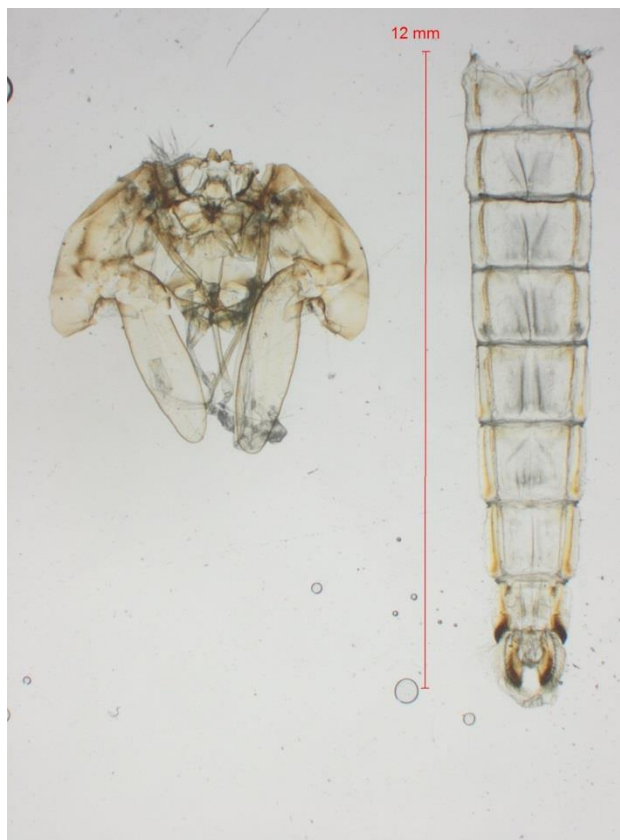


DNA barcoding, enige ervaringen met Chironomidae



Exuviae van *Chironomus balatonicus*



DNA barcoding, enige ervaringen met Chironomidae

Alexander Klink

**Hydrobiologisch Adviesburo Klink rapporten en
mededelingen nr. 124. November 2013 (HAK Project 391)
In opdracht van Naturalis
Contactpersoon Bram Koese**

Inhoudsopgave

INHOUDSOPGAVE	I
1. INLEIDING	2
2. RESULTATEN	3
3. VOORLOPIGE CONCLUSIES	9
4. AANBEVELINGEN	10
5. LITERATUUR.....	11
6. SELECTIE VAN VOUCHERS MET SEQUENTIE	12

1. Inleiding

In het kader van het DNA barcoding project van Naturalis, zijn in 2012 en 2013 actief Chironomidae verzameld en zijn enkele bijzondere soorten uit de referentiecollectie van Hydrobiologisch Adviesburo Klink aangeboden ter amplificatie van het DNA. Het COI gen is gesequenced en sequenties van 600+ baseparen (BP) zijn geïdentificeerd met de BOLD database (http://www.boldsystems.org/index.php/IDS_OpenIdEngine).

Op basis van een aantal praktische voordelen is ervoor gekozen om eerst ervaring op te doen met exuviae (lege poppehuidjes) van Chironomidae. Deze voordelen waren of zijn:

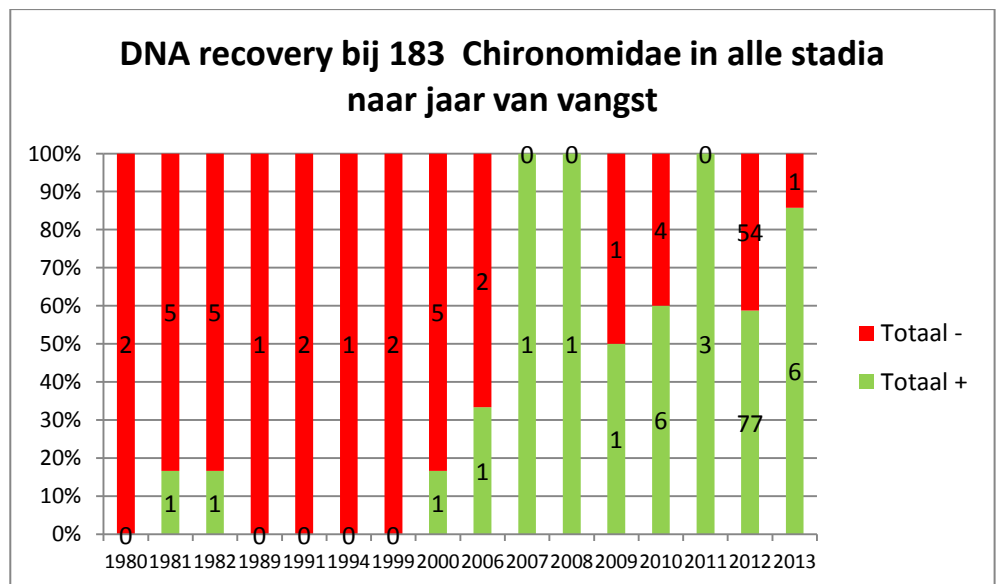
- Een hoge recovery (70%) van amplificeerbaar DNA (Krosch en Cranston, in prep)
- Exuviae zijn vrijwel allemaal tot op soort te determineren in tegenstelling tot ander stadia
- Exuviae zijn eenvoudig te verzamelen in grotere wateren (meren, beken en rivieren)
- Uitzoeken van exuviae-monsters is veel minder tijdrovend dan de andere stadia

In deze mededeling worden de ervaringen gedeeld die een 3 tal platen (ieder 95 wells), voorzien van adulten, larven, poppen en exuviae tot dusver hebben opgeleverd.

2. Resultaten

2.1. Bruikbaar DNA in relatie tot de leeftijd van het monster

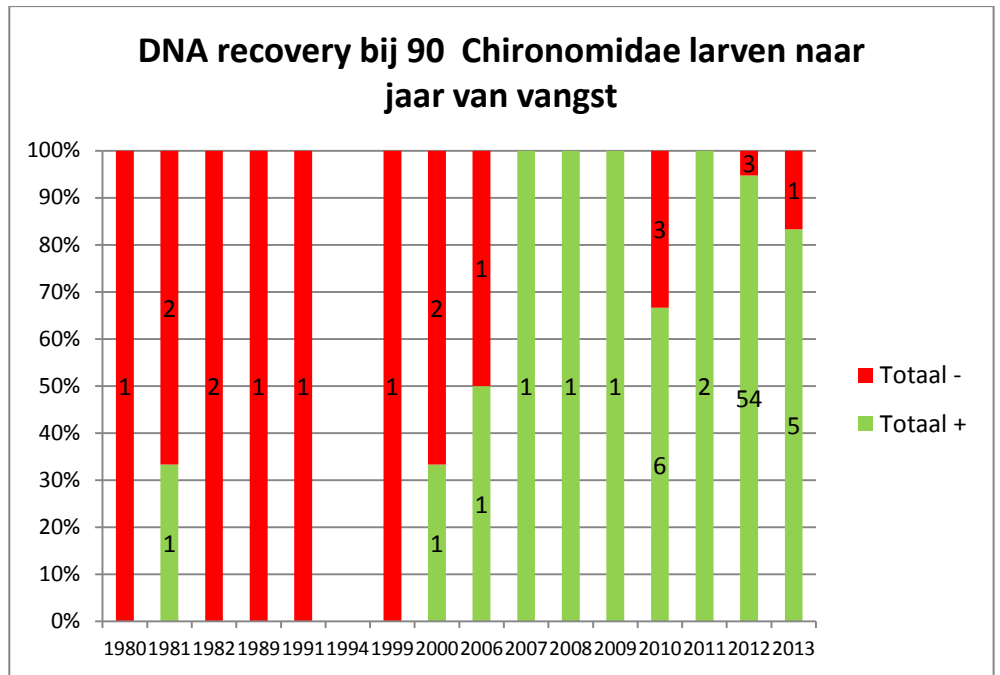
In 2012 en in 2013 zijn actief bemonsteringen uitgevoerd ten behoeve van dit project. In voorgaande jaren zijn specimens van bijzondere soorten van de HAK referentiecollectie toegevoegd. In figuur 1-4 worden de bevindingen besproken van de eerste 2 platen (BCP0061-21 en -30) waarvan het merendeel van het materiaal in 2012 is verzameld.



Figuur 1. DNA recovery van 183 Chironomidae in alle stadia

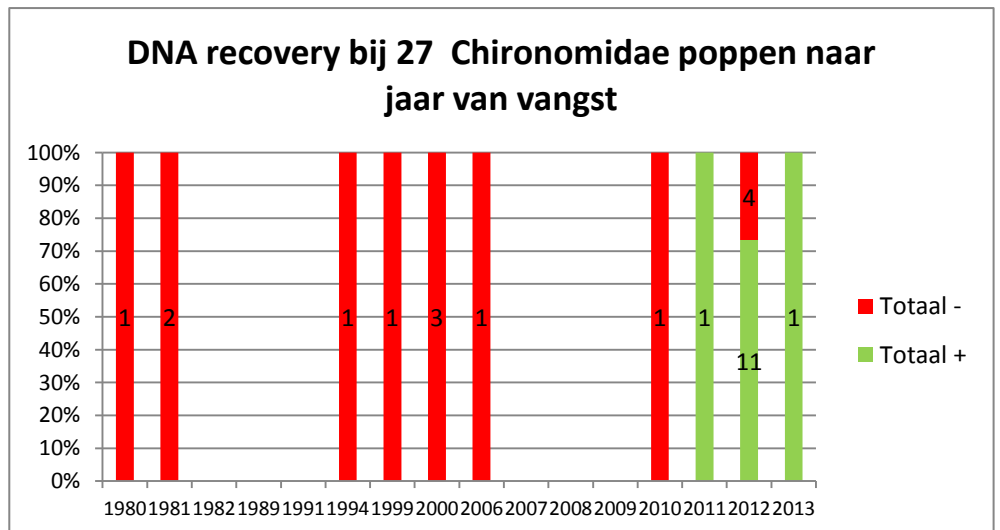
Uit figuur 1 komt naar voren wat al bekend was, “nieuwer is beter”. Recente monsters hebben een recovery van 50% of meer.

De DNA recovery in Chironomidae in alle stadia loopt van 7 naar 13 jaar terug van grofweg 33% naar 20%. Het lijkt toeval dat er nog bruikbaar DNA gevonden is in dieren die > 30 jaar in de ethanol hebben gelegen. In beide soorten betrof het grote aantallen (26 ♂♂ en 54 larven). Mogelijk hecht DNA zich na verloop van tijd over de aanwezige specimen (zie 2.2.2 Spook DNA).



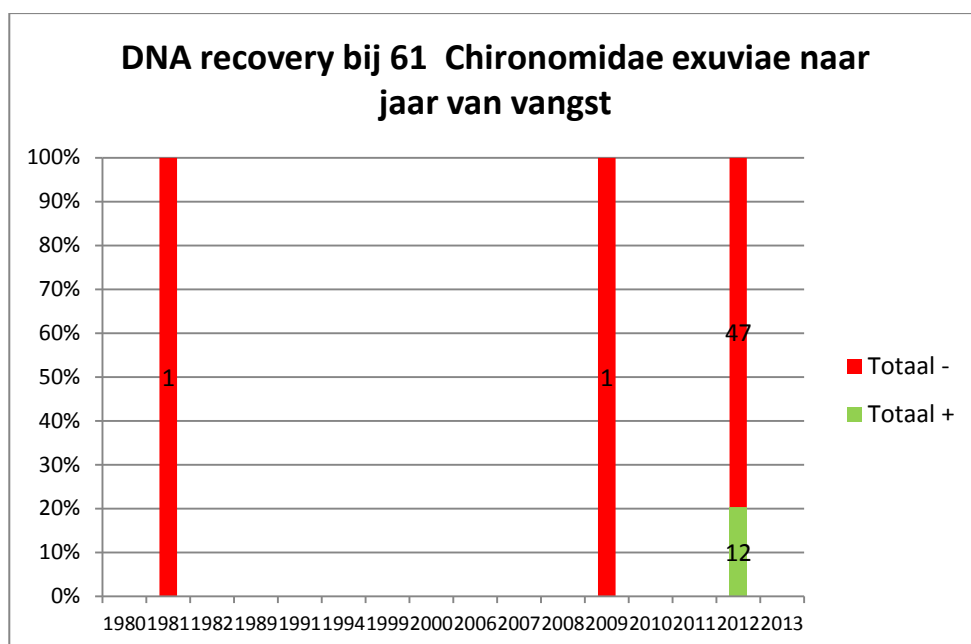
Figuur 2. DNA recovery van 90 Chironomidae larven

De DNA recovery bij larven is ook bij zeer recent verzameld materiaal zeker niet voor 100% gegarandeerd. De recovery van materiaal uit 2012 bedroeg 95% en de 3 specimen die geen signaal hebben afgegeven, behoren tot de kleinste larven. Na 13 jaar is het percentage gedaald naar < 50%.



Figuur 3. DNA recovery van 27 Chironomidae poppen

Bij de poppen zijn er te weinig exemplaren geëxtraheerd om vooral over de recente periode conclusies te trekken. In 2012 lijkt de DNA recovery aanzienlijk geringer dan bij de larven (resp. 73 en 95%). Alles van 2006 en daarvoor bleek niet meer geschikt.



Figuur 4. DNA recovery van 61 Chironomidae exuvia naar jaar van vangst. Bij de exuvia is in de meest recente monsters slechts 20% geschikt gebleken voor sequentie. Dit waren monsters die vanaf 30 april tot 18 mei 2012 zijn verzameld. In 1.2. wordt ook aandacht besteed aan DNA recovery van monsters eerder in het jaar genomen.

2.2. Analyse van exuvia in maart 2013 verzameld in de Heelsumse Beek

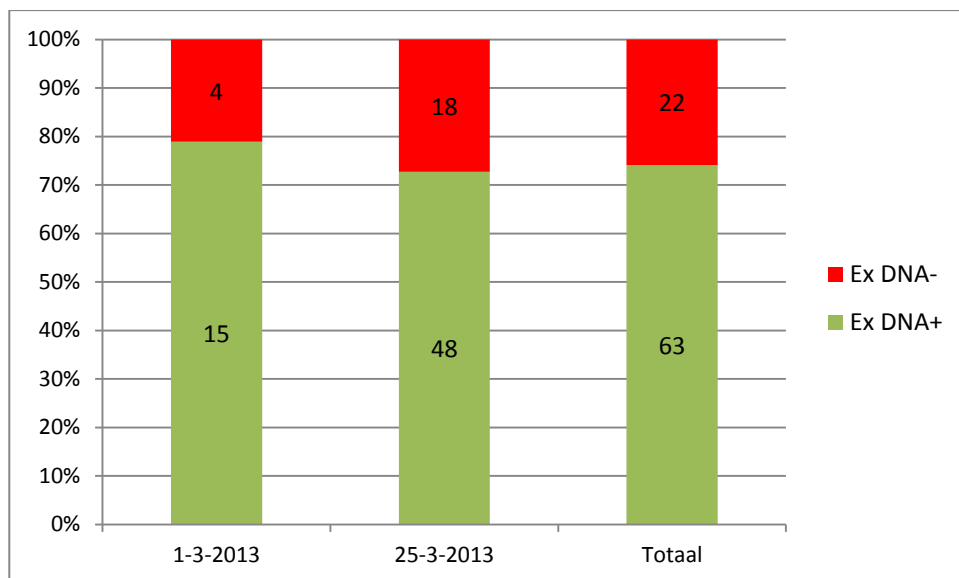
2.2.1. DNA opbrengst

Op 1 en 25 maart is een exuvia bemonstering uitgevoerd in de benedenloop van de Heelsumse Beek in Renkum. Een plaat (BCP0061-21) is gevuld met 4 volwassen Chironomidae, 85 exuvia en 6 poppen. De recovery bedroeg respectievelijk 75%, 74% en 83%.

Tabel 1. Verdeling van het al dan niet extraheerbare DNA in de adulten, exuvia en poppen.

Heelsumse beek	♂ DNA+	♀ DNA-	Ex DNA+	Ex DNA-	P DNA+	P DNA-
1-3-2013			15	4		
25-3-2013	3	1	48	18	5	1
Totaal	3	1	63	22	5	1

Uit figuur 5 blijkt dat de opbrengst van het DNA van de exuvia op beide data vergelijkbaar is (79% en 73%) op 1 en 25 maart.



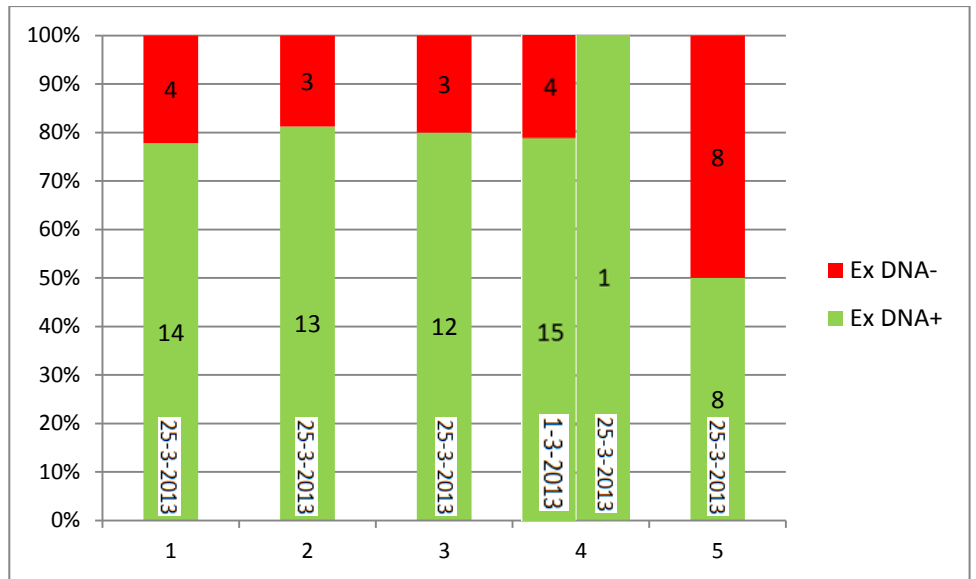
Figuur 5. Aanwezigheid van bruikbaar DNA in de exuviae van de Heelsumse beek.

De monsters werden op 5 verschillende manieren behandeld (tabel 2).. Bij behandeling 1 – 3 werd het monster in het veld geconserveerd en binnen 24 uur gezeefd en uitgezocht. Bij behandeling 4 en 5 zijn de monsters direct uitgezocht, geconserveerd en al dan niet in de diepvries bewaard.

Bij het monster van 1-3-2013 is zeer weinig materiaal verzameld, waardoor het monster niet gezeefd behoefde te worden. De monsters op 25-3-2013 bevatten veel materiaal en zijn eerst gezeefd voor het uitzoeken.

Tabel 2. Overzicht van de verschillende behandelingen van de monsters

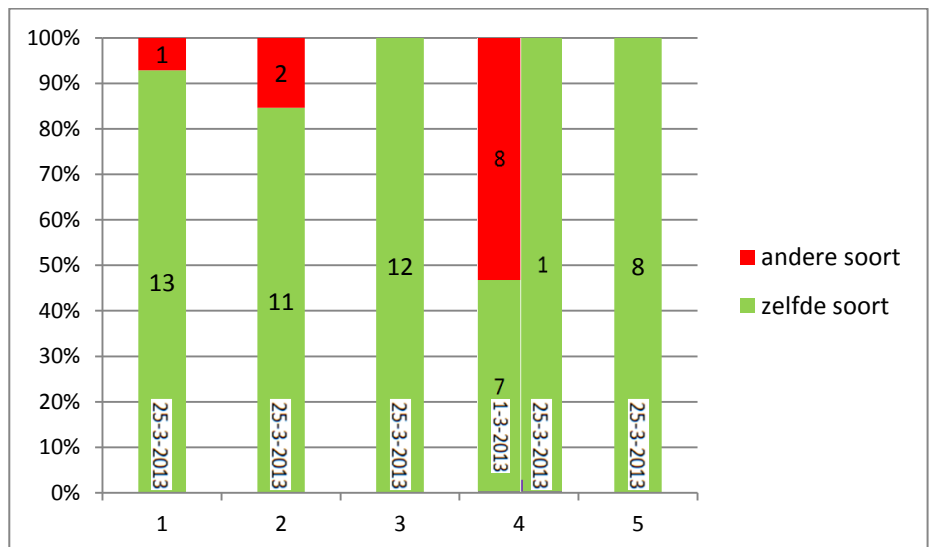
1 Veld conserveren 96% goede ethanol, uitzoeken na 18-24 uur en geconserveerd in 96% ethanol
2 Veld conserveren 96% ethanol gedenureerd, uitzoeken na 18-24 uur en in 96% ethanol
3 Veld conserveren 85% spiritus en uitzoeken na 18-24 uur in 96% ethanol
4 Naar lab en binnen 4 uur uitgezocht (niet gezeefd) en 24 dagen diepvries geconserveerd in 96% ethanol
5 Naar lab en binnen 4 uur gezeefd, uitgezocht en geconserveerd in 96% ethanol



Figuur 6. Opbrengst van de exuviae per behandeling (1-5) op de X-as. Alle behandelingen hebben betrekking op 25-3-2013, behalve de linker kolom op "4" met daarin de resultaten van 1-3-2013. Laten we behandeling 4 op 25-3-2013 buiten beschouwing (slechts 1 exuviae), dan hebben behandelingen 1 – 4 een vergelijkbare opbrengst van ca. 80%. Opvallend lager is de opbrengst bij behandeling 5 (50%). Het lijkt er op dat op 25-3-2013 (onder dezelfde omstandigheden) het DNA al na enkele uren in kwaliteit achteruit gaat. Verder lijkt het niet uit te maken of een monster in het veld geconserveerd wordt met niet-gedenatureerde 96% ethanol (1), gedenatureerde 96% ethanol (2) of spiritus 83% (3).

2.2.2. Spook DNA

In de exuviae monsters blijkt "Spook DNA" voor te komen. Dit is DNA van een andere soort dan degene die in de betreffende well is geconserveerd.



Figuur 7. Mismatch tussen de geconserveerde soort en het vermeerderde DNA

Normaal gesproken is dit een vergissing van degene die het materiaal heeft geconserveerd. Hier is echter sprake van een andere situatie. Op beide data domineren exuviae van *Micropsectra contracta* (BOLD database), die als *Micropsectra* zijn gelabeld in de platen. In onderstaande tabel is te een overzicht gegeven van de naam tijdens conservering en de “Bold naam” bij de verschillende behandelingen.

Tabel 3. Verschil tussen geconserveerde soorten en het vermeerderde DNA

Behandeling	1	2	3	4	5
<i>Eukiefferiella</i>	<i>M. c.</i>				
<i>Prodiamesa olivacea</i>		<i>M. c.</i>			
<i>Cricotopus</i>		<i>M. c.</i>			
<i>Cricotopus</i>				<i>M. c.</i>	
<i>Prodiamesa olivacea</i>				<i>M. c.</i>	
<i>Prodiamesa olivacea</i>				<i>M. c.</i>	
<i>Prodiamesa olivacea</i>				<i>M. c.</i>	
<i>Eukiefferiella groot</i>				<i>M. c.</i>	
<i>Eukiefferiella klein</i>				<i>M. c.</i>	
<i>Limnophyes</i>				<i>M. c.</i>	
<i>Limnophyes</i>				<i>M. c.</i>	

In de linker kolom staat de naam waaronder de taxa in de wells zijn geplaatst. In de overige kolommen staat de naam (*M. c.* = *Micropsectra contracta*) waaronder de sequentie in BOLD wordt geïdentificeerd.

Hieruit blijkt dat vooral in het monster van 1-3-2013, dat binnen enkele uren is uitgezocht (behandeling 4 niet geconserveerd en niet gezeefd), meer dan de helft (8 van de 15) van het totaal aan exuviae het DNA van de dominante soort heeft geamplificeerd (*M. contracta*) en niet het eigen DNA. In behandelingen 1 en 2 komt dit ook voor, maar dan “slechts” bij ca. 10% van de exuviae. In dit geval komt het spook DNA uit andere subfamilies en is het eenvoudig te traceren. Het optreden ervan vereist een zeer kritische vergelijking tussen de optische determinatie en de match van de DNA sequentie. Het is zeer wel mogelijk dat een verwante *Micropsectra* soort in deze monsters weggedrukt is door het DNA van de dominante *M. contracta*. Er wordt hier dan ook voor gepleit om de vouchers na de DNA extractie goed te prepareren en de optische determinatie uiterst kritisch uit te voeren.

3. Voorlopige conclusies

- Materiaal recenter dan 5 jaar heeft de voorkeur en hoe verser hoe beter.
- Ondanks positieve berichten, blijkt uit dit onderzoek dat DNA van exuviae, dat is verzameld tussen eind april en eind mei 2012, slechts in 20% van de soorten een bruikbaar signaal af te geven.
- Exuviae verzameld in maart 2013 geven in ca. 80% van de soorten een (vaak) bruikbaar signaal af.
- Uit vorige twee punten blijkt DNA langer intact te blijven bij lagere water temperatuur.
- Het verdient aanbeveling om vooral poppen te gebruiken voor DNA extractie, omdat deze wel en larven vaak niet tot op soort te determineren zijn. Dit is een groot nadeel omdat poppen maar in een beperkte periode gevangen kunnen worden en de larven in grote delen van het jaar beschikbaar zijn.
- Materiaal dat na > 30 jaar nog een goed DNA signaal afgeeft is uitzonderlijk en vermoedelijk het gevolg van grote aantallen specimens in de monsterpotjes.
- Het lijkt niet uit te maken of materiaal direct in het veld wordt geconserveerd met al dan niet gedenatureerde ethanol (96% of spiritus (83%).
- Monsters direct in het veld geconserveerd blijken in ca. 10% van de gevallen “spook DNA” te bevatten van de dominante soort in het monster. Dit ondanks het feit dat de monsters gezeefd waren.
- Een monster dat niet is geconserveerd en ook niet is gezeefd voor het uitzoeken, blijkt voor > 50% spook DNA van de dominante soort te bevatten.

4. Aanbevelingen

- Op basis van de opgedane ervaringen lijkt het weinig zinvol om materiaal in onderzoek te nemen dat ouder is dan 5-6 jaar.
- Ook exuviae, verzameld in het late voorjaar en zomer leveren te weinig opbrengst.
- Poppen geven wel een goede opbrengst en zijn evenals exuviae meestal tot op de soort te determineren. Het bezwaar dat ze moeilijk te verzamelen zijn kan als volgt worden ondervangen:

Naar de waterschappen een verzoek uit te laten gaan om de al dan niet gedetermineerde Chironomidae poppen van 6 jaar oud en jonger naar Naturalis te sturen voor DNA barcoding, referentiemateriaal en fotocollectie.

- Er dient nog nadere informatie te worden achterhaald naar de omstandigheden waarbij Krosch en Cranston (in prep) wel een hoge opbrengst (70%) realiseren bij exuviae. Relevante vragen zijn:
 - Hebben ze een efficiëntere methode om DNA te verzamelen?
 - Hebben zij in koudere seizoenen materiaal verzameld?
 - Hebben ze ook veel spook DNA in hun resultaten?

5. Literatuur

Krosch, M.N., Cranston, P.S., 2012 Non-destructive DNA extraction from Chironomidae of fragile pupal exuviae, extends analysable collections and enhances vouchering. *Chironomus* 25: 22-27

6. Selectie van vouchers met sequentie

Op 1 oktober 2013 zijn er 3 platen met Chironomidae ingeleverd, waarvan in totaal 106 taxa zijn geselecteerd als vouchers en deze zijn weergegeven in onderstaande tabel.

303DNA	RMNH nr. definite	Plate	Well	Sequentie Zie ook 391 Sequenties	Match
513	RMNH.INS.557420	BCP0061-21	A-02	Trissopelopia longimana	Trissopelopia longimana
517	RMNH.INS.557423	BCP0061-21	A-05	Procladius choreus	no match
518	RMNH.INS.557424	BCP0061-21	A-06	Cladopelma bicarinata	no match
519	RMNH.INS.557425	BCP0061-21	A-07	Endochironomus albipennis	Endochironomus albipennis
528	RMNH.INS.557434	BCP0061-21	B-04	Chironomus poss. piger	Chironomus balatonicus
529	RMNH.INS.557435	BCP0061-21	B-05	Parachironomus frequens	Parachironomus frequens
532	RMNH.INS.557438	BCP0061-21	B-08	Phaenopsectra flavipes	Phaenopsectra flavipes
536	RMNH.INS.557442	BCP0061-21	B-12	Harnischia curtilamellata	Harnischia curtilamellata
544	RMNH.INS.557450	BCP0061-21	C-08	Procladius choreus	Procladius choreus agg.
549	RMNH.INS.557455	BCP0061-21	D-01	Psectrocladius oxyura	Psectrocladius sp. 4TE
550	RMNH.INS.557456	BCP0061-21	D-02	Cricotopus sylvestris	Cricotopus sylvestris
558	RMNH.INS.557464	BCP0061-21	D-10	Chironomus melanescens	Chironomus melanescens
559	RMNH.INS.557465	BCP0061-21	D-11	Glyptotendipes pallens	no match
560	RMNH.INS.557466	BCP0061-21	D-12	Phaenopsectra flavipes	Phaenopsectra flavipes
561	RMNH.INS.557467	BCP0061-21	E-01	Paratendipes albimanus	Paratendipes albimanus
562	RMNH.INS.557468	BCP0061-21	E-02	Cricotopus sylvestris	Cricotopus sylvestris
563	RMNH.INS.557469	BCP0061-21	E-03	Cricotopus bicinctus	Cricotopus bicinctus
564	RMNH.INS.557470	BCP0061-21	E-04	Phaenopsectra flavipes	Phaenopsectra flavipes
565	RMNH.INS.557471	BCP0061-21	E-05	Paratendipes albimanus	Paratendipes albimanus
566	RMNH.INS.557472	BCP0061-21	E-06	Orthocladus oblidens	no match
567	RMNH.INS.557473	BCP0061-21	E-07	Ablabesmyia longistyla	Ablabesmyia longistyla
568	RMNH.INS.557474	BCP0061-21	E-08	Conchapelopia agg.	Conchapelopia melanops
569	RMNH.INS.557475	BCP0061-21	E-09	Cricotopus bicinctus	Cricotopus bicinctus
570	RMNH.INS.557476	BCP0061-21	E-10	Metricnemus hirticollis agg.	no match
571	RMNH.INS.557477	BCP0061-21	E-11	Cricotopus albiforceps	Cricotopus albiforceps
572	RMNH.INS.557478	BCP0061-21	E-12	Psectrocladius gr. sordidellus	Psectrocladius limbatellus
573	RMNH.INS.557479	BCP0061-21	F-01	Paratrichocladus rufiventris	Paratrichocladus rufiventris
574	RMNH.INS.557480	BCP0061-21	F-02	Thienemanniella flaviforceps agg	Thienemanniella sp.3TE
575	RMNH.INS.557481	BCP0061-21	F-03	Cladotanytarsus mancus	Cladotanytarsus mancus
576	RMNH.INS.557482	BCP0061-21	F-04	Rheotanytarsus photophilus	no match
577	RMNH.INS.557483	BCP0061-21	F-05	Polypedilum sordens	no match
578	RMNH.INS.557484	BCP0061-21	F-06	Polypedilum scalaenum	Polypedilum quadriguttatum
579	RMNH.INS.557485	BCP0061-21	F-07	Dicrotendipes nervosus	Dicrotendipes nervosus
581	RMNH.INS.557487	BCP0061-21	F-09	Glyptotendipes glaucus/pallens	no match
582	RMNH.INS.557488	BCP0061-21	F-10	Potthastia longimana	no match
583	RMNH.INS.557489	BCP0061-21	F-11	Glyptotendipes paripes	no match
584	RMNH.INS.557490	BCP0061-21	F-12	Parachironomus frequens	Parachironomus frequens
585	RMNH.INS.557491	BCP0061-21	G-01	Parachironomus arcuatus	Parachironomus arcuatus
586	RMNH.INS.557492	BCP0061-21	G-02	Corynoneura scutellata agg	no match
587	RMNH.INS.557493	BCP0061-21	G-03	Micropsectra lindrothi	Micropsectra lindrothi
588	RMNH.INS.557494	BCP0061-21	G-04	Polypedilum cultellatum	no match
596	RMNH.INS.557497	BCP0061-21	G-07	Cryptochironomus rostratus	no match
598	RMNH.INS.557499	BCP0061-21	G-09	Tanytarsus brundini	no match
603	RMNH.INS.557504	BCP0061-21	H-02	Polypedilum scalaenum	no match
604	RMNH.INS.557505	BCP0061-21	H-03	Polypedilum nubeculosum	Polypedilum nubeculosum
608	RMNH.INS.557509	BCP0061-21	H-07	Paratanytarsus dissimilis	Paratanytarsus grimmii
813	RMNH.INS.557147	BCP0081-1KRW	B-02	Stempellinella	Stempellinella brevis
818	RMNH.INS.557152	BCP0081-1KRW	B-07	Micropsectra	no match
832	RMNH.INS.557166	BCP0081-1KRW	C-09	Cricotopus	Orthocladus dentifer
856	RMNH.INS.557190	BCP0081-1KRW	E-09	Orthoclaadiinae	no match
893	RMNH.INS.557227	BCP0081-1KRW	H-10	Rheocricotopus	Heterotanytarsus apicalis
870	RMNH.INS.557204	BCP0081-1KRW	F-11	Micropsectra	no match
894	RMNH.INS.557228	BCP0081-1KRW	H-11	Micropsectra	no match

DNA barcoding, enige ervaringen met Chironomidae

303DNA	RMNH nr. definite	Plate	Well	Sequentie Zie ook 391 Sequenties	Match
652	RMNH.INS.557324	BCP0061-30	A1	Macropelopia adauca	no match
653	RMNH.INS.557325	BCP0061-30	A2	Prodiamesa olivacea	Prodiamesa_olivacea 98,91%
654	RMNH.INS.557326	BCP0061-30	A3	Odontomesa fulva	no match
655	RMNH.INS.557327	BCP0061-30	A4	Heterotrissocladius marcidus	Heterotrissocladius_marcidus 99,39%
656	RMNH.INS.557328	BCP0061-30	A5	Brillia bifida	Brillia_bifida 99,33%
657	RMNH.INS.557329	BCP0061-30	A6	Conchapelopia melanops	Conchapelopia_melanops 100%
659	RMNH.INS.557331	BCP0061-30	A8	Macropelopia nebulosa	Macropelopia spec. 99,85%
661	RMNH.INS.557332	BCP0061-30	A9	Paracladopelma laminatum	no match
662	RMNH.INS.557333	BCP0061-30	A10	Phaenopsectra flavipes	Phaenopsectra_flavipes 99,85%
663	RMNH.INS.557334	BCP0061-30	A11	Polypedilum scalaenum	Polypedilum_pullum (99,85%)
674	RMNH.INS.557337	BCP0061-30	B2	Micropsectra notescens	Micropsectra_notescens 100%
675	RMNH.INS.557338	BCP0061-30	B3	Micropsectra apposita	Micropsectra_contracta 99,69%
683	RMNH.INS.557339	BCP0061-30	B4	Tanytarsus pallidicornis	no match
686	RMNH.INS.557340	BCP0061-30	B5	Paracladopelma laminatum	no match
688	RMNH.INS.557341	BCP0061-30	B6	Polepedilum pedestre	Polepedilum_pedestre 99,54%
690	RMNH.INS.557342	BCP0061-30	B7	Stempellinella brevis	Stempellinella_brevis 99,85%
694	RMNH.INS.557344	BCP0061-30	B9	Orthocladius dentifer	Orthocladius_dentifer 99,69%
695	RMNH.INS.557345	BCP0061-30	B10	Micropsectra klinki	Micropsectra_recurvata 99,67%
696	RMNH.INS.557346	BCP0061-30	B11	Tanytarsus eminus	Tanytarsus_eminus 99,85%
698	RMNH.INS.557347	BCP0061-30	B12	Paracladopelma campitolabis	no match
699	RMNH.INS.557348	BCP0061-30	C-01	Tanytarsus eunucius	Tanytarsus_eminus 99,85%
702	RMNH.INS.557349	BCP0061-30	C-02	Paratanytarsus dissimilis agg	Paratanytarsus_dissimilis 99,39%
706	RMNH.INS.557352	BCP0061-30	C-05	Eukiefferiella claripennis	Eukiefferiella_claripennis 100%
767	RMNH.INS.557354	BCP0061-30	C-07	Demicytichironomus vulneratus	no match
768	RMNH.INS.557355	BCP0061-30	C-08	Cryptochironomus defectus	no match
769	RMNH.INS.557356	BCP0061-30	C-09	Polypedilum nubeculosum	Polypedilum_nubeculosum 99,39%
770	RMNH.INS.557357	BCP0061-30	C-10	Polypedilum pullum	no match
774	RMNH.INS.557358	BCP0061-30	C-11	Thienemanniella spec. A. Cranston	no match
775	RMNH.INS.557359	BCP0061-30	C-12	Corynoneura coronata agg.	Thienemanniella sp. 3TE 99,39%
786	RMNH.INS.557360	BCP0061-30	D-01	Acricotopus lucens	no match
793	RMNH.INS.557361	BCP0061-30	D-02	Psectrocladius obvius	Psectrocladius_platypus 99,69%
794	RMNH.INS.557362	BCP0061-30	D-03	Psectrocladius gr sordidellus	Psectrocladius_limbatellus 99,24%
796	RMNH.INS.557364	BCP0061-30	D-05	Acricotopus lucens	no match
797	RMNH.INS.557365	BCP0061-30	D-06	Dasyhelea spec.	Dasyhelea_modesta 98,01%
798	RMNH.INS.557366	BCP0061-30	D-07	Paratendipes nudisquama	no match
799	RMNH.INS.557367	BCP0061-30	D-08	Xenopelopia	no match
915	RMNH.INS.557371	BCP0061-30	D-12	Polypedilum scalaenum	Polypedilum_quadriguttatum 99,54%
916	RMNH.INS.557372	BCP0061-30	E-01	Polypedilum scalaenum	Polypedilum_quadriguttatum 99,54%
917	RMNH.INS.557373	BCP0061-30	E-02	Polypedilum pullum	Polypedilum_pullum 99,85%
926	RMNH.INS.557382	BCP0061-30	E-11	Orthocladius fuscimanus	no match
928	RMNH.INS.557384	BCP0061-30	F-01	Orthocladius rhyacobius	no match
929	RMNH.INS.557385	BCP0061-30	F-02	Orthocladius dentifer	Orthocladius_dentifer 99,69%
932	RMNH.INS.557388	BCP0061-30	F-05	Cricotopus intersectus	no match
934	RMNH.INS.557390	BCP0061-30	F-07	Cricotopus cf. annulator	Cricotopus_annulator 99,39%
937	RMNH.INS.557393	BCP0061-30	F-10	Cricotopus bosbeek ter Apel	no match
942	RMNH.INS.557398	BCP0061-30	G-03	Cladotanytarsus lepidocalcar?	no match
943	RMNH.INS.557399	BCP0061-30	G-04	Cladotanytarsus lepidocalcar?	no match
944	RMNH.INS.557400	BCP0061-30	G-05	Cladotanytarsus spec.	Cladotanytarsus_mancus agg. 99,67%
957	RMNH.INS.557413	BCP0061-30	H-06	Tanytarsus debilis	Tanytarsus_veralli 97,09% T. debilis 8
958	RMNH.INS.557414	BCP0061-30	H-07	Tanytarsus sylvaticus	Tanytarsus_sylvaticus 99,54%
959	RMNH.INS.557415	BCP0061-30	H-08	Tanytarsus eunucius	Tanytarsus_eunucius 99,39%
960	RMNH.INS.557416	BCP0061-30	H-09	Tanytarsus volgensis	Tanytarsus spec. 98,46%
962	RMNH.INS.557418	BCP0061-30	H-11	Tanytarsus dibranchius	no match