

Bingöl ve Diyarbakır İllerinde Yayılış Gösteren Bazı Dalgıç Böcek (Coleoptera: Dytiscidae) Türlerinin Mitokondrial Sitokrom Oksidaz Alt Ünite 1 Geni (COI) ile Filogenetik Analizi

Ramazan UZEN¹, Kemal GÜVEN², Medeni AYKUT^{3*}, İbrahim Halil YILDIRIM⁴, Fatma MATPAN BEKLER²

¹Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 21280, Sur, Diyarbakır

²Dicle Üniversitesi Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, 21280, Sur, Diyarbakır

³Dicle Üniversitesi, Ziya Gökalp Eğitim Fakültesi, Matematik ve Fen Bilimleri Eğitimi Bölümü, 21280, Sur, Diyarbakır

⁴Dicle Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Genetik Bölümü, 21280, Sur, Diyarbakır

Geliş Tarihi: 01.03.2021 Düzeltme Geliş Tarihi: 24.03.2021 Kabul Tarihi: 14.04.2021

Öz

Dytiscidae Leach, 1815 familyası sucul böceklerin önemli bileşenlerindedir. Familya üyeleri yırtıcı dalış böcekleri olarak bilinirler ve genellikle tüm sucul habitatlara uyum göstermişlerdir. Bu çalışmada, Bingöl ve Diyarbakır illerinden Eylül 2016 ile Mayıs 2017 dönemlerinde toplanan Dytiscidae familyasının 7 cinsine ait 17 türün PCR yöntemiyle mitokondrial DNA örnekleri elde edilerek moleküler düzeyde araştırılmıştır. Bu türlerin mitokondrial COI genlerinin nükleotid sekansları ve PCR genomik dizileri moleküler belirteç olarak kullanıldı. Mitokondrial DNA dizi analizleri BLAST taraması yoluyla yapıldı. 17 türe ait mitokondrial COI gen dizileri, türlerin tanımlamasında kullanılan CLC Sequence Viewer 8. programı yardımı ile filogenetik soy ağacı oluşturularak benzerlikleri karşılaştırıldı. Türlerin yakınlık dereceleri, Neighbour Joining (NJ) soy ağacı kullanılarak belirlenmeye çalışıldı. Analiz sonuçlarına göre; *Agabus faldermanni* (Zaitzev, 1927) sisteme kayıtlı nükleotid dizileriyle %100 örtüşürken, bu değer; *Hydroporus planus* (Fabricius, 1782)'ta %99.88, *Agabus biguttatus* (Olivier, 1795) ve *Laccophilus minutus* (Linnaeus, 1758)'ta %99.86, *Agabus glacialis* Hochhuth, 1846'da %99.74, *Laccophilus poecilus* Klug, 1834'te %99.46, *Agabus bipustulatus* (Linnaeus, 1767)'ta %99.45, *Agabus nebulosus* (Forster, 1771)'ta %99.21, *Hydroporus discretus* Fairmaire & Brisout, 1859 ve *Ilybius chalconatus* (Panzer, 1796)'ta %99.18, *Agabus conspersus* (Marsham, 1802)'ta %99.02, *Bidessus calabricus* Guignot, 1957'ta %98.94, *Nebrioporus stearinus suavis* (Sharp, 1882)'te %98.79, *Hydroporus tessellatus* (Drapiez, 1819)'ta %97.45, *Liopterus haemorrhoidalis* (Fabricius, 1787)'te %97.23, *Hydroglyphus geminus* (Fabricius, 1792)'te %96.47 ve *Hydroporus palustris* (Linnaeus, 1761)'te %93.54 oranlarında benzerlikler belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Bingöl, Diyarbakır, Dytiscidae, COI, Moleküler tanımlama

Phylogenetic Analysis of Some Diving Beetles (Coleoptera: Dytiscidae) Species with Mitochondrial Cytochrome Oxidase Subunit 1 Gene (COI) in Bingöl and Diyarbakır Provinces

Abstract

The family Dytiscidae Leach, 1815 is important component of aquatic beetles. The members of this family known as predaceous diving beetles and could be found in all type of fresh water habitats. In this study, 17 species belong to 7 genera of family Dytiscidae were collected from Bingöl and Diyarbakır provinces between September 2016 and May 2017. Mitochondrial DNA from these species were extracted and amplified by using PCR method. The nucleotide sequences of the mitochondrial COI genes of these species were analyzed and the PCR genomic sequences of the COI gene were used as molecular markers. Mitochondrial DNA sequence analysis was carried out by BLAST screening. 17 Mitochondrial COI gene sequences of these species were compared and phylogenetic tree was built by using CLC Sequence Viewer 8. programme, used for the species identification. DNA sequences were analyzed by using Neighbor-joining (NJ) method. The nucleotide sequence

analysis showed that the similarity of specimens collected from various locations in Bingöl and Diyarbakir provinces with the loaded nucleotide sequences were as below; 100% in *Agabus faldermanni* (Zaitzev, 1927), 99.88% in *Hydroporus planus* (Fabricius, 1782), 99.86% in *Agabus biguttatus* (Olivier, 1795) and *Laccophilus minutus* (Linnaeus, 1758), 99.74% in *Agabus glacialis* Hochhuth, 1846, %99.74, *Laccophilus poecilus* Klug, 1834, %99.45 in *Agabus bipustulatus* (Linnaeus, 1767), 99.21% in *Agabus nebulosus* (Forster, 1771), 99.18% in *Hydroporus discretus* Fairmaire & Brisout, 1859 and *Ilybius chalconatus* (Panzer, 1796), 99.02 in *Agabus conspersus* (Marsham, 1802), 98.94% in *Bidessus calabricus* Guignot, 1957, 98.79% in *Nebrioporus stearinus suavis* (Sharp, 1882), 97.45% in *Hydroporus tessellatus* (Drapiez, 1819), 97.23% in *Liopterus haemorrhoidalis* (Fabricius, 1787), 96.47% in *Hydroglyphus geminus* (Fabricius, 1792) and 93.54% in *Hydroporus palustris* (Linnaeus, 1761).

Key words: Bingöl, Diyarbakır, Dytiscidae, COI, Molecular identification.

Giriş

Yırtıcı dalgıç böcekleri olarak bilinen Dytiscidae Leach, 1815 familyası yeryüzünde 182 cinsle ait yaklaşık olarak 4600 tür ile temsil edilmektedir (Nilsson ve Hájek, 2021a). Bu sayı ülkemizin de içinde bulunduğu Palearktık bölgede 80 cins ve yaklaşık olarak 620 türdür (Nilsson ve Hájek, 2021b). Ülkemizde ise bugüne kadar 28 cinsle ait 156 tür tespit edilmiştir (Darılmaz ve Kıyak, 2009; Fery ve Erman, 2009; Fery, 2009; Fery ve Hendrich, 2011a, b; Fery ve Przewozny, 2011; Hájek vd., 2011; Hernando vd., 2012; Vorst ve Fery, 2014; Aykut ve Fery, 2017; Aykut ve Taşar, 2018; Aykut vd., 2018; Aykut, 2018; Erman vd., 2018; Aykut vd. 2019). Bu familyaya ait türlerin boyları 1,5 mm ile 40 mm arasında değişir. Yassılaştırmış ve akıntıya uyum gösteren elverişli vücutları nedeniyle iyi yüzücülerdir. Genellikle bütün sucul habitatlara uyum göstermişlerdir (Erman ve Fery 2000, 2006; Erman ve Erman 2002).

Sucul kınkanatlılar ile ilgili daha önce yapılan moleküler düzeydeki çalışmalarda; Ribera ve ark. (2003), nested clade analizi yöntemi kullanarak üç türün 22 farklı popülasyonundan 51 bireydeki 16S ribosomal RNA ve sitokrom-oksidad 1 genlerini içeren mitokondriyal DNA sekansları kullanılarak incelediler. Çalışmada kullanılan türlerin farklı yerlerden alınarak akrabalık ilişkilerinin olduğunu ve cins türleri içerisinde görünür şekilde moleküler seviyede benzerlikler olduğunu açığa çıkardılar. Ribera ve ark. (2004) yapmış oldukları çalışmada, Agabinae'nın filogenisini belirlemek amacıyla 16S rRNA ve sitokrom oksidad 1 (COI) mitokondriyal genlerini kullandılar. Çalışmalarında; cinsler arasındaki ilişkiler zayıf bir şekilde tanımlanmış olmasına rağmen her birinde akrabalık ilişkileri genelde sağlam ve tutarlı olup önceki morfolojik analizlerle uyumlu olduğunu saptamışlardır. Miller ve ark. (2005) yapmış oldukları çalışmada, Namibia'da toplatılan Laccophilinae'nın alt familyasına ait morfolojik olarak teşhis edemedikleri larva örneklerini sitokrom oksidad I genin 806 bp'lik DNA dizi verilerini kullanıp, filogenetik olarak teşhis

etmişlerdir. Balke ve ark. (2007); Avustralya bölgesi boyunca yaşayan sucul hayata adapte olan çeşitli *Papuadytes* dalgıç böceklerinin (Coleoptera: Dytiscidae) filogenisini; *rrnL*, *COI*, *cob*, *H3* ve *18S rRNA* gen bölgelerinden faydalanarak oluşturmuşlardır. Çalışmalarında 2808 baz çiftine sahip DNA molekülleri kullanılmıştır. Inoda ve Balke (2012), Japonya'da toplanan *Dytiscus* cinsine ait üç tür (*Dytiscus dauricus*, *Dytiscus marginalis czerskii* ve *Dytiscus sharpi*) arasındaki genetik farklılaşmayı araştırmak için mitokondriyal sitokrom oksidad albitrim 1 (COI) geninin 628 baz çiftlik dizi analizini yapmışlardır. Çalışmada ayrıca, farklı kentlerden toplanan *Dytiscus sharpi* türünün morfolojik olarak yüksek bir benzerlik göstermesine karşın, 20 COI baz çiftinin %3,18 oranında farklılık gösterdiğini tespit etmişlerdir. Hernando ve ark. (2012), ülkemizde Bolu ilinde (Coleoptera: Dytiscidae: Hydroporinae) *Hydroporus memnonius* ve *Hydroporus longulus* gruplarının moleküler filogeni analizini mtDNA'nın dört gen bölgesini (*COI*, *rrnL*, *trnL* ve *nad1*) kullanarak yapmışlardır. Sekans sonuçlarını gen banktaki referans dizilerle değerlendirerek maximum likelihood ve bayesian analiz yöntemiyle sonuçları değerlendirdiler. Miller ve ark. (2013), Hydroporinae'ye ait 49 türün filogenetik yapısını moleküler ve morfolojik özelliklerden yola çıkarak oluşturmuşlardır. Analiz edilen veriler yetişkin morfolojisinin yedi gen bölgesinden (12S rRNA, 16S rRNA, sitokrom C oksidad I, sitokrom C oksidad II, histon III, uzama faktörü Iα ve wnt sinyal yolağı) alınan diziler olup filogenetik ilişkilerini ortaya çıkardılar. Elde edilen veriler Maximum Likelihood (ML), Maximum Parsimony (MP), Neighbour joining (NJ) ve Bayesian analiz yöntemleri kullanılarak moleküler seviyede akrabalık ilişkileri ortaya çıkarıldı. Trizzino ve ark. (2013), Hydraena'nın 212 türü ve birkaç alttürü içeren çalışmasında iki nükleer DNA'dan alınan 4 kb sekans verisini ve 4 mitokondriyal gen bölgesinin (*COI*, *rrnL*, *trnL* ve *nad1*) maximum likelihood ve Bayesian metodlarını kullanarak filogenisini çıkardılar. Ertorun ve ark. (2014), ülkemizde yapmış oldukları çalışmada; Gediz nehri havzasından topladıkları 8 farklı *Hydraenidae*

(Insecta: Coleoptera) türünün DNA'larını izole ederek moleküler ve morfolojik analizlerini yapmışlardır. Yeşiloğlu (2014) Hatay yöresindeki farklı bitki örtüsüne sahip, farklı yüksekliklerde bulunan 17 *Ochthebius* türün (Hydraenidae; Coleoptera) COI genini kullanarak, farklı moleküler çalışmalarla kıyaslamayı baz alacak şekilde tür teşhislerini yapmıştır.

Gustafson ve Miller (2017), Dineutini (Coleoptera: Gyrinidae: Gyrininae) soylarına ait 56 türün, mitokondrial gen fragmentlerinden COI, COII, 12S; nükleer gen fragmentlerinden H3 ve arjinin kinaz mitokondriyal DNA sekans verilerini çıkararak ve morfolojik karakterlerini de kullanarak tür teşhislerini yapmışlardır. Çalışmalarında türlerin akrabalık ilişkileri için Bayesian ve Maximum Likelihood analizlerini kullandılar.

Ülkemizde Dytiscidae familyası ile ilgili hatırı sayılır çalışmalar yapılmıştır. Ancak yapılan çalışmalar incelendiğinde ekseri çoğunluğunun klasik morfolojik tanımlamalar ile yapıldığı görülmektedir. Son yıllarda klasik yöntemler ile tür teşhislerinin yapılması yeterli görülmemektedir. Moleküler düzeyde tür teşhisleri gereklilik arz etmektedir. Bu çalışmamızda Bingöl ve Diyarbakır illerinin Dytiscidae familyasına ait bazı türlerin tanımlanması için mitokondriyal DNA'nın sitokrom oksidaz alt ünite 1 (COI) gen bölgesi kullanılarak dizi analizi yöntemi ile biyoinformatik programlarından yararlanarak genetik yapılarının incelenmesi ve moleküler düzeyde türlerin sistematiklerinin ortaya çıkarılması amaçlanmıştır. Çalışmamız bu yönü ile bölgemizde ilk olma özelliğini göstermektedir.

Materyal ve Metot

Örneklerin Toplanması: Çalışmaya konu olan Dytiscidae familyasına ait sucül böcek örnekleri Eylül 2016 ile Mayıs 2017 dönemlerinde Bingöl ve Diyarbakır illerinin, dere, göl, gölet, kaynak, göze, su birikintisi gibi çeşitli sucül ortamlardan 0,5 mm çapa sahip atraplar kullanılarak toplandı (Çizelge 1.). Toplanan örnekler çalışma alanında %98'lik etil alkol çözeltisine alındı. Örnek alınan lokalitelerin koordinatları el GPS'i (Magellan Explorist 610) yardımı ile kayıt altına alındı. Laboratuvar ortamına getirilen örnekler DNA izolasyon işlemleri yapılana kadar -20 °C'de bekletildi.

PCR Aşaması: DNA izolasyonu için Qiagen (QIAquick PCR pürifikasyon kiti, Hilden, Almanya) kiti standart protokolü ile kullanıldı. İzole edilen DNA'lar PCR (Polimerase Chain Reaktion

=Polimeraz Zincir Reaksiyonu) yöntemi ile çoğaltıldı. PCR karışımı için evrensel primerler (ileri 5'- CAA CAT TTA TTT TGA TTT TTT GG -3' ve geri 5'- TCC AAT GCA CTA ATC TGC CAT ATT A A-3') kullanılmıştır. PCR yöntemi ile çoğaltılıp izole edilen mtDNA örneklerinin doğrulanması amacıyla Agaroz Jel Elektroforezine yüklenip yeterli süre yürütülmüştür. İzolasyon sonucu yeterli süre yürütülen örnekler jel görüntüleme cihazına alınarak U.V. ışık altında görüntülendi. EtBr ile U.V. ışık altında görünür hale gelen bantlar amplifikasyonun doğrulanması amacıyla UV jel görüntüleme cihazında (Quantum ST4 Vilber Lourmat) fotoğraflanmıştır.

DNA Sekans Analizi: Elde edilen PCR ürünün agaroz jelde tespit edilmesinden sonra PCR ürünü Genematrix stool DNA pürifikasyon kiti (EURX) ile üretici talimatlarına uygun olarak saflaştırıldı. PCR için kullanılan primerler Dytiscidae cinslerinin DNA veri bankasında mevcut mitokondriyal sitokrom oksidaz alt ünite 1 (COI) gen bölgeleri kullanılmıştır. Diziler gen bank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) verileri ile karşılaştırılmıştır. Bütün reaksiyonlarda Applied thermal cyler (Applied Biosystems Inc., A.B.D.) kullanılmıştır. Reaksiyon 1.5 mM MgCl₂, 0.2 mM dNTP mix, 1x Reaksiyon Tamponu, 0.2U Taq DNA Polimeraz, 5 ng/µl kalıp DNA ve her bir primerden 0.5 µM içermektedir. Cihazda, primer çiftine özgü optimizasyonu sağlanmıştır.

Filogenetik Analiz: DNA sekansları, CLC Sequence Viewer 8. programı kullanılarak görüntülendi ve ayrı ayrı FASTA formatında kaydedildi. Her bir böcek türü için COI gen bölgesine ait diziler FASTA formatında NCBI Nucleotide BLAST (Basic Local Alignment Search Tool= Basit Lokal Dizi Araştırma Aracı)'a yüklendi. NCBI veri bankasında kayıtlı dizilerle benzerlikleri karşılaştırıldı. Elde edilen türlerin sekans sonuçlarının filogenetik analizleri Neighbour Joining (NJ) ve Unweighed Pair Group Method of Aritmetic Averages (UPGMA) modeline göre CLC Sequence Viewer 8 programı ve www.itol.embl.de aracılığı ile gerçekleştirildi ve moleküler filogenetik soyağacı oluşturuldu. Soyağacı oluştururken Noteridae familyasından *Noterus crassicornis* (HM376195) türü dış grup olarak kullanıldı. Filogenetik ağaç oluşturulurken Bootstrap 1000 metodu kullanıldı. Elde edilen sekans sonuçları neticesinde örneklerimizin COI gen dizilimi ve NCBI kayıtlarından alınan örneklerle benzerliklerine göre yapılan dizi analiz sonuçları oluşturuldu.

Çizelge 1. Dytiscidae familyasına ait örneklerin toplandığı lokalite bilgileri

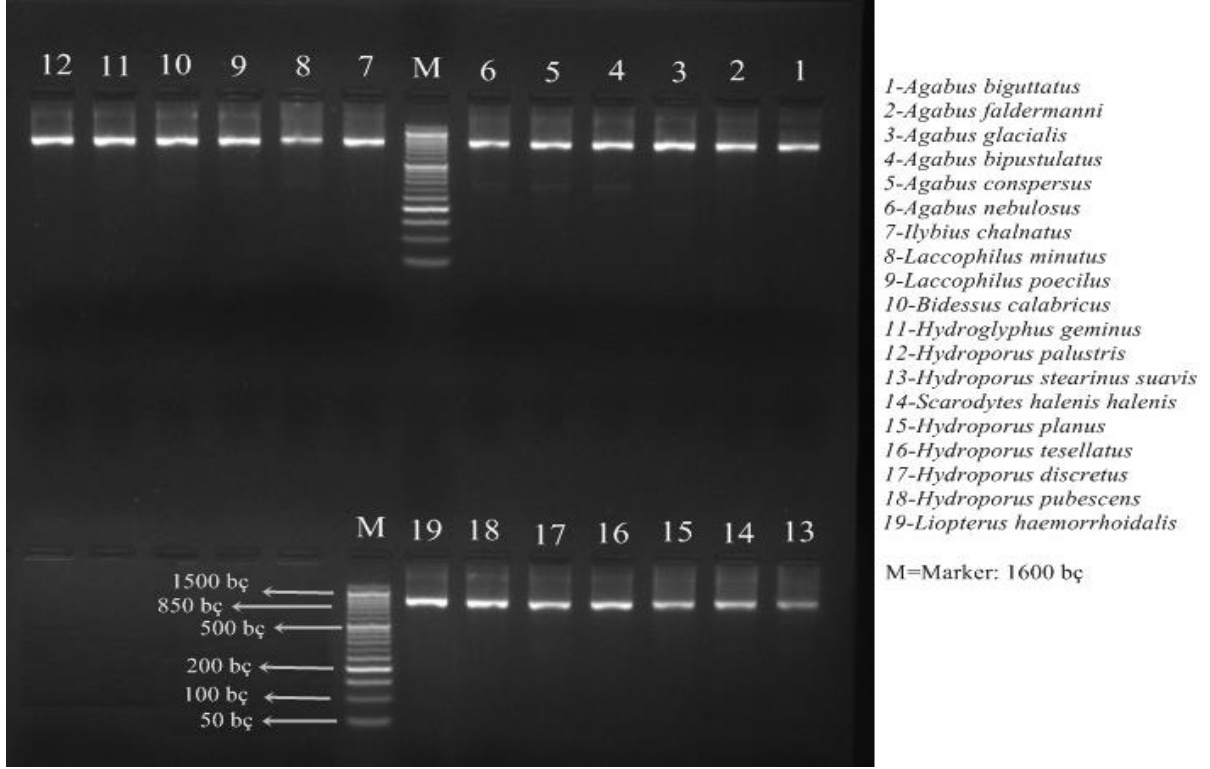
Organizma	Örneğin Toplandığı yer ve tarih	Koordinatlar	Rakım (m)
<i>Agabus biguttatus</i>	Bingöl- Solhan, Yüzen adalar milli parkı, 19.05.2017	38°17'16"N 40°34'44"E	1331
<i>Agabus bipustulatus</i>	Bingöl, Gümülü köyü, 19.09.2016	38°43'18"N 40°48'57"E	1087
<i>Agabus conspersus</i>	Binböl, Genç, Doğanca köyü, 18.09.2016	38°59'53"N 40°55'35"E	1267
<i>Agabus faldermanni</i>	Bingöl, Adaklı, Akbinek köyü, 21.09.2016	39°24'45"N 40°43'10"E	1496
<i>Agabus glacialis</i>	Bingöl, Yedisu, 18.05.2017	39°44'07"N 40°53'55"E	1479
<i>Agabus nebulosus</i>	Diyarbakır, Kocaköy, Gökçe köyü, 24.09.2016	38°33'37"N 40°52'56"E	1175
<i>Bidessus calabricus</i>	Diyarbakır, Eğil, 25.09.2016	38°24'37"N 40°08'53"E	1205
<i>Hydroglyphus geminus</i>	Diyarbakır, Hantepe köyü, 26.09.2016	38°10'23"N 40°17'29"E	923
<i>Hydroporus discretus</i>	Diyarbakır, Tokaçlı köyü, 28.09.2016	37°05'42"N 39°05'59"E	846
<i>Hydroporus palustris</i>	Diyarbakır, Karacadağ dağları - L2, 29.09.2016	37°04'21"N 39°04'06"E	1616
<i>Hydroporus planus</i>	Diyarbakır, Çüngüş, yeniköy köyü, 24.04.2017	38°11'08"N 39°02'55"E	881
<i>Hydroporus tessellatus</i>	Diyarbakır, Çınar, Göksu köyü, 28.04.2017	37°04'47"N 40°26'51"E	670
<i>Ilybius chalconatus</i>	Diyarbakır, Kulp, Savaş köyü, 30.04.2017	38°24'44"N 41°02'13"E	750
<i>Laccophilus minutus</i>	Diyarbakır, Kulp, Yücebağ köyü, 30.04.2017	38°22'05"N 41°02'46"E	735
<i>Laccophilus poecilus</i>	Bingöl, Karlıova, Çatak köyü, 17.05.2017	39°38'42"N 41°03'12"E	1837
<i>Liopterus haemorrhoidalis</i>	Bingöl, Adaklı, Sütlüce köyü, 22.09.2016	39°11'20"N 40°66'15"E	1725
<i>Nebrioporus stearinus suavis</i>	Bingöl, Yamaç beldesi, 19.09.2016	38°27'32"N 40°44'31"E	1375

Bulgular ve Tartışma

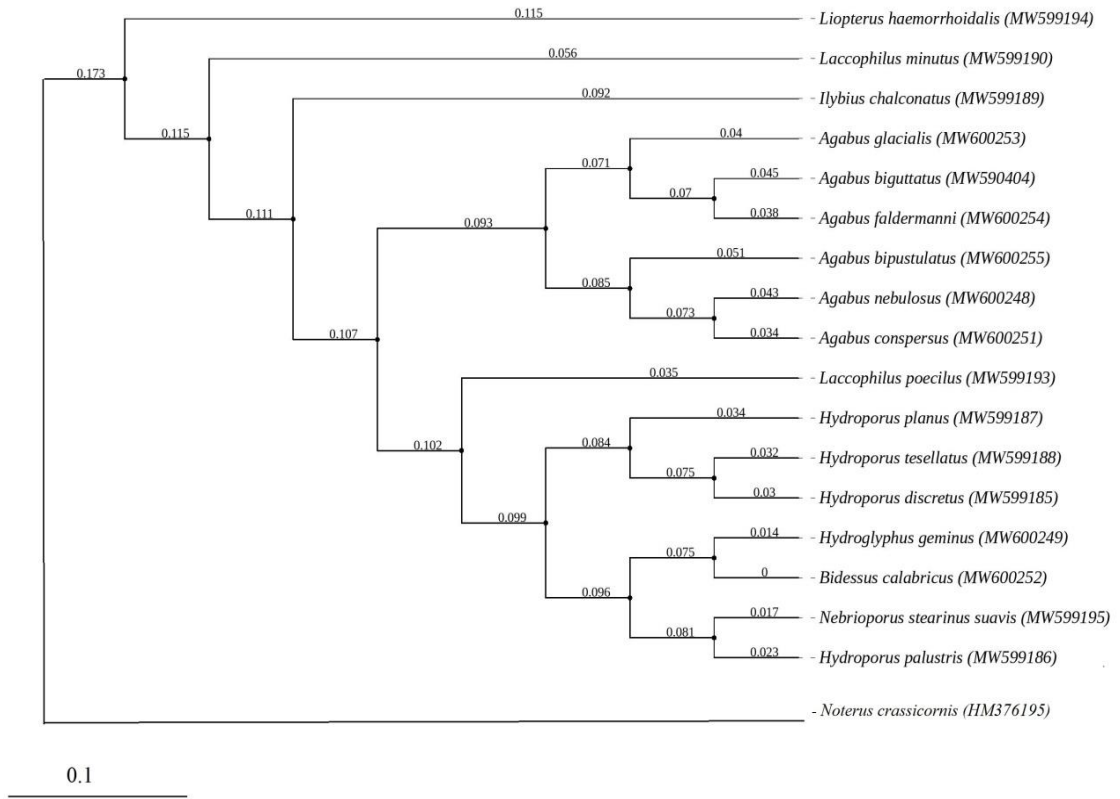
Çalışmamızda Dytiscidae familyasının 7 cinsine ait toplam 17 taksonun mitokondriyal DNA örnekleri PCR yöntemiyle çoğaltıldı ve COI geni çalışılmıştır. PCR sonuçlarında örneklerimizin bant uzunluğu yaklaşık olarak 850 baz çiftine tekabül etmektedir (Şekil 1).

Örneklerimizin DNA sekans dizileri GenBank'a yüklenerek, her örnek için Accession (erişim) numaraları alındı. Örneklerimiz için alınan erişim numaraları, benzerlik oranları, lokalite bilgileri Çizelge 1 ve 2' de verilmiştir. Çalışmamızda her bir örneğe ait COI DNA dizileri ayrı ayrı NCBI Blast'a girilerek veri tabanında kayıtlı böcek türleriyle benzerlik oranları karşılaştırıldı. Analiz sonuçlarına göre; *Agabus faldermanni* (Zaitzev, 1927) sisteme kayıtlı nükleotid dizileriyle %100 örtüşürken, bu değer; *Hydroporus planus* (Fabricius, 1782)'ta %99.88, *Agabus biguttatus*

(Olivier, 1795) ve *Laccophilus minutus* (Linnaeus, 1758)'ta %99.86, *Agabus glacialis* Hochhuth, 1846'da %99.74, *Laccophilus poecilus* Klug, 1834'te %99.46, *Agabus bipustulatus* (Linnaeus, 1767)'ta %99.45, *Agabus nebulosus* (Forster, 1771)'ta %99.21, *Hydroporus discretus* Fairmaire & Brisout, 1859 ve *Ilybius chalconatus* (Panzer, 1796)' ta %99.18, *Agabus conspersus* (Marsham, 1802)'ta %99.02, *Bidessus calabricus* Guignot, 1957'ta %98.94, *Nebrioporus stearinus suavis* (Sharp, 1882)' te %98.79, *Hydroporus tessellatus* (Drapiez, 1819)'ta %97.45, *Liopterus haemorrhoidalis* (Fabricius, 1787)'te %97.23, *Hydroglyphus geminus* (Fabricius, 1792)'te %96.47 ve *Hydroporus palustris* (Linnaeus, 1761)'te %93.54 oranlarında benzerlikler belirlenmiştir (Çizelge 2). Ayrıca örneklerimizden elde edilen DNA sekans dizilerine göre moleküler filogenetik soyağacı oluşturuldu (Şekil 2).



Şekil 1. Çalışma bölgemizde belirlenen türlere ait PCR sonuçları.



Şekil 2. Çalışma bölgemizde belirlenen türlere ait Neighbour Joining (NJ) ağacı

Çizelge 2. Dytiscidae familyasına ait örneklerin Gen Bank erişim numaraları ve nükleotid benzerlik oranları.

Organizma	Gen Bank erişim numarası	Benzerlik Oranı (%)	Nükleotid karşılaştırılması yapılan organizma ve erişim numarası
<i>Agabus conspersus</i>	MW600251	99.02	<i>Agabus conspersus</i> (JQ355171.1)
<i>Agabus nebulosus</i>	MW600248	99.21	<i>Agabus nebulosus</i> (AY138714.1)
<i>Agabus bipustulatus</i>	MW600255	99.45	<i>Agabus bipustulatus</i> (JQ355220.1)
<i>Agabus faldermanni</i>	MW600254	100.0	<i>Agabus faldermanni</i> (LM654880.1)
<i>Agabus glacialis</i>	MW600253	99.74	<i>Agabus glacialis</i> (LM654902.1)
<i>Laccophilus poecilus</i>	MW599193	99.46	<i>Laccophilus poecilus</i> (AY334246.1)
<i>Hydroporus discretus</i>	MW599185	99.18	<i>Hydroporus discretus</i> (HE610202.1)
<i>Hydroporus tesellatus</i>	MW599188	97.45	<i>Hydroporus tesellatus</i> (LT882817.1)
<i>Hydroporus planus</i>	MW599187	99.88	<i>Hydroporus planus</i> (HE610215.1)
<i>Hydroporus palustris</i>	MW599186	93.54	<i>Hydroporus palustris</i> (HQ165020.1)
<i>Nebrioporus stearinus suavis</i>	MW599195	98.79	<i>Nebrioporus stearinus suavis</i> (HF931154.1)
<i>Laccophilus minutus</i>	MW599190	99.86	<i>Laccophilus minutus</i> (JN843524.1)
<i>Ilybius chalconatus</i>	MW599189	99.18	<i>Ilybius chalconatus</i> (JQ356195.1)
<i>Bidessus calabricus</i>	MW600252	98.94	<i>Bidessus calabricus</i> (AJ850572.1)
<i>Hydroglyphus geminus</i>	MW600249	96.47	<i>Hydroglyphus geminus</i> (AM947831.1)
<i>Liopterus haemorrhoidalis</i>	MW599194	97.23	<i>Liopterus haemorrhoidalis</i> (KT876902.1)
<i>Agabus biguttatus</i>	MW590404	99.86	<i>Agabus biguttatus</i> (JQ356189.1)

Sonuç ve Öneriler

Sonuç olarak; çalışmamızda; örneklerimizin yaklaşık olarak 700-850 baz çiftine tekabül eden COI geni çalışılmıştır. Daha önce yapılan çalışmaların ekseri çoğunluğunda COI geni çalışılması ve bu çalışmalarda 600-806 arasında değişen baz çiftinin çalışılması (Balke ve ark. (2007) 2808 bp çalışmışlardır) değerlendirildiğinde, çalışmamızın bu yönü ile daha önce yapılan ve giriş bölümünde sıralanan çalışmaların birçoğu ile örtüştüğü görülmektedir. Çalışmamızda örneklerimizin NCBI'da kayıtlı örneklerle kıyaslandığında yüksek oranda benzerlik olduğu görülmektedir. Ancak *Hydroporus palustris* (Linnaeus, 1761)' te nispeten düşük bir benzerlik oranı elde edilmiştir. Inoda ve Balke (2012) tarafından yapılan bir çalışmada farklı kentlerden toplanan aynı türde 20 COI baz çiftinin %3,18 oranında farklılık gösterdiğini tespit etmişlerdir. Bu bulgu *H. palustris* için elde ettiğimiz %6,46'lık farklılığın kabul edilebilir bir farklılık olduğunu göstermektedir. Dytiscidae familyasına ait katalogta (Nilsson ve Hájek, 2021a) *Hydroporus Clairville*, 1806 cinsine ait *fuscipennis* grubuna dahil edilen; *Hydroporus planus*, *H. discretus* ve

H. pubescens'in filogenetik ağaçta aynı dalda olması ve kuvvetli bir bağa sahip olması çalışmamızda elde ettiğimiz verileri doğrular niteliktedir. Aynı şekilde *Agabus* (Leach, 1817) cinsine ait altı türümüzün filogenetik ağaçta aynı dalda olması ve *Gaurodytes* (Thomson, 1859) alt cinsi, *guttatus* grubuna dahil edilen *Agabus biguttatus*, *A. faldermanni* ve *A. glacialis*'in soy ağacımızda en güçlü bağa sahip türler olarak görülmesi de çalışmamızda elde ettiğimiz moleküler verilerin katalog (Nilsson ve Hájek, 2021a) verileri ile örtüştüğünü göstermektedir. Sonuç olarak yaşa, cinsiyete, çeşitli yaşam koşullarına bağlı olarak organizmaların klasik morfolojik benzerliklerinin bulunduğu tanımlamanın yetersiz kaldığı durumlarda tür teşhisinin doğruluğunu ve güvenilirliğini tespit etmek için moleküler tanımlamanın özellikle Dytiscidae gibi kalabalık familyalar için vazgeçilmez olduğu görülmektedir.

Teşekkür: Bu çalışma Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (DÜBAP) Koordinatörlüğü FEN.17.007 nolu proje ile desteklenmiştir. Destekleri için DÜBAP Koordinatörlüğüne teşekkür

ederiz. Bu çalışma Prof. Dr. Kemal GÜVEN ve Doç. Dr. Medeni AYKUT ortak danışmanlığında yürütülen Ramazan UZEN'in Yüksek Lisans tezinden üretilmiştir.

Çıkar Çatışması Beyanı: Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti: Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan ederler.

Kaynaklar

- Aykut, M. ve Fery, H. 2017. *Scarodytes costatus* nov. sp. from the Bingöl Province in Turkey, the first species of the genus with costate elytra (Insecta: Coleoptera: Dytiscidae: Deronectina). *Linzer biologische Beiträge*, 49: 395-414.
- Aykut, M. ve Taşar, G.E. 2018. Contributions to the knowledge of Adepagan fauna in Adiyaman Province, Turkey (Coleoptera: Dytiscidae, Gyrinidae, Haliplidae and Noteridae). *Munis Entomology&Zoology*, 13: 249-255.
- Aykut, M., Taşar, G.E. ve Fery, H. 2018. *Deronectes taron* sp.n. from the eastern Anatolian region of Turkey (Coleoptera, Dytiscidae, Hydroporinae). *Zootaxa*, 4422 (2): 403-410.
- Aykut, M. 2018. The Diving Beetle Fauna of Diyarbakır and Bingöl Provinces, Turkey (Coleoptera: Dytiscidae) with a New Record. *Pakistan Journal of Zoology*, 50 (1): 65-74.
- Aykut, M., Yıldırım, İ.H., Tusun, S. ve Fery, H. 2019. *Deronectes kabilcevz* sp. n. And *D. Propedoriae* sp. n. From South-eastern Anatolia (Turkey) (Coleoptera, Dytiscidae, Hydroporinae). *Zootaxa*, 4691 (1): 5-10.
- Balke, M., Ribera, I. ve Vogler, A.P. 2004. MtDNA phylogeny and biogeography of Copelatinae, a highly diverse group of tropical diving beetles (Dytiscidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 32: 866–880.
- Balke M., Pons J., Ribera I., Sagata K. ve Vogler A.P. 2007, Infrequent and unidirectional colonization of hyperdiverse *Papuadytes* diving beetles in New Caledonia and New Guinea. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 42: 505–516.
- Darılmaz, M.C. ve Kiyak, S. 2009. Checklist of Gyrinidae, Haliplidae, Noteridae and Dytiscidae of Turkey (Coleoptera: Adepaga). *Journal of Natural History*, 43: 1585-1636.
- Erman, Ö.K. ve Fery, H. 2000. *Hydroporus erzurumensis* sp.n. (Insecta: Coleoptera: Dytiscidae) from north-eastern Turkey. *Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien*, 102B:171–176.
- Erman, Ö.K. ve Erman, O. 2002. First records of *Oreodytes* Seidlitz, 1887 (Dytiscidae, Coleoptera) from Turkey: *Oreodytes septentrionalis* (Gyllenhal, 1826) and *Oreodytes davisii* (Curtis, 1831). *Turkish Journal of Zoology*, 26: 295-299.
- Erman, Ö.K. ve Fery, H. 2006. *Hydroporus neclae* sp.n. from north-eastern Turkey, a new member of the *memnonius*-group of *Hydroporus* Clairville (Coleoptera: Dytiscidae). *Zootaxa*, 1355: 39–47.
- Erman, Ö.K., Taşar, G.E., Aykut, M. ve Kurt, K. 2018. First record of *Hydaticus histrio* Clarck, 1864 (Coleoptera, Dytiscidae) from Turkey. *Acta Biologica Turcica*, 31 (4): 174-177.
- Ertorun, N. Şen, C. ve Biter, E. 2014. Bazı Hydraenidae (Insecta: Coleoptera) Türlerinin Moleküler ve Morfolojik Analizleri. 22. *Ulusal Biyoloji Kongresi*, 23-27 Haziran, Eskişehir, s. 1141.
- Fery, H. ve Erman, O.K. 2009. Five new species of the *longulus*-group of *Hydroporus* Clairville, 1806 from north-eastern Turkey (Coleoptera: Dytiscidae). *Zootaxa*, 2033: 1-12.
- Fery, H. 2009. New species of the *Hydroporus longulus* group from Iran, Armenia and Turkey with a synopsis of the group (Coleoptera: Dytiscidae). *Acta Entomologica Musei NationalisPragae*, 49: 529-558.
- Fery, H. ve Hendrich, L. 2011a. *Hydroporus esersi* sp. n., a new diving beetle from southern Turkey (Coleoptera, Dytiscidae, Hydroporinae). *Zootaxa*, 2909: 38-46.
- Fery, H. ve Hendrich, L. 2011b. *Ilybius enpalaiatheka* spec. nov. from Anatolia, Turkey, with a revised key to males of the *Ilybius erichsoni* and *chalconatus* groups. *Spixiana*, 34: 39-46
- Fery, H. ve Przewoźny, M. 2011. *Ilybius thynias* sp. n. from European Turkey (Coleoptera: Dytiscidae). *Zootaxa*, 2740: 59-67.
- Gustafson, G.T. ve Miller, K.B. 2017. Systematics And Evolution Of The Whirling Beetle Tribe Dineutini (Coleoptera: Gyrinidae: Gyrininae), *Zoological Journal of the Linnean Society*, XX: 1–33
- Hájek, J., Štátný, J., Boukal, M. ve Fery, H. 2011. Updating the eastern Mediterranean

- Deronectes (Coleoptera: Dytiscidae) with the description of two new species from Turkey. *Acta Entomologica Musei NationalisPragae*, 51: 463-476.
- Hernando, C., Aguilera, P., Castro, A. ve Ribera, I. 2012. A new interstitial species of the *Hydroporus ferrugineus* group from north-western Turkey, with a molecular phylogeny of the *H. Memnonius* and related groups (Coleoptera: Dytiscidae: Hydroporinae). *Zootaxa*, 3173: 37-53.
- Inoda, T. ve Balke, M. 2012. Status of Japanese Dytiscus Species (Coleoptera: Dytiscidae) Based On Mitochondrial DNA Sequence Data. *Entomological Science*, 15: 246–249.
- Miller, K.B., Alarie, Y., William Wolfe, G. ve Whiting, M.F. 2005. Association of insect life stages using DNA sequences: the larvae of *Philodytes umbrinus* (Motschulsky) (Coleoptera: Dytiscidae). *Systematic Entomology*, 30: 499–509.
- Miller, K.B. Jean, A., Alarie, Y., Hardy, N. ve Gibson, R. 2013. Phylogenetic placement of North American subterranean diving beetles (Insecta: Coleoptera: Dytiscidae). *Arthropod Systematics & Phylogeny*, 71 (2): 75-90.
- Nilsson, A.N. ve Hájek, J. 2021a. Catalogue of Palearctic Dytiscidae (Coleoptera). World Wide Web Electronic Publication, <http://www.waterbeetles.eu> [accessed 25 February, 2021].
- Nilsson, A.N. ve Hájek, J. 2021b. A world catalogue of the family Dytiscidae (Coleoptera, Adephaga). World Wide Web Electronic Publication, www.waterbeetles.eu [accessed 25 February, 2021].
- Ribera, I., Hogan, J.E. ve Vogler, A.P. 2003. Phylogeny of Hydradephagan Water Beetles Inferred from 18S rRNA Sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 23 (1): 43-62.
- Ribera, I., Nilson, A.N. ve Vogler A.P. 2004. Phylogeny and historical biogeography of Agabinae diving beetles (Coleoptera) inferred from mitochondrial DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 30: 545–562.
- Ribera, I., Vogler, A.P. ve Balke, M. 2007. Phylogeny and diversification of diving beetles (Coleoptera:Dytiscidae). *Cladistics*, 24: 563–590.
- Trizzino, M., Jach, M.A., Audisio, P., Alonso, R. ve Ribera, I. 2013. A molecular phylogeny of the cosmopolitan hyperdiverse genus *Hydraena* Kugelann (Coleoptera, Hydraenidae). *Systematic Entomology*, 38: 192–208.
- Yeşiloğlu, M. 2014. Hatay Yöresindeki *Ochtheiuis* Türlerinin (*Hydraenidae; Coleoptera*) Çeşitliliğinin Mitokondriyal Cox Alt Ünite 1 Geni Hedeflenerek Ortaya Çıkarılması, (Yüksek Lisans Tezi), Mustafa Kemal Üniversitesi, Hatay, s. 41.