

## Приложение 1

К статье О.В. Ваулина, Ю.М. Новикова «Филогенетические связи между палеоарктическими видами *Anopheles* комплекса *maculipennis* (Diptera: Culicidae), установленные при использовании разных методов. Проблема консенсуса»

### Дополнительные материалы 1

#### Материалы и методы

В качестве материала использовали ДНК, выделенную из личинок *Anopheles* третьей и четвертой стадий развития, относящихся к видам *An. messeae* A и B, *An. beklemishevi*, *An. maculipennis* и *An. atroparvus*. Секвенирование фрагмента гена COI (субъединица I цитохромоксидазы) проведено, как описано ранее (Ваулин, Новиков, 2012). Праймеры для ПЦР варибельного участка D2 28S рДНК подобраны на основе праймеров, использованных Porter, Collins (1996), и последовательности 28S рДНК *An. gambiae* [EMBL: KC177663]. Прямой и обратный праймеры, соответственно, имели структуру 5'-GGAGT-CGTGT-TGCTT-GATAG-TGCAG-3' и 5'-TTCTT-GGTCC-GTGTT-TCAAG-ACGGG-3'. Температурный режим ПЦР: денатурация при 94 °С – 1 мин; отжиг при 60 °С – 1 мин; полимеризация при 72 °С – 1 мин; в последнем цикле стадия полимеризации продолжалась 5 мин при 72 °С. Состав реакционной смеси для ПЦР: 1 × PCR-buffer (16 mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 67 mM трисHCl (pH = 8,8 при 25 °С), 0,1 % Tween-20); 4 mM MgCl<sub>2</sub>; 0,4 mM каждого dNTP; 1 mM каждого праймера и 1 ед. Taq-полимеразы.

Секвенирование проводили непосредственно с ПЦР-продукта, как с прямого, так и с обратного праймеров, используя ресурсы центра коллективного пользования СО РАН «Геномика» (Новосибирск, <http://sequest.niboch.nsc.ru>).

Для построения схем филогенеза и анализа разнообразия использовали последовательности ITS2, COI, варибельного участка D2 28S рДНК и фрагмента митохондриального гена 16S рРНК. Их описание приведено в Доп. материалах 2 (табл. 1). В анализ вовлечено 66 последовательностей, из которых 10 просеквенированы нами непосредственно для целей настоящей работы.

Последовательности выравнивали с помощью программы ClustalW или ее улучшенной версии Clustal Omega (Higgins et al., 1996; Sievers et al., 2011). Анализ последовательностей и филогенетические построения проведены с помощью программы MEGA5 (Tamura et al., 2001).

Филогенетические деревья построены на основе нескольких алгоритмов: Neighbor-joining (NJ), Minimum evolution (ME), Maximum parsimony (MP) и Maximum likelihood (ML). Длины ветвей оценивали с помощью трехпараметрических дистанций Tamura (1992).

Авторами настоящего обзора построены схемы по сиквенсам генов 16S рРНК, COI, участков ITS2 и D2 рДНК. В работе обсуждены схемы, созданные другими исследователями на основе результатов гибридизации видов, исследования хромосомных инверсий, изоферментов, углеводов и ITS2 (Kitzmilller et al., 1967; White, 1978; Bianchi et al., 1980; Phillips, 1990; Стегний, 1991; Marinucci et al., 1999; Гордеев и др., 2004; Новиков и др., 2004; Djadid et al., 2007).

Консенсусная схема филогенетических связей палеоарктической группы видов по данным цитогенетики, географического распространения и экологии выполнена на основе опубликованных результатов по этой теме (Стегний, Кабанова, 1976; Стегний, 1991; Новиков, Шевченко, 2001).

#### Результаты

Построена дендрограмма по последовательности 16S рДНК для шести палеоарктических видов и *An. quadrimaculatus* A (Доп. материалы 2 (рис. 1)). Эта дендрограмма демонстрирует высокое сходство между фрагментами митохондриальных генов 16S рДНК *An. messeae* s.l. и *An. beklemishevi*, и соответственно, кластеризацию *An. beklemishevi* с палеоарктическими видами, но не с *An. quadrimaculatus* A.

На основе ITS2 с помощью различных алгоритмов (NJ, ME, MP, ML) мы построили дендрограммы, включающие в состав анализируемой группы кроме палеоарктических видов как все виды ветвей *freeborni* (*An. freeborni*, *An. hermsi*, *An. occidentalis*) и *An. quadrimaculatus* s.l., так и часть из них (Доп. материалы 3). Исключение части видов, с одной стороны, уменьшало потерю информации, обусловливаемую делециями и инсерциями, с другой – увеличивало ее вследствие снижения числа точек ветвления. При этом *An. beklemishevi* мог как кластеризоваться с палеоарктической ветвью, так и быть внешним по отношению к палеоарктическим видам и видам ветви *freeborni*.

Применение разных алгоритмов построения дендрограмм и исключение части видов из анализируемой совокупности оказывали существенное влияние на топологию схемы филогении палеоарктической группы видов. Так, если не учитывать *An. beklemishevi*, то первым от общей ветви отделился кластер *An. sacharovi*/*An. martinius*. *Anopheles persiensis* мог быть или молодым видом и при условии исключения части видов из анализируемой группы кластеризоваться с *An. messeae* s.l., или же отделиться от общего ствола после *An. sacharovi*/*An. martinius*. *Anopheles artemievi* мог занимать различные положения на дендрограмме: (1) дивергировать позже кластера *An. sacharovi*/*An. martinius* и вида *An. persiensis*, но раньше остальных палеоарктических видов; (2) позже или одновременно с кластером *An. atroparvus*/*An. labranchiae*; (3) кластеризоваться с *An. labranchiae*. *Anopheles melanoon* во всех случаях кластеризовался совместно с *An. maculipennis*.

Небольшая длина ITS2, достигающая у большинства изученных видов *maculipennis* примерно 400 п. н., и различия в топологии деревьев в случае применения разных методов построения дендрограмм указывают на то, что этот маркер для установления родственных связей между видами пригоден ограниченно.

В связи с неустойчивостью кластеризации *An. beklemishevi* мы построили дендрограммы по результатам сравнительного анализа последовательностей COI и варибельного участка D2 28S рДНК (Доп. материалы 2 (рис. 2 и 3)). В обоих случаях *An. beklemishevi* оказался ближе к палеоарктическим видам, чем к *An. quadrimaculatus* s.l. По последовательностям аминокислотных остатков, соответствующим последовательностям нуклеотидов гена COI, *An. beklemishevi* оказался идентичным большому ряду образцов *An. messeae* s.l. (Ваулин, Новиков, 2012), однако отличался одной–тремя заменами от *An. quadrimaculatus*. *Anopheles quadrimaculatus* оказался обособленным от всех видов, а *An. beklemishevi* был ближе к другим палеоарктическим видам, чем к *An. earlei*, на дендрограммах, построенных по COI на основе примененных алгоритмов NJ, ME, MP и ML. Таким образом, *An. beklemishevi* действительно не является членом кластера *An. quadrimaculatus* s.l.

Участок D2 28S рДНК, в отличие от ITS2, не имеет делеций/инсерций, а от гена COI отличается меньшей частотой нуклеотидных замен. Следовательно, его анализ не всегда позволит идентифицировать близкие виды, но снизит вероятность ошибок в топологии дендрограммы, обусловленных погрешностями выравнивания последовательностей или накоплением идентичных мутаций в разных группах. Так, на основе анализа D2 Porter, Collins (1996) выделили четыре вида внутри таксона *An. quadrimaculatus* s.l., в то время как Cornel с коллегами (1996), исследовав ITS2, обнаружили пять видов. Виды А и В *An. messeae* s.l. различаются пятью нуклеотидными позициями в ITS2 (Новиков и др., 2004) и, по данным настоящей работы, одной позицией по фрагменту D2.

Топология дендрограмм, построенных по фрагменту D2 28S рДНК с использованием разных алгоритмов, в отношении палеоарктической части комплекса была стабильной для всех видов, кроме *An. beklemishevi*. *Anopheles beklemishevi* и *An. earlei* кластеризовались либо с палеоарктической ветвью комплекса, либо с неарктической группой *freeborni* (*An. freeborni*, *An. aztecus*, *An. occidentalis*). Однако во всех случаях они были наиболее близки к видам палеоарктической ветви. Результаты анализа гена COI позволяют считать, что *An. beklemishevi* произошел от предковой формы раньше других палеоарктических видов, но позже, чем неарктический *An. earlei*, вместе с тем, данные по D2 не позволяют принять или опровергнуть эту точку зрения.

Так как палеоарктическая ветвь комплекса *maculipennis*, исключая *An. beklemishevi*, вероятнее всего, монофилетична, то кластеризация *An. beklemishevi* и *An. earlei* с *An. atroparvus*, *An. maculipennis* и *An. messeae* s.l. указывает на происхождение всех палеоарктических видов комплекса от предка, близкого к *An. earlei*. Это заключение согласуется с точкой зрения Kampen (2005), основанной на результатах анализа последовательности ITS2, по которой *An. beklemishevi* – наиболее рано дивергировавший вид единой палеоарктической ветви комплекса.

В соответствии с результатами цитогенетического и гибридологического анализа, палеоарктические виды комплекса дивергировали в меньшей степени, чем неарктические (Kitzmilller et al., 1967). Результаты анализа последовательностей D2 этому выводу соответствуют. Так, среднее значение генетических расстояний Kimura (1980) между палеоарктическими видами составило 0,021, среди неарктических заметно больше – 0,048, для неарктических представителей ветви *freeborni* эти расстояния в среднем составили 0,026 (Доп. материалы 2 (табл. 2)).

## Дополнительные материалы 2. Главные таблицы и дендрограммы

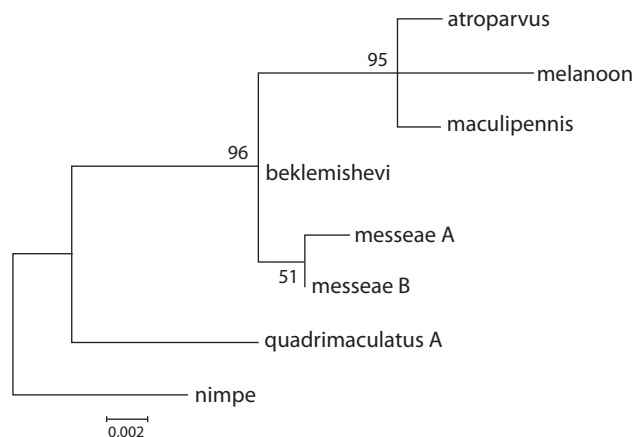
**Таблица 1.** Последовательности ДНК, использованные в работе

Происхождение, номер в базе данных EMBL	Видовая принадлежность	Участок ДНК	Длина участка, п. н.
AJ224329	Изначально описан как <i>An. martinus</i> , в статье обосновано, что это, по-видимому, <i>An. artemievi</i>	ITS2	419
AJ224330	<i>An. melanoon</i>	ITS2	432
AY137847	<i>An. persiensis</i>	ITS2	478
AJ849885	<i>An. martinus</i>	ITS2	447
AY593958	<i>An. beklemishevi</i>	ITS2	782
Z50102	<i>An. labranchiae</i>	ITS2	485
Z50103	<i>An. atroparvus</i>	ITS2	487
Z50104	<i>An. maculipennis</i>	ITS2	472
Z50105	<i>An. messeae</i> s.l.	ITS2	435
Z83198	<i>An. sacharovi</i>	ITS2	444
M64482	<i>An. occidentalis</i>	ITS2	444
M64483	<i>An. hermsi</i>	ITS2	443
M64484	<i>An. freeborni</i>	ITS2	448
U32550	<i>An. quadrimaculatus</i> A	ITS2	421
U32503	<i>An. quadrimaculatus</i> B	ITS2	463
U32504	<i>An. quadrimaculatus</i> C1	ITS2	452
U32505	<i>An. quadrimaculatus</i> C2	ITS2	440
U32506	<i>An. quadrimaculatus</i> D	ITS2	433
AF342716	<i>An. maculipennis</i>	COI	522; при вычете праймерной области – 480 п. н.
AY135698	<i>An. sacharovi</i>	COI	522; при вычете праймерной области – 480 п. н.
GU908002	<i>An. earlei</i>	COI	639
GU908031	<i>An. quadrimaculatus</i>	COI	639
GU908032	<i>An. quadrimaculatus</i>	COI	639
GU908033	<i>An. quadrimaculatus</i>	COI	639
GU908034	<i>An. quadrimaculatus</i>	COI	639
GU908035	<i>An. quadrimaculatus</i>	COI	639
GU908036	<i>An. quadrimaculatus</i>	COI	639
GU908037	<i>An. quadrimaculatus</i>	COI	639
GU908038	<i>An. quadrimaculatus</i>	COI	639
GU908039	<i>An. quadrimaculatus</i>	COI	639
GU908040	<i>An. quadrimaculatus</i>	COI	639
GU908041	<i>An. quadrimaculatus</i>	COI	639
HE659577	<i>An. beklemishevi</i>	COI	767
HE659586	<i>An. messeae</i> A ( <i>An. daciae</i> )	COI	767
HE659650	<i>An. messeae</i> A ( <i>An. daciae</i> )	COI	767
HQ860402	<i>An. labranchiae</i>	COI	658
<b>LK054514</b>	<i>An. maculipennis</i>	COI	767
<b>LK054515</b>	<i>An. atroparvus</i>	COI	767
L78466	<i>An. aztecus</i>	D2 28S rDNA	601
L78469	<i>An. breadleyi</i>	D2 28S rDNA	600

## Окончание табл. 1

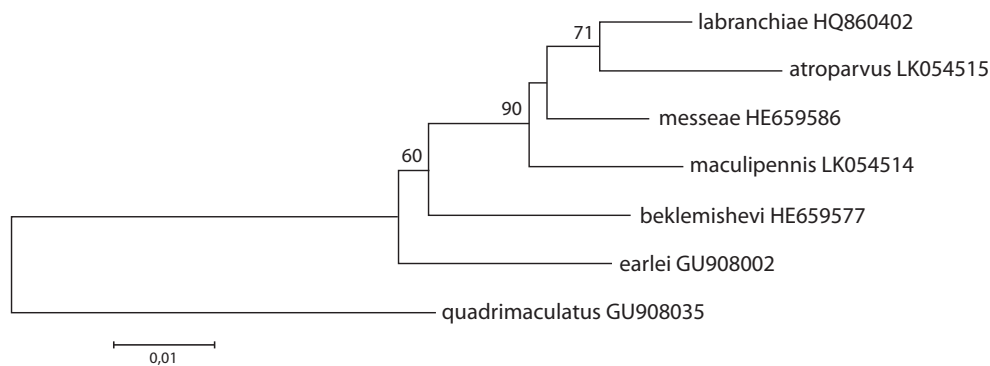
Происхождение, номер в базе данных EMBL	Видовая принадлежность	Участок ДНК	Длина участка, п. н.
L78470	<i>An. earlei</i>	D2 28S rDNA	601
L78471	<i>An. freeborni</i>	D2 28S rDNA	601
L78472	<i>An. occidentalis</i>	D2 28S rDNA	600
L78473	<i>An. punctipennis</i> E	D2 28S rDNA	600
L78474	<i>An. punctipennis</i> W	D2 28S rDNA	600
L78475	<i>An. quadrimaculatus</i> A	D2 28S rDNA	599
L78476	<i>An. quadrimaculatus</i> B	D2 28S rDNA	599
L78477	<i>An. quadrimaculatus</i> C	D2 28S rDNA	599
L78478	<i>An. quadrimaculatus</i> D	D2 28S rDNA	602
L78479	<i>An. walkeri</i>	D2 28S rDNA	603
<b>LK054516</b>	<i>An. beklemishevi</i>	D2 28S rDNA	556
<b>LK054517</b>	<i>An. beklemishevi</i>	D2 28S rDNA	556
<b>LK054518</b>	<i>An. messeae</i> A ( <i>An. daciae</i> )	D2 28S rDNA	556
<b>LK054519</b>	<i>An. messeae</i> B	D2 28S rDNA	556
<b>LK054520</b>	<i>An. messeae</i> A ( <i>An. daciae</i> )	D2 28S rDNA	556
<b>LK054521</b>	<i>An. messeae</i> B	D2 28S rDNA	556
<b>LK054522</b>	<i>An. maculipennis</i>	D2 28S rDNA	556
<b>LK054523</b>	<i>An. atroparvus</i>	D2 28S rDNA	556
Опубликовано в работе (Новиков и др., 2004)	<i>An. messeae</i> A	16S	432
Опубликовано в работе (Новиков и др., 2004)	<i>An. messeae</i> B	16S	432
Опубликовано в работе (Новиков и др., 2004)	<i>An. beklemishevi</i>	16S	432
Опубликовано в работе (Новиков и др., 2004)	<i>An. atroparvus</i>	16S	432
Опубликовано в работе (Новиков и др., 2004)	<i>An. melanoon</i>	16S	432
Опубликовано в работе (Новиков и др., 2004)	<i>An. maculipennis</i>	16S	432
NC_000875	<i>An. quadrimaculatus</i> A	16S	15455; полный митохондриальный геном
AF216284	<i>An. nimpe</i>	16S	504

Примечание. Жирным шрифтом выделены 10 последовательностей, изученных непосредственно для настоящей работы.



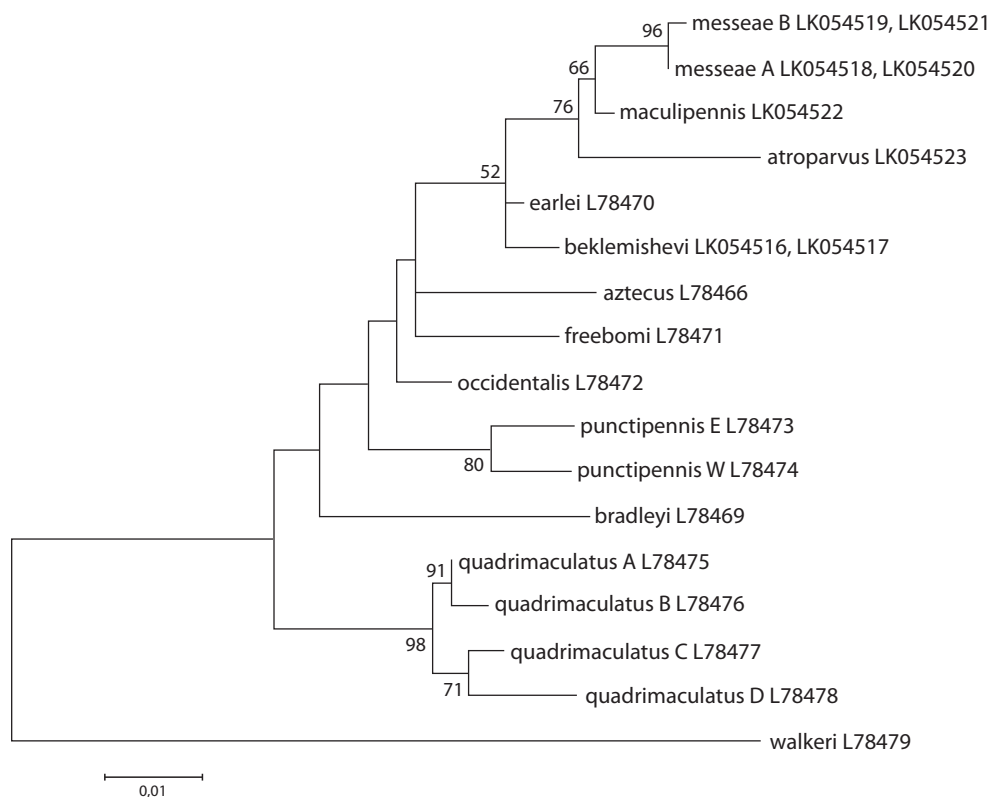
**Рис. 1.** Дерево максимального правдоподобия, построенное для шести палеоарктических видов комплекса *maculipennis* и вида *An. quadrimaculatus* A [EMBL: NC\_000875], основанное на последовательности фрагмента гена 16S рРНК.

Последовательность *An. nimpe* [EMBL: AF216284] была использована для укоренения. Последовательности палеоарктических видов взяты из статьи Новикова с коллегами (2004). Приведены значения бутстрэпа, в процентах (проведено 1000 итераций).



**Рис. 2.** Дерево максимального правдоподобия для семи таксонов комплекса *maculipennis*, основанное на последовательности фрагмента ДНК гена COI (610 п. н.).

Приведены значения бутстрепа в процентах в тех случаях, когда они превышают 50 % (проведено 1000 итераций).



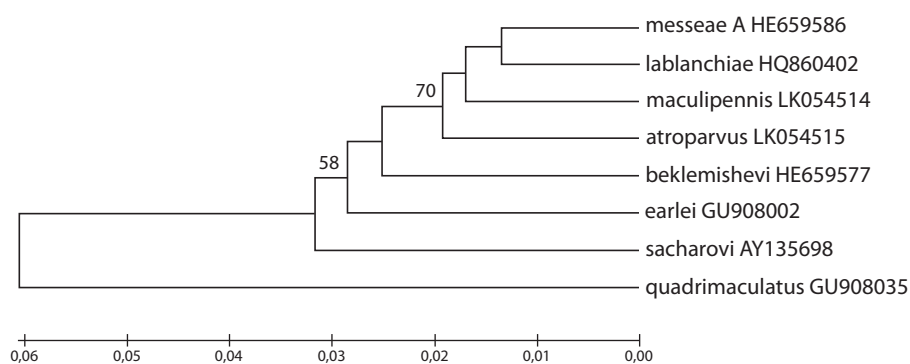
**Рис. 3.** Дерево максимального правдоподобия части видов комплекса *maculipennis*, основанное на последовательностях переменного участка D2 28S рДНК.

Приведены значения бутстрепа в процентах в тех случаях, когда они превышают 50 % (проведено 1000 итераций).

**Таблица 2.** Расстояния Kimura (1980) для последовательности D2 28S рДНК видов голарктического комплекса *Anopheles maculipennis*

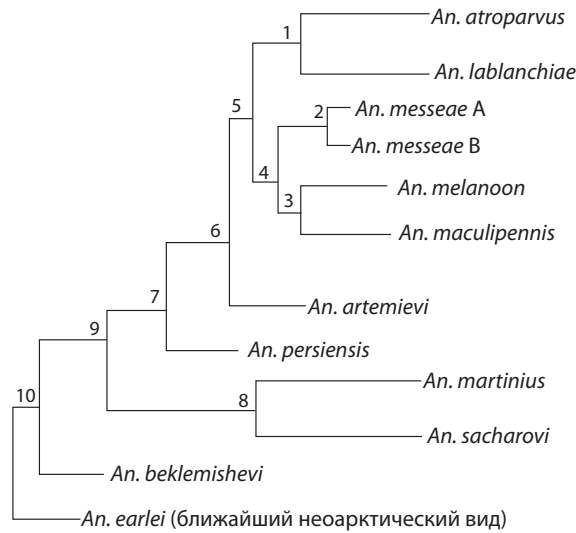
	aztekus	freeborni	occidentalis	earlei	beklemishevi	messeae A	messeae B	atroparvus	maculipennis	punctipennis E	punctipennis W	quadrimaculatus A	quadrimaculatus B	quadrimaculatus C	quadrimaculatus D	
freeborni	0,035															
occidentalis	0,028	0,022														
earlei	0,026	0,026	0,018													
beklemishevi	0,031	0,029	0,022	0,005												
messeae A	0,041	0,041	0,028	0,020	0,024											
messeae B	0,039	0,043	0,029	0,022	0,026	0,002										
atroparvus	0,045	0,051	0,037	0,031	0,035	0,030	0,028									
maculipennis	0,035	0,035	0,022	0,016	0,020	0,011	0,009	0,022								
punctipennis E	0,043	0,033	0,033	0,039	0,035	0,043	0,045	0,051	0,037							
punctipennis W	0,047	0,033	0,029	0,031	0,031	0,035	0,037	0,049	0,029	0,018						
quadrimaculatus A	0,047	0,045	0,035	0,033	0,037	0,039	0,041	0,051	0,035	0,045	0,039					
quadrimaculatus B	0,051	0,049	0,039	0,037	0,041	0,043	0,045	0,055	0,039	0,049	0,043	0,004				
quadrimaculatus C	0,049	0,051	0,041	0,039	0,043	0,045	0,043	0,053	0,037	0,051	0,045	0,009	0,013			
quadrimaculatus D	0,056	0,052	0,045	0,043	0,047	0,049	0,051	0,060	0,045	0,052	0,047	0,016	0,020	0,015		
bradleyi	0,062	0,049	0,047	0,052	0,052	0,058	0,060	0,068	0,054	0,045	0,050	0,054	0,056	0,060	0,062	

Примечание. Светло-серым цветом выделены расстояния внутри ветви freeborni, темно-серым – среди других неоарктических видов, голубым – внутри палеоарктической ветви, включая *An. beklemishevi*.



**Рис. 4.** Древо, построенное для участка гена COI протяженностью 459 п. н. методом UPGMA.

Приведены значения бутстрепа в процентах в тех случаях, когда они превышают 50 % (проведено 1000 итераций). Древо отображает относительную степень дивергенции образцов, но не их филогенетические отношения.

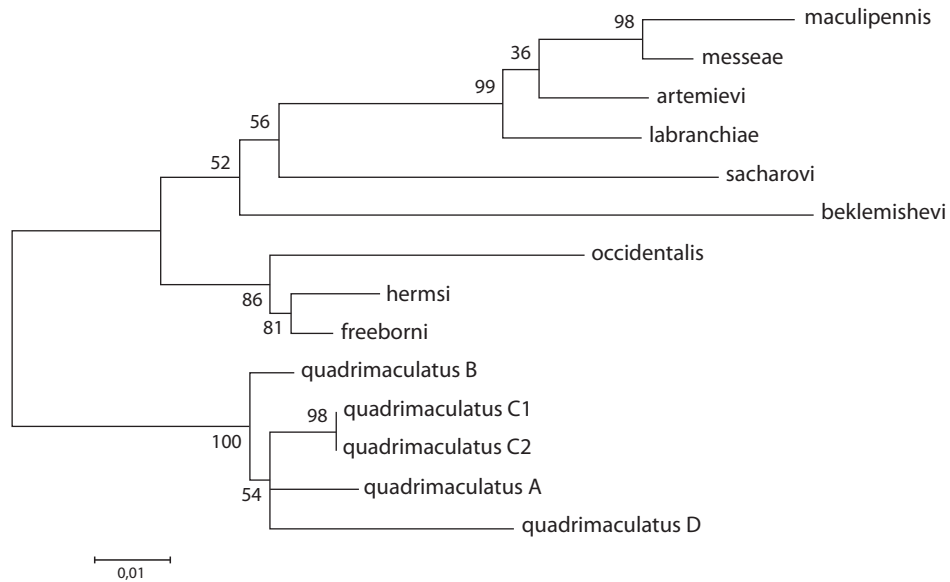


**Рис. 5.** Консенсусная филогенетическая схема палеоарктической части комплекса видов малярийных комаров *Anopheles maculipennis*, построенная с акцентом на молекулярно-генетические данные. Числами обозначены узлы ветвления. Ниже приводится обоснование существования каждого из узлов и аргументы против такой кластеризации.

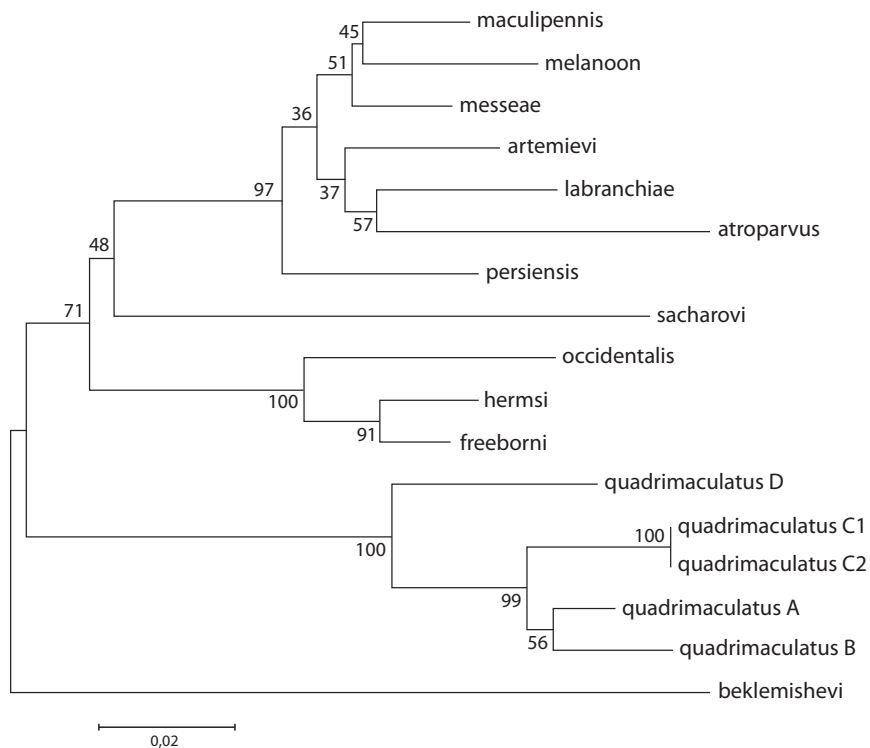
1. Виды *An. atroparvus* и *An. labranchiae* гомосексентны и имеют очень слабую межвидовую изоляцию в лабораторных условиях. Существование этого кластера подтверждается так же данными изоферментного анализа. Наши данные по COI также указывают на возможность построения дендрограммы, объединяющей два этих вида в один кластер (Доп. материалы 2 (рис. 2), бутстреп-поддержка 71 %). Этот кластер поддерживается дендрограммами, построенными по ITS2 Marinucci с коллегами (1999) (бутстреп-поддержка 94–99 %), Новиков с коллегами (2004) (бутстреп-поддержка 77 %) а также частью наших дендрограмм по этой последовательности с бутстреп-поддержкой 57–75 %; в ряде случаев этот кластер не поддерживается (см. Доп. материалы 3).
2. Пара видов *An. messeae* s.l. имеют перекрывающиеся хромосомные полиморфизмы. Виды неотличимы по последовательности COI, образуют единый кластер по последовательности 16S (Доп. материалы 2 (рис. 1), бутстреп-поддержка 51 %) ITS2 (Новиков и др., 2004, бутстреп-поддержка 100 %) и D2 (Доп. материалы 2 (рис. 3), бутстреп-поддержка 96 %).
3. Пара видов *An. maculipennis* и *An. melanoon*. Виды гомосексентны. Обладают меньшей способностью к скрещиванию между собой по сравнению с парой видов *An. atroparvus* и *An. labranchiae*. Образуют единый кластер на дендрограммах по ITS2 Marinucci с коллегами (1999) (дендрограмма максимального правдоподобия, без указания бутстрепа), Новиков с коллегами, (2004) (бутстреп-поддержка 53 %) а также на части дендрограмм, приведенных здесь (Доп. материалы 3, поддержка 34–68 %).
4. Кластер поддерживается данными по гибридизации: вид *An. melanoon* обладает сравнимой способностью скрещиваться с *An. messeae* s.l. и *An. maculipennis*. Этот кластер поддерживается цитогенетическими данными (Стегний, 1991) и данными по анализу изоферментов, данными по ITS2 Marinucci с коллегами (1999) (бутстреп-поддержка 60–100 %), Новиков с коллегами (2004) (бутстреп-поддержка 68%). По приведенным в Доп. материалах 3 дендрограммам бутстреп-поддержка этой ветви составляет 36–98 %. По нашему построению по D2 (Доп. материалы 2 (рис. 3), бутстреп-поддержка 66 %). По последовательности 16S – пара видов *An. melanoon* и *An. maculipennis* кластеризуется не с *An. messeae* s.l., а с *An. atroparvus* (Доп. материалы 2 (рис. 1), бутстреп-поддержка 95 %).
5. Кластер поддерживается изоферментными данными Bianchi et al (1980), данными по ITS2 Marinucci et al. (1999) (бутстреп-поддержка 71–91 %), Новиков и др. (2004) (бутстреп-поддержка 56 %), некоторыми нашими дендрограммами (Доп. материалы 3), с бутстреп-поддержкой 87–100%, а также нашими данными по D2 (Доп. материалы 2 (рис. 3), бутстреп-поддержка 76 %).
6. Положение *An. artemievi* как вида, дивергировавшего ранее кластера *An. atroparvus*/*An. labranchiae*, следует из работы Marinucci с коллегами, (1999) (там этот вид фигурировал под названием *An. martinus*; бутстреп-поддержка 93–100 %), а так же двумя из наших дендрограмм по ITS2 (Доп. материалы 3, бутстреп-поддержка 59 и 100 %). В то же время этот вид гомосексентен *An. maculipennis* и *An. melanoon*. Этот вид сближается с *An. martinus* и *An. sacharovi* по характерной внешней структуре яйца.
7. Для вида *An. persiensis* существуют только данные по последовательности ITS2. Расположение этого вида на дендрограммах варьируется в зависимости от алгоритма построения и наличия других видов. Ряд дендрограмм (Доп. материалы 3, бутстреп-поддержка 36–59 %) предполагает размещение данного вида на приведенном на настоящей схеме месте. Географически этот вид обитает вблизи мест обитания *An. sacharovi*, *An. martinus* и *An. artemievi*, что позволяет предполагать, что размещение *An. persiensis* на дендрограмме вблизи этих трех видов вероятно.
8. Виды *An. sacharovi* и *An. martinus* сходны цитогенетически и отличаются единичной хромосомной перестройкой от пары гомосексентных видов *An. atroparvus* и *An. labranchiae*. По данным изоферментного анализа, *An. sacharovi* является внешним видом по отношению к группе видов, обозначенной на данной схеме под номером «5» (Bianchi, 1980). По нашим построениям по ITS2, эти два вида образуют кластер с бутстреп-поддержкой 98–100 % (Доп. материалы 3).
9. Виды этой группы резко отличаются от более далеких родственников цитогенетически (Kitzmilller et al., 1967; White, 1967). По данным, полученным по ITS2 (Kampren, 2005), по нашим данным (Доп. материалы 3) – так же наблюдается такое разделение (бутстреп-поддержка для этих двух случаев составила 92–100%, 48–100 %).
10. *An. beklemishevi* рассматривается White (1978) как рано дивергировавший вид палеоарктической ветви, близкий к неоарктическому *An. earlei*. Эта точка зрения поддерживается данными по ITS2, полученными Kampren (2005) (бутстреп-поддержка 100 %). По нашим данным по последовательностям 16S и COI этот вид действительно близок к другим палеоарктическим видам (Доп. материалы 2 (рис. 1, 2); бутстреп-поддержка составила 96 % и 60 % соответственно). По последовательности D2 этот вид может кластеризоваться вместе с *An. earlei* и палеоарктическими видами (Доп. материалы 2 (рис. 3)) или же – с видами ветви freeborni. В то же время этот вид отличается от палеоарктических большим набором инверсий и по последовательности ITS2 может как кластеризоваться с палеоарктическими видами, так и быть внешним по отношению к палеоарктическим видам и ветви freeborni.

### Дополнительные материалы 3. Дендрограммы по последовательностям ITS2

Коллекция дендрограмм, построенных по последовательности ITS2 для разных комбинаций видов комплекса, – как палеоарктических, так и палеоарктических и неарктических. Все дендрограммы построены при использовании 3-параметрического критерия Тамуга и 1000 итераций бутстрепа.

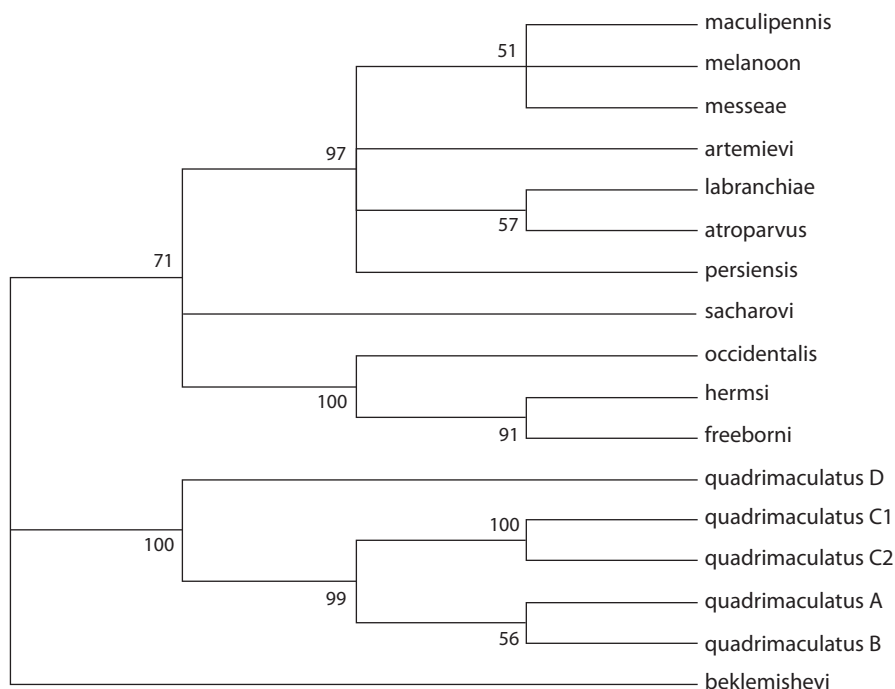


**Рис 1.** Древо максимального правдоподобия, построенное для видов голарктического комплекса *maculipennis* при исключении из анализа делеций.

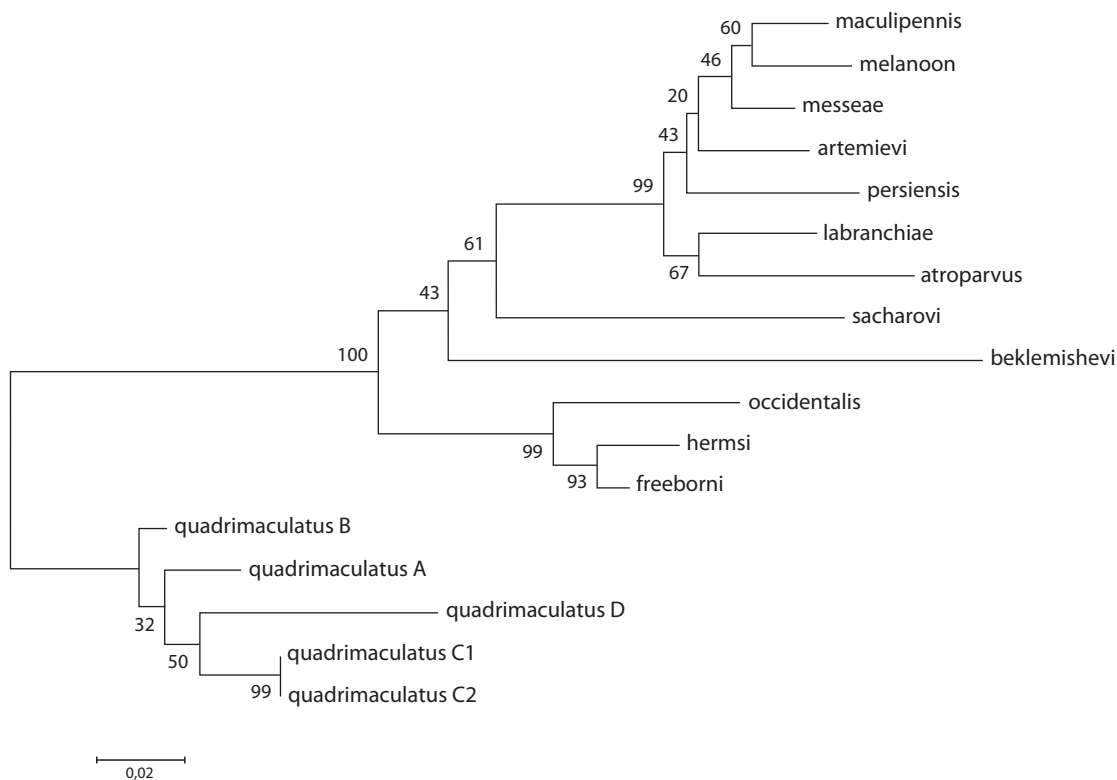


**Рис 2.** Древо максимального правдоподобия, построенное для видов голарктического комплекса *maculipennis* при попарном анализе делеций.

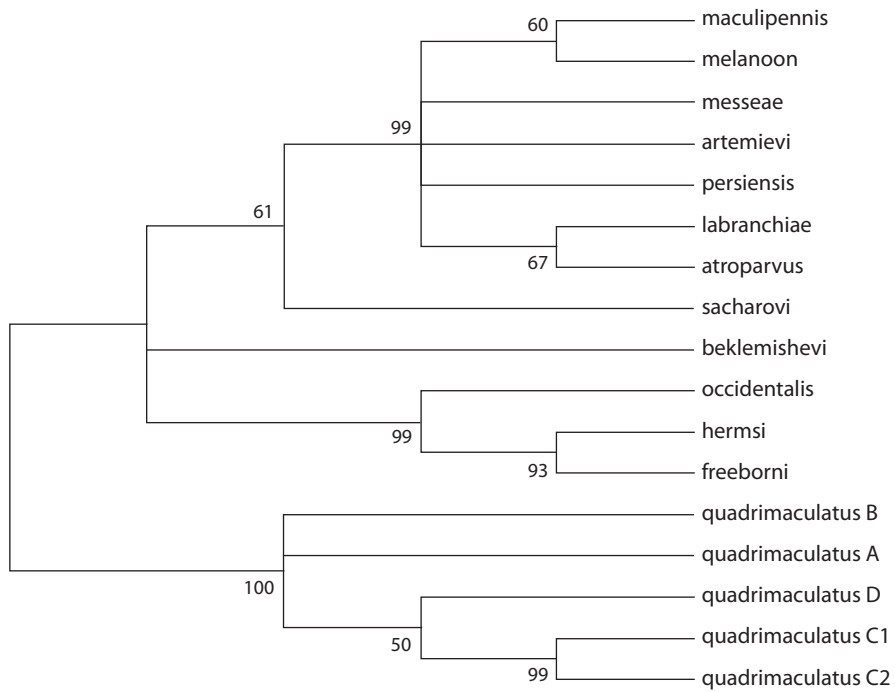




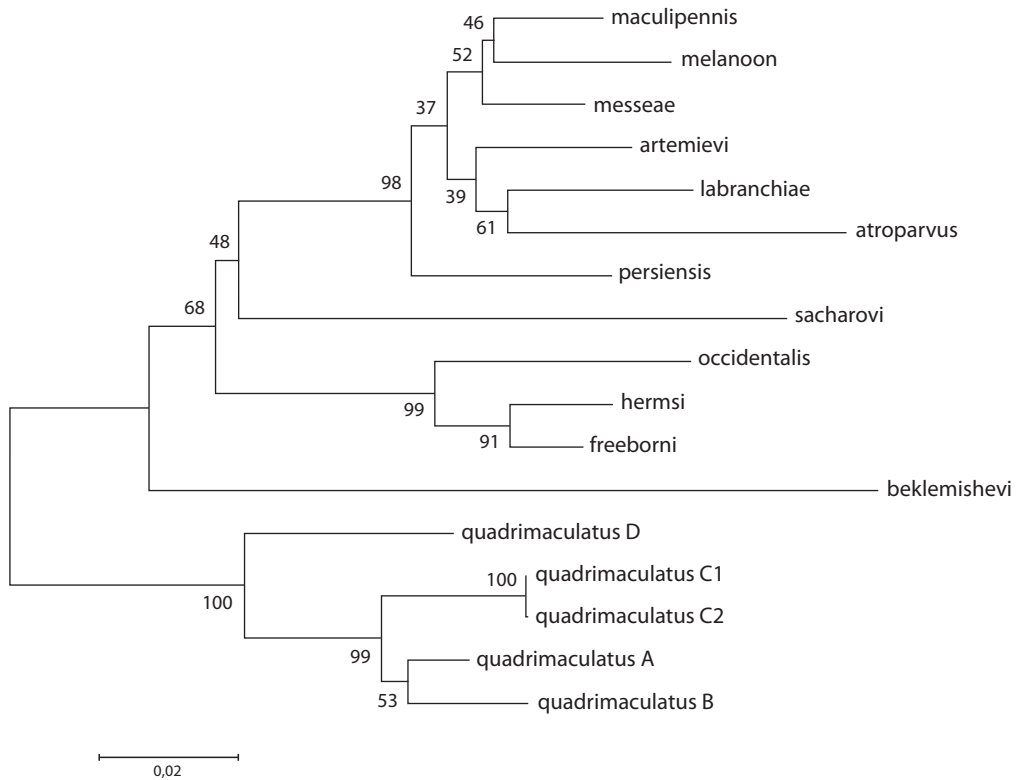
**Рис. 3.** Древо максимального правдоподобия, построенное для видов голарктического комплекса *maculipennis* при попарном анализе делеций. Удалены ветви с бутстреп-поддержкой менее 50 %.



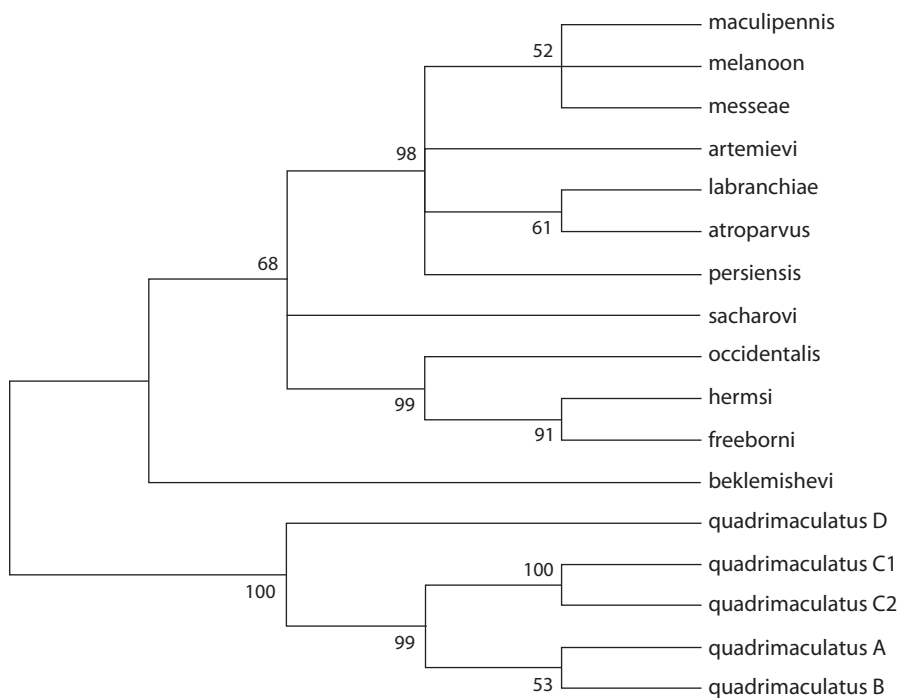
**Рис. 4.** Древо максимального правдоподобия, построенное для видов голарктического комплекса *maculipennis* при учете всех сайтов.



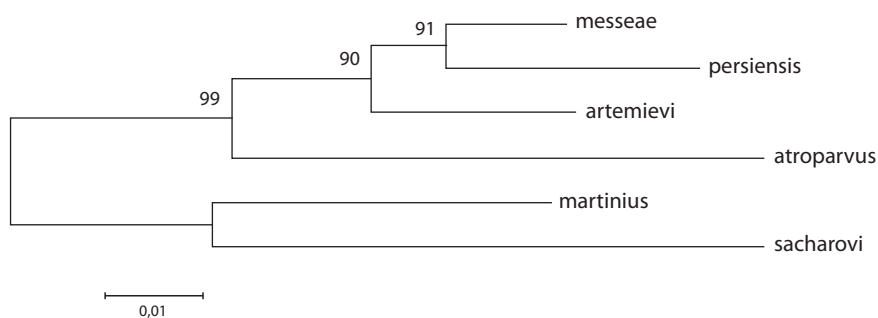
**Рис. 5.** Древо максимального правдоподобия, построенное для видов голарктического комплекса *maculipennis* при учете всех сайтов. Удалены ветви с бутстреп-поддержкой менее 50 %.



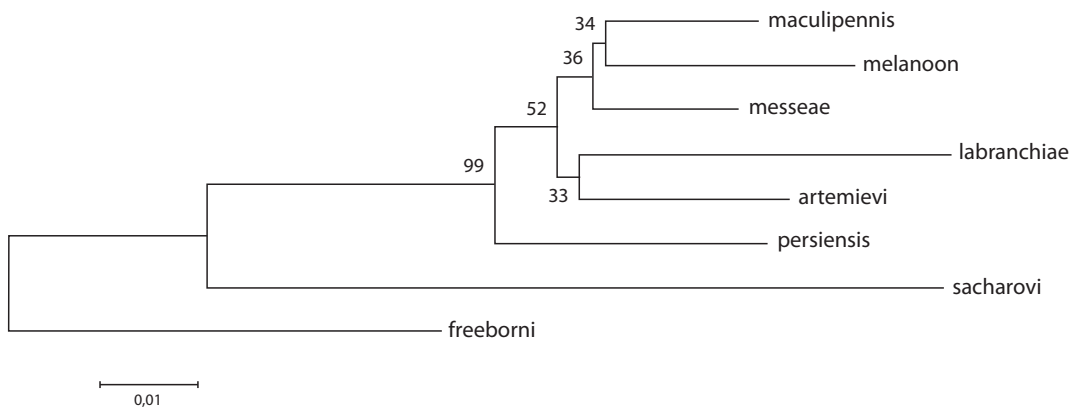
**Рис. 6.** Древо минимальной эволюции, построенное для видов голарктического комплекса *maculipennis* при учете всех сайтов.



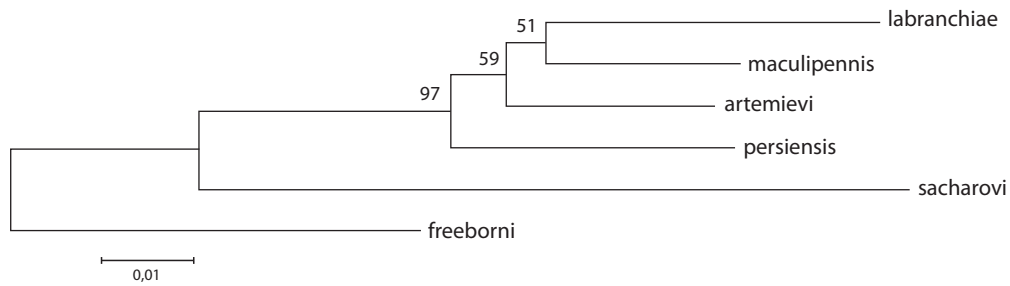
**Рис. 7.** Древо минимальной эволюции, построенное для видов голарктического комплекса *maculipennis* при учете всех сайтов. Удалены ветви с бутстреп-поддержкой менее 50 %.



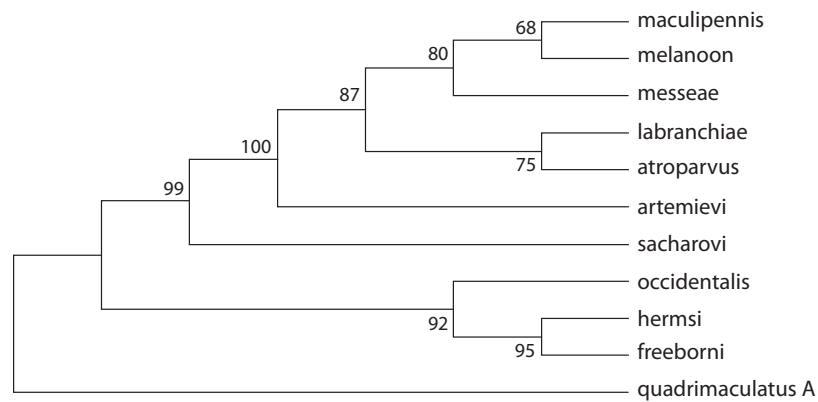
**Рис. 8.** Древо ближайших соседей, построенное для палеоарктических видов комплекса *maculipennis* при попарном сравнении делеций.



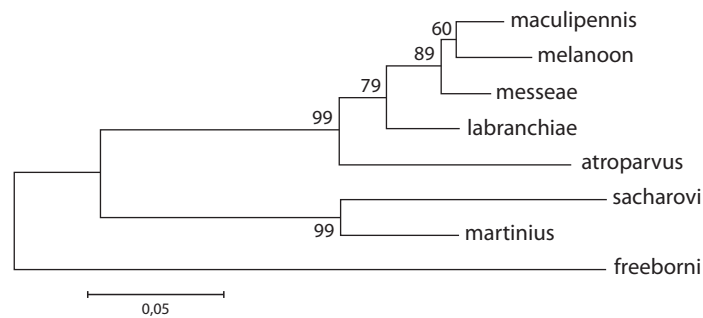
**Рис. 9.** Древо ближайших соседей, построенное для палеоарктических видов комплекса *maculipennis* при попарном сравнении делеций.



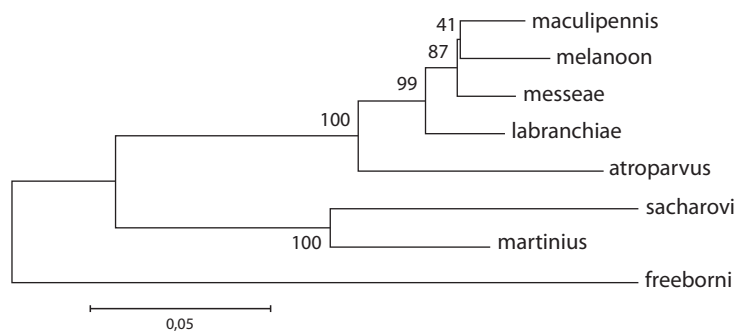
**Рис. 10.** Древо ближайших соседей, построенное для палеоарктических видов комплекса *maculipennis* при попарном сравнении делеций.



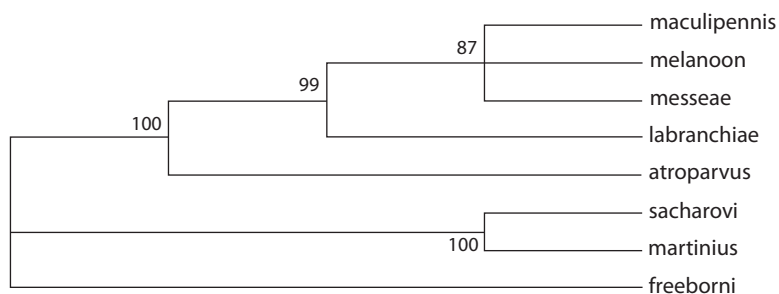
**Рис. 11.** Древо максимальной экономии, построенное для видов голарктического комплекса *maculipennis* при исключении делеций.



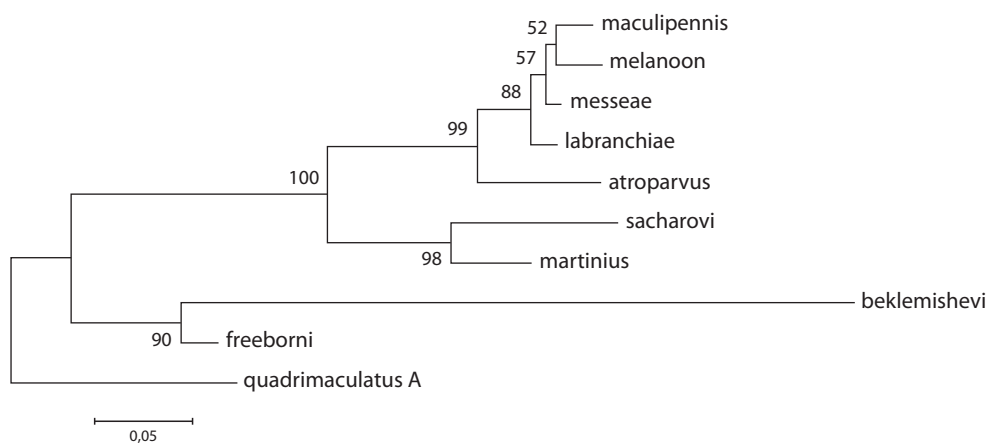
**Рис. 12.** Древо максимального правдоподобия, построенное для видов голарктического комплекса *maculipennis* при учете всех сайтов.



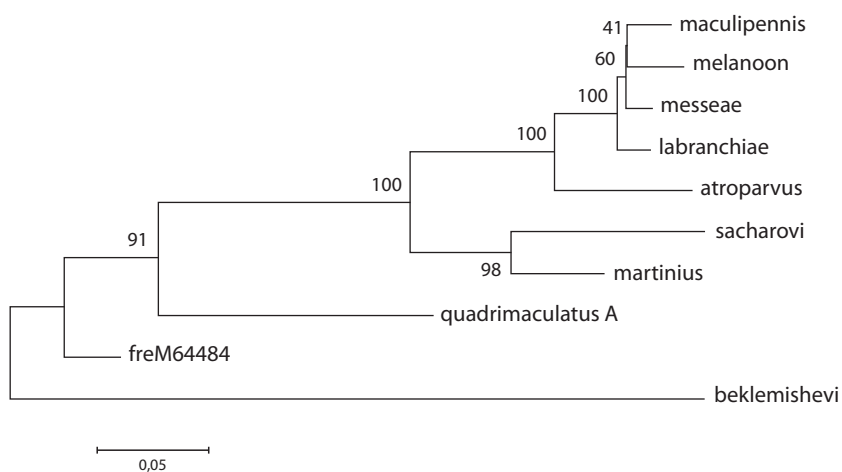
**Рис. 13.** Древо ближайших соседей, построенное для видов голарктического комплекса *maculipennis* при исключении из анализа делеций.



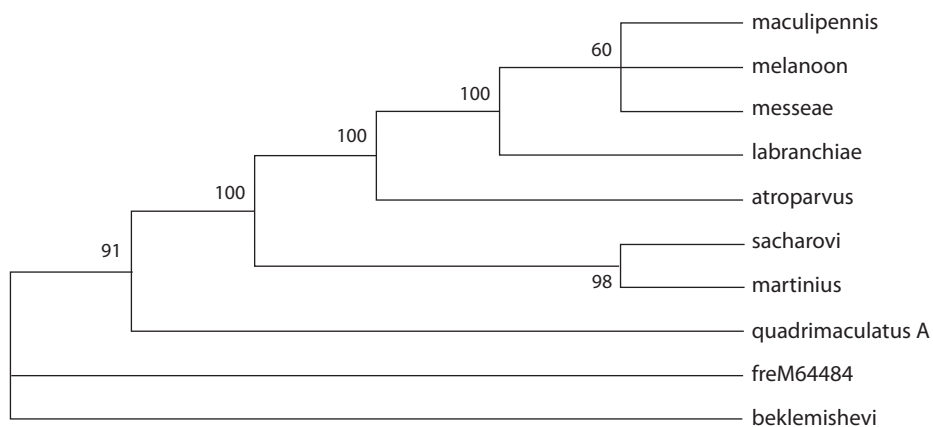
**Рис. 13.** Древо ближайших соседей, построенное для видов голарктического комплекса *maculipennis* при исключении из анализа делеций. Удалены ветви с бутстреп-поддержкой менее 50 %.



**Рис. 14.** Древо максимального правдоподобия, построенное для видов голарктического комплекса *maculipennis* при исключении делеций.



**Рис. 15.** Древо минимальной эволюции, построенное для видов голарктического комплекса *maculipennis* при учете всех сайтов.



**Рис. 16.** Древо минимальной эволюции, построенное для видов голарктического комплекса *maculipennis* при учете всех сайтов. Удалены ветви с бутстреп-поддержкой менее 50 %.