0.50 $\pm$ 0.04	0.0046 $\pm$ 0.0001	0.0008 $\pm$ 0.0001



**Figura 2.** Diagrama de dispersión de la diversidad genética mitocondrial de especies marinas del género *Engraulis* que habitan en zonas de surgencia costera. Las estimaciones se calcularon a partir del gen *Cytb* (A) y las secuencias de la Región de Control (B). Consulte el material complementario para obtener detalles sobre la literatura utilizada.

**Tabla 3.** Análisis de la varianza molecular (AMOVA) empleando secuencias de HVR1. Estructura genética evaluada: Norte, Centro y Sur del Perú. Pruebas de significancia basadas en 20022 permutaciones.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Componentes de la varianza	Porcentaje de variación de los componentes	Estadísticos AMOVA	Valor $p$
Entre las zonas norte, centro y sur	2	3.160	0.00200	0.17	$F_{ct} = 0.00168$	0.21701
Entre las muestras dentro de cada zona	10	13.116	0.00365	0.31	$F_{sc} = 0.00307$	0.28673
Dentro de cada muestra	432	512.453	1.18623	99.53	$F_{st} = 0.00475$	0.21881
Total	444	528.730	1.19189			

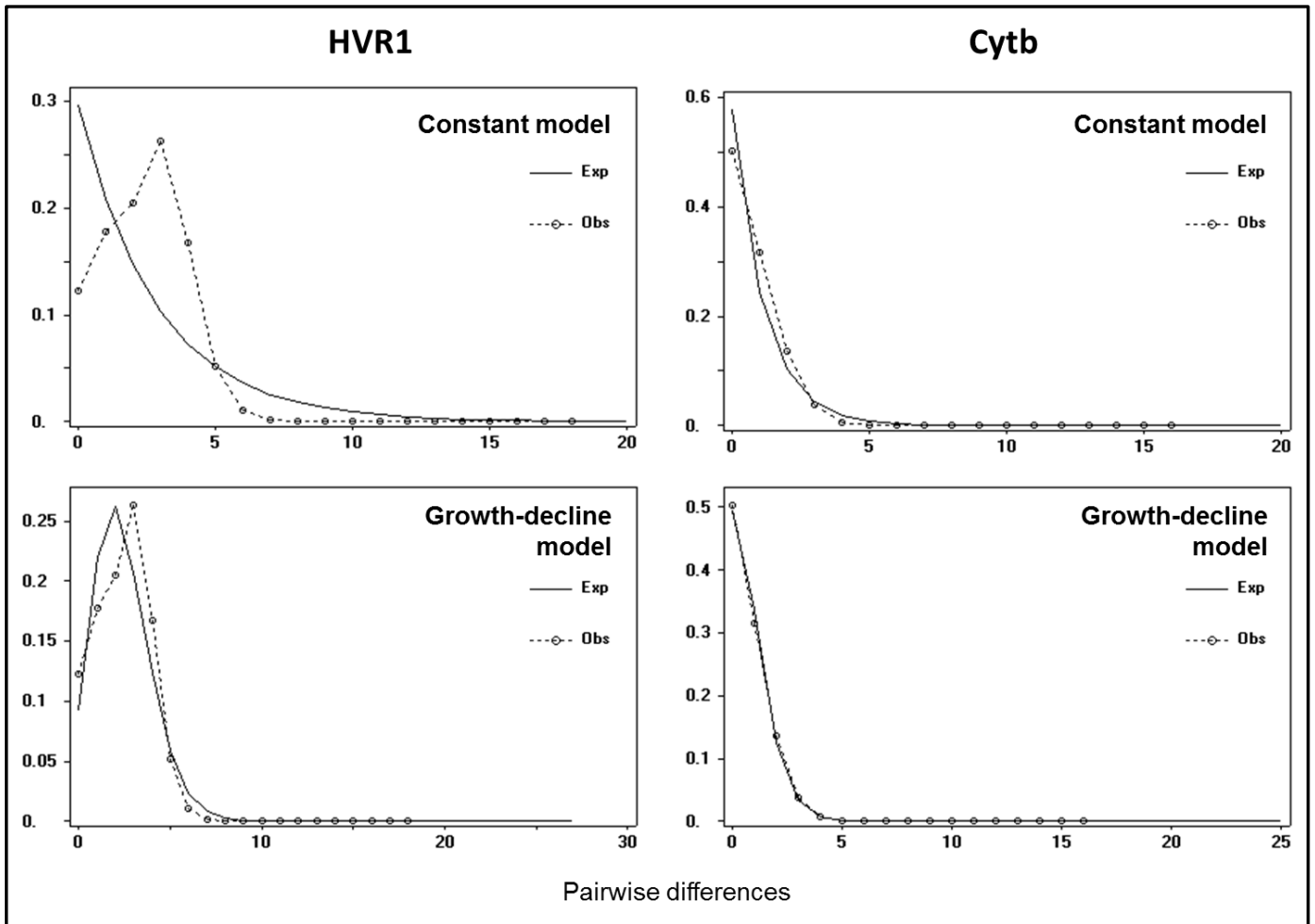


**Tabla 4.** Análisis de la varianza molecular (AMOVA) empleando secuencias de HVR1. Estructura genética evaluada: stock centro-norte Perú versus sur Perú-norte Chile. Pruebas de significancia basadas en 20022 permutaciones.

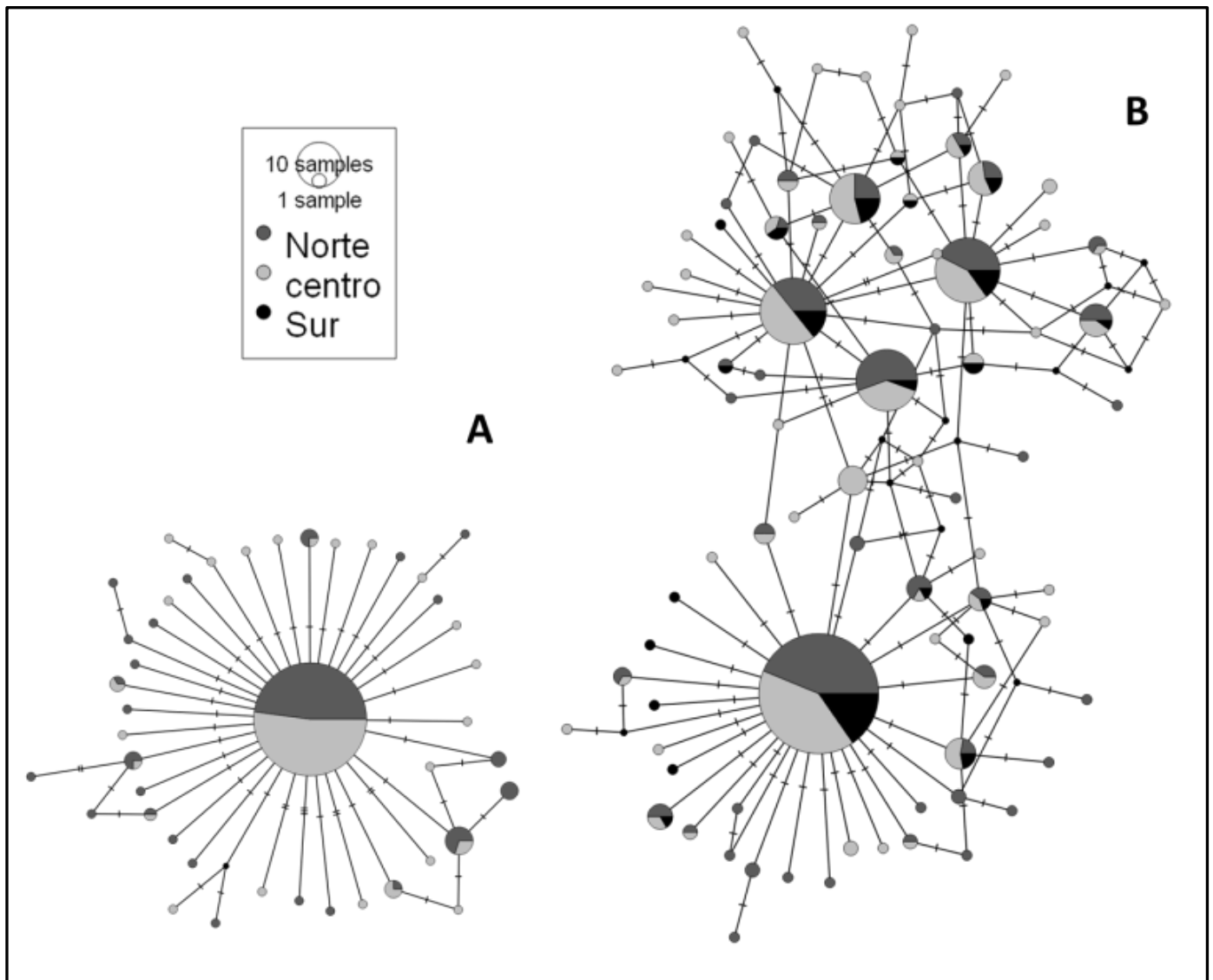
Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Componentes de la varianza	Porcentaje de variación de los componentes	Estadísticos AMOVA	Valor $p$
Entre stocks pesqueros	1	0.403	-0.00956	-0.81	$F_{ct} = -0.00807$	0.98756
Entre muestras dentro de cada stock pesquero	11	15.874	0.00746	0.63	$F_{sc} = 0.00625$	0.15133
Dentro de cada muestra	432	512.453	1.18623	100.18	$F_{st} = -0.00177$	0.21881
Total	444	528.730	1.18414			

**Tabla 5.** Pruebas de neutralidad para las secuencias de HVR1 y Cytb. Los valores en **negrita** indican desviaciones significativas del modelo neutral (Nivel de significancia = 0.05).

Muestra	Tajima's D		Fu's FS	
	HVR1	Cytb	HVR1	Cytb
AP2014	-1.1744	-	<b>-9.4778*</b>	-
AC2014	-0.3300	-	<b>-7.9154*</b>	-
AS2014	-0.8683	-	<b>-9.1784*</b>	-
AP0215	-0.9123	<b>-2.1456*</b>	<b>-10.7640*</b>	<b>-7.6703*</b>
AC0215	-0.7352	<b>-2.2798*</b>	<b>-7.6521*</b>	<b>-8.0920*</b>
AN0815	-0.8244	<b>-1.9744*</b>	<b>-6.5902*</b>	<b>-6.5545*</b>
AC0815	-0.6032	<b>-2.2355*</b>	<b>-15.1188*</b>	<b>-5.2786*</b>
AS0815	-1.0151	-	<b>-12.0377*</b>	-
AN0416	-1.2314	<b>-1.9535*</b>	<b>-9.1137*</b>	<b>-6.2841*</b>
AC0416	-1.2818	-1.7197	<b>-10.3126*</b>	<b>-2.6376*</b>
AN1016	-0.8442	<b>-1.8828*</b>	<b>-10.6453*</b>	<b>-3.7452*</b>
AC1016	-0.6189	<b>-2.2964*</b>	<b>-9.7874*</b>	<b>-8.3947*</b>
AS1016	0.1148	-	<b>-5.5473*</b>	-
Total	<b>-1.94513*</b>	<b>-2.6418*</b>	<b>-26.37530*</b>	<b>-29.0335*</b>



**Figura 3.** Análisis de la distribución de diferencias por pares (distribución *mismatch*) bajo escenarios de una historia poblacional constante y en crecimiento-declive.



**Figura 4.** Redes de haplotipos de Cytb (A) y HVR1 (B) construídas con el algoritmo Median-Joining.

## MATERIAL SUPLEMENTARIO

**Diversidad genética de la anchoveta *Engraulis ringens* a lo largo  
de la costa peruana basada en secuencias de ADN  
mitochondrial**

D Cueva<sup>1</sup>, G Sotil<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Genética Molecular, Instituto del Mar del Peru,  
Esquina Gamarra y General Valle S/N Chucuito

E-mail: [gsotil@imarpe.gob.pe](mailto:gsotil@imarpe.gob.pe)

**Tabla S1.** Número y tipo de variaciones en las secuencias del mtDNA en *Engraulis ringens*.

Marcador mitocondrial	HVR1	Cytb
Tamaño de muestra (n)	445	236
Número total de sitios de nucleótidos (tamaño de locus)	520	913
Número total de mutaciones (Eta)	54	47
Nro. de INDELS (inserciones-delecciones)	0	0
Nro. de sustituciones	54	47
Nro. de transiciones	46	44
Nro. de transversiones	8	3
Número total de sitios variables (frecuencia relativa)	52 (10%)	47 (5%)
Nro. de singletons (frecuencia relativa)	28 (54%)	35 (74%)
Nro. de singletons con dos variantes	27	35
Nro. de singletons con tres variantes	1	0
Nro. de sitios parsimonia-informativos (frecuencia relativa)	24 (46%)	12 (26%)
Nro. de sitios parsimonia-informativos con dos variantes	23	12
Nro. de sitios parsimonia-informativos con tres variantes	1	0
Número total de haplotipos	84	44
Nro. de haplotipos privados (frecuencia relativa)	55 (65%)	35 (80%)
Nro. de haplotipos compartidos (frecuencia relativa)	29 (35%)	9 (20%)

**Tabla S2a.** Pruebas de permutación para diferencias significativas en la diversidad de nucleótidos ( $\pi$ ) entre poblaciones basadas en datos de secuencia de HVR1. El procedimiento fue tomado de Alexander et al. (2016). El script R está disponible en [https://github.com/laninsky/genetic\\_diversity\\_diffs](https://github.com/laninsky/genetic_diversity_diffs)

$\pi$	0.0046	0.0045	0.0043	0.0049	0.0040	0.0046	0.0047	0.0050	0.0042	0.0049	0.0044	0.0047	0.0045
$\pi$ diff / p-values	AP2014	AC2014	AS2014	AP0215	AC0215	AN0815	AC0815	AS0815	AN0416	AC0416	AN1016	AC1016	AS1016
AP2014	--	0.883	0.609	0.646	0.394	0.937	0.902	0.560	0.538	0.584	0.787	0.888	0.845
AC2014	0.000100176	--	0.758	0.519	0.539	0.798	0.802	0.453	0.660	0.513	0.881	0.774	0.968
AS2014	0.000306899	0.000206723	--	0.307	0.698	0.580	0.543	0.277	0.910	0.286	0.871	0.549	0.768
AP0215	0.000297185	0.000397361	0.000604084	--	0.158	0.692	0.719	0.905	0.225	0.966	0.393	0.734	0.476
AC0215	0.000545741	0.000445565	0.000238843	0.000842926	--	0.353	0.306	0.141	0.795	0.155	0.562	0.364	0.530
AN0815	0.000055220	0.000155396	0.000362119	0.000241965	0.000600962	--	0.970	0.595	0.463	0.642	0.685	0.968	0.766
AC0815	0.000074606	0.000174782	0.000381505	0.000222579	0.000620347	0.000019386	--	0.618	0.456	0.674	0.665	0.977	0.759
AS0815	0.000368814	0.000468990	0.000675712	0.000071629	0.000914555	0.000313594	0.000294208	--	0.185	0.932	0.314	0.670	0.422
AN0416	0.000382769	0.000282593	0.000075871	0.000679954	0.000162972	0.000437990	0.000457375	0.000751583	--	0.202	0.726	0.441	0.668
AC0416	0.000319624	0.000419800	0.000626523	0.000022439	0.000865366	0.000264404	0.000245018	0.000049189	0.000702394	--	0.365	0.700	0.452
AN1016	0.000189985	0.000089809	0.000116914	0.000487170	0.000355757	0.000245205	0.000264591	0.000558798	0.000192785	0.000509609	--	0.650	0.914
AC1016	0.000091407	0.000191583	0.000398306	0.000205778	0.000637148	0.000036187	0.000016801	0.000277407	0.000474176	0.000228217	2.8139E-04	--	0.740
AS1016	0.000123130	0.000022954	0.000183769	0.000420315	0.000422612	0.000178350	0.000197736	0.000491943	0.000259640	0.000442754	6.6855E-05	0.000214537	--

}

**Tabla S2b.** Pruebas de permutación para diferencias significativas en la diversidad de haplotipos (Hd) entre poblaciones basadas en datos de secuencia de HVR1. El procedimiento fue tomado de Alexander et al. (2016). El script R está disponible en [https://github.com/laninsky/genetic\\_diversity\\_diffs](https://github.com/laninsky/genetic_diversity_diffs)

Hd	0.850	0.923	0.903	0.873	0.859	0.883	0.841	0.919	0.837	0.895	0.892	0.931	0.821
Hd diff /P-values	AP2014	AC2014	AS2014	AP0215	AC0215	AN0815	AC0815	AS0815	AN0416	AC0416	AN1016	AC1016	AS1016
AP2014	--	0.257	0.409	0.717	0.877	0.584	0.871	0.265	0.811	0.46	0.484	0.21	0.621
AC2014	0.0726 98135	--	0.759	0.436	0.344	0.539	0.232	0.942	0.192	0.642	0.60	0.902	0.142
AS2014	0.0530 69488	0.0196 28647	--	0.614	0.474	0.733	0.307	0.781	0.286	0.897	0.829	0.675	0.191
AP0215	0.0227 65612	0.0499 32524	0.0303 03876	--	0.794	0.867	0.584	0.389	0.543	0.704	0.729	0.344	0.377
AC0215	0.0084 9218	0.0642 05955	0.0445 77308	0.0142 73432	--	0.699	0.75	0.303	0.711	0.542	0.571	0.268	0.536
AN0815	0.0326 85728	0.0400 12407	0.0203 8376	0.0099 20117	0.0241 93548	--	0.485	0.513	0.425	0.817	0.894	0.430	0.321
AC0815	0.0096 52981	0.0823 51117	0.0627 22469	0.0324 18593	0.0181 45161	0.0423 3871	--	0.198	0.942	0.365	0.379	0.160	0.715
AS0815	0.0688 51981	0.0038 46154	0.0157 82493	0.0460 8637	0.0603 59801	0.0361 66253	0.0785 04963	--	0.16	0.648	0.623	0.843	0.117
AN0416	0.0136 71635	0.0863 69771	0.0667 41123	0.0364 37247	0.0221 63815	0.0463 57364	0.0040 18654	0.0825 23617	--	0.292	0.329	0.139	0.776
AC0416	0.0447 43163	0.0279 54972	0.0083 26325	0.0219 77552	0.0362 50983	0.0120 57435	0.0543 96145	0.0241 08818	0.0584 14799	--	0.952	0.531	0.208
AN1016	0.0415 13104	0.0311 85031	0.0115 56384	0.0187 47492	0.0330 20924	0.0088 27376	0.0511 66085	0.0273 38877	0.0551 84739	0.0032 30059	--	0.485	0.236
AC1016	0.0808 04008	0.0081 05873	0.0277 3452	0.0580 38396	0.0723 11828	0.0481 1828	0.0904 56989	0.0119 52026	0.0944 75643	0.0360 60844	0.039 2909	--	0.087
AS1016	0.0298 14272	0.1025 12407	0.0828 8376	0.0525 79883	0.0383 06452	0.0625	0.0201 6129	0.0986 66253	0.0161 42636	0.0745 57435	0.071 32738	0.110 61828	--



**Tabla S3a.** Pruebas de permutación para detectar diferencias significativas en la diversidad de nucleótidos ( $\pi$ ) entre poblaciones según los datos de secuencia de Ctyb. El procedimiento fue tomado de Alexander et al. (2016). El script R está disponible en [https://github.com/laninsky/genetic\\_diversity\\_diffs](https://github.com/laninsky/genetic_diversity_diffs)

$\pi$	0.0013	0.0007	0.0006	0.0006	0.0009	0.0005	0.0008	0.0009
$\pi$ diff / p-values	AP0215	AC0215	AN0815	AC0815	AN0416	AC0416	AN1016	AC1016
AP0215	--	0.13	0.08	0.06	0.35	0.05	0.24	0.27
AC0215	0.00055	--	0.86	0.73	0.54	0.62	0.70	0.65
AN0815	0.00062	6.205E-05	--	0.89	0.45	0.77	0.59	0.50
AC0815	0.00067	1.200E-04	5.791E-05	--	0.35	0.89	0.47	0.42
AN0416	0.00033	2.200E-04	2.820E-04	0.00034	--	0.28	0.80	0.90
AC0416	0.00072	1.681E-04	1.060E-04	0.00005	0.00039	--	0.40	0.34
AN1016	0.00042	1.369E-04	1.989E-04	0.00026	0.00008	0.00030	--	0.92
AC1016	0.00039	1.671E-04	2.291E-04	0.00029	0.00005	0.00034	3.021E-05	--

**Tabla 3a.** Pruebas de permutación para detectar diferencias significativas en la diversidad de haplotipos (Hd) entre poblaciones según los datos de secuencia de Ctyb. El procedimiento fue tomado de Alexander et al. (2016). El script R está disponible en [https://github.com/laninsky/genetic\\_diversity\\_diffs](https://github.com/laninsky/genetic_diversity_diffs)

Hd	0.68	0.50	0.51	0.37	0.51	0.38	0.51	0.52
Hd/P-values	AP0215	AC0215	AN0815	AC0815	AN0416	AC0416	AN1016	AC1016
AP0215	--	0.28	0.30	0.06	0.32	0.08	0.31	0.33
AC0215	0.1808	--	0.98	0.41	0.96	0.49	0.99	0.94
AN0815	0.1678	0.0130	--	0.38	0.92	0.45	0.94	0.90
AC0815	0.3126	0.1318	0.1448	--	0.36	0.95	0.40	0.35
AN0416	0.1632	0.0176	0.0046	0.1494	--	0.42	0.90	0.95
AC0416	0.2946	0.1138	0.1267	0.0181	0.1313	--	0.47	0.42
AN1016	0.1701	0.0107	0.0023	0.1425	0.0069	0.1244	--	0.89
AC1016	0.1609	0.0199	0.0069	0.1517	0.0023	0.1336	0.0092	--

**Tabla S4.** Características sobre las estimaciones compiladas de diversidad genética de diferentes miembros marinos de *Engraulis*. Las estimaciones se calcularon a partir de secuencias de nucleótidos del gen mitocondrial *Cytb*.

Referencia	Especie	Localidad de muestreo	Fecha de muestreo	pb	n	Hd	$\pi$
Grant and Bowen 1998	<i>E. anchoita</i>	Not shown	Not shown	521	19	0.4	0.001
Grant et al 2010	<i>E. anchoita</i>	Argentina	Not shown	687	19	0.5	0.001
Grant and Bowen 1998	<i>E. australis</i>	Not shown	Not shown	521	16	0.9	0.009
Silva et al 2017	<i>E. australis</i>	Australia	2008	1044	34	1.0	0.007
Silva et al 2017	<i>E. australis</i>	Nueva Zelanda	2005	1044	35	0.7	0.001
Grant and Bowen 1998	<i>E. capensis</i>	Southern Africa*	Not shown	521	18	0.2	0.004
Silva et al 2017	<i>E. capensis</i>	Namibia	2007	1044	24	0.9	0.010
Silva et al 2017	<i>E. capensis</i>	Sudafrica	2007	1044	13	0.9	0.019
Grant and Bowen 1998	<i>E. encrasicolus</i>	Not shown	Not shown	521	16	0.9	0.015
Grant et al 2010	<i>E. encrasicolus</i>	Europe	Not shown	687	17	0.9	0.014
Borrel et al 2012	<i>E. encrasicolus</i>	Bay of Biscay - CA	Not shown	524	39	0.7	0.012
Borrel et al 2012	<i>E. encrasicolus</i>	Bay of Biscay - LI	Not shown	524	20	0.9	0.016
Borrel et al 2012	<i>E. encrasicolus</i>	Bay of Biscay - BB	Not shown	524	17	1.0	0.016
Borrel et al 2012	<i>E. encrasicolus</i>	Bay of Biscay - GE	Not shown	524	12	0.8	0.013
Borrel et al 2012	<i>E. encrasicolus</i>	Bay of Biscay - FR	Not shown	524	31	0.9	0.016
Borrel et al 2012	<i>E. encrasicolus</i>	Mediterranean - Adriatic Sea	Not shown	524	20	1.0	0.014
Silva et al 2014	<i>E. encrasicolus</i>	Málaga, ML	Not shown	1044	31	1.0	0.007
Silva et al 2014	<i>E. encrasicolus</i>	Tangier, TG	Not shown	1044	38	0.4	0.003
Silva et al 2017	<i>E. encrasicolus</i>	Noruega	2007	1044	24	1.0	0.009
Silva et al 2017	<i>E. encrasicolus</i>	Polonia	2008	1044	9	0.9	0.014
Silva et al 2017	<i>E. encrasicolus</i>	El Canal Inglés	2007	1044	27	1.0	0.010
Silva et al 2017	<i>E. encrasicolus</i>	El Golfo de Vizcaya	2007	1044	23	1.0	0.015
Silva et al 2017	<i>E. encrasicolus</i>	Norte de Portugal	1998	1044	25	1.0	0.013
Silva et al 2017	<i>E. encrasicolus</i>	Sur de Portugal	2007	1044	29	1.0	0.011
Silva et al 2017	<i>E. encrasicolus</i>	Islas Canarias	1999	1044	24	1.0	0.007
Silva et al 2017	<i>E. encrasicolus</i>	Senegal	1999	1044	25	1.0	0.006
Silva et al 2017	<i>E. encrasicolus</i>	Guinea-Bisáu	2006	1044	20	1.0	0.006
Silva et al 2017	<i>E. encrasicolus</i>	Ghana	2008	1044	25	1.0	0.006
Silva et al 2017	<i>E. eurystole</i>	US	2006	1044	12	0.9	0.004
Grant and Bowen 1998	<i>E. japonicus</i>	Not shown	Not shown	521	20	0.9	0.010
Yu et al 2005	<i>E. japonicus</i>	Global (China Sea-Yellow Sea)	Not shown	420	46	1.0	0.006
Chen et al 2010	<i>E. japonicus</i>	Taiwan Este - Spring	2001	740	44	1.0	0.014
Chen et al 2010	<i>E. japonicus</i>	Taiwan Oeste - Spring	2001	740	44	1.0	0.013
Chen et al 2010	<i>E. japonicus</i>	Taiwan Este - Autum	2001	740	45	1.0	0.014
Grant et al 2010	<i>E. japonicus</i>	Japan	Not shown	687	22	0.9	0.010
Zheng et al 2015	<i>E. japonicus</i>	Yellow Sea - A	2011	402	18	1.0	0.007
Zheng et al 2015	<i>E. japonicus</i>	Yellow Sea - B1	2011	402	16	0.8	0.003
Zheng et al 2015	<i>E. japonicus</i>	Yellow Sea - B2	2011	402	19	0.9	0.007
Zheng et al 2015	<i>E. japonicus</i>	Yellow Sea - C	2011	402	7	0.9	0.007
Zheng et al 2015	<i>E. japonicus</i>	Yellow Sea - D	2010	402	17	0.5	0.001
Zheng et al 2015	<i>E. japonicus</i>	East chine Sea - E1	2009	402	24	1.0	0.004
Zheng et al 2015	<i>E. japonicus</i>	East chine Sea - E2	2010	402	24	0.9	0.006
Zheng et al 2015	<i>E. japonicus</i>	Yellow Sea - WH	2008	402	15	1.0	0.009
Zheng et al 2015	<i>E. japonicus</i>	Yellow Sea - JN	2008	402	18	0.7	0.004
Zheng et al 2015	<i>E. japonicus</i>	Yellow Sea - K	2008	402	14	0.9	0.006
Silva et al 2017	<i>E. japonicus</i>	Japon	2006	1044	24	1.0	0.011
Grant and Bowen 1998	<i>E. mordax</i>	Not shown	Not shown	521	14	0.9	0.007
Lecomte et al 2004	<i>E. mordax</i>	Washintong - Grays Harbor	1995	539	17	0.7	0.004
Lecomte et al 2004	<i>E. mordax</i>	North California - Eureka	1994	539	20	0.8	0.004
Lecomte et al 2004	<i>E. mordax</i>	South California - San Diego 94	1994	539	14	0.9	0.004
Lecomte et al 2004	<i>E. mordax</i>	South California - San Diego 01	2001	539	30	0.9	0.005
Lecomte et al 2004	<i>E. mordax</i>	Ensenada	1995	539	23	0.8	0.004
Lecomte et al 2004	<i>E. mordax</i>	Upper baja California Sur - South of Cedros Is.	1995	539	35	0.8	0.004
Lecomte et al 2004	<i>E. mordax</i>	Lower Baja California Sur - Bahía Magdalena	1995	539	37	0.9	0.006
Lecomte et al 2004	<i>E. mordax</i>	Gulf of California - Guaymas	1995	539	20	0.9	0.005
Grant et al 2010	<i>E. mordax</i>	California-Mexico	Not shown	687	14	0.9	0.006
Grant and Bowen 1998	<i>E. ringens</i>	Chile-Peru*	Not shown	521	17	<b>0.4</b>	<b>0.001</b>
Grant et al 2010	<i>E. ringens</i>	Talcahuano, Chile	Not shown	687	17	<b>0.4</b>	<b>0.001</b>
This study	<i>E. ringens</i>	North Peru - Paíta AP0215	feb-15	913	30	0.7	0.001
This study	<i>E. ringens</i>	Center Peru - Callao AC0215	feb-15	913	28	0.5	0.001
This study	<i>E. ringens</i>	North Peru - Salaverry AN0815	ago-15	913	30	0.5	0.001

This study	<i>E. ringens</i>	Center Peru - Callao AC0815	ago-15	913	30	0.4	0.001
This study	<i>E. ringens</i>	North Peru - Paita AN0416	abr-16	913	30	0.5	0.001
This study	<i>E. ringens</i>	Center Peru - Callao AC0416	abr-16	913	28	0.4	0.001
This study	<i>E. ringens</i>	North Peru - Sechura AN1016	oct-16	913	30	0.5	0.001
This study	<i>E. ringens</i>	Center Peru - Callao AC1016	oct-16	913	30	0.5	0.001

**Tabla S5.** Características de las estimaciones compiladas de diversidad genética de diferentes miembros marinos de *Engraulis*. Las estimaciones se calcularon a partir de secuencias de nucleótidos de la región control del ADN mitocondrial.

Referencia	Especie	Localidad de muestreo	Fecha de muestreo	pb	n	Hd	$\pi$
Viña et al. 2004	<i>E. encrasicolus</i>	Islas canarias	1997	402	44	1.0	0.013
Viña et al. 2004	<i>E. encrasicolus</i>	Cádiz	1997	402	47	1.0	0.017
Viña et al. 2004	<i>E. encrasicolus</i>	Bay of Biscay - Donostia	1996	402	51	1.0	0.030
Viña et al. 2004	<i>E. encrasicolus</i>	Bay of Biscay - Arcachon	1996	402	52	1.0	0.034
Viña et al. 2004	<i>E. encrasicolus</i>	Bay of Biscay - Garona	1996	402	51	1.0	0.034
Viña et al. 2004	<i>E. encrasicolus</i>	Northern Alborán Sea	1997	402	50	1.0	0.027
Viña et al. 2004	<i>E. encrasicolus</i>	Northern Spain - Cadaqués	1996	402	52	1.0	0.031
Viña et al. 2004	<i>E. encrasicolus</i>	Gulf of Lions	1993	402	23	1.0	0.032
Viña et al. 2004	<i>E. encrasicolus</i>	Elba Island	1993	402	23	1.0	0.029
Viña et al. 2004	<i>E. encrasicolus</i>	Sicilia	1996	402	37	1.0	0.031
Viña et al. 2004	<i>E. encrasicolus</i>	North Adriatic sea	1997	402	42	1.0	0.028
Viña et al. 2004	<i>E. encrasicolus</i>	South Adriatic sea	1997	402	38	1.0	0.031
Viña et al. 2004	<i>E. encrasicolus</i>	Aegean Sea	1996	402	49	1.0	0.025
Cuttitta et al. 2015	<i>E. encrasicolus</i>	Sicilia 1_2	2010	608	28	0.9	0.023
Cuttitta et al. 2015	<i>E. encrasicolus</i>	Sicilia 3	2010	608	17	1.0	0.018
Cuttitta et al. 2015	<i>E. encrasicolus</i>	Sicilia 5	2010	608	13	1.0	0.024
Cuttitta et al. 2015	<i>E. encrasicolus</i>	Malta	2010	608	16	0.9	0.017
Liu et al. 2006	<i>E. japonicus</i>	East Chine Sea - P	2001	522	16	1.0	0.015
Liu et al. 2006	<i>E. japonicus</i>	East Chine Sea - E	2001	522	22	1.0	0.020
Liu et al. 2006	<i>E. japonicus</i>	East Chine Sea - F	2001	522	20	1.0	0.018
Liu et al. 2006	<i>E. japonicus</i>	East Chine Sea - L	2001	522	17	1.0	0.017
Liu et al. 2006	<i>E. japonicus</i>	East Chine Sea - J	2001	522	20	1.0	0.018
Liu et al. 2006	<i>E. japonicus</i>	Sea Japan - R	2005	522	20	1.0	0.018
Liu et al. 2006	<i>E. japonicus</i>	Sea japan - M	1997	522	18	1.0	0.018
Liu et al. 2006	<i>E. japonicus</i>	Sea Japan - I	1997	522	18	1.0	0.018
Liu et al. 2006	<i>E. japonicus</i>	Sea Japan - N	1996	522	18	1.0	0.019
Liu et al. 2006	<i>E. japonicus</i>	Sea Japan - K	1997	522	18	1.0	0.018
Liu et al. 2006	<i>E. japonicus</i>	Sea Japan - T	1997	522	18	1.0	0.020
Liu et al. 2006	<i>E. japonicus</i>	Sea Japan - G	1997	522	18	1.0	0.016
Liu et al. 2006	<i>E. japonicus</i>	Sea Japan - U	1997	522	18	1.0	0.020
This study	<i>E. ringens</i>	North-Peru (Paíta)	02_2014	520	33	0.9	0.005
This study	<i>E. ringens</i>	Center-Peru (Callao)	02_2014	520	27	0.9	0.004
This study	<i>E. ringens</i>	South-Peru (Ilo)	02_2014	520	30	0.9	0.004
This study	<i>E. ringens</i>	North-Peru (Paíta)	02_2015	520	39	0.9	0.005
This study	<i>E. ringens</i>	Center-Peru (Callao)	02_2015	520	32	0.9	0.004
This study	<i>E. ringens</i>	North-Peru (Salaverry)	08_2015	520	32	0.9	0.005
This study	<i>E. ringens</i>	Center-Peru (Callao)	08_2015	520	32	0.8	0.005
This study	<i>E. ringens</i>	Center-Peru (Pisco)	08_2015	520	40	0.9	0.005
This study	<i>E. ringens</i>	North-Peru (Paíta)	04_2016	520	39	0.8	0.004
This study	<i>E. ringens</i>	Center-Peru (Callao)	04_2016	520	41	0.9	0.005

This study	<i>E. ringens</i>	North-Peru (Sechura)	04_2016	520	37	0.9	0.004
This study	<i>E. ringens</i>	Center-Peru (Callao)	10_2016	520	31	0.9	0.005
This study	<i>E. ringens</i>	South-Peru (Tacna)	10_2016	520	32	0.8	0.004

**Tabla S6.** Comparaciones por pares de  $\Phi_{st}$  basadas en secuencias de HVR1. Los valores en negrita indican diferencias genéticas significativas (Nivel de significancia = 0.05).

	AP2014	AC2014	AS2014	AP0215	AC0215	AN0815	AC0815	AS0815	AN0416	AC0416	AN1016	AC1016	AS1016
AP2014													
AC2014	<b>0.046</b>												
AS2014	-0.009	0.033											
AP0215	-0.017	0.014	-0.013										
AC0215	0.003	0.001	0.011	-0.011									
AN0815	-0.021	0.028	-0.001	-0.015	-0.009								
AC0815	-0.002	<b>0.066</b>	0.009	-0.002	0.017	0.009							
AS0815	0.022	-0.018	0.014	0.002	-0.004	0.013	<b>0.045</b>						
AN0416	-0.021	<b>0.059</b>	-0.006	-0.008	0.011	-0.013	-0.005	<b>0.036</b>					
AC0416	-0.014	0.018	-0.016	-0.016	-0.002	-0.011	0.015	0.003	-0.005				
AN1016	-0.003	0.002	-0.008	-0.007	-0.003	-0.007	0.025	-0.004	0.004	-0.012			
AC1016	0.024	-0.006	0.035	0.001	-0.020	0.007	0.032	0.000	0.035	0.014	0.011		
AS1016	0.000	0.011	0.021	-0.015	-0.017	-0.008	0.011	0.002	0.013	0.004	0.009	-0.017	

**Tabla S7.** Valores  $p$  de las pruebas exactas de diferenciación de poblaciones basadas en secuencias de HVR1 (longitud de la cadena de Markov: 200000 pasos). Los valores  $p$  en negrita indican diferencias genéticas significativas (Nivel de significancia = 0.05).

	AP2014	AC2014	AS2014	AP0215	AC0215	AN0815	AC0815	AS0815	AN0416	AC0416	AN1016	AC1016	AS1016
AP2014													
AC2014	<b>0.215</b>												
AS2014	0.499	0.672											
AP0215	0.998	0.459	0.879										
AC0215	0.111	0.756	0.672	0.545									
AN0815	0.922	0.279	0.164	0.841	0.238								
AC0815	0.880	<b>0.103</b>	0.622	0.843	0.086	0.095							
AS0815	0.736	0.536	0.636	0.748	0.297	0.224	<b>0.473</b>						
AN0416	0.915	<b>0.492</b>	0.443	0.888	0.335	0.595	0.744	<b>0.321</b>					
AC0416	0.917	0.550	0.858	0.960	0.505	0.456	0.401	0.545	0.608				
AN1016	0.386	0.560	0.791	0.745	0.734	0.331	0.355	0.476	0.446	0.432			
AC1016	0.189	0.775	0.459	0.646	0.822	0.533	0.146	0.455	0.331	0.509	0.680		
AS1016	0.215	0.093	0.125	0.524	0.252	0.143	0.564	0.613	0.259	0.144	0.500	0.577	



**Tabla S8.** Comparaciones por pares de  $\Phi_{st}$  basadas en secuencias de Cytb. Un guión (-) indica muestreos en los que no se generaron secuencias de mtDNA. Los valores en negrita indican diferencias genéticas significativas (Nivel de significancia = 0.05).

	AP2014	AC2014	AS2014	AP0215	AC0215	AN0815	AC0815	AS0815	AN0416	AC0416	AN1016	AC1016	AS1016
AP2014													
AC2014	-												
AS2014	-	-											
AP0215	-	-											
AC0215	-	-	-	0.014									
AN0815	-	-	-	<b>0.036</b>	0.004								
AC0815	-	-	-	0.014	-0.008	0.000							
AS0815	-	-	-	-	-	-	-						
AN0416	-	-	-	0.010	-0.001	0.016	0.010	-					
AC0416	-	-	-	0.016	0.005	<b>0.022</b>	-0.004	-	0.017				
AN1016	-	-	-	-0.013	0.002	<b>0.027</b>	0.001	-	0.001	0.011			
AC1016	-	-	-	0.003	-0.004	0.013	-0.007	-	0.006	-0.004	-0.005		
AS1016	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

**Tabla S9.** Valores  $p$  de las pruebas exactas de diferenciación poblacional basadas en secuencias de Cytb (longitud de la cadena de Markov: 200000 pasos). Los valores en negrita indican diferencias genéticas significativas (Nivel de significancia = 0.05).

	AP2014	AC2014	AS2014	AP0215	AC0215	AN0815	AC0815	AS0815	AN0416	AC0416	AN1016	AC1016	AS1016
AP2014													
AC2014	-												
AS2014	-	-											
AP0215	-	-	-										
AC0215	-	-	-	0.291									
AN0815	-	-	-	<b>0.016</b>	0.470								
AC0815	-	-	-	<b>0.017</b>	0.402	0.407							
AS0815	-	-	-	-	-	-	-						
AN0416	-	-	-	0.381	1.000	0.428	0.287	-					
AC0416	-	-	-	0.265	0.407	<b>0.066</b>	0.533	-	0.319				
AN1016	-	-	-	0.874	0.390	<b>0.033</b>	0.143	-	0.433	0.379			
AC1016	-	-	-	0.218	1.000	0.252	0.549	-	0.741	0.504	0.394		
AS1016	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

**Tabla S10.** Análisis de la varianza molecular (AMOVA) basado en secuencias de Cytb. Estructura genética evaluada: norte versus centro de Perú. Pruebas de significancia (20022 permutaciones).

Fuente de la variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Componentes de la varianza	Porcentaje de variación de los componentes	Estadísticos AMOVA	Valores <i>p</i>
Entre norte y centro de Perú	1	0.532	0.00091	0.25	$F_{ct} = 0.00249$	0.26091
Entre muestras dentro del norte y centro de Perú	6	2.544	0.00202	0.55	$F_{sc} = 0.00551$	0.11028
Dentro de cada muestra	228	83.086	0.36441	99.20	$F_{st} = 0.00798$	0.05184
Total	235	86.161	0.36734			

Genetic diversity of the anchovy *Engraulis ringens* along Peruvian coast based on mitochondrial DNA sequences

Deivis Alexander Cueva Shapiama. Laboratorio de Genética Molecular, Instituto del Mar del Perú, Esquina Gamarra y General Valle S/N Chucuito Callao. E-mail: [dcueva@imarpe.gob.pe](mailto:dcueva@imarpe.gob.pe)

Giovanna Sotil. Laboratorio de Genética Molecular, Instituto del Mar del Peru, Esquina Gamarra y General Valle S/N Chucuito Callao. E-mail: [gsotil@imarpe.gob.pe](mailto:gsotil@imarpe.gob.pe)

Correspondence. E-mail: [gsotil@imarpe.gob.pe](mailto:gsotil@imarpe.gob.pe)

Running title: Genetic diversity of Peruvian anchovy

Word count for main text: 4465

Abstract

The anchoveta *Engraulis ringens* exhibits overwhelming biomass and experiences drastic demographic oscillations. Given this population instability, it is crucial to explore genetic variability, especially for the important relationship proposed by theoretical studies and empirical observations between levels of intraspecific variability and the fate of local populations. In the short term, this relationship has consequences for the sustainability of harvested populations; in the long term, for the perpetuation of the species. For anchoveta, one of the most studied species in the Northern Humboldt Current System, population genetic variability has been scarcely addressed. Here, anchoveta's mitochondrial genetic diversity is described through several temporal assessments and the comparison with diversity estimates reported

for other engraulid fish inhabiting similar oceanographic settings (coastal upwelling systems). Results suggest that *E. ringens* displays the lowest levels of genetic diversity in relation to their congeners. This genetic signature had already been described for individuals from the southern end of the species range; now the same signal has been confirmed to the northern of the geographic range; that is, the area where the highest biomass of this fishery resource occurs (northern and central coasts of Peru).

Considering that mtDNA-based inferences could reflect both historical demographic dynamics or deterministic pressures such as natural selection, the need to generate more studies is emphasized in order to provide information based on other types of markers and under a comprehensive sampling to verify the spatial and temporal consistency of the observed genetic signal.

*Keywords: Anchoveta, population genetics, genetic diversity, mitochondrial DNA, Humboldt Current System.*

## Introduction

In the search for sustainable management of harvested populations, genetic variation is a crucial attribute to explore and understand because it allows populations to show flexibility and adapt to scenarios that challenge their survival and perpetuation (Frankham et al. 2002; Reed and Frankham 2003). The anchoveta *Engraulis ringens* is one of the most studied marine species in Peru, with several well-registered biological aspects to support its fishery management. However, knowledge about population genetics of the species is remarkably scarce and it is still unknown how its genetic variability is repartitioned throughout its geographic range in the Humboldt Current System (HCS).

Early in the study of Anchoveta, Tsukayama (1966) and Rojas 1971 (as cited in Pauly et al., 1987, pp. 5) reported meristic and morphometric differences between individuals from North-Center and South of Peru. Furthermore, Jordan and Malaga (1972) showed uneven displacements (by using Tag-recovery experiments) of individuals along Peruvian coast. From these observations, the management of two population units, one of North-Central Peru and the second from South Peru-Northern Chile was suggested (IMARPE 1973). Subsequently, Mathisen (1989) proposed an alternative organization composed of several local units based on a patchy distribution pattern that was regularly observed in density maps. The author also hypothesized that genetic differences could underlie such spatial aggregation.

Later, Mendo (1991) tested these hypotheses and supported the existence of North-Central Peru and South Peru-North Chile subpopulations, a conclusion that was drawn from tag-recovery experiments and allozymes variability, while other types of data he

used did not show a spatial differentiation. In Mendo's work (1991), eight Allozymes were evaluated but only three loci resulted informative, contrasting with the usual number of markers used when nuclear genetic variation is explored by this means (Gyllensten 1985; Waples 1987; Hedgecock et al. 1994; Tudela et al. 1999).

As for the anchoveta from the southern of the geographic range, Ferrada et al. (2002) assessed the genetic differentiation between samples from North and South of Chile by using nuclear DNA markers and electrophoresis, but no signal of differentiation was detected, possibly due to the low polymorphism of the genetic markers used (Ferrada-Fuentes et al. 2018). Recently, efforts have been made to develop microsatellite markers for the population study of *E. ringens* but few loci have been successfully developed from samples of Peru (Rojas 2011) and others, more promising from samples from Chile (Ferrada-Fuentes et al. 2018), have not yet been reported under a population study design including samples from Peru.

Equally important as the genetic differentiation approach is the study of demographic history of *E. ringens* in the HCS, a marine ecosystem known for exhibiting high oceanographic variability (Chavez y Messié 2009). It has been noticed that Anchoveta's distribution and biomass is variable at different time scales and in response to environmental forcing apparently (Gutiérrez et al 2012; Chávez et al. 2003). Inference about demographic history emerging from genetic information could reveal past demographic patterns that help to understand contemporary population dynamics. For example, Grant and Bowen (1998) estimated mitochondrial genetic diversity in several anchovy species, including *E. ringens* and, based on demographic history, proposed metapopulation dynamics to explain a "shallow population genetic

architecture” detected in Anchoveta. Grant and Bowen’s study (1998) was based on samples from almost 30 years ago and from the southern end of the species range. Therefore, an update and verification of this genetic signal in the northern part of the range (North-Central Peru) is important, because the largest biomass records have historically occurred in this area (Jordan 1971; Pauly and Tsukayama 1987; Ñiquen et al. 2000).

Although the study of Anchoveta population genetic variability started almost 30 years ago, the information generated is still scarce for population inferences because studies were based on reduced number of markers or temporal/spatial restricted sampling designs. These limitations highlight the need to increase efforts for fulfil this gap. In this study we have explored the mitochondrial genetic diversity of *E. ringens* along the Peruvian coast for three years in order to describe a consistent genetic signal based on repeated assessments and selection of molecular markers that allow us to compare Anchoveta’s genetic diversity with those reported for other *Engraulis* species inhabiting coastal upwelling systems around the world.

## Materials and Methods

### *Samples collection*

A total of 445 adult specimens of *E. ringens* were collected in front of different locations on the north, central and southern coast of Peru (Figure 1). The sampling, therefore, includes samples from the two fishery stocks (North-Center and South) managed in Peruvian Exclusive Economic Zone (EEZ).



Except for AS1016 collection (Tacna, October 2016), samplings were all performed by the Dirección General de Investigación de Recursos Pelágicos (DGIRP) from the Instituto del Mar del Perú (IMARPE) through research cruises for the hydroacoustic evaluation of pelagic resources from 2014 to 2016. Samplings were carried out during the two main periods of greater reproductive activity usually observed in Perú (February-March and September-October). Tacna samples came from a natural fish stranding occurred in October 2016.

In total 13 samples were obtained (Table 1) each one composed of 27 to 41 specimens of *E. ringens*. The collected fish were frozen at -20 °C and then stored to later analysis. Once in the laboratory a small piece (0.5x0.5 cm<sup>3</sup>) of dorsal muscle tissue from each individual was collected and preserved in 96% ethanol. The collected tissues were kept at 4 °C until subsequent processing.

#### *DNA extraction, PCR amplification and sequencing of mitochondrial markers*

The DNA was extracted with the CTAB2X-Chloroform-Isoamyl Alcohol method. Two regions of mitochondrial DNA (mtDNA) were amplified by PCR: the hypervariable region 1 (HVR1) of 520 base pair (bp) from the mitochondrial Control Region with primers that Lee et al. (1995) proposed for teleost fish; and a 913 bp fragment of the cytochrome b gene (Cytb) with primers used by Silva et al. (2014) for European anchovy *Engraulis encrasicolus*. The HotStart Taq Polymerase Master Mix kit (Qiagen) was used to perform 10µL PCR reactions, keeping buffer, enzyme and dNTP's concentrations according to manufacturer recommendation, while the final concentrations of MgCl<sub>2</sub>, primers and DNA template were adjusted for each marker.

PCR products from each sample were sequenced for both DNA strands on ABI 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems).

#### *Reviewing and editing electropherograms*

Electropherograms were checked (verification of good base calling process) and edited (trimming unreliable ends regions) with FinchTv 1.4.0 (Geospiza Research Team). The nucleotide sequences of HVR1 and Cytb were independently aligned using the ClustalW algorithm implemented in Bioedit 7.0.0 (Larkin et al. 2007). For both markers a consensus sequence was generated per sample based on forward and reverse strand sequences.

#### *Polymorphisms and genetic diversity estimates*

DnaSP software (Librado and Rozas 2009) was used to explore DNA polymorphism (number and types of mutation and variable sites) and to generate haplotype data. Nucleotide ( $\pi$ ) and haplotype ( $H_d$ ) diversity estimators were computed using Arlequin 3.5.1.2 software (Excoffier and Lischer 2010).

We compared *E. ringens* genetic diversity (haplotype and nucleotide diversity) with estimates reported for other members of *Engraulis* genus inhabiting regions of coastal upwelling. The nominal species considered were *Engraulis encrasicolus*, *Engraulis capensis*, *Engraulis eurystole*, *Engraulis japonicus*, *Engraulis australis*, *Engraulis mordax*, *Engraulis anchoita* and *Engraulis ringens*. Genetic diversity was generated from partial and almost complete sequences of cytochrome b gene (approximately 400-1000 bp) and mitochondrial Control Region (approximately 400-600 bp); and sample sizes between 15 and 30 individuals (Supplementary Table S4 and S5).

### *Genetic differentiation and population genetic structure*

Genetic differentiation was assessed with  $\Phi_{st}$  pairwise comparisons and exact tests of differentiation, using Arlequin 3.5.1.2 (Excoffier and Lischer 2010). Possible scenarios of genetic structure (spatial and temporal) were evaluated by a hierarchical analysis of molecular variance using AMOVA test implemented in Arlequin 3.5.1.2 (Excoffier and Lischer 2010). The arrangement of samples by zones in front of Peru (North, Center and South), fishing stocks (North-Center Perú and South Peru-North Chile), sampling campaigns (months) and years were considered as hierarchical levels of comparison of the estimated variation within and between levels.

Additionally, we explore the genealogy of both mitochondrial markers by building haplotype networks using the Median-Joining method (Bandelt et al. 1999) and PopArt software (Population Analysis with Reticulate Trees; Leigh and Bryant 2015). A haplotype network is a graphic way to display genealogical relationships between mtDNA variants and the distribution of their frequencies in relation to a particular sampling design.

### *Neutrality tests and Mismatch distribution*

We use the Tajima's D (Tajima 1989) and Fu's  $F_s$  (Fu 1997) tests to evaluate the null hypothesis of neutrality. Additionally, we performed a mismatch distribution for each marker. A mismatch analysis allows to infer possible demographic events that population could undergo in the past. A unimodal distribution reflects rapid population growth from a small population; while a multimodal distribution reflects long-term population stability (Slatkin and Hudson 1991, Rogers and Harpending 1992).

## Results

### *DNA polymorphisms and genetic diversity in HVR1 and Cytb*

Fifty-four mutations were found in HVR1 (520 bp) from 445 individuals. The largest number of substitutions consisted of transitions (46 transitions vs. 8 transversions).

The total number of variable sites was 52 (50 with two nucleotide variants per site, and two with three variants per site). The number of singleton and parsimony-informative sites was almost proportional (28 and 24 respectively). All these changes at nucleotide level generated 84 haplotypes, of which 29 (35%) were present in more than one sample (sample-shared haplotypes), while 55 (65%) only occurred in specific locations and dates (sample-private haplotypes). Sample-private haplotypes were mostly comprised of low frequency haplotypes (Supplementary Table S1).

In partial region (913 bp) Cytb gene, 47 mutations were found from 236 individuals. Similar to HVR1, the majority of substitutions were transitions (44 transitions vs. 3 transversions). All the variable sites were polymorphic because they presented only two nucleotide variants per site, so their number was equal to the total number of mutations. Unlike HVR1, the number of singletons (35) was greater than the number of parsimony-informative sites (12). All variable sites defined 44 haplotypes, being 9 (20%) of them shared and 35 (80%) private. Most of these haplotypes also showed extremely low frequency (Supplementary Table S1).

In general, It was evident a greater incorporation of mutations in HVR1 than in Cytb (Supplementary Table S1). For example, HVR1 showed a higher proportion of transversions (a type of substitution less common than transitions), presence of variable sites with more than two variants, and a lower proportion of singletons.

### *Level of the mitochondrial genetic diversity in E. ringens*

Total haplotype diversity based on HVR1 indicated high diversity ( $H_d = 0.88$ ), while estimate with Cytb showed a regular level ( $H_d = 0.50$ ). Total nucleotide diversity followed a similar pattern, being higher in HVR1 ( $\pi = 0.0046$ ) compared to Cytb ( $\pi = 0.0008$ ). In general, both mitochondrial regions indicate regular to high amount of mtDNA variants, but most of them display low frequency and divergences supported by few mutational steps (Table 2).

Among different sampling sites and dates the haplotype diversity in HVR1 remained high, varying between 0.82 and 0.93; while nucleotide diversity values ranged from 0.0040 to 0.0050. Regarding to Cytb, the haplotype diversity ranged between 0.37 and 0.68; while nucleotide diversity varied between 0.0005 and 0.0013 (Table 2). No significant differentiation was detected based on permutation tests (10000 interactions) for significance differences of genetic diversity (Supplementary Table S2 and S3). In general, genetic diversity in both markers presented narrow ranges of variation with no signals of significant differences. What is more, grouping diversity levels by sampling campaign or year resulted in a much more reduction of differences (Table 2).

Levels of genetic diversity of *E. ringens* estimated here sharply differ from those reported for Old World Anchovies (OWA) and to a lesser extent from values reported for the California anchovy (Figure 2). Anchoveta showed  $H_d$  between 0.37 and 0.68 while the OWA generally showed values greater than 0.90. The estimates of  $H_d$  for *E. mordax* were also higher ( $H_d = 0.74-0.95$ ) than those for *E. ringens*, although slightly lower than the OWA. Estimates for *E. anchoita* ( $H_d = 0.45$ ) were very similar to *E.*

*ringens*; however, they are based on a single sampling. In terms of nucleotide diversity, OWA exhibits a wide range of variation ranging from 0.006 to 0.017, while the range of  $\pi$  in *E. mordax* was narrower (0.004-0.009). In contrast, *E. ringens* exhibits extremely low values of  $\pi$  ( $\sim 0.001$ ) with minimal variability in different areas of northern, central and south of Peru, and quite similar to estimates compute from Talcahuano sample (Chile) (Supplementary Table S4).

#### *Genetic differentiation and population genetic structure*

$\Phi_{st}$  pairwise comparisons indicated low levels of genetic differentiation, with ranges of 0.000-0.036 using Cytb and 0.000-0.066 using HVR1 (Supplementary Table S6 and S8). In both markers, some pairwise comparisons showed low but statistically significant differentiation. For HVR1 the significant differences were not supported by the exact tests of differentiation, while for Cytb some genetic differences are supported by the two tests (Supplementary Table S7 and S9 respectively).

In all scenarios of genetic structure, evaluated by AMOVA tests, the percentage of variation was always greater within hypothetical populations than among them, suggesting absence of a spatial (zones in front of Peru: North, Central and South;  $\Phi_{st} = 0.001$ , P-value = 0.292 / Fishing stocks;  $\Phi_{st} = -0.008$ , P-value = 0.988) or temporary structure (sampling campaigns;  $\Phi_{st} = -0.007$ , P-value = 0.903 / years,  $\Phi_{st} = -0.006$ , P-value = 0.982). Due to the general result of the analysis of the molecular variance, only results of hierarchical levels of comparison of the following organizations are shown: 1) North, Central and South along the Peruvian coast; and 2) Fishing stocks (Table 3 and 4).

In general, haplotype networks showed a random spatial and temporal distribution of mtDNA variants. The frequency distribution of the most common haplotypes in both HVR1 and Cytb showed no drastic changes across all sampling locations and dates (Figure 4).

#### *Haplotypes genealogy, Neutrality tests and mismatch analysis*

The topology of Median-Joining network based on HVR1 was reticulated and complex, consisting of a dominant haplotype (30.8%) with several satellite haplotypes (usually 0.2%) around it, separated by one or two mutational steps; and a group of four intermediate frequency haplotypes (5.4-9.4%) related to the main haplotype through many low frequency haplotypes and other hypothetical ones. On the other hand, the Cytb-based network clearly exhibited a star-type topology, with a single dominant haplotype and several low-frequency satellite haplotypes (Fig. 4). Both markers show shallow genealogy of mtDNA lineages (Figure 4).

The neutrality tests generated significantly negative values of the D statistic (-2.6418, P-value <0.05) and Fs (-29.0335, P-value <0.01), rejecting the neutrality hypothesis (Table 5). Furthermore, the mismatch distribution analysis showed unimodal distributions of pairwise differences frequency in both HVR1 and Cytb (Figure 3), which fits to the expected pattern under a population expansion scenario.

#### Discussion

##### *Level of the mitochondrial genetic diversity in E. ringens*

The total genetic diversity of this study was similar to estimates reported by Grant and Bowen (1998), which sample came from Talcahuano, Chile, the southernmost area of

Anchovetas distribution. This suggest a spatial and temporal consistent estimate of *E. ringens* genetic diversity, based on coding and no coding regions of mtDNA.

Comparisons of nucleotide and haplotype diversity among engraulid fish suggested that *E. ringens* is one of the species with the lowest levels of genetic diversity among these small pelagic fish inhabiting coastal upwelling systems. Grant and Bowen (1998) had already been described this genetic signal for some Anchovetas from Talcahuano, Chile. They noticed that a shallow coalescence of main mtDNA lineages (i.e. a genealogy with scarce inter-haplotype divergence) in *E. ringens* contrasted sharply with deep genetic divergence between Anchoveta and their sister taxa (*E. anchoita* from Argentina and *E. mordax* from California). This finding led them to rule out a recent colonization from the regional populations of Argentina or California. Instead, they suggested this genetic signal would be the result of recurrent intraregional extinction and colonization events, invoking a metapopulation structure. This possible explanation supposes a high dynamism of the Anchoveta's abundance and distribution and a complex population organization. What evidence exists of this?

It is known that several populations of clupeids fish are characterized by exhibiting overwhelming biomass, but subject to drastic fluctuations (Lluch-Belda et al 1989; Schwartzlose et al. 1999). Anchoveta is not a different case, as it shows a high demographic variability at different time scales, including interannual (Gutiérrez et al 2012) and interdecadal changes (Chávez et al. 2003). This variability makes sense in the interpretation of historical demographic changes inferred from mtDNA sequences.

In most phylogeographic studies, large-scale climatic changes, such as glaciations during the Pleistocene, are usually suggested as factors that have shaped the genetic



architecture of fish populations (Díaz-Viloria et al. 2012; Silva et al. 2014; Silva et al., 2017; Delrieu-Trottin et al. 2017). In the HCS other climatic processes at ocean and global scale are known to be congruent with drastic changes at interdecadal scale in Anchoveta's biomass (Chavez et al. 2003). In addition, at short-time scale, El Niño events can dramatically reduce the abundance of anchovy (Barber and Chavez 1983; Gutiérrez et al. 1999; Ñiquen and Bouchón 2004) and there is evidence to suggest these events have episodically occurred in the last 17000 years (Rein et al. 2005). Therefore, environmental determinants, acting at different time scales, can induce radical demographic changes in *E. ringens*.

Back to the proposal by Grant and Bowen (1998), evidence on population dynamics supports recurrent changes in abundance rather than demographic stability, and theory predicts that demographic instability may cause a reduction in genetic diversity (Pannell and Charlesworth 1999). However, the existence of a complex population organization (intra-regional metapopulation) is not yet clear in *E. ringens*.

The anchoveta population dynamics may not strictly fit to a classic extinction-colonization model because local extinction has not been reported even under oceanographic conditions that challenge its survival. For example, few months after one of the strongest El Niño events in recent decades (El Niño 97/98), a surprisingly rapid recovery of the North-Central Peru Stock occurred, suggesting adult anchovies were able to survive a range reduction of habitat (Bertrand et al. 2004).

Instead of local extermination, a more plausible explanation would describe drastic population crash and subsequent recovery with individuals from other parts of the range but also with survivors from the same local area. This possible explanation thus

suggests important levels of connectivity throughout the species range. This dynamic is more in line with the definition of metapopulation that Kritzer and Sale (2004) proposed for marine populations, where the degree of connectivity and its relevance in the fate of the subpopulation is emphasized rather than the extinction/colonization events.

### *Genetic Differentiation and Population Structure*

In the HCS there are three important anchovy fisheries; a north, center and south component (Figure 1). In Peruvian EEZ, the north component (Stock North-Central Peru) and part of the center component (South Stock Peru-North Chile) are managed. The third component, smaller in terms of biomass, occurs at the southern end of the distribution range, in the jurisdictional sea of Chile (Central-South Chile Stock) (Cubillos et al. 2007).

In this work, different scenarios of population structure were tested, considering several hierarchical levels of comparison (temporal and spatial), and no structuring signal was observed in congruence with the fishery components. This result contrasts with Mendo's study (1991), where a restriction in dispersion between North-Central and South anchovies was described from Tag-Recovery data. The restriction was more pronounced in the southern Winter-Spring, when the period of greatest reproductive activity occurs, suggesting that random mating may not always be the case for Anchoveta and leading to the idea of possible genetic differences. Indeed Mendo (1991) also supported the previous results with data on genetic variation by using allozyme markers. Although only three polymorphic loci were informative, they

showed significant differences in allele frequency between North-Central and South regions.

Differences between mtDNA and Allozymes results are not only due to the obvious differences in inheritance of both molecular traits, but also some kind of population dynamics could be involved. Grant and Leslie (1993) made simulations on the effect of periodic extinction-colonization events on mitochondrial and Allozyme variability and a general pattern emerged: after a given number of generations, extinction-colonization events produce drastic erosion in mitochondrial genetic variability with  $F_{st}$  very close to zero; followed by slow reduction in nuclear genetic variability with  $F_{st}$  keeping away from zero. Grant and Leslie (1993) explained that, under metapopulation context, mitochondrial lineages are more prone to extinction compared to nuclear ones because mtDNA is haploid and has uniparental inheritance (reducing the effective population size approximately one-quarter than nuclear one). The contrasting results between Mendo's study (1991) and this work fit this description. Therefore, if the Anchoveta population experiences this type of dynamics, then mtDNA is not an appropriate marker to make robust inferences about population genetic structure.

The evidence so far provides some clues about a possible population structure of *E. ringens*, but studies still failed to 1) cover entirely the species range or 2) employ appropriate number of genetic markers. This aspect is further encrypted by the pelagic nature of Anchoveta and its implication on dispersal and spatial aggregation dynamics. For example, disturbs of Anchoveta's habitat (e.g. El Niño events or El Niño-like warm events) lead fish to move at different spatial scales, from vertical movements to larger longitudinal/latitudinal displacements (Gutiérrez et al. 2012). In this mixing situation, if

migrants stay until the reproductive period, genetic differentiation would be challenge because the buffering effect of combining individual from distinct subpopulations.

To summarize, because the degree of connectivity between the North-Central Peru and South Peru-North Chile stocks has not been comprehensively addressed (here or in previous studies), we could not conclude whether genetic evidence support a metapopulation or patchy population of *E. ringens*; that is, spatially structured but displaying an internal population dynamic equally throughout their range (Kritzer and Sale 2004). However, the interspecific comparison of genetic diversity sharply shows a pattern of low levels in Anchoveta, and several complex explanations could be invoked to account for it. One of them suggesting metapopulation dynamics. Therefore, it will be necessary to include information from other types of molecular markers (e. g. microsatellites or those generated by high throughput DNA sequencing) and appropriate sampling designs to verify if the low genetic diversity in Anchoveta's mtDNA certainly reflect a genomic feature of this specie.

#### Acknowledgements

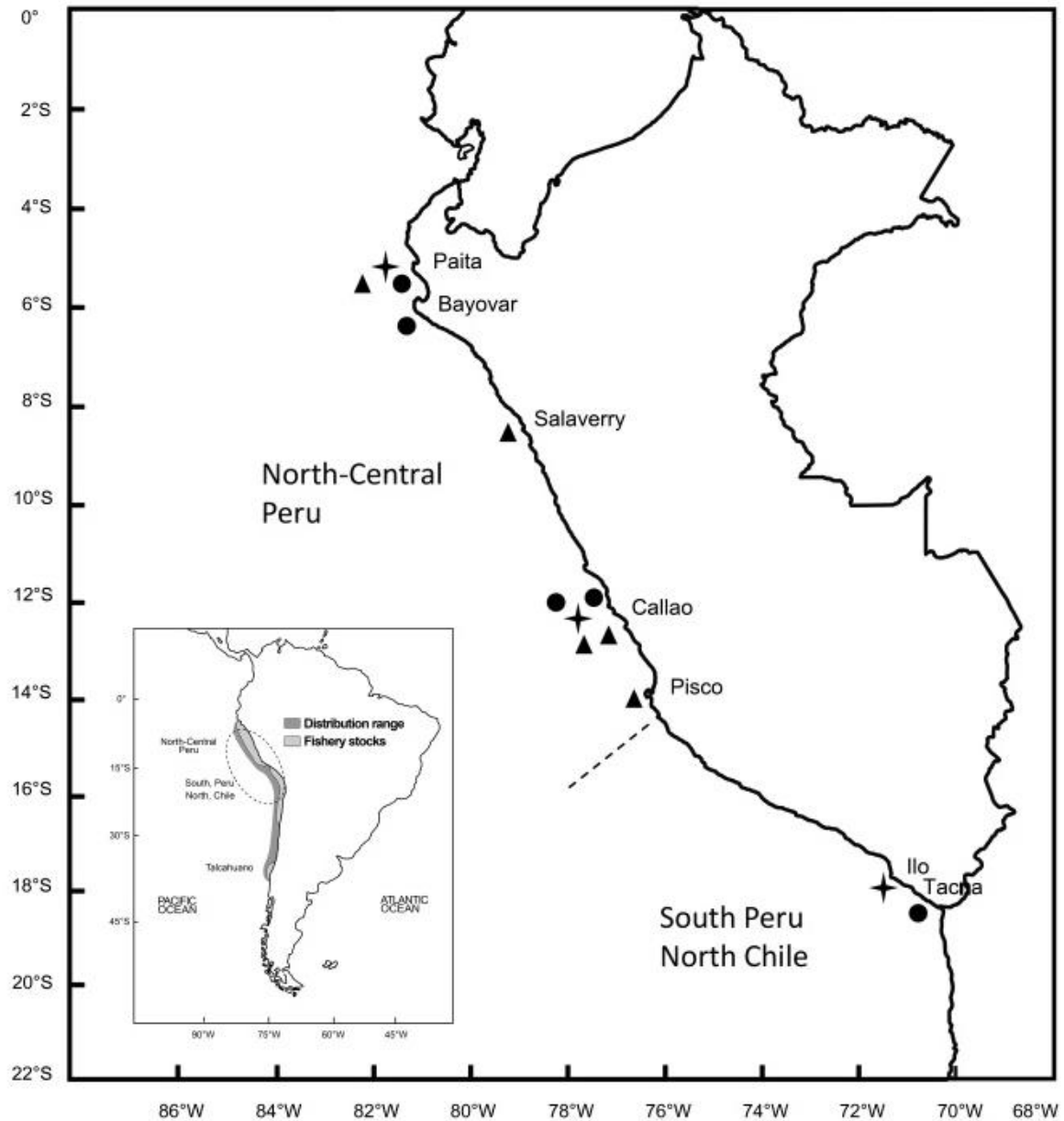
We would like to thank Dirección General de Investigación de Recursos Pelágicos (DGIRP) from Instituto del mar del Perú (IMARPE) for help with sample collections.

#### Conflict of Interest

The authors declare no conflict of interest.

## FIGURES AND TABLES

**Genetic diversity of the anchovy *Engraulis ringens* along  
Peruvian coast based on mitochondrial DNA sequences**D Cueva<sup>1</sup>, G Sotil<sup>1</sup><sup>1</sup>Laboratorio de Genética Molecular, Instituto del Mar del Peru,  
Esquina Gamarra y General Valle S/N ChucuitoE-mail: [gsotil@imarpe.gob.pe](mailto:gsotil@imarpe.gob.pe)



**Figure 1.** Sampling locations in Peruvian EEZ. The geographic range of *E. ringens* and the main fishery components in the Humboldt Current System are also showed.

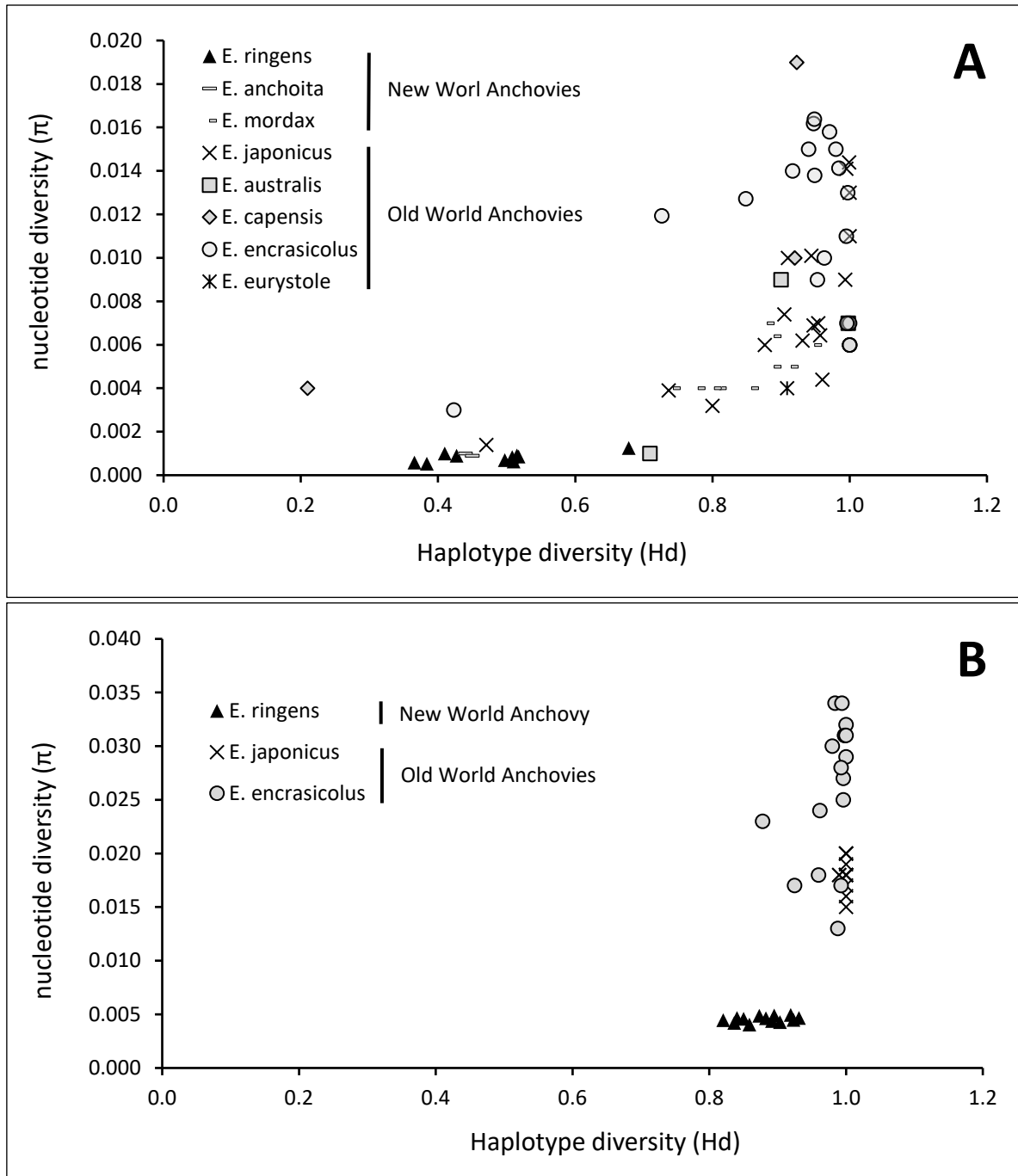
**Table 1.** Details about the 13 sampling campaigns carried out in this study from 2014 to 2016. Fishery Stock and Peruvian coast zone which samples come from is indicated. To simplify, the sample code is made up of the first two letters of the sampling region or locality, followed by two numbers indicating the month and finally two numbers for the year.

Fishery stock	Peruvian coast zone	Location	Date	Sample code
North-Center Peru	North-Peru	Paita	February 2014	AP2014
		Paita	February 2015	AP0215
		Salaverry	August 2015	AN0815
		Paita	April 2016	AN0416
		Sechura	October 2016	AN1016
North-Center Peru	Center-Peru	Callao	February 2014	AC2014
		Callao	February 2015	AC0215
		Callao	August 2015	AC0815
		Pisco	August 2015	AS0815
		Callao	April 2016	AC0416
South Peru – North Chile	South-Peru	Ilo	February 2014	AS2014
		Tacna	October 2016	AS1016

**Table 2.** Mitochondrial genetic diversity of *E. ringens* along Peruvian coast. A hyphen (-) indicates samples where no mtDNA sequences were generated. For an overview of genetic diversity estimates were also compute by pooling sequences from different locations from the same sampling campaign (month), year and as a total value.

Samples	n		Hd ( $\pm$ s.d.)		$\pi$ ( $\pm$ s.d.)	
	HVR1	Cytb	HVR1	Cytb	HVR1	Cytb
<i>AP2014</i>	33	-	0.85 $\pm$ 0.05	-	0.0046 $\pm$ 0.0005	-
<i>AP0215</i>	39	30	0.87 $\pm$ 0.04	0.68 $\pm$ 0.09	0.0049 $\pm$ 0.0005	0.0013 $\pm$ 0.0003
<i>AN0815</i>	32	30	0.88 $\pm$ 0.04	0.51 $\pm$ 0.11	0.0046 $\pm$ 0.0004	0.0006 $\pm$ 0.0002
<i>AN0416</i>	39	30	0.84 $\pm$ 0.05	0.51 $\pm$ 0.11	0.0042 $\pm$ 0.0004	0.0009 $\pm$ 0.0003
<i>AN1016</i>	37	30	0.89 $\pm$ 0.04	0.51 $\pm$ 0.11	0.0044 $\pm$ 0.0003	0.0008 $\pm$ 0.0002
<i>AC2014</i>	27	-	0.92 $\pm$ 0.03	-	0.0045 $\pm$ 0.0005	-
<i>AC0215</i>	32	28	0.86 $\pm$ 0.04	0.50 $\pm$ 0.12	0.0040 $\pm$ 0.0005	0.0007 $\pm$ 0.0002
<i>AC0815</i>	32	30	0.84 $\pm$ 0.07	0.37 $\pm$ 3.00	0.0047 $\pm$ 0.0005	0.0006 $\pm$ 0.0002
<i>AC0416</i>	41	28	0.90 $\pm$ 0.04	0.38 $\pm$ 0.11	0.0049 $\pm$ 0.0004	0.0005 $\pm$ 0.0002
<i>AC1016</i>	31	30	0.93 $\pm$ 0.03	0.52 $\pm$ 0.11	0.0047 $\pm$ 0.0004	0.0009 $\pm$ 0.0003
<i>AS0815</i>	40	-	0.92 $\pm$ 0.03	-	0.0050 $\pm$ 0.0003	-
<i>AS2014</i>	30	-	0.90 $\pm$ 0.04	-	0.0043 $\pm$ 0.0004	-
<i>AS1016</i>	32	-	0.82 $\pm$ 0.06	-	0.0045 $\pm$ 0.0003	-
<i>February 2014</i>	90	-	0.89 $\pm$ 0.02	-	0.0045 $\pm$ 0.0003	-
<i>Febreary 2015</i>	71	58	0.87 $\pm$ 0.03	0.59 $\pm$ 0.08	0.0045 $\pm$ 0.0003	0.0010 $\pm$ 0.0002
<i>August 2015</i>	104	60	0.89 $\pm$ 0.03	0.44 $\pm$ 0.08	0.0048 $\pm$ 0.0002	0.0006 $\pm$ 0.0001
<i>April 2016</i>	80	58	0.86 $\pm$ 0.03	0.45 $\pm$ 0.08	0.0045 $\pm$ 0.0003	0.0007 $\pm$ 0.0002
<i>October 2016</i>	100	60	0.88 $\pm$ 0.02	0.51 $\pm$ 0.08	0.0045 $\pm$ 0.0002	0.0009 $\pm$ 0.0002
<i>2015</i>	175	118	0.88 $\pm$ 0.02	0.52 $\pm$ 0.06	0.0047 $\pm$ 0.0002	0.0008 $\pm$ 0.0001
<i>2016</i>	180	118	0.87 $\pm$ 0.02	0.48 $\pm$ 0.06	0.0045 $\pm$ 0.0002	0.0008 $\pm$ 0.0001
<i>Total</i>	445	236	0.88 $\pm$ 0.01	0.50 $\pm$ 0.04	0.0046 $\pm$ 0.0001	0.0008 $\pm$ 0.0001





**Figure 2.** Scatter plot of mitochondrial genetic diversity of marine anchovy species inhabiting coastal upwelling zones. Estimates were computed from Cytb gene (A) and mitochondrial Control Region (B) sequences. See supplementary material for details about the literature used.

**Table 3.** Analysis of Molecular Variance (AMOVA) based on HVR1 sequences. Genetic structure to test: North, Central and South of Peru. Significance tests based on 20022 permutations.

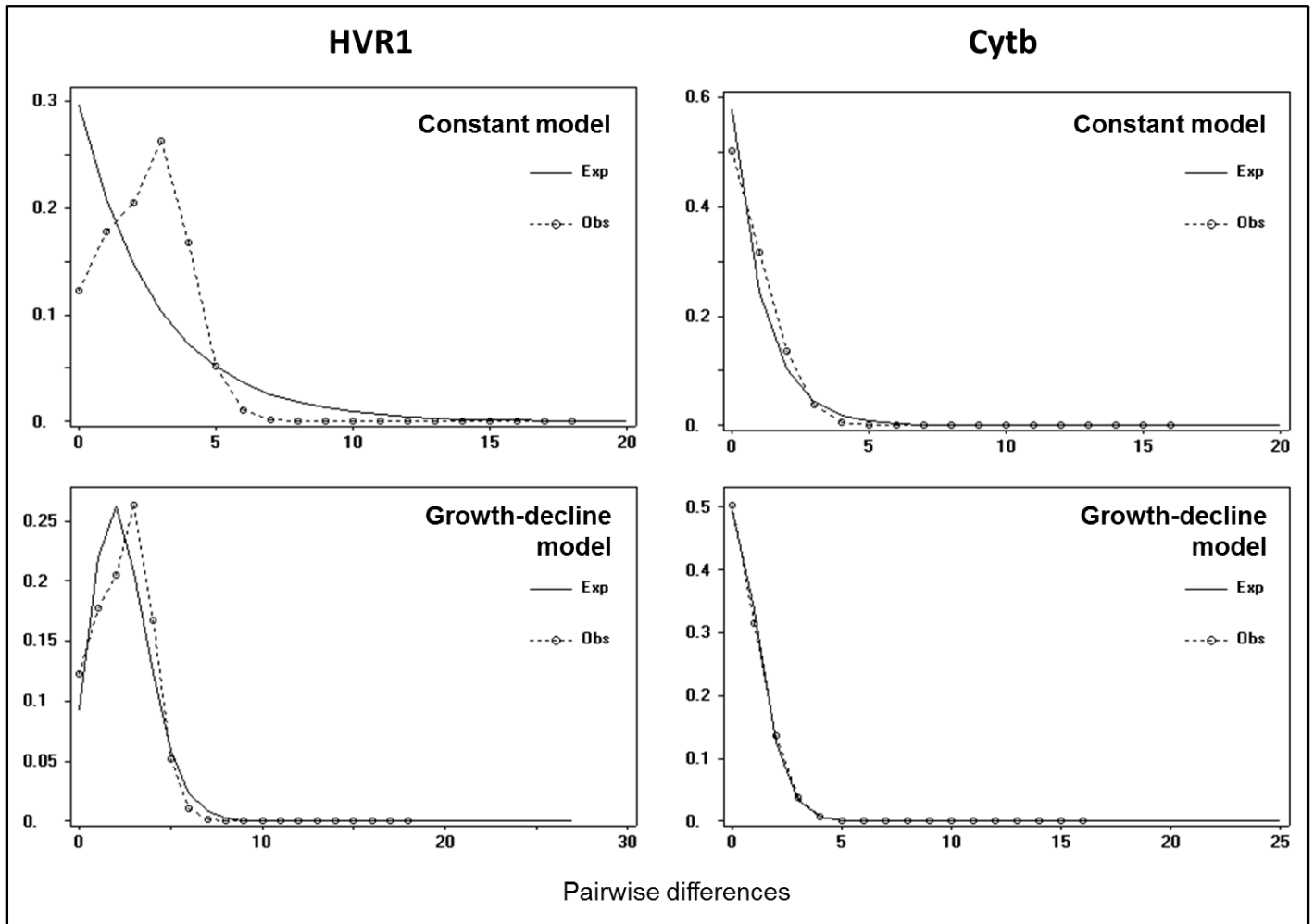
Source of variation	Degree of freedom	Sum of squares	Variance components	Percentage of variance components	AMOVA statistics	P Value
Among North, Central and South of Peru groups	2	3.160	0.00200	0.17	$F_{ct} = 0.00168$	0.21701
Among samples within North, center and South groups	10	13.116	0.00365	0.31	$F_{sc} = 0.00307$	0.28673
Within samples	432	512.453	1.18623	99.53	$F_{st} = 0.00475$	0.21881
Total	444	528.730	1.19189			

**Table 4.** Analysis of Molecular Variance (AMOVA) based on HVR1 sequences. Genetic structure to test: Stock North-Central Peru versus South Peru-North Chile. Significance tests based on 20022 permutations.

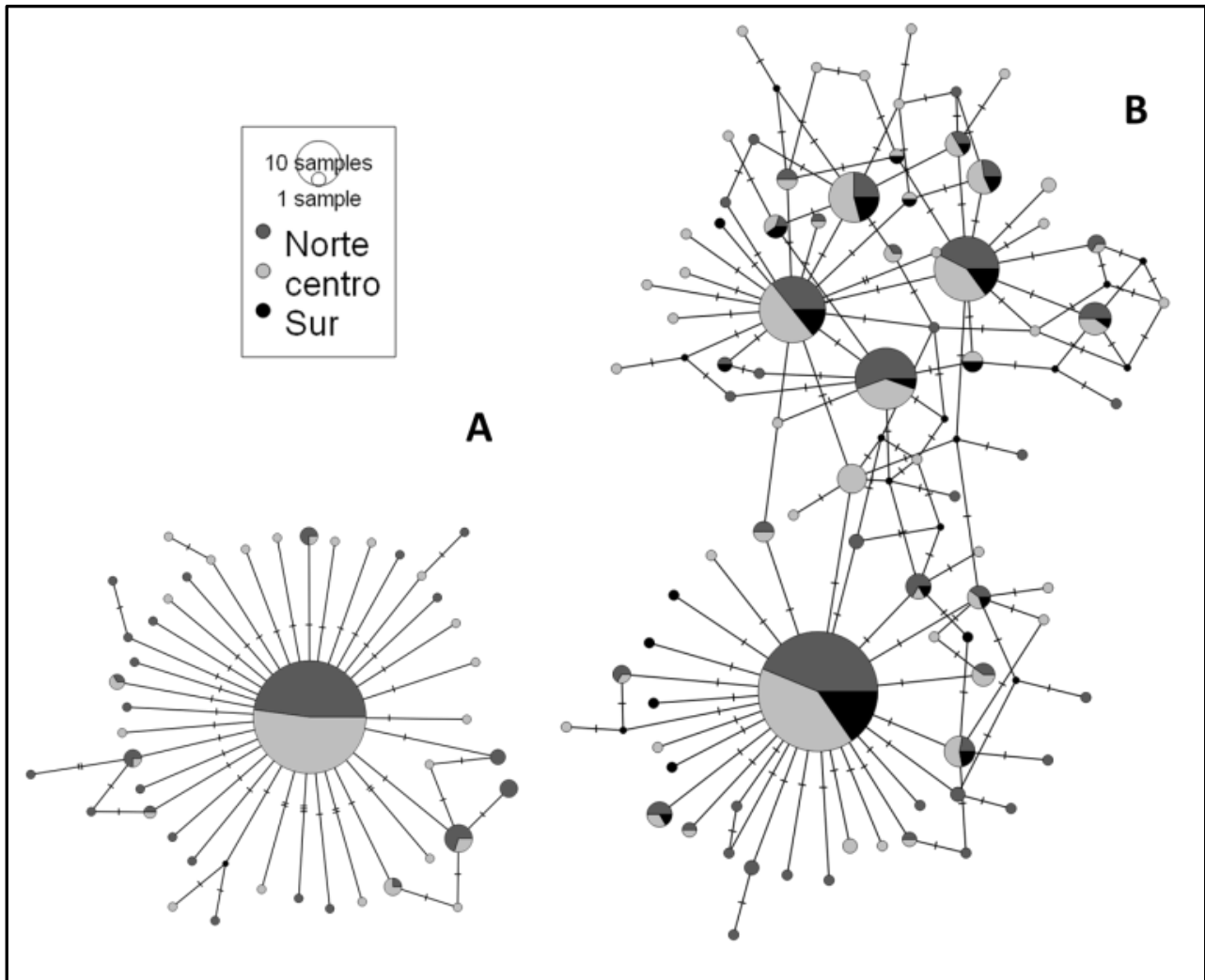
Source of variation	Degree of freedom	Sum of squares	Variance components	Percentage of variance components	AMOVA statistics	P Value
Among fishery stock	1	0.403	-0.00956	-0.81	$F_{ct} = -0.00807$	0.98756
Among samples within fishery stocks	11	15.874	0.00746	0.63	$F_{sc} = 0.00625$	0.15133
Within samples	432	512.453	1.18623	100.18	$F_{st} = .00177$	0.21881
Total	444	528.730	1.18414			

**Table 5.** Neutrality tests for HVR1 and Cytb sequences. Bold values indicate significant deviations from neutral model (Significance Level=0.05).

Samples	Tajima's D		Fu's FS	
	HVR1	Cytb	HVR1	Cytb
AP2014	-1.1744	-	<b>-9.4778*</b>	-
AC2014	-0.3300	-	<b>-7.9154*</b>	-
AS2014	-0.8683	-	<b>-9.1784*</b>	-
AP0215	-0.9123	<b>-2.1456*</b>	<b>-10.7640*</b>	<b>-7.6703*</b>
AC0215	-0.7352	<b>-2.2798*</b>	<b>-7.6521*</b>	<b>-8.0920*</b>
AN0815	-0.8244	<b>-1.9744*</b>	<b>-6.5902*</b>	<b>-6.5545*</b>
AC0815	-0.6032	<b>-2.2355*</b>	<b>-15.1188*</b>	<b>-5.2786*</b>
AS0815	-1.0151	-	<b>-12.0377*</b>	-
AN0416	-1.2314	<b>-1.9535*</b>	<b>-9.1137*</b>	<b>-6.2841*</b>
AC0416	-1.2818	-1.7197	<b>-10.3126*</b>	<b>-2.6376*</b>
AN1016	-0.8442	<b>-1.8828*</b>	<b>-10.6453*</b>	<b>-3.7452*</b>
AC1016	-0.6189	<b>-2.2964*</b>	<b>-9.7874*</b>	<b>-8.3947*</b>
AS1016	0.1148	-	<b>-5.5473*</b>	-
Total	<b>-1.94513*</b>	<b>-2.6418*</b>	<b>-26.37530*</b>	<b>-29.0335*</b>



**Figure 3.** Analysis of the pairwise differences distribution (mismatch distribution) under sceneries of constant and growth-decline population history.



**Figure 4.** Haplotype networks based on Cytb (A) and HVR1 (B) sequences

## SUPPLEMENTARY MATERIAL

**Genetic diversity of the anchovy *Engraulis ringens* along  
Peruvian coast based on mitochondrial DNA sequences**D Cueva<sup>1</sup>, G Sotil<sup>1</sup><sup>1</sup>Laboratorio de Genética Molecular, Instituto del Mar del Peru,  
Esquina Gamarra y General Valle S/N ChucuitoE-mail: [gsotil@imarpe.gob.pe](mailto:gsotil@imarpe.gob.pe)

**Table S1.** Number and types of mtDNA sequence variations in *Engraulis ringens*.

Mitochondrial markers	HVR1	Cytb
Sample size (n)	445	236
Total number of nucleotide sites (locus size)	520	913
Total number of mutation (Eta)	54	47
No. of INDELS (insertions-deletions)	0	0
No. of nucleotide Substitutions	54	47
No. of transition mutations	46	44
No. of transversion mutations	8	3
Total number of variable sites (relative frequency)	52 (10%)	47 (5%)
No. of singleton sites (relative frequency)	28 (54%)	35 (74%)
No. of singleton with two variants	27	35
No. of singleton with three variants	1	0
No. of parsimony-informative sites (relative frequency)	24 (46%)	12 (26%)
No. of parsimony-informative with two variants	23	12
No. of parsimony-informative sites with three variants	1	0
Total number of haplotypes	84	44
No. of sample-private haplotypes (relative frequency)	55 (65%)	35 (80%)
No. of sample-shared haplotypes (relative frequency)	29 (35%)	9 (20%)



**Table S2a.** Permutation tests for significant differences in nucleotide diversity ( $\pi$ ) between populations based on HVR1 sequence data. The procedure was taken from Alexander et al. (2016). The R script is available in [https://github.com/laninsky/genetic\\_diversity\\_diffs](https://github.com/laninsky/genetic_diversity_diffs)

$\pi$	0.0046	0.0045	0.0043	0.0049	0.0040	0.0046	0.0047	0.0050	0.0042	0.0049	0.0044	0.0047	0.0045
$\pi$ diff / p-values	AP2014	AC2014	AS2014	AP0215	AC0215	AN0815	AC0815	AS0815	AN0416	AC0416	AN1016	AC1016	AS1016
AP2014	--	0.883	0.609	0.646	0.394	0.937	0.902	0.560	0.538	0.584	0.787	0.888	0.845
AC2014	0.000100176	--	0.758	0.519	0.539	0.798	0.802	0.453	0.660	0.513	0.881	0.774	0.968
AS2014	0.000306899	0.000206723	--	0.307	0.698	0.580	0.543	0.277	0.910	0.286	0.871	0.549	0.768
AP0215	0.000297185	0.000397361	0.000604084	--	0.158	0.692	0.719	0.905	0.225	0.966	0.393	0.734	0.476
AC0215	0.000545741	0.000445565	0.000238843	0.000842926	--	0.353	0.306	0.141	0.795	0.155	0.562	0.364	0.530
AN0815	0.000055220	0.000155396	0.000362119	0.000241965	0.000600962	--	0.970	0.595	0.463	0.642	0.685	0.968	0.766
AC0815	0.000074606	0.000174782	0.000381505	0.000222579	0.000620347	0.000019386	--	0.618	0.456	0.674	0.665	0.977	0.759
AS0815	0.000368814	0.000468990	0.000675712	0.000071629	0.000914555	0.000313594	0.000294208	--	0.185	0.932	0.314	0.670	0.422
AN0416	0.000382769	0.000282593	0.000075871	0.000679954	0.000162972	0.000437990	0.000457375	0.000751583	--	0.202	0.726	0.441	0.668
AC0416	0.000319624	0.000419800	0.000626523	0.000022439	0.000865366	0.000264404	0.000245018	0.000049189	0.000702394	--	0.365	0.700	0.452
AN1016	0.000189985	0.000089809	0.000116914	0.000487170	0.000355757	0.000245205	0.000264591	0.000558798	0.000192785	0.000509609	--	0.650	0.914
AC1016	0.000091407	0.000191583	0.000398306	0.000205778	0.000637148	0.000036187	0.000016801	0.000277407	0.000474176	0.000228217	2.8139E-04	--	0.740
AS1016	0.000123130	0.000022954	0.000183769	0.000420315	0.000422612	0.000178350	0.000197736	0.000491943	0.000259640	0.000442754	6.6855E-05	0.000214537	--

**Table S2b.** Permutation tests for significant differences in Haplotype diversity (Hd) between populations based on HVR1 sequence data. The procedure was taken from Alexander et al. (2016). The R script is available in [https://github.com/laninsky/genetic\\_diversity\\_diffs](https://github.com/laninsky/genetic_diversity_diffs)

Hd	0.850	0.923	0.903	0.873	0.859	0.883	0.841	0.919	0.837	0.895	0.892	0.931	0.821
Hd diff /P-values	AP2014	AC2014	AS2014	AP0215	AC0215	AN0815	AC0815	AS0815	AN0416	AC0416	AN1016	AC1016	AS1016
AP2014	--	0.257	0.409	0.717	0.877	0.584	0.871	0.265	0.811	0.46	0.484	0.21	0.621
AC2014	0.07269 8135	--	0.759	0.436	0.344	0.539	0.232	0.942	0.192	0.642	0.60	0.902	0.142
AS2014	0.05306 9488	0.01962 8647	--	0.614	0.474	0.733	0.307	0.781	0.286	0.897	0.829	0.675	0.191
AP0215	0.02276 5612	0.04993 2524	0.03030 3876	--	0.794	0.867	0.584	0.389	0.543	0.704	0.729	0.344	0.377
AC0215	0.00849 218	0.06420 5955	0.04457 7308	0.01427 3432	--	0.699	0.75	0.303	0.711	0.542	0.571	0.268	0.536
AN0815	0.03268 5728	0.04001 2407	0.02038 376	0.00992 0117	0.02419 3548	--	0.485	0.513	0.425	0.817	0.894	0.430	0.321
AC0815	0.00965 2981	0.08235 1117	0.06272 2469	0.03241 8593	0.01814 5161	0.04233 871	--	0.198	0.942	0.365	0.379	0.160	0.715
AS0815	0.06885 1981	0.00384 6154	0.01578 2493	0.04608 637	0.06035 9801	0.03616 6253	0.07850 4963	--	0.16	0.648	0.623	0.843	0.117
AN0416	0.01367 1635	0.08636 9771	0.06674 1123	0.03643 7247	0.02216 3815	0.04635 7364	0.00401 8654	0.08252 3617	--	0.292	0.329	0.139	0.776
AC0416	0.04474 3163	0.02795 4972	0.00832 6325	0.02197 7552	0.03625 0983	0.01205 7435	0.05439 6145	0.02410 8818	0.05841 4799	--	0.952	0.531	0.208
AN1016	0.04151 3104	0.03118 5031	0.01155 6384	0.01874 7492	0.03302 0924	0.00882 7376	0.05116 6085	0.02733 8877	0.05518 4739	0.00323 0059	--	0.485	0.236
AC1016	0.08080 4008	0.00810 5873	0.02773 452	0.05803 8396	0.07231 1828	0.04811 828	0.09045 6989	0.01195 2026	0.09447 5643	0.03606 0844	0.0392 909	--	0.087
AS1016	0.02981 4272	0.10251 2407	0.08288 376	0.05257 9883	0.03830 6452	0.0625	0.02016 129	0.09866 6253	0.01614 2636	0.07455 7435	0.0713 2738	0.1106 1828	--

**Table 3a.** Permutation tests for significant differences in nucleotide diversity ( $\pi$ ) between populations based on Cytb sequence data. The procedure was taken from Alexander et al. (2016). The R script is available in [https://github.com/laninsky/genetic\\_diversity\\_diffs](https://github.com/laninsky/genetic_diversity_diffs)

$\pi$	0.0013	0.0007	0.0006	0.0006	0.0009	0.0005	0.0008	0.0009
$\pi$ diff / p-values	AP0215	AC0215	AN0815	AC0815	AN0416	AC0416	AN1016	AC1016
AP0215	--	0.13	0.08	0.06	0.35	0.05	0.24	0.27
AC0215	0.00055	--	0.86	0.73	0.54	0.62	0.70	0.65
AN0815	0.00062	6.205E-05	--	0.89	0.45	0.77	0.59	0.50
AC0815	0.00067	1.200E-04	5.791E-05	--	0.35	0.89	0.47	0.42
AN0416	0.00033	2.200E-04	2.820E-04	0.00034	--	0.28	0.80	0.90
AC0416	0.00072	1.681E-04	1.060E-04	0.00005	0.00039	--	0.40	0.34
AN1016	0.00042	1.369E-04	1.989E-04	0.00026	0.00008	0.00030	--	0.92
AC1016	0.00039	1.671E-04	2.291E-04	0.00029	0.00005	0.00034	3.021E-05	--

**Table 3a.** Permutation tests for significant differences in haplotype diversity (Hd) between populations based on Ctyb sequence data. The procedure was taken from Alexander et al. (2016). The R script is available in [https://github.com/laninsky/genetic\\_diversity\\_diffs](https://github.com/laninsky/genetic_diversity_diffs)

Hd	0.68	0.50	0.51	0.37	0.51	0.38	0.51	0.52
Hd/P-values	AP0215	AC0215	AN0815	AC0815	AN0416	AC0416	AN1016	AC1016
AP0215	--	0.28	0.30	0.06	0.32	0.08	0.31	0.33
AC0215	0.1808	--	0.98	0.41	0.96	0.49	0.99	0.94
AN0815	0.1678	0.0130	--	0.38	0.92	0.45	0.94	0.90
AC0815	0.3126	0.1318	0.1448	--	0.36	0.95	0.40	0.35
AN0416	0.1632	0.0176	0.0046	0.1494	--	0.42	0.90	0.95
AC0416	0.2946	0.1138	0.1267	0.0181	0.1313	--	0.47	0.42
AN1016	0.1701	0.0107	0.0023	0.1425	0.0069	0.1244	--	0.89
AC1016	0.1609	0.0199	0.0069	0.1517	0.0023	0.1336	0.0092	--

**Table S4.** Details about the compiled estimates of genetic diversity from different marine *Engraulis* members. Estimates were calculated from nucleotide sequences of mitochondrial gene Cytochrome b.

Reference	species	Sampling location	Sampling date	pb	n	Hd	$\pi$
Grant and Bowen 1998	<i>E. anchoita</i>	Not shown	Not shown	521	1 9	0.4	0.001
Grant et al 2010	<i>E. anchoita</i>	Argentina	Not shown	687	1 9	0.5	0.001
Grant and Bowen 1998	<i>E. australis</i>	Not shown	Not shown	521	1 6	0.9	0.009
Silva et al 2017	<i>E. australis</i>	Australia	2008	104 4	3 4	1.0	0.007
Silva et al 2017	<i>E. australis</i>	Nueva Zelanda	2005	104 4	3 5	0.7	0.001
Grant and Bowen 1998	<i>E. capensis</i>	Southern Africa*	Not shown	521	1 8	0.2	0.004
Silva et al 2017	<i>E. capensis</i>	Namibia	2007	104 4	2 4	0.9	0.010
Silva et al 2017	<i>E. capensis</i>	Sudafrica	2007	104 4	1 3	0.9	0.019
Grant and Bowen 1998	<i>E. encrasicolus</i>	Not shown	Not shown	521	1 6	0.9	0.015
Grant et al 2010	<i>E. encrasicolus</i>	Europe	Not shown	687	1 7	0.9	0.014
Borrel et al 2012	<i>E. encrasicolus</i>	Bay of Biscay - CA	Not shown	524	3 9	0.7	0.012
Borrel et al 2012	<i>E. encrasicolus</i>	Bay of Biscay - LI	Not shown	524	2 0	0.9	0.016
Borrel et al 2012	<i>E. encrasicolus</i>	Bay of Biscay - BB	Not shown	524	1 7	1.0	0.016
Borrel et al 2012	<i>E. encrasicolus</i>	Bay of Biscay - GE	Not shown	524	1 2	0.8	0.013
Borrel et al 2012	<i>E. encrasicolus</i>	Bay of Biscay - FR	Not shown	524	3 1	0.9	0.016
Borrel et al 2012	<i>E. encrasicolus</i>	Mediterranean - Adriatic Sea	Not shown	524	2 0	1.0	0.014
Silva et al 2014	<i>E. encrasicolus</i>	Málaga, ML	Not shown	104 4	3 1	1.0	0.007
Silva et al 2014	<i>E. encrasicolus</i>	Tangier, TG	Not shown	104 4	3 8	0.4	0.003
Silva et al 2017	<i>E. encrasicolus</i>	Noruega	2007	104 4	2 4	1.0	0.009
Silva et al 2017	<i>E. encrasicolus</i>	Polonia	2008	104 4	9	0.9	0.014
Silva et al 2017	<i>E. encrasicolus</i>	El Canal Inglés	2007	104 4	2 7	1.0	0.010
Silva et al 2017	<i>E. encrasicolus</i>	El Golfo de Vizcaya	2007	104 4	2 3	1.0	0.015
Silva et al 2017	<i>E. encrasicolus</i>	Norte de Portugal	1998	104 4	2 5	1.0	0.013
Silva et al 2017	<i>E. encrasicolus</i>	Sur de Portugal	2007	104 4	2 9	1.0	0.011
Silva et al 2017	<i>E. encrasicolus</i>	Islas Canarias	1999	104 4	2 4	1.0	0.007
Silva et al 2017	<i>E. encrasicolus</i>	Senegal	1999	104 4	2 5	1.0	0.006
Silva et al 2017	<i>E. encrasicolus</i>	Guinea-Bisáu	2006	104 4	2 0	1.0	0.006
Silva et al 2017	<i>E. encrasicolus</i>	Ghana	2008	104 4	2 5	1.0	0.006
Silva et al 2017	<i>E. eurystole</i>	US	2006	104 4	1 2	0.9	0.004
Grant and Bowen 1998	<i>E. japonicus</i>	Not shown	Not shown	521	2 0	0.9	0.010
Yu et al 2005	<i>E. japonicus</i>	Global (China Sea-Yellow Sea)	Not shown	420	4 6	1.0	0.006

Chen et al 2010	<i>E. japonicus</i>	Taiwan Este - Spring	2001	740	$\frac{4}{4}$	1.0	0.014
Chen et al 2010	<i>E. japonicus</i>	Taiwan Oeste - Spring	2001	740	$\frac{4}{4}$	1.0	0.013
Chen et al 2010	<i>E. japonicus</i>	Taiwan Este - Autum	2001	740	$\frac{4}{5}$	1.0	0.014
Grant et al 2010	<i>E. japonicus</i>	Japan	Not shown	687	$\frac{2}{2}$	0.9	0.010
Zheng et al 2015	<i>E. japonicus</i>	Yellow Sea - A	2011	402	$\frac{1}{8}$	1.0	0.007
Zheng et al 2015	<i>E. japonicus</i>	Yellow Sea - B1	2011	402	$\frac{1}{6}$	0.8	0.003
Zheng et al 2015	<i>E. japonicus</i>	Yellow Sea - B2	2011	402	$\frac{1}{9}$	0.9	0.007
Zheng et al 2015	<i>E. japonicus</i>	Yellow Sea - C	2011	402	7	0.9	0.007
Zheng et al 2015	<i>E. japonicus</i>	Yellow Sea - D	2010	402	$\frac{1}{7}$	0.5	0.001
Zheng et al 2015	<i>E. japonicus</i>	East chine Sea - E1	2009	402	$\frac{2}{4}$	1.0	0.004
Zheng et al 2015	<i>E. japonicus</i>	East chine Sea - E2	2010	402	$\frac{2}{4}$	0.9	0.006
Zheng et al 2015	<i>E. japonicus</i>	Yellow Sea - WH	2008	402	$\frac{1}{5}$	1.0	0.009
Zheng et al 2015	<i>E. japonicus</i>	Yellow Sea - JN	2008	402	$\frac{1}{8}$	0.7	0.004
Zheng et al 2015	<i>E. japonicus</i>	Yellow Sea - K	2008	402	$\frac{1}{4}$	0.9	0.006
Silva et al 2017	<i>E. japonicus</i>	Japon	2006	104	$\frac{2}{4}$	1.0	0.011
Grant and Bowen 1998	<i>E. mordax</i>	Not shown	Not shown	521	$\frac{1}{4}$	0.9	0.007
Lecomte et al 2004	<i>E. mordax</i>	Washintong - Grays Harbor	1995	539	$\frac{1}{7}$	0.7	0.004
Lecomte et al 2004	<i>E. mordax</i>	North California - Eureka	1994	539	$\frac{2}{0}$	0.8	0.004
Lecomte et al 2004	<i>E. mordax</i>	South California - San Diego 94	1994	539	$\frac{1}{4}$	0.9	0.004
Lecomte et al 2004	<i>E. mordax</i>	South California - San Diego 01	2001	539	$\frac{3}{0}$	0.9	0.005
Lecomte et al 2004	<i>E. mordax</i>	Ensenada	1995	539	$\frac{2}{3}$	0.8	0.004
Lecomte et al 2004	<i>E. mordax</i>	Upper baja California Sur - South of Cedros Is.	1995	539	$\frac{3}{5}$	0.8	0.004
Lecomte et al 2004	<i>E. mordax</i>	Lower Baja California Sur - Bahía Magdalena	1995	539	$\frac{3}{7}$	0.9	0.006
Lecomte et al 2004	<i>E. mordax</i>	Gulf of California - Guaymas	1995	539	$\frac{2}{0}$	0.9	0.005
Grant et al 2010	<i>E. mordax</i>	California-Mexico	Not shown	687	$\frac{1}{4}$	0.9	0.006
Grant and Bowen 1998	<i>E. ringens</i>	Chile-Peru*	Not shown	521	$\frac{1}{7}$	<b>0.4</b>	<b>0.001</b>
Grant et al 2010	<i>E. ringens</i>	Talcahuano, Chile	Not shown	687	$\frac{1}{7}$	<b>0.4</b>	<b>0.001</b>
This study	<i>E. ringens</i>	North Peru - Paita AP0215	feb-15	913	$\frac{3}{0}$	0.7	0.001
This study	<i>E. ringens</i>	Center Peru - Callao AC0215	feb-15	913	$\frac{2}{8}$	0.5	0.001
This study	<i>E. ringens</i>	North Peru - Salaverry AN0815	ago-15	913	$\frac{3}{0}$	0.5	0.001
This study	<i>E. ringens</i>	Center Peru - Callao AC0815	ago-15	913	$\frac{3}{0}$	0.4	0.001
This study	<i>E. ringens</i>	North Peru - Paita AN0416	abr-16	913	$\frac{3}{0}$	0.5	0.001
This study	<i>E. ringens</i>	Center Peru - Callao AC0416	abr-16	913	$\frac{2}{8}$	0.4	0.001
This study	<i>E. ringens</i>	North Peru - Sechura AN1016	oct-16	913	$\frac{3}{0}$	0.5	0.001
This study	<i>E. ringens</i>	Center Peru - Callao AC1016	oct-16	913	$\frac{3}{0}$	0.5	0.001

**Table S5.** Details about the compiled estimates of genetic diversity from different marine *Engraulis* members. Estimates were calculated from nucleotide sequences of mitochondrial Control Region.

Reference	species	Sampling location	Sampling date	pb	n	Hd	$\pi$
Viña et al. 2004	<i>E. encrasicolus</i>	Islas canarias	1997	402	44	1.0	0.013
Viña et al. 2004	<i>E. encrasicolus</i>	Cádiz	1997	402	47	1.0	0.017
Viña et al. 2004	<i>E. encrasicolus</i>	Bay of Biscay - Donostia	1996	402	51	1.0	0.030
Viña et al. 2004	<i>E. encrasicolus</i>	Bay of Biscay - Arcachon	1996	402	52	1.0	0.034
Viña et al. 2004	<i>E. encrasicolus</i>	Bay of Biscay - Garona	1996	402	51	1.0	0.034
Viña et al. 2004	<i>E. encrasicolus</i>	Northern Alborán Sea	1997	402	50	1.0	0.027
Viña et al. 2004	<i>E. encrasicolus</i>	Northern Spain - Cadaqués	1996	402	52	1.0	0.031
Viña et al. 2004	<i>E. encrasicolus</i>	Gulf of Lions	1993	402	23	1.0	0.032
Viña et al. 2004	<i>E. encrasicolus</i>	Elba Island	1993	402	23	1.0	0.029
Viña et al. 2004	<i>E. encrasicolus</i>	Sicilia	1996	402	37	1.0	0.031
Viña et al. 2004	<i>E. encrasicolus</i>	North Adriatic sea	1997	402	42	1.0	0.028
Viña et al. 2004	<i>E. encrasicolus</i>	South Adriatic sea	1997	402	38	1.0	0.031
Viña et al. 2004	<i>E. encrasicolus</i>	Aegean Sea	1996	402	49	1.0	0.025
Cuttitta et al. 2015	<i>E. encrasicolus</i>	Sicilia 1_2	2010	608	28	0.9	0.023
Cuttitta et al. 2015	<i>E. encrasicolus</i>	Sicilia 3	2010	608	17	1.0	0.018
Cuttitta et al. 2015	<i>E. encrasicolus</i>	Sicilia 5	2010	608	13	1.0	0.024
Cuttitta et al. 2015	<i>E. encrasicolus</i>	Malta	2010	608	16	0.9	0.017
Liu et al. 2006	<i>E. japonicus</i>	East Chine Sea - P	2001	522	16	1.0	0.015
Liu et al. 2006	<i>E. japonicus</i>	East Chine Sea - E	2001	522	22	1.0	0.020
Liu et al. 2006	<i>E. japonicus</i>	East Chine Sea - F	2001	522	20	1.0	0.018
Liu et al. 2006	<i>E. japonicus</i>	East Chine Sea - L	2001	522	17	1.0	0.017
Liu et al. 2006	<i>E. japonicus</i>	East Chine Sea - J	2001	522	20	1.0	0.018
Liu et al. 2006	<i>E. japonicus</i>	Sea Japan - R	2005	522	20	1.0	0.018
Liu et al. 2006	<i>E. japonicus</i>	Sea japan - M	1997	522	18	1.0	0.018
Liu et al. 2006	<i>E. japonicus</i>	Sea Japan - I	1997	522	18	1.0	0.018
Liu et al. 2006	<i>E. japonicus</i>	Sea Japan - N	1996	522	18	1.0	0.019
Liu et al. 2006	<i>E. japonicus</i>	Sea Japan - K	1997	522	18	1.0	0.018
Liu et al. 2006	<i>E. japonicus</i>	Sea Japan - T	1997	522	18	1.0	0.020
Liu et al. 2006	<i>E. japonicus</i>	Sea Japan - G	1997	522	18	1.0	0.016
Liu et al. 2006	<i>E. japonicus</i>	Sea Japan - U	1997	522	18	1.0	0.020
This study	<i>E. ringens</i>	North-Peru (Paita)	02_2014	520	33	0.9	0.005
This study	<i>E. ringens</i>	Center-Peru (Callao)	02_2014	520	27	0.9	0.004
This study	<i>E. ringens</i>	South-Peru (Ilo)	02_2014	520	30	0.9	0.004
This study	<i>E. ringens</i>	North-Peru (Paita)	02_2015	520	39	0.9	0.005
This study	<i>E. ringens</i>	Center-Peru (Callao)	02_2015	520	32	0.9	0.004
This study	<i>E. ringens</i>	North-Peru (Salaverry)	08_2015	520	32	0.9	0.005
This study	<i>E. ringens</i>	Center-Peru (Callao)	08_2015	520	32	0.8	0.005
This study	<i>E. ringens</i>	Center-Peru (Pisco)	08_2015	520	40	0.9	0.005
This study	<i>E. ringens</i>	North-Peru (Paita)	04_2016	520	39	0.8	0.004
This study	<i>E. ringens</i>	Center-Peru (Callao)	04_2016	520	41	0.9	0.005

This study	<i>E. ringens</i>	North-Peru (Sechura)	04_2016	520	37	0.9	0.004
This study	<i>E. ringens</i>	Center-Peru (Callao)	10_2016	520	31	0.9	0.005
This study	<i>E. ringens</i>	South-Peru (Tacna)	10_2016	520	32	0.8	0.004



**Table S6.**  $\Phi_{st}$  pairwise comparisons based on HVR1 sequences. Bold  $\Phi_{st}$  values indicate significant genetic differences (Significance Level=0.05).

	AP2014	AC2014	AS2014	AP0215	AC0215	AN0815	AC0815	AS0815	AN0416	AC0416	AN1016	AC1016	AS1016
AP2014													
AC2014	<b>0.046*</b>												
AS2014	-0.009	0.033											
AP0215	-0.017	0.014	-0.013										
AC0215	0.003	0.001	0.011	-0.011									
AN0815	-0.021	0.028	-0.001	-0.015	-0.009								
AC0815	-0.002	<b>0.066*</b>	0.009	-0.002	0.017	0.009							
AS0815	0.022	-0.018	0.014	0.002	-0.004	0.013	<b>0.045*</b>						
AN0416	-0.021	<b>0.059*</b>	-0.006	-0.008	0.011	-0.013	-0.005	<b>0.036*</b>					
AC0416	-0.014	0.018	-0.016	-0.016	-0.002	-0.011	0.015	0.003	-0.005				
AN1016	-0.003	0.002	-0.008	-0.007	-0.003	-0.007	0.025	-0.004	0.004	-0.012			
AC1016	0.024	-0.006	0.035	0.001	-0.020	0.007	0.032	0.000	0.035	0.014	0.011		
AS1016	0.000	0.011	0.021	-0.015	-0.017	-0.008	0.011	0.002	0.013	0.004	0.009	-0.017	

**Table S7.** *P* Values for exact tests of population differentiation based on HVR1 sequences (Markov chain length: 200000 steps). Bold *P* values indicate significant genetic differences (Significance Level=0.05).

	AP2014	AC2014	AS2014	AP0215	AC0215	AN0815	AC0815	AS0815	AN0416	AC0416	AN1016	AC1016	AS1016
AP2014													
AC2014	<b>0.215</b>												
AS2014	0.499	0.672											
AP0215	0.998	0.459	0.879										
AC0215	0.111	0.756	0.672	0.545									
AN0815	0.922	0.279	0.164	0.841	0.238								
AC0815	0.880	<b>0.103</b>	0.622	0.843	0.086	0.095							
AS0815	0.736	0.536	0.636	0.748	0.297	0.224	<b>0.473</b>						
AN0416	0.915	<b>0.492</b>	0.443	0.888	0.335	0.595	0.744	<b>0.321</b>					
AC0416	0.917	0.550	0.858	0.960	0.505	0.456	0.401	0.545	0.608				
AN1016	0.386	0.560	0.791	0.745	0.734	0.331	0.355	0.476	0.446	0.432			
AC1016	0.189	0.775	0.459	0.646	0.822	0.533	0.146	0.455	0.331	0.509	0.680		
AS1016	0.215	0.093	0.125	0.524	0.252	0.143	0.564	0.613	0.259	0.144	0.500	0.577	

**Table S8.**  $\Phi_{st}$  pairwise comparisons based on Cytb sequences. A hyphen (-) indicates samplings where no mtDNA sequences were generated. Bold  $\Phi_{st}$  values indicate significant genetic differences (Significance Level=0.05).

	AP2014	AC2014	AS2014	AP0215	AC0215	AN0815	AC0815	AS0815	AN0416	AC0416	AN1016	AC1016	AS1016
AP2014													
AC2014	-												
AS2014	-	-											
AP0215	-	-											
AC0215	-	-	-	0.014									
AN0815	-	-	-	<b>0.036*</b>	0.004								
AC0815	-	-	-	0.014	-0.008	0.000							
AS0815	-	-	-	-	-	-	-						
AN0416	-	-	-	0.010	-0.001	0.016	0.010	-					
AC0416	-	-	-	0.016	0.005	<b>0.022*</b>	-0.004	-	0.017				
AN1016	-	-	-	-0.013	0.002	<b>0.027*</b>	0.001	-	0.001	0.011			
AC1016	-	-	-	0.003	-0.004	0.013	-0.007	-	0.006	-0.004	-0.005		
AS1016	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

**Table S9.** *P* Values for exact tests of population differentiation based on Cytb sequences (Markov chain length: 200000 steps). Bold *P* values indicate significant genetic differences (Significance Level=0.05).

	AP2014	AC2014	AS2014	AP0215	AC0215	AN0815	AC0815	AS0815	AN0416	AC0416	AN1016	AC1016	AS1016
AP2014													
AC2014	-												
AS2014	-	-											
AP0215	-	-	-										
AC0215	-	-	-	0.291									
AN0815	-	-	-	<b>0.016*</b>	0.470								
AC0815	-	-	-	<b>0.017*</b>	0.402	0.407							
AS0815	-	-	-	-	-	-	-						
AN0416	-	-	-	0.381	1.000	0.428	0.287	-					
AC0416	-	-	-	0.265	0.407	<b>0.066</b>	0.533	-	0.319				
AN1016	-	-	-	0.874	0.390	<b>0.033*</b>	0.143	-	0.433	0.379			
AC1016	-	-	-	0.218	1.000	0.252	0.549	-	0.741	0.504	0.394		
AS1016	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

**Table S10.** Analysis of Molecular Variance (AMOVA) based on Cytb sequences. Genetic structure to test: North versus Central of Peru. Significance tests (20022 permutations).

Source of variation	Degree of freedom	Sum of squares	Variance components	Percentage of variance components	AMOVA statistics	P Value
Among North and Central of Peru	1	0.532	0.00091	0.25	$F_{ct} = 0.00249$	0.26091
Among samples within North and center of Peru	6	2.544	0.00202	0.55	$F_{sc} = 0.00551$	0.11028
Within samples	228	83.086	0.36441	99.20	$F_{st} = 0.00798$	0.05184
Total	235	86.161	0.36734			

## Referencias Bibliográficas

Bandelt HJ, Forster P, Röhl A (1999) Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular biology and evolution*. Vol 16(1), pp 37-48.

Barber RT, Chavez FP (1983) Biological consequences of el niño. *Science*. Vol 222(4629), pp 1203-1210.

Bertrand A, Segura M, Gutiérrez M, Vásquez L (2004) From small-scale habitat loopholes to decadal cycles: a habitat-based hypothesis explaining fluctuation in pelagic fish populations off Peru. *Fish and fisheries*. Vol 5(4), pp 296-316.

Chavez FP, Ryan J, Lluch-Cota SE, Ñiquen M (2003) From anchovies to sardines and back: multidecadal change in the Pacific Ocean. *Science*. Vol 299(5604), pp 217-221.

Chavez FP, Messié M (2009). A comparison of eastern boundary upwelling ecosystems. *Progress in Oceanography*, 83(1-4), 80-96.

Cubillos LA, Serra R, Fréon P (2007). Synchronous pattern of fluctuation in three anchovy fisheries in the Humboldt Current System. *Aquatic Living Resources*, 20(1), 69-75.

Delrieu-Trottin E, Mona S, Maynard J, Neglia V, Veuille M, Planes S (2017). Population expansions dominate demographic histories of endemic and widespread Pacific reef fishes. *Sci Rep* 7: 40519.

Díaz-Viloria N, Sánchez-Velasco L, Pérez-Enríquez R (2012). Recent population expansion in the evolutionary history of the Californian anchovy *Engraulis mordax*. *Hidrobiológica*, 22(3), 258-266.

Excoffier L, Lischer HEL (2010) Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*. Vol 10, pp 564-567.

Ferrada S, Hernández K, Montoya R, Galleguillos R (2002) Estudio poblacional del recurso anchoveta (*Engraulis ringens* Jenyns 1842) (Clupeiformes, Engraulidae), mediante análisis de ADN. *Gayana (Concepción)*. Vol 66(2), pp 243-248.

Ferrada S, Galleguillos R, Canales CB, Herrera V (2018) Development and characterization of thirty-two microsatellite markers for the anchovy, *Engraulis ringens* Jenyns, 1842 (Clupeiformes, Engraulidae) via 454 pyrosequencing. *Latin american journal of aquatic research*. Vol 46(2), pp 452-456.

Frankham R, Briscoe DA, Ballou JD (2002) Introduction to conservation genetics. *Cambridge university press*.

Fu YX (1997) Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics*. Vol 147(2), pp 915-925.

Gyllensten U (1985). The genetic structure of fish: differences in the intraspecific distribution of biochemical genetic variation between marine, anadromous, and freshwater species. *Journal of Fish Biology*, 26(6), 691-699.

Gutiérrez M, Castillo R, Segura M, Peraltilla S, Flores M. (2012) Trends in spatio-temporal distribution of Peruvian anchovy and other small pelagic fish biomass from 1966-2009. *Latin American Journal of Aquatic Research*. Vol 40(3 Esp.), pp 633-648.

Gutiérrez M (1999) Distribución y abundancia de anchoveta y otras especies pelágicas entre los eventos El Niño 1982-83 y 1997-98. *Bol. Inst. Mar Perú*. Vol 18, pp 77-88.

Grant, WS, & Leslie, RW (1993). Effect of metapopulation structure on nuclear and organellar DNA variability in semi-arid environments of southern Africa. *South African Journal of Science*, 89(6), 287-293.

Grant WS, Bowen BW (1998) Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. *Journal of heredity*. Vol 89(5), pp 415-426.

Hedgecock D, Hutchinson E, Sly FL, Nelson K (1994). The central stock of northern anchovy (*Engraulis mordax*) is not a randomly mating population. *CalCoFi rep*, 35, 121-136.

IMARPE (1973). Report of the Third Session of the Panel of Experts on the population dynamics of Peruvian anchoveta. *Bol. Inst. Mar Peru-Callao* 2(9):525-599.

- Jordán, R. 1971. Distribution of anchovy (*Engraulis ringens*) in relation to the environment. *Inv. Pesq.* Vol 35(1), pp 113-12
- Jordán R, Málaga A (1972) Resultado de la primera marcación experimental de anchoveta (*Engraulis ringens* J.) En el mar. Abril 1970 - Setiembre 1971.
- Kritzer JP, Sale PF (2004) Metapopulation ecology in the sea: from Levins' model to marine ecology and fisheries science. *Fish and Fisheries.* Vol 5(2), pp 131-140.
- Larkin MA, Blackshields G, Brown NP, Chenna R, McGettigan PA, McWilliam H, et al. (2007) Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics.* Vol 23(21), pp 2947-2948.
- Lee WJ, Conroy J, Howell WH, Kocher TD (1995) Structure and evolution of teleost mitochondrial control regions. *Journal of Molecular Evolution.* Vol 41(1), pp 54-66.
- Leigh JW, Bryant D (2015) popart: full-feature software for haplotype network construction. *Methods in Ecology and Evolution.* Vol 6(9), pp 1110-1116.
- Librado P, Rozas J (2009) DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics.* Vol 25, pp 1451-1452.
- Lluch-Belda DRJM, Crawford RJ, Kawasaki T, MacCall AD, Parrish RH, Schwartzlose RA, et al. (1989) World-wide fluctuations of sardine and anchovy stocks: the regime problem. *South African Journal of Marine Science.* Vol 8(1), pp 195-205.
- Mathisen OA (1989) Adaptation of the anchoveta (*Engraulis ringens*) to the Peruvian upwelling system. In *The Peruvian upwelling ecosystem: dynamics and interactions.* ICLARM Conf Proc, Instituto del Mar del Peru (IMARPE). Vol 18, pp 220-234.
- Mendo J (1991) Stock identification of Peruvian anchoveta (*Engraulis ringens*): morphometric, tagging/recapture, electrophoretic and ecological studies. Ph.D. thesis, University of Bremen.
- Ñiquen M, Bouchon M, Cahuín S, Díaz E (2000) Pesquería de anchoveta en el mar peruano 1950-1999. *Boletín IMARPE.* Vol 19, pp 117-123.
- Ñiquen M, Bouchon M (2004) Impact of El Niño events on pelagic fisheries in Peruvian waters. *Deep sea research part II: topical studies in oceanography,* Vol 51(6-9), pp 563-574.



Pauly D (1987) The Peruvian anchoveta and its upwelling ecosystem: three decades of change *WorldFish*. Vol 15.

Pannell JR, Charlesworth B (1999) Neutral genetic diversity in a metapopulation with recurrent local extinction and recolonization. *Evolution*. Vol 53(3), pp 664-676.

Reed DH, Frankham R (2003) Correlation between fitness and genetic diversity. *Conservation biology*. Vol 17(1), pp 230-237.

Rein B, Lückge A, Reinhardt L, Sirocko F, Wolf A, Dullo WC (2005) El Niño variability off Peru during the last 20,000 years. *Paleoceanography*. Vol 20(4).

Rogers AR, Harpending H (1992) Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Molecular biology and evolution*. Vol 9(3), pp 552-569.

Rojas DE (2011) Evaluación de marcadores moleculares Itps y Strs heterólogos en la anchoveta peruana *Engraulis Ringens* para estudios poblacionales. Tesis de pregrado. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Silva G, Horne JB, Castilho R (2014) Anchovies go north and west without losing diversity: Post-glacial range expansions in a small pelagic fish. *Journal of Biogeography*. Vol 41(6), pp 1171-1182.

Silva G, Cunha RL, Ramos A, Castilho R (2017). Wandering behaviour prevents inter and intra oceanic speciation in a coastal pelagic fish. *Scientific reports*, 7(1), 1-12.

Slatkin M, Hudson RR (1991) Pairwise comparisons of mitochondrial DNA sequences in stable and exponentially growing populations. *Genetics*. Vol 129(2), pp 555-562.

Schwartzlose RA, Alheit J (1999) Worldwide large-scale fluctuations of sardine and anchovy populations. *African Journal of Marine Science*. Vol 21.

Tajima F (1989) Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*. Vol 123, pp 585-595.

Tudela S, Garcia-Marin JL, Pla C (1999). Genetic structure of the European anchovy, *Engraulis encrasicolus* L., in the north-west Mediterranean. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 234(1), 95-109.

Waples RS (1987). A multispecies approach to the analysis of gene flow in marine shore fishes. *Evolution*, 41(2), 385-400