

University of Nebraska - Lincoln

DigitalCommons@University of Nebraska - Lincoln

---

Erforschung biologischer Ressourcen der  
Mongolei / Exploration into the Biological  
Resources of Mongolia, ISSN 0440-1298

Institut für Biologie der Martin-Luther-  
Universität Halle-Wittenberg

2021

## Zur molekularen Klassifizierung der mongolischen Kormorane *Phalacrocorax carbo* (Linnaeus, 1758)

Lucie Marie Baltz

Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, lucie.baltz@villa-flora-bingen.de

Michael Stubbe

Martin-Luther-Universität

Davaa Lchagvasuren

National University of Mongolia, d.lkhagvasuren@num.edu

Lara-Sophie Dey

Centrum für Naturkunde, laradey95@gmail.com

Follow this and additional works at: <https://digitalcommons.unl.edu/biolmongol>



Part of the Asian Studies Commons, Biodiversity Commons, Environmental Sciences Commons, Nature and Society Relations Commons, and the Other Animal Sciences Commons

---

Baltz, Lucie Marie; Stubbe, Michael; Lchagvasuren, Davaa; and Dey, Lara-Sophie, "Zur molekularen Klassifizierung der mongolischen Kormorane *Phalacrocorax carbo* (Linnaeus, 1758)" (2021). *Erforschung biologischer Ressourcen der Mongolei / Exploration into the Biological Resources of Mongolia*, ISSN 0440-1298. 257.

<https://digitalcommons.unl.edu/biolmongol/257>

This Article is brought to you for free and open access by the Institut für Biologie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg at DigitalCommons@University of Nebraska - Lincoln. It has been accepted for inclusion in *Erforschung biologischer Ressourcen der Mongolei / Exploration into the Biological Resources of Mongolia*, ISSN 0440-1298 by an authorized administrator of DigitalCommons@University of Nebraska - Lincoln.

## Zur molekularen Klassifizierung der mongolischen Kormorane *Phalacrocorax carbo* (Linnaeus, 1758)<sup>1</sup>

L.M. Baltz, M. Stubbe, D. Lkhagvasuren & L.-S. Dey

### Abstract

The cormorant *Phalacrocorax carbo* (Linnaeus, 1758) is a common breeding species at lake areas of Mongolia. Although molecular research has been conducted on many colonies worldwide, no studies of the genetic diversity of Mongolian colonies are known to date. In this study, we sequence for the first time a fragment of cytochrome oxidase 1 (CO1) from ten individuals of the 2017 resident population at Telmen-nuur. Here we perform molecular identification and analyze it in the context of existing data from populations studied worldwide. A clear assignment to the species *P. carbo* could be shown, but no identification on subspecies level is possible due to the lack of meaningful markers.

**Key words:** Kormoran, *Phalacrocorax carbo*, Mongolei, DNA-Analyse, Cytochrom Oxidase 1

### 1. Einleitung

Diversitätserfassung mittels Nutzung Protein-codierender DNS-Sequenzen spielt seit über einem Jahrzehnt eine große Rolle in der modernen Wissenschaft. Hierbei werden besonders oft kurze mitochondriale Sequenzen verwendet, um Arten und Unterarten basierend auf Sequenzunterschieden und mit Hilfe einer Referenzdatenbank (NCBI, BOLD) unterscheiden zu können. Im Gegensatz zu nuklearer DNS, hat mitochondriale DNS einige Vorteile: sie besitzt keine nicht-kodierenden DNS-Abschnitte, sogenannte Introns und unterliegt keiner Rekombination, da sie nur maternal vererbt wird. Zudem wird ein durchgängiger Leserahmen (Open Reading Frame, ORF) seltener durch Stopcodons unterbrochen, da Mutationen durch Insertionen oder Deletionen deutlich seltener sind. Gegenwärtig werden besonders häufig Genfragmente der Cytochrom Oxidase 1 (CO1) zur Differenzierung verwendet, da dieses Gen eine besonders hohe interspezifische Diversität, doch intraspezifische Spezifität aufweist. Durch die beinahe schnelle Mutation mitochondrialer Genfragmente lassen sich somit sowohl einzelne Spezies als auch phylogeographische Gruppen innerhalb einer Art (Unterarten) unterscheiden (HEBERT et al. 2003).

Während der Mongolisch-Deutschen Biologischen Expedition 2017 wurden einige genetische Proben der am Telmen-nuur vorkommenden Kormoran-Population gesammelt, um die morphologischen Ergebnisse mit Hilfe molekularer Methoden verifizieren zu können und die Hypothese, dass die Unterarten der Spezies *Phalacrocorax carbo* (Linnaeus, 1758) geographisch separiert vorkommen, zu untersuchen.

### 2. Material und Methoden

Am Telmen-nuur wurden Federn von Nestlingen für die genetische Analyse entnommen. DNS von zehn Federn wurde mit einem DNeasy Kit (Qiagen; Hilden, Deutschland) extrahiert. Die Polymerasekettenreaktion (PCR) zum Vervielfältigen des gewünschten DNS-Fragments wurde mit dem Vorwärtsprimer BirdF1 (HEBERT et al. 2004) und dem Rückwärtsprimer VertebrateR1 (KERR et al. 2007) durchgeführt, wodurch ein Abschnitt der Cytochrom Oxidase 1 amplifiziert wurde. Für die PCR wurden 5,8 µl gereinigtes Wasser, 2 µl 10x PCR-Puffer, 0,1 µl Magnesiumchlorid (50mM), jeweils 0,4 µl Primer (10 µM), 0,2 µl dNTP-Mix (10mM) und 0,1 µl TAQ-Polymerase (5 Einheiten/µl) zu 1 µl DNS hinzugefügt. Folgendes Protokoll wurde zur Vervielfältigung

---

<sup>1</sup> Ergebnisse der Mongolisch-Deutschen Biologischen Expeditionen seit 1962, Nr. 358.

des untersuchten Genabschnitts verwendet: anfängliche Denaturierung bei 94 °C für 3 min, gefolgt von 36 Amplifikationszyklen, bestehend aus einem Denaturierungsschritt bei 94°C für 30 s, der Bindung von Primern an die DNS (Annealing) bei 51°C für 45 s und der vom Primer ausgehenden Verlängerung der COI-Amplifikate bei 72 °C für 1 min. Der letzte PCR Schritt zur Fertigstellung begonnener COI-Amplifikate wurde für 8 min bei 72 °C durchgeführt.

Danach wurden die PCR-Produkte (amplifizierte COI-Sequenzen) nach dem Protokoll von WERLE et al. (1994) gereinigt: Zu 5 µl PCR-Produkt wurde 0,5 µl ExoSap und 1 µl Fast-AP (ThermoFischer, Schwerte, Deutschland) hinzugefügt und die Mischung im Thermocycler für 15 min bei 37°C und 15 min bei 85 °C erhitzt. Zu 5 µl des gereinigten PCR-Produkt wurde 5 µl BirdF1 (5 µM) hinzugefügt, bevor die Probe zur Sanger Sequenzierung zu Eurofins Genomics, (Ebersberg, Deutschland) versendet wurde.

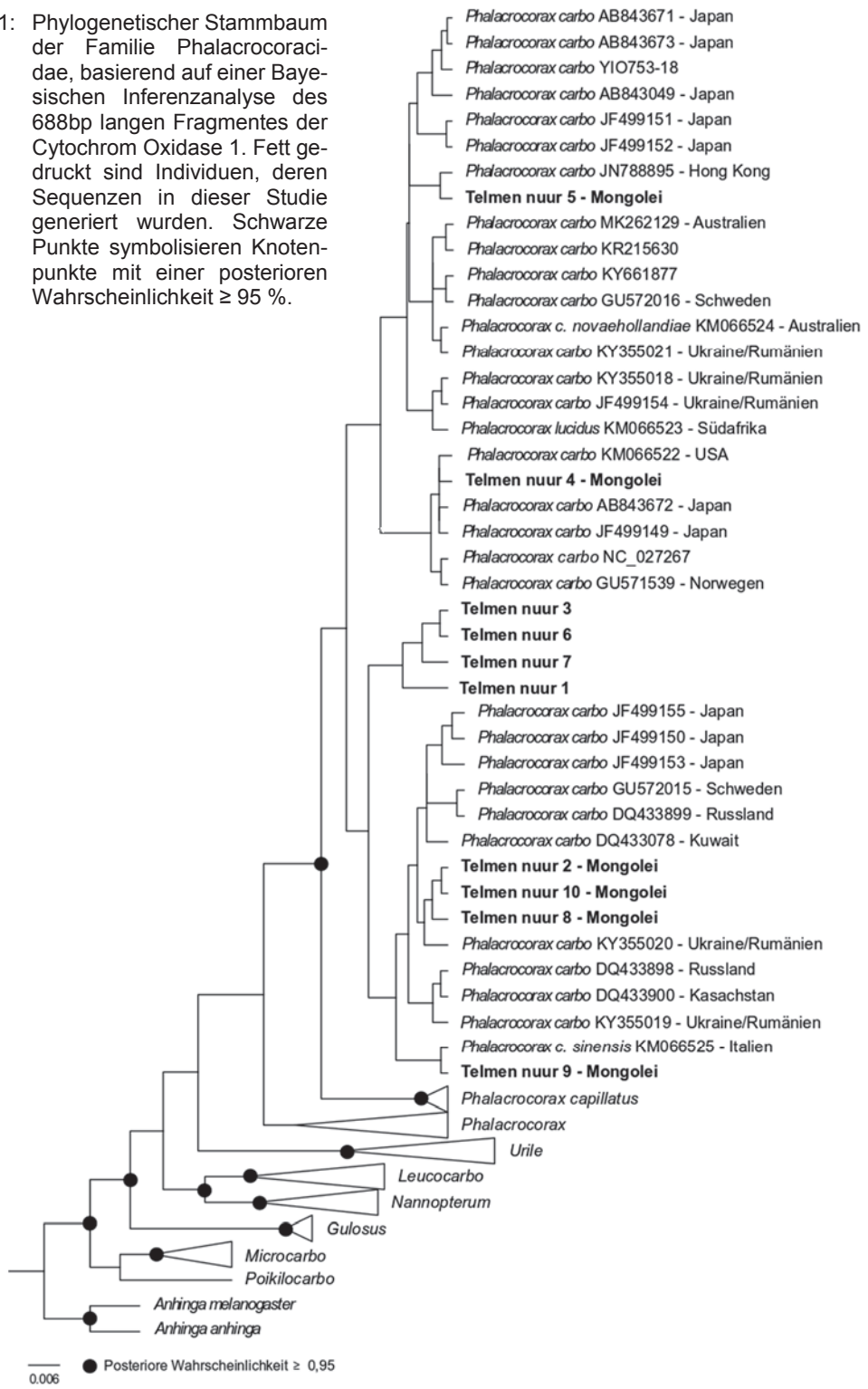
### **Phylogenetische Analyse**

Die über Eurofins Genomics generierten Sequenzen wurden mit Hilfe des Programms Geneious Version 10.0.9 (<http://www.geneious.com>, KEARSE et al. 2012) eingelesen und bearbeitet. Alle generierten Sequenzen wurden unter BOLD v4 ([boldsystems.org](http://boldsystems.org)) unter dem Projekt BMGL (Cormorant\_Telmen\_nuur\_1 bis 10) hochgeladen und für die Öffentlichkeit zugänglich gemacht. Zunächst wurden die Enden getrimmt und die Sequenzen qualitativ überprüft. Um Kontaminationen im Sequenzierungsprozess ausschließen zu können, wurden alle erstellten und getrimmten Sequenzen mit Hilfe des Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) der Referenzdatenbank des National Center for Biotechnology Information (NCBI, [www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)) verglichen.

Um die generierten Sequenzen in einen taxonomisch-evolutivem Kontext betrachten zu können, wurden insgesamt 138 Sequenzen der Cytochrom Oxidase 1 (COI) der Gattungen *Phalacrocorax* Brisson, 1760 (98 Sequenzen), *Leucocarbo* Bonaparte, 1856 (31 Sequenzen) und *Microcarbo* Bonaparte, 1856 (7 Sequenzen), sowie 2 Sequenzen der Gattung *Anhinga* Brisson, 1760 aus der Referenzdatenbank Barcode of Life Database V4 (BOLD; RATNASINGHAM & HEBERT 2007) heruntergeladen (s. Anhang Tab. 1). Alle Sequenzen wurden mit Hilfe des Muscle Algorithmus (EDGAR 2004) mit 10 Iterationen aligniert (verglichen und sortiert). Das entstandene Alignment wurde auf eine einheitliche Länge von 688 Basenpaaren getrimmt und auf Fehler geprüft. Das Programm TOPALi v.2.5 (MILNE et al. 2008) wurde genutzt, um das auf den vorliegenden Datensatz bestpassende Modell zu finden.

Im Folgenden wurde eine XML Datei zur Definition der Analysepriors für das Alignment mit Hilfe des Programms BEAUTi v.1.8.4 (DRUMMOND & RAMBAUT 2007; <http://beast.bio.ed.ac.uk/>) erstellt, um eine Bayesische Inferenzanalyse des Alignments zu berechnen. Hierbei nutzten wir ein General Time Reversible Model mit Gamma Distribution (GTR+G) als Substitutionsmodell mit 4 Kategorien. Als Prior der Phylogenie wurde, Speziation: Yule Prozess mit einem randomisierten Start gewählt. Für die Datierung der Phylogenie wurde die Möglichkeit einer „uncorrelated relaxed clock“ genutzt. Die Berechnung der Analyse wurde für 100 Mio. Generationen mit einer Stichprobenentnahme alle 10.000 Generationen eingestellt. Die erstellte XML Datei wurde anschließend mit dem Programm BEAST v.1.8.4 (DRUMMOND & RAMBAUT 2007; <http://beast.bio.ed.ac.uk/>) geöffnet und die Analyse mit Hilfe der eingestellten Modelle und Priors berechnet. Nach Beendigung der Analyse wurde das Programm Tracer v.1.6 (RAMBAUT et al. 2007; <http://beast.bio.ed.ac.uk/>) verwendet, um die Burn-in Rate zu ermitteln und die ESS Werte zu überprüfen. Diese wurde anschließend im Programm TreeAnnotator v.1.8.4 (DRUMMOND & RAMBAUT 2007; <http://beast.bio.ed.ac.uk/>) verwendet, um die Anzahl der errechneten phylogenetischen Bäume zu reduzieren und eine Datei des wahrscheinlichsten Baums zu schreiben. Dieser phylogenetische Baum wurde danach mit FigTree v.1.4.3 (RAMBAUT 2016; <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/fig-tree/>) geöffnet und bearbeitet. Zuletzt wurde eine Grafik mit Hilfe des Programms Inkscape v.0.92 ([www.inkscape.org](http://www.inkscape.org)) erstellt.

Abb. 1: Phylogenetischer Stammbaum der Familie Phalacrocoracidae, basierend auf einer Bayesischen Inferenzanalyse des 688bp langen Fragmentes der Cytochrom Oxidase 1. Fett gedruckt sind Individuen, deren Sequenzen in dieser Studie generiert wurden. Schwarze Punkte symbolisieren Knotenpunkte mit einer posterioren Wahrscheinlichkeit  $\geq 95\%$ .



### 3. Ergebnisse & Diskussion

Über die Analyse des Genabschnitts der Cytochrom Oxidase 1 war es möglich, die Tiere der mongolischen Kolonie vom Telmen-nuur mit anderen Tieren aus der Referenzdatenbank BOLD v4 genetisch zu vergleichen. COI Sequenzen von 19 der 22 bekannten Arten der Gattung *Phalacrocorax* konnten in die Analyse einbezogen werden. Des Weiteren wurden Sequenzen von 12 der 15 bekannten Arten der Gattung *Leucocarbo*, sowie von zwei der fünf bekannten Arten der Gattung *Microcarbo* für die Phylogenie genutzt (GILL & DONSKER 2019). Als Außengruppe wurden zwei Sequenzen der Gattung *Anhinga* verwendet. Mit Hilfe einer Bayesischen Inferenzanalyse konnten die Individuen phylogenetisch untersucht werden (Abb. 1). Obwohl nur ein kurzer Abschnitt des Barcoding Gens von 688bp in dieser Analyse genutzt wurde, war es möglich, eine sehr ähnliche Auflösung wie KENNEDY & SPENCER (2014) in ihrer umfassenden Arbeit zur Kormoranphylogenie zu erhalten. Dabei wurde deutlich, dass auch hier die Gattung *Phalacrocorax* nicht monophyletisch (klar genetisch abgrenzbar von allen anderen Gattungen) ist. Obwohl die heutige Taxonomie besagt, dass die Familie Phalacrocoracidae die drei Gattungen *Phalacrocorax*, *Leucocarbo* und *Microcarbo* umfasst, kann die vorliegende Studie diese klare Einteilung über die Ergebnisse der Barcoding Phylogenie, wie auch KENNEDY & SPENCER (2014), nicht bestätigen. Die vorliegenden Ergebnisse zeigen gut unterstützte Werte der Knotenpunkte in der phylogenetischen Analyse auf. Dennoch sind weitere phylogenetische Studien mit Hilfe von mitochondrialen sowie nuklearen Genfragmenten nötig, um einen tieferen Einblick in die genetische Vielfalt und Einteilung der Kormorane zu gewinnen und die Taxonomie dieser Vögel zu verstehen.



Abb. 2: *Phalacrocorax carbo* am Telmen-nuur (Foto: M. STUBBE).

Mit Hilfe des untersuchten Genfragments und der Auswertung der vorhandenen Literatur zur Phylogenie der Familie Phalacrocoracidae, sollte überprüft werden, ob es sich beim mongolischen Kormoran um die Unterart *P. c. sinensis* handelt. Im phylogenetischen Dendrogramm (Abb. 1) gruppieren sich alle Individuen vom Telmen-nuur innerhalb der monophyletischen Art *Phalacrocorax carbo*. Um eine klare Aussage über die Unterart treffen zu können, wurden 31 Referenzsequenzen von Individuen, gesammelt in Australien, den USA, Schweden, Russland, Kuwait, Ukraine/Rumänien, Kasachstan, Italien, Japan, Hong Kong und Norwegen genutzt (Abb. 1). Des Weiteren fiel die Sequenz der aus Südafrika stammenden Art *P. lucidus* (Lichtenstein, 1823) in die Gruppe der Art *P. carbo*. Die alte taxonomische Einteilung klassifizierte *P. lucidus* ehemals als *P. carbo lucidus*, was bedeutet, dass die verwendete Referenzsequenz einem Individuum mit inkorrekt taxonomischer Identifikation entspricht, oder *P. lucidus* genetisch mit Hilfe des CO1 Fragments nicht von *P. carbo* abzugrenzen ist.

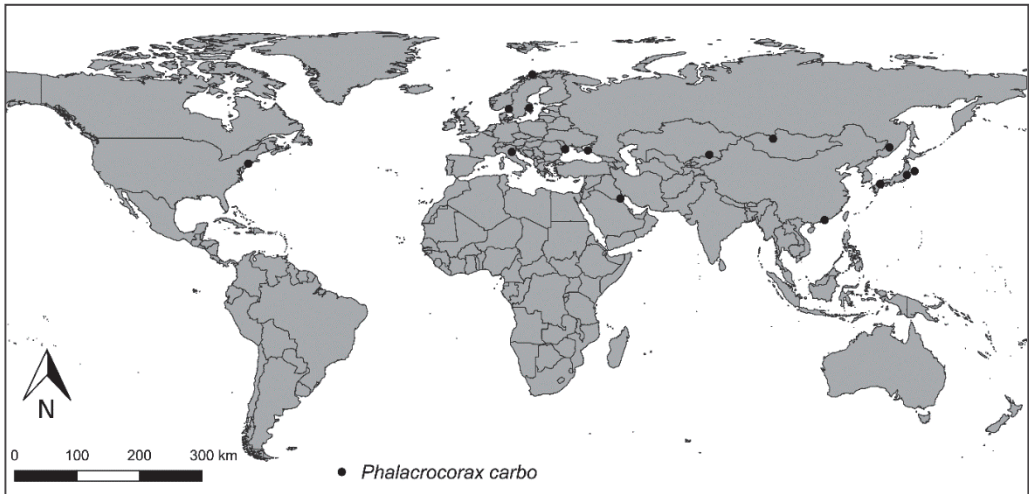


Abb. 3: Vorkommen der in der phylogenetischen Analyse zusammen gruppierten Individuen der Art *Phalacrocorax carbo*.

Obwohl laut Artbeschreibungen die Unterarten klar geographische getrennt vorkommen sollen, war es nicht möglich, die Tiere genetisch zu differenzieren. Bei näherer Analyse der Sequenzen wurde sogar festgestellt, dass alle 31 Individuen der drei Unterarten der Spezies *P. carbo* in den Informationen des untersuchten Genabschnitts zu 100 % übereinstimmen. Dies kann verschiedene Gründe haben: Es ist möglich, dass das untersuchte Genfragment zwar zur Unterscheidung der Arten genügend Sequenzunterschiede aufweist (interspezifische Differenz), welche für die Unterscheidung der Unterarten allerdings nicht ausreichen (BAKER et al. 2009, BIRSTEIN et al. 2009). Zudem haben EO & DEWOODY (2010) die Diversifizierungsraten verschiedener mitochondrialer sowie nuklearer Gene von Vögeln und Reptilien untersucht und dabei herausgefunden, dass die Substitutionsraten innerhalb der Cytochrom Oxidase 1 (Barcoding Gen) im Verhältnis zu vielen anderen analysierten Abschnitten bei diesen Tierklassen deutlich geringer zu sein scheint als bei anderen Organismengruppen. Allerdings ist allgemein das Artkonzept und folglich auch das Unterartkonzept bis heute nicht völlig geklärt. Gegenwärtig gibt es verschiedenste Definitionen für diese Begriffe (Morphologisches Artkonzept, Biologisches oder Populationsökologisches Artkonzept, Phylogenetisches Artkonzept (WILEY 1978, NIXON & WHEELER 1990, MAYR 1996). Eine Möglichkeit wäre, auf die Ergebnisse der molekularen Untersuchung zu vertrauen. Das würde bedeuten, dass der Status der Unterarten nicht valide ist, die Art mehr oder weniger weltweit verbreitet vorkommt und die hohe Mobilität der Vögel dazu führt, dass sich die Populationen ständig durchmischen. Leider ist es an dieser Stelle nicht möglich, eine klare Aussage zu dieser Problematik zu treffen. Weitere genetische Analysen mit mehr Genen und populationsgenetischen Markern sind notwendig, um diese Frage zu beantworten und eine Aussage über die in der Mongolei vorkommenden Kormorane verschiedener Kolonien treffen zu können.

## Zusammenfassung

Der Kormoran *Phalacrocorax carbo* (Linnaeus, 1758) ist ein Brutvogel in den Seengebieten der Mongolei. Obwohl bereits weltweit an vielen Kolonien molekular geforscht wird, sind bisher keine Untersuchungen der genetischen Diversität der mongolischen Vorkommen bekannt. In dieser Studie wird erstmals ein Abschnitt der Cytochrom Oxidase 1 (CO1) von zehn Individuen der 2017 am Telmen-nuur ansässigen Population sequenziert, um eine molekulare Identifikation durchzuführen und diese im Zusammenhang mit bereits vorhandenen Daten weltweit untersuchter Populationen zu analysieren. Hierbei konnte eine eindeutige Zuweisung zur Art *P. carbo* belegt werden, jedoch ist keine Identifikation des Unterartstatus auf Grund fehlender aussagekräftiger Marker möglich.

## Danksagung

Wir danken allen Teilnehmern der Mongolisch-Deutschen Biologischen Expeditionen 2017 und 2019 für ihre Unterstützung an diesem Projekt. Unser Dank gilt weiterhin Dr. Panagiotis Theodorou für seine Hilfe bei der Laborarbeit und Dr. Patricia Landaverde für die Bereitstellung der genetischen Primer. Dieses Projekt wurde durch die Gesellschaft für Jagd- und Wildtierforschung, das PROMOS Stipendium der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg an LMB und ein Promotionsstipendium der Heinrich-Böll-Stiftung an LSD finanziert.

## Literatur

- BAKER, A.J.; TAVARES, E.S.; ELBOURNE, R.F. (2009): Countering criticisms of single mitochondrial DNA gene barcoding in birds. - *Mol. Ecol. Res.* **9**: 257-268. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2009.02650.x>.
- DRUMMOND, A.J.; RAMBAUT, A. (2007): BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. - *BMC evolutionary biology* **7**(1): 214. - <https://doi.org/10.1186/1471-2148-7-214>.
- EDGAR, R.C. (2004): MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. - *Nucleic acids research* **32**(5): 1792-1797. - <https://doi.org/10.1093/nar/gkh340>.
- EO, S.H.; DEWOODY, J.A. (2010): Evolutionary rates of mitochondrial genomes correspond to diversification rates and to contemporary species richness in birds and reptiles. - *Proc. Royal Soc. London, (B) Biol. Sci.* **277**(1700): 3587-3592. - <https://doi.org/10.1098/rspb.2010.0965>.
- GILL, F.; DONSKER, D. (eds.) (2019): IOC World Bird List + full ssp (v 9.2). - Doi 10.14344/IOC.ML.9.2. - <http://www.worldbirdnames.org/>.
- HEBERT, P.D.; CYWINSKA, A.; BALL, S.L.; DEWAARD, J.R. (2003): Biological identifications through DNA barcodes. - *Proc. Royal Soc. London, (B) Biol. Sci.* **270**(1512): 313-3.21. - <https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2218>.
- HEBERT, P.D.; STOECKLE, M.Y.; ZEMLAK, T.S.; FRANCIS, C.M. (2004): Identification of birds through DNA barcodes. - *PLoS biology* **2**(10): e312. - <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0020312>.
- KEARSE, M.; MOIR, R.; WILSON, A.; STONES-HAVAS, S.; CHEUNG, M.; STURROCK, S.; BUXTON, S.; COOPER, A.; MARKOWITZ, S.; DURAN, C.; THIERER, T.; ASHTON, B.; MEINTJES, P.; DRUMMOND, A.; THIERER, T. (2012): Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data - *Bioinformatics* **28**(12): 1647-1649. - <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts199>.
- KENNEDY, M.; SPENCER, H.G. (2014): Classification of the cormorants of the world. - *Mol. phylogen. evol.* **79**: 249-257. - <http://dx.doi.org/10.1016/j.ympev.2014.06.020>.
- KERR, K.C.; STOECKLE, M.Y.; DOVE, C.J.; WEIGT, L.A.; FRANCIS, C.M.; HEBERT, P.D. (2007): Comprehensive DNA barcode coverage of North American birds. - *Mol. ecol. notes* **7** (4): 535-543. - <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2007.01670.x>,
- MAYR, E. (1996): What is a species, and what is not? - *Philosophy of science* **63**(2): 262-277. - <https://doi.org/10.1086/289912>.
- MILNE, I.; LINDNER, D.; BAYER, M.; HUSMEIER, D.; MCGUIRE, G.; MARSHALL, D.F.; WRIGHT, F. (2008): TOPALi v2: a rich graphical interface for evolutionary analyses of multiple alignments on HPC clusters and multi-core desktops. - *Bioinformatics* **25** (1): 126-127. - <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btn575>.
- NIXON, K.C.; WHEELER, Q.D. (1990): An amplification of the phylogenetic species concept. - *Cladistics* **6**(3): 211-223. <https://doi.org/10.1111/j.1096-0031.1990.tb00541.x>.
- RAMBAUT, A.; DRUMMOND, A.J.; SUCHARD, M. (2007): Tracer v1. 6. - <http://beast.bio.ed.ac.uk>.
- RAMBAUT, A. (2016): FigTree v1. 4.3 software. - Inst. Evol. Biol. University of Edinburgh.

- RATNASINGHAM, S., & HEBERT, P.D. (2007): BOLD: The Barcode of Life Data System (<http://www.barcodinglife.org>). - *Molecular ecology notes* **7**(3): 355-364. - <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2007.01678.x>
- WERLE, E.; SCHNEIDER, C.; RENNER, M.; VÖLKER, M. & FIEHN, W. (1994): Convenient single-step, one tube purification of PCR products for direct sequencing. - *Nucleic Acids Res.* **22**(20): 4354.
- WILEY, E.O. (1978): The evolutionary species concept reconsidered. - *Syst. Zool.* **27**(1): 17-26. - <https://doi.org/10.2307/2412809>.

### **Anschriften der Autoren**

Lucie Marie Baltz\*  
Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg  
Allgemeine Zoologie  
Hoher Weg 8  
D-06120 Halle (Saale)  
E-mail: [lucie.baltz@villa-flora-bingen.de](mailto:lucie.baltz@villa-flora-bingen.de)

\* Corresponding authors

Michael Stubbe  
Zentralmagazin Naturwissenschaftlicher Sammlungen  
der Martin-Luther-Universität Halle  
Domplatz 4  
D-06099 Halle (Saale)  
E-mail: [annegret.stubbe@zoologie.uni-halle.de](mailto:annegret.stubbe@zoologie.uni-halle.de)

Davaa Lkhagvasuren  
Department of Biology  
School of Arts and Sciences  
National University of Mongolia  
P.O.Box 46A-546  
Ulaanbaatar-210646  
Mongolia  
E-mail: [lkhagvasuren@num.edu.mn](mailto:lkhagvasuren@num.edu.mn)

Lara-Sophie Dey\*  
Leibnitz-Institut zur Analyse des Biodiversitätswandels (LIB)  
Martin-Luther-King-Platz 3  
D-20146 Hamburg  
E-mail: [Lara-Sophie.Dey@uni-hamburg.de](mailto:Lara-Sophie.Dey@uni-hamburg.de)



## Anhang

Tab. 1: In dieser Studie genutzte Referenzsequenzen aus der Datenbank BOLD v4 und NCBI mit zugeordneter Identifikation

(grau hinterlegte Erkennungsnummern sind ausschließlich in BOLD zu finden)

Erkennungsnummer	Gattung	Art	Unterart
JF499150	<i>Phalacrocorax</i>	<i>carbo</i>	
JF499155	<i>Phalacrocorax</i>	<i>carbo</i>	
NC_027267	<i>Phalacrocorax</i>	<i>carbo</i>	
KY661877	<i>Phalacrocorax</i>	<i>carbo</i>	
KR215630	<i>Phalacrocorax</i>	<i>carbo</i>	
JF499151	<i>Phalacrocorax</i>	<i>carbo</i>	
JF499153	<i>Phalacrocorax</i>	<i>carbo</i>	
JF499149	<i>Phalacrocorax</i>	<i>carbo</i>	
JN788895	<i>Phalacrocorax</i>	<i>carbo</i>	
JF499152	<i>Phalacrocorax</i>	<i>carbo</i>	
GU571539	<i>Phalacrocorax</i>	<i>carbo</i>	
KY355020	<i>Phalacrocorax</i>	<i>carbo</i>	
KY355019	<i>Phalacrocorax</i>	<i>carbo</i>	
AB843672	<i>Phalacrocorax</i>	<i>carbo</i>	
KY355018	<i>Phalacrocorax</i>	<i>carbo</i>	
JF499154	<i>Phalacrocorax</i>	<i>carbo</i>	
GU572016	<i>Phalacrocorax</i>	<i>carbo</i>	
AB843049	<i>Phalacrocorax</i>	<i>carbo</i>	
AB843671	<i>Phalacrocorax</i>	<i>carbo</i>	
YIO753-18	<i>Phalacrocorax</i>	<i>carbo</i>	
AB843673	<i>Phalacrocorax</i>	<i>carbo</i>	
KM066523	<i>Phalacrocorax</i>	<i>lucidus</i>	
KM066525	<i>Phalacrocorax</i>	<i>carbo</i>	<i>sinensis</i>
DQ433900	<i>Phalacrocorax</i>	<i>carbo</i>	
DQ433898	<i>Phalacrocorax</i>	<i>carbo</i>	
KY355021	<i>Phalacrocorax</i>	<i>carbo</i>	
DQ433078	<i>Phalacrocorax</i>	<i>carbo</i>	
DQ433899	<i>Phalacrocorax</i>	<i>carbo</i>	
MK262129	<i>Phalacrocorax</i>	<i>carbo</i>	
KM066522	<i>Phalacrocorax</i>	<i>carbo</i>	<i>carbo</i>
GU572015	<i>Phalacrocorax</i>	<i>carbo</i>	
KM066524	<i>Phalacrocorax</i>	<i>carbo</i>	<i>novaehollandiae</i>
AB843048	<i>Phalacrocorax</i>	<i>capillatus</i>	
AB843670	<i>Phalacrocorax</i>	<i>capillatus</i>	
AB843047	<i>Phalacrocorax</i>	<i>capillatus</i>	
MK262269	<i>Phalacrocorax</i>	<i>punctatus</i>	
MK262097	<i>Phalacrocorax</i>	<i>punctatus</i>	
MK262377	<i>Phalacrocorax</i>	<i>punctatus</i>	
KM066526	<i>Phalacrocorax</i>	<i>featherstoni</i>	
KM066529	<i>Phalacrocorax</i>	<i>nigrocularis</i>	
AY369060	<i>Phalacrocorax</i>	<i>varius</i>	
MK261892	<i>Phalacrocorax</i>	<i>varius</i>	
KM066527	<i>Phalacrocorax</i>	<i>fuscescens</i>	

Fortsetzung Tabelle 1

EF101680	<i>Phalacrocorax</i>	<i>sulcirostris</i>	
MK262104	<i>Phalacrocorax</i>	<i>sulcirostris</i>	
KM066528	<i>Phalacrocorax</i>	<i>neglectus</i>	
KM066521	<i>Phalacrocorax</i>	<i>capensis</i>	
DQ433902	<i>Phalacrocorax</i>	<i>pelagicus</i>	
DQ433908	<i>Phalacrocorax</i>	<i>pelagicus</i>	
DQ433909	<i>Phalacrocorax</i>	<i>pelagicus</i>	
DQ433905	<i>Phalacrocorax</i>	<i>pelagicus</i>	
DQ433906	<i>Phalacrocorax</i>	<i>pelagicus</i>	
DQ433903	<i>Phalacrocorax</i>	<i>pelagicus</i>	
DQ433901	<i>Phalacrocorax</i>	<i>pelagicus</i>	
DQ433907	<i>Phalacrocorax</i>	<i>pelagicus</i>	
JN801352	<i>Phalacrocorax</i>	<i>pelagicus</i>	
JN801351	<i>Phalacrocorax</i>	<i>pelagicus</i>	
KM066531	<i>Phalacrocorax</i>	<i>pelagicus</i>	
GQ482357	<i>Phalacrocorax</i>	<i>pelagicus</i>	
AB843051	<i>Phalacrocorax</i>	<i>pelagicus</i>	
AB843674	<i>Phalacrocorax</i>	<i>pelagicus</i>	
GQ482356	<i>Phalacrocorax</i>	<i>pelagicus</i>	
DQ433904	<i>Phalacrocorax</i>	<i>pelagicus</i>	
AB843675	<i>Phalacrocorax</i>	<i>pelagicus</i>	
AB843676	<i>Phalacrocorax</i>	<i>pelagicus</i>	
AB843050	<i>Phalacrocorax</i>	<i>pelagicus</i>	
JN801353	<i>Phalacrocorax</i>	<i>urile</i>	
JN801354	<i>Phalacrocorax</i>	<i>urile</i>	
JN801356	<i>Phalacrocorax</i>	<i>urile</i>	
JN801355	<i>Phalacrocorax</i>	<i>urile</i>	
DQ433080	<i>Phalacrocorax</i>	<i>urile</i>	
KM066533	<i>Phalacrocorax</i>	<i>urile</i>	
JN801357	<i>Phalacrocorax</i>	<i>urile</i>	
DQ433913	<i>Phalacrocorax</i>	<i>penicillatus</i>	
DQ433912	<i>Phalacrocorax</i>	<i>penicillatus</i>	
DQ433911	<i>Phalacrocorax</i>	<i>penicillatus</i>	
DQ433079	<i>Phalacrocorax</i>	<i>penicillatus</i>	
KM066532	<i>Phalacrocorax</i>	<i>penicillatus</i>	
DQ433910	<i>Phalacrocorax</i>	<i>penicillatus</i>	
KF946807	<i>Phalacrocorax</i>	<i>aristoelis</i>	<i>aristotelis</i>
GU571538	<i>Phalacrocorax</i>	<i>aristoelis</i>	<i>aristotelis</i>
EF101682	<i>Phalacrocorax</i>	<i>aristoelis</i>	
KM066530	<i>Phalacrocorax</i>	<i>gaimardi</i>	
JQ175766	<i>Phalacrocorax</i>	<i>brasilianus</i>	
KPARG399-08	<i>Phalacrocorax</i>	<i>brasilianus</i>	
FJ028007	<i>Phalacrocorax</i>	<i>brasilianus</i>	
DQ433897	<i>Phalacrocorax</i>	<i>brasilianus</i>	
KM066519	<i>Phalacrocorax</i>	<i>brasilianus</i>	
FJ028008	<i>Phalacrocorax</i>	<i>brasilianus</i>	
FJ028009	<i>Phalacrocorax</i>	<i>brasilianus</i>	

Fortsetzung Tabelle 1

AY666386	<i>Phalacrocorax</i>	<i>auritus</i>	
DQ433896	<i>Phalacrocorax</i>	<i>auritus</i>	
AY666385	<i>Phalacrocorax</i>	<i>auritus</i>	
EF101683	<i>Phalacrocorax</i>	<i>auritus</i>	
DQ433077	<i>Phalacrocorax</i>	<i>auritus</i>	
KM066520	<i>Phalacrocorax</i>	<i>harrisi</i>	
KPARG515-08	<i>Phalacrocorax</i>	<i>magellanicus</i>	
KM066512	<i>Phalacrocorax</i>	<i>magellanicus</i>	
KPARG513-08	<i>Leucocarbo</i>	<i>artriceps</i>	
KPARG521-08	<i>Leucocarbo</i>	<i>artriceps</i>	
KPARG514-08	<i>Leucocarbo</i>	<i>artriceps</i>	
KM066511	<i>Leucocarbo</i>	<i>artriceps</i>	
FJ028006	<i>Leucocarbo</i>	<i>artriceps</i>	
FJ028005	<i>Leucocarbo</i>	<i>artriceps</i>	
KM066503	<i>Leucocarbo</i>	<i>artriceps</i>	
KPARG518-08	<i>Leucocarbo</i>	<i>artriceps</i>	
KPARG112-08	<i>Leucocarbo</i>	<i>artriceps</i>	
KPARG520-08	<i>Leucocarbo</i>	<i>artriceps</i>	
KPARG516-08	<i>Leucocarbo</i>	<i>artriceps</i>	
KPARG519-08	<i>Leucocarbo</i>	<i>artriceps</i>	
KPARG522-08	<i>Leucocarbo</i>	<i>artriceps</i>	
KPARG371-08	<i>Leucocarbo</i>	<i>artriceps</i>	
KPARG517-08	<i>Leucocarbo</i>	<i>artriceps</i>	
KM066502	<i>Leucocarbo</i>	<i>artriceps</i>	<i>albiventer</i>
KPARG523-07	<i>Leucocarbo</i>	<i>artriceps</i>	
JN801909	<i>Leucocarbo</i>	<i>artriceps</i>	
KM066513	<i>Leucocarbo</i>	<i>melanogensis</i>	
KM066506	<i>Leucocarbo</i>	<i>bransfieldensis</i>	
KM066505	<i>Leucocarbo</i>	<i>bransfieldensis</i>	
KM066516	<i>Leucocarbo</i>	<i>purpurascens</i>	
KM066514	<i>Leucocarbo</i>	<i>nivalis</i>	
KM066515	<i>Leucocarbo</i>	<i>onslowi</i>	
KM066509	<i>Leucocarbo</i>	<i>chalconotus</i>	
MK261834	<i>Leucocarbo</i>	<i>chalconotus</i>	
NC_014679	<i>Leucocarbo</i>	<i>chalconotus</i>	
KM066507	<i>Leucocarbo</i>	<i>campbelli</i>	
KM066510	<i>Leucocarbo</i>	<i>colensoi</i>	
KM066508	<i>Leucocarbo</i>	<i>carunculatus</i>	
KM066517	<i>Leucocarbo</i>	<i>ranfurlyi</i>	
BROMB721-07	<i>Microcarbo</i>	<i>melanoleucos</i>	
MK261856	<i>Microcarbo</i>	<i>melanoleucos</i>	
MK261779	<i>Microcarbo</i>	<i>melanoleucos</i>	
BROMB723-07	<i>Microcarbo</i>	<i>melanoleucos</i>	
JX683923	<i>Microcarbo</i>	<i>melanoleucos</i>	
JQ175767	<i>Microcarbo</i>	<i>melanoleucos</i>	
KM066518	<i>Microcarbo</i>	<i>pygmaeus</i>	
BROMB594-07	<i>Anhinga</i>	<i>melanogaster</i>	