

Colymbetes fuscus (Linnaeus, 1758)' un (Dytiscidae: Coleoptera) eşeysel dimorfizmi üzerine SEM, XRD ve PRC Çalışmaları

Medeni AYKUT^{*1}

¹ Dicle Üniversitesi, Ziya Gökalp Eğitim Fakültesi, İlköğretim Bölümü, Fen Bilgisi Eğitimi Anabilim dalı, Diyarbakır

Makale Gönderme Tarihi: 28.10.2016

Makale Kabul Tarihi: 28.11.2016

Öz

Colymbetes fuscus (Linnaeus, 1758), yırtıcı dalgıç böceklerine (Coleoptera: Dytiscidae) ait Colymbetes cinsinin bir türüdür. Sucul ortamlarda yaşayan ve genellikle bütün sucul habitatlara adapte olmuş yırtıcı dalgıç böcekleri akıntıya uyum sağlayan basık vücut yapılarından dolayı iyi yüzücüdürler. Dytiscidae familyası ülkemizde 27 cinse ait 141 tür ile temsil edilirken, çalışmamıza konu olan Colymbetes cinsi ise ülkemizde sadece iki tür ile temsil edilmektedir.

Bu çalışmada Colymbetes fuscus örnekleri (5 dişi, 5 erkek) Diyarbakır ili Eğil ilçesi sınırları içerisinde yer alan Eğil deresinden toplandı. Çalışmamızda erkek ve dişi bireyleri arasındaki bazı farklılıklar gösterilmeye çalışıldı. Bu amaçla; X- Işınlari difraktometresi (XRD), Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ve Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yardımı ile erkek ve dişi bireylerin kanat desenleri, elitralarındaki (dış kanat) kitinin kristal yapıları ve DNAlarının moleküler ağırlıkları karşılaştırıldı.

Yapılan analizler sonucunda; erkek bireylerin kanat desenleri dişi bireylere göre daha muntazam olduğu ve eşkenar altıgen desenler göze çarparken, dişi bireylerde kanat desenlenmelerinin polimorf yapıda olduğu ve altıgen desenlenmelerine ek olarak beşgen ve yedişgen desenlenmelerin de olduğu gözlemlendi. Kanatlarda yüzeyden derinlere inildikçe kitin kristallerinin boyutlarında küçülme ve mikrofibriller arası mesafede azalma tespit edildi. Kitin kristal yapılarının erkek bireylerde dişilere göre biraz daha düzenli olduğu gözlemlendi. Ayrıca moleküler düzeyde eşeysel dimorfizmi belirlemek amacı ile dişi ve erkek bireylerin kas dokusundan izole edilen DNA molekül ağırlıkları incelendi. Bu amaçla iki farklı rastgele primer kullanıldı. Çalışmamızda erkek ve dişiler arasındaki benzerlik katsayısı kullanılan primerlere göre %66 ve %75 olarak belirlendi.

Anahtar Kelimeler: *Colymbetes fuscus, XRD, DNA, SEM, Diyarbakır*

Giriş

Colymbetes fuscus (L., 1758); Palearktik bölgede 15, ülkemizde ise iki tür ile temsil edilen *Colymbetes* Clairville, 1806 cinsine ait bir türdür (Darılmaz ve Kıyak, 2009; Nilsson ve Hájek, 2015). Bu cinsle ait örnekler 11-20 mm büyüklüğe sahiptirler. Yassılaştırmış ve akıntıya uyum sağlamış basık vücut yapılarından dolayı iyi yüzücüdürler. Bu cinsi içinde barındıran Dytiscidae familyası (yırtıcı dalgıç böcekleri), dünyada 143 cins ve yaklaşık olarak 4300 tür ile temsil edilmektedir (Nilsson, 2015). Bu familya Palearktik bölgede 42 cins ve yaklaşık 1100 tür ile ülkemizde ise 27 cins ve 141 tür ile temsil edilmektedir (Gueorguiev, 1981; Nilsson ve Holmen, 1995; Darılmaz ve Kıyak, 2009; Nilsson ve Hájek, 2015).

Yırtıcı dalgıç böcekleri, genellikle bütün sucul habitatlara adapte olmuşlardır. Derin çukurlar, ağaç oyukları, sıcak kaynaklar, acı sular, alkali ve kirli su birikintileri, orman gölleri, bataklıklar, içi su ile dolmuş tekerlek izlerinde ve artezyen kuyularında bile bulunabilirler. Aynı zamanda; yeraltı suları, nehir ve akıntılarının kenarları, kaynakla beslenen küçük dereler gibi habitatlarda bulunduğu gibi, sığ, yabani otları bol olan göller, birikintiler, hendekler ve kaynaklar gibi habitatlarda da mevcuttur. Yırtıcı dalgıç böceklerinin ergin ve larvaları aynı ortamda bulunurlar (Nilsson, 1996).

Böcekler integüment adı verilen bir dış iskelete sahiptirler. İntegüment, böceklerde dayanıklılık, sertlik, madde alış veriş ve renklenmeyi sağlar. Bu yapı kütikula, epidermis ve bazal membran tabakalarından oluşur. İntegümentin dış tabakası olan kütikulanın % 25-60'nı bir polisakkarit olan kitin oluşturur (Güçlü, 1999). Kitin polimorf bir madde olup, böceklerin dış iskeletinde α -, β - ve γ - olmak üzere üç farklı formda bulunabilir. Bu farklı formlar kitin oluşumunda hidrojenlerin (H) bağlanma açısı (Hidratlaşma açısı), birim hücredeki sayıları ve boyutlarına göre değişkenlik gösterirler (Merzendorfer ve Zimoch, 2003). Kitini oluşturan polisakkarit mikrofibriller; kitinin alfa (α) formunda anti paralel, beta (β) formunda paralel dizilirken, gama (γ) formunda iki paralel

sıra arasında tekli anti paralel sıra halinde dizilmişlerdir (Vermeulen ve Wessels, 1986). Böcek dış iskeletinde kitinin her üç formu da bulunur. Yapılan çalışmalarda kitin kristallerinin; $a=4.85 \text{ \AA}$, $b=9.26 \text{ \AA}$, $c=10.38 \text{ \AA}$ (lif eksen), ve $\gamma =97.5^\circ$ boyutlarında ve monoklinik (tekrarlı düzen) yapıda olduğu bildirilmiştir. Bu yapı paralel olmayan kitin mikrofibrillerin kuvvetli hidrojen bağları ile bir arada tutunmaları ile sağlamlık ve sertlik kazanır (Gardner ve Blackwell, 1975). Bütün böcek gruplarında, böcek kanatlarının dış yüzeyine dikkatli bakıldığında kitin kristallerinin oluşturduğu desenler belirgin bir şekilde görülebilir. Bu desenlerin dizilim şekli böcek sistematğinde çok önemli bir yere sahiptir (Güçlü, 1999).

Eşeyssel dimorfizm; bir türün erkek ve dişi bireyleri arasında vücut boyutu ve şekli ile renk veya desenlerinde farklılıklar görülmesi şeklinde tanımlanır. Bütün canlı gruplarında olduğu gibi yırtıcı dalgıç böceklerinde de eşeyssel dimorfizm mevcuttur (Bergsten vd., 2001; Miller, 2003).

Bugüne kadar yırtıcı dalgıç böceklerinin morfolojisi ve sistematığı üzerine sayısız çalışma yapılmıştır. Son dönemlerde klasik morfolojik çalışmalara ek olarak moleküler sistematige ağırlık veren çalışmalar göze çarpmaktadır (Drotz, 2003; Ribera vd., 2002; 2003; Balke vd., 2004; Miller, 2007).

Bu çalışmada; Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM), X -Işınlı Difraktometresi (XRD) ve Polimeraz Zincir Tepkimesi (PCR) yardımı ile *Colmbetes fuscus* türünün eşeyssel dimorfizmi gösterilmeye çalışılmıştır.

Materyal ve Yöntem

Örneklerin Toplanması

Çalışmada *Colymbetes fuscus* türüne ait örnekler (5 dişi, 5 erkek birey) Diyarbakır ili, Eğil ilçesi sınırları içinde bulunan Eğil Deresi'nin vejetasyonlu birikintilerinden (38°24'38N, 40°08'05E, 20.10.2013) 0,5 mm

gözeneğe sahip atraplar yardımıyla toplandı. Böcek örnekleri toplandığı yerde % 70'lik etil alkole alınarak muhafaza altına alındı. Örnekler laboratuvar ortamında önce ince bir fırça yardımı ile temizlendi. Daha sonra ultrasonik temizleyici yardımı ile hassas temizlik yapılarak üzerlerindeki mikro partiküllerden arındırıldı. Örneklerimizin fotoğraflanması stereo mikroskop (Z16 APO, Leica) üzerine yerleştirilen Leica MC190 HD kamera ile yapıldı.

Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

Örneklerimizin kanatlarının dış yüzeyindeki desenlerin ayrıntılı incelenmesi için; kanatlar böcek örneklerinden ayrıldıktan sonra alkol ile yıkayıp kurutuldu. Temizlenen örnekler kurulum işleminden sonra herhangi bir kaplamaya gerek kalmadan Taramalı Elektron Mikroskobunda (Quanta 250 FEG; FEI) düşük vakum ve ESEM modlarında incelemeye alındı.

X- Işınları Difraktometresi (XRD)

Böcek örneklerimizin kanat yapılarını oluşturan kitin moleküllerinin kristal yapılarının incelenmesi amacı ile XRD kullanıldı. Bu işlem için böcek örneklerinden ayrılan kanatlar öğütülmeden incelemeye alındı. Kitin moleküllerinin kristal yapılarına; Cu-K α ışınım ($\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$) donanımlı BRUKER D8 DISCOVER toz difraktometresi yardımı ile 40 kV voltaj ve 40 mA akım altında bakıldı. Elde edilen veriler EVA (EVA, Bruker Corporation) yazılımı kullanılarak uluslar arası toz kırınım verilerine (PDF 00-035-1974; Newtown Square, PA) göre değerlendirildi.

DNA Ekstraksiyonu ve Veri Analizi

PCR çalışmaları için böcek örneklerimizin kanat ve bacak kasları kullanıldı. Kas dokusu sonikatör yardımı ile homojenize edildikten sonra DNA izolasyonuna geçildi. Kas dokusundan DNA moleküllerinin izolasyonu DNA izolsayon kiti (Bio Basic One-4-All Genomic DNA Kit) kullanılarak ve bu kitin talimatları doğrultusunda gerçekleştirildi. İzole

edilen DNA molekülleri iki farklı primer (5'-GAA TGC GAC G ve 5'-ACC GGG AAC G) kullanılarak iki farklı PCR yapıldı. PCR uygulaması şu şekilde gerçekleştirildi: DNA molekülleri denatürasyon (çözülme) için 94 °C'de 5 dakika bekletildi. Daha sonra 94 °C'de 30 saniye, 36 °C'de 30 saniye ve 70 °C'de 30 saniye olacak şekilde 40 döngü ve ardından 10 dakika 72 °C'de bir sıcaklığa tabi tutuldu. Bu işlemlerden sonra PCR ürünleri elektroforezde agaroz jelde yürütüldü.

Çalışmada kullanılan her iki primer için ayrı ayrı değerlendirme yapıldı. Erkek ve dişi bireyler arasındaki benzerlik katsayısı hesaplamaları için; jelde oluşan her DNA bandı için '1', oluşmayan bant için ise '0' değeri verildi. Dişi ve erkek bireyler arasındaki benzerlik katsayısı; $BK_{DE} = 2n_{DE} (n_D + n_E)$ formülü kullanılarak hesaplandı (Butler vd., 1994; Li vd., 2005; Degani, 2013). Formülde n_{DE} ; dişi ve erkek bireylerde oluşan ortak bantları, n_D ; dişi bireylerde oluşan bant sayısını ve n_E ise erkek bireyde oluşan bant sayısını ifade etmektedir. Benzerlik katsayısının hesaplanmasında belirgin olmayan DNA bantları ihmal edilmiştir.

Sonuçlar

Morfolojik ölçüm analizi

Yapılan mikroskobik ölçümlerde, erkek bireylerin [17.05 mm (16.73 - 17.48) n=5] az da olsa dişi bireylerden [16.67 mm (16.36 - 17.25) n=5] daha büyük olduğu tespit edildi.

SEM analizi

Elde edilen SEM görüntülerine göre; erkek bireylerin dış kanatlarındaki desenlerin düzenli altıgen (hegzagonal) yapıda olduğu, bu altıgen desenlerin düzenli dağıldığı, dişi bireylerde ise altıgenlere ek olarak beşgen ve yedigen desenlerin de görüldüğü ve çokgenlerin kenar uzunluklarında eşitliğin olmadığı belirgin bir şekilde görülmektedir (Şekil 1).

XRD analizi

Çalışmada böcek örneklerinden ayıklanıp incelemeye alınan kanatlar herhangi bir ön

işleme tabi tutulmadan direkt olarak XRD de değerlendirildi. Dolayısıyla kanatlardan elde edilen XRD verileri saf olmayan kitinden alındı. Kitinin kristallilik indeksi (CrI) ve CMA değerleri Kristallik eşitliği denklemi (Eşitlik 1) kullanılarak hesaplandı. Eşitlik 1 deki I_{Max} ve I_{Am} sırasıyla; maksimum yansıma şiddeti ve amorf yansıma şiddetini ifade etmektedir. Bu değerler dişi bireylerde; ~591 ve ~243, erkek bireylerde ise 652 ve ~235 olarak hesaplandı (Şekil 2).

Çalışmamızda elde edilen yansıma değerleri ile hesaplanan kristallilik indeksi dişi bireyler için %58,883, erkek bireyler için ise %63,957 olarak hesaplandı. Aynı zamanda kitin mikrofibrilleri arasındaki düzlem mesafesini ifade eden 'd' değerleri de pik 1 ve pik 2 de dişi ve erkek bireylerde farklılık göstermektedir (Tablo 1). Bu değerlere göre; kitin mikrofibrillerinin

düzlemler arası mesafeleri kanadın alt yüzeyine doğru inildikçe azalmaktadır.

$$CrI = \frac{I_{Max} - I_{Am}}{I_{Max}} 100 \quad (1)$$

Çalışmamızda erkek bireylerin kristallilik endeksinin dişi bireylere göre daha iyi olduğu sonucu elde edildi. Bu durum Şekil 1'de verilen SEM görüntülerinde de göze çarpmaktadır. Dişi ve erkek bireylere ait elde edilen XRD pikleri ve bu piklere ait değerler Şekil 2. ve Tablo 1. de verilmiştir. Şekil 2'de görüleceği gibi her iki örnekten elde edilen pikler ilk bakışta benzerlik göstermekle beraber, farklı değerlere sahiptirler. Hem dişi hem de erkek bireylerde kitin verilerinden elde edilen ilk pikin kristal boyutu, ikinci pikin kristal boyutundan daha büyüktür. Bu veri ise kitin kristal boyutunun yüzeyden aşağı inildikçe küçüldüğünü göstermektedir.

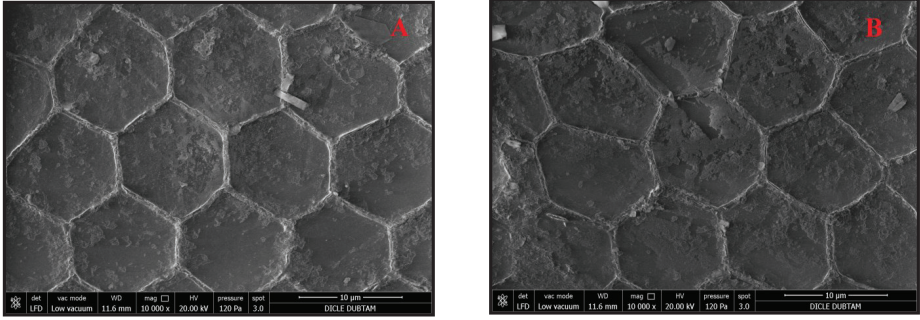
Tablo 1. Kitinin kristal yapısı ile ilgili XRD verileri

Dişi				
	2Theta	d(Å)	Sayısal veri	Kristal boyutu
Pik 1	9.231	9.681	585	97.4
Pik 2	19.579	4.550	591	58.9
Erkek				
Pik 1	9.355	9.316	641	204.1
Pik 2	19.662	4.411	652	79.2
Kaynak PDF: PDF 00-035-1974				

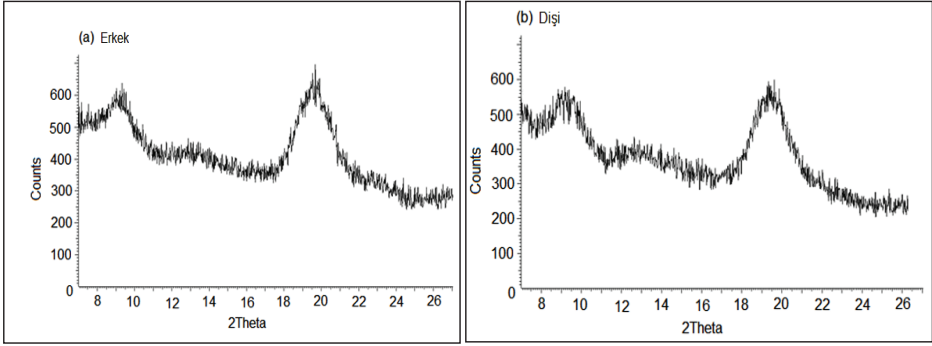
PCR analizi: Erkek ve dişi bireylere ait RAPD-PCR Şekil 3'te verilmiştir. İki random primerden toplam 31 belirgin bant elde edildi. Elde edilen bu bant verilerine göre; erkek ve

dişi bireyler arasındaki benzerlik katsayısı (BK), 5'- GAA TGC GAC G primerine göre; %66, 5' - ACC GGG AAC G primerine göre %75 olarak hesaplandı.

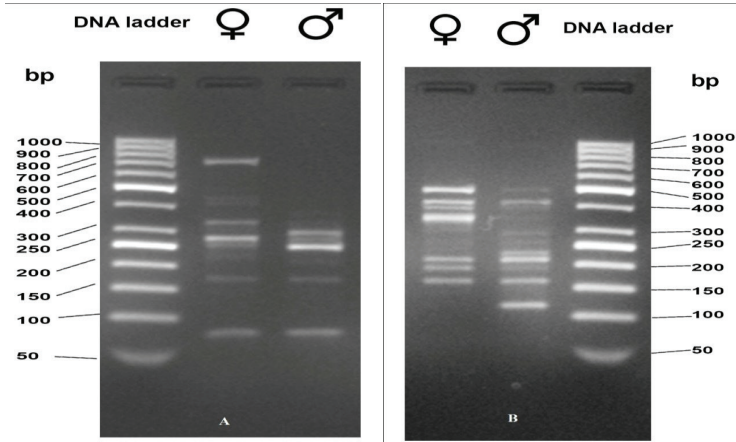
Colymbetes fuscus (Linnaeus, 1758)' un (Dytiscidae: Coleoptera) eşeysel dimorfizmi üzerine SEM, XRD ve PCR çalışmaları



Şekil 1. *Colymbetes fuscus*' un kanat desenlemelerinin SEM görüntüsü, A: Erkek, B: dişi



Şekil 2. Kitin kristallerinin yansıma şiddetleri, a: Erkek, b: Dişi



Şekil 3. 5'-ACC GGG AAC G (A) ve 5'-GAA TGC GAC G (B) primerlerinden elde edilen DNA bantları

Tartışma

X ışınları difraktometresi çalışmaları, kitin moleküllerinin kristalleşme oranının bu moleküllerin bulunduğu ortamdaki yoğunluğu ile doğru orantılı olduğunu göstermiştir (Zia vd., 2008; 2009). Çalışmamızda elde ettiğimiz verilere göre böcek örneklerimizin kın kanatlarında kitin oranının düşük olduğu sonucuna varılabilir. Çalışmamızda elde ettiğimiz kitin konsantrasyonu Uzun ve Çelik (2015) tarafından yapılan çalışma ile uyumluluk göstermektedir. Aynı şekilde erkek ve dişi bireylerin kitin kristal yapılarında elde ettiğimiz farklılıklar daha önce eşey dimorfizmi üzerinde yapılan çalışmalar ile de uyumluluk göstermektedir (Schulte-Hostedde ve Alarie, 2006; Fairn vd., 2007a, b).

Çalışmamızda erkek bireylerin dış kanat desenlerinin dişilere göre daha muntazam halde olduğunu belirledik. Elde ettiğimiz bu veri, dişi bireylerin kanat yapılarının erkek bireylere oranla daha yumuşak (Bergsten vd., 2001) ve erkek kanatlarının dişiyeye göre daha düzenli olduğunu bildiren çalışmalar (Miller, 2002) ile uyumluluk göstermektedir.

Teşekkür

Bu çalışmanın XRD ve SEM ölçümleri, Dicle Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezinde (DÜBTAM) yürütülmüştür. Desteklerinde ötürü DÜBTAM yönetimine ve uzmanlarına teşekkürlerimi sunarım.

XRD analizlerindeki katkılarından dolayı, Dicle Üniversitesi Ziya Gökalp Eğitim Fakültesi, Orta Öğretim Bölümü, Fizik Eğitimi Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. Ömer ÇELİK' e teşekkür ederim.

Kaynaklar

- Bergsten, J., Töyrä, A. & Nilsson, A. N., (2001). Intraspecific variation and intrasexual correlation in secondary sexual characters of three diving beetles (Coleoptera: Dytiscidae), *Biological Journal of the Linnean Society*, 73, 221-232.
- Balke, M., Watts, C. H. S., Cooper, S. J. B., Humphreys, W. F. & Vogler, A. P., (2004). A highly modified stygobiont diving beetle of the genus *Copelatus* (Coleoptera, Dytiscidae): taxonomy and cladistic analysis based on mitochondrial DNA sequences, *Systematic Entomology*, 29 (1), 59-67.
- Butler, M. A., Templeton, A. R. & Read, B., (1994). DNA fingerprinting in Speke's gazelle: a test for genetic distinctness and the correlation between relatedness and similarity, *Molecular Ecology*, 3, 355-361.
- Darılmaz, M. C. & Kıyak, S., (2009). Checklist of Gyrinidae, Haliplidae, Noteridae and Dytiscidae of Turkey (Coleoptera: Adephaga), *Journal of Natural History*, 43, 1586-1636.
- Degani, G., (2009). Genetic variation among various populations of spadefoot toads (*Pelobates syriacus*, Boettger, 1869) at breeding sites in northern Israel, *Advances in Biological Chemistry*, 3, 440-447.
- Drotz, K. M., (2003). Speciation and mitochondrial DNA diversification of the diving beetles *Agabus bipustulatus* and *A. wollastoni* (Coleoptera, Dytiscidae) within Macaronesia, *Biological Journal of the Linnean Society*, 79 (4), 653-66.
- Fairn, E. R., Alarie, Y. & Schulte-Hostedde, A., (2007a). Sexual Size and Shape Dimorphism in *Dineutus nigrior* (Coleoptera: Gyrinidae), *The Coleopterists Bulletin* 61(1), 113-120.
- Fairn, E. R., Alarie, Y., Schulte-Hostedde, A., (2007b). Sexual Size dimorphism in the diving Beetle *Laccophilus maculosus* say (coleoptera: Dytiscidae), *The Coleopterists Bulletin* 61 (3), 409-418.
- Gardner, K. H. & Blackwell, J., (1975). *Refinement of the structure of β -chitin*, *Biopolymers*, 14 (8), 1581-1595.
- Gueorguiev, V. B., (1981). Resultat De L'expedition Zoologique Du Musee National De Prague En Turquie (Coleoptera: Haliplidae, Dytiscidae, Gyrinidae), *Acta Entomologica Musei Nationalis Pragae*, 40, 399-424.

- Li, F. j., Gasser, R. B., Zheng, J. Y., Claes, F., Zhu, X. Q. & Lun, Z. R., (2005). Application of multiple DNA fingerprinting techniques to study the genetic relationships among three members of the subgenus Trypanozoon (Protozoa: Trypanosomatidae), *Molecular and Cellular Probes*, 19, 400–407.
- Merzendorfer, H. & Zimoch, L., (2003). Chitin metabolism in insects: structure, function and regulation of chitin synthases and chitinases, *The Journal of Experimental Biology*, 206, 4393-4412.
- Miller, K. B., (2002). The phylogeny of diving beetles (Coleoptera: Dytiscidae) and the evolution of sexual conflict, *Biological Journal of the Linnean Society*, 79, 359–388.
- Miller, K. B., Alarie, Y. & Whiting, A. F., (2007). Description of the Larva of *Notaticus fasciatus* (Coleoptera: Dytiscidae) Associated with Adults Using DNA Sequence Data, *Annals of the Entomological Society of America*, 100(6), 787-797.
- Nilsson, A. N. & Holmen, M., (1995). Fauna Entomologica Scandinavica, Vol. 32. The aquatic Adephaga (Coleoptera) of Fennoskandia and Denmark. II. Dytiscidae. *Brill EJ. Leiden, Köln*, 192 pp.
- Nilsson, A. N. & Hájek, J., (2014). Catalogue of Palearctic Dytiscidae (Coleoptera). *Internet version 2014-01-01*.
- Nilsson, A. N., (2015). A World Catalogue of the Family Dytiscidae, or the Diving Beetles (Coleoptera, Adephaga), *Internet Version*;1.1. 2015.
- Ribera, I., Hogan, J. E. & Vogler, A. P., (2002). Phylogeny of Hydradephagan Water Beetles Inferred from 18S rRNA Sequences, *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 23 (1), 43-62.
- Ribera, I., Bilton, D. T., Vogler, A. P., (2003). Mitochondrial DNA phylogeography and population history of *Meladema* diving beetles on the Atlantic Islands and in the Mediterranean basin (Coleoptera, Dytiscidae), *Molecular Ecology*, 12 (1), 153-167.
- Schulte-Hostedde, A. & Alarie, Y., (2006). Morphological patterns of sexual selection in the diving beetle *Graphoderus liberus*, *Evolutionary Ecology Research*, 8, 891-901.
- Skoog, D. A., Holler, F. J., Crouch, S. R., (2006). Principles of Instrumental Analysis, *Brooks/Cole Pub. Co., Pacific Grove, California*.
- Uzun, İ. & Çelik, Ö., (2015). Physicochemical Characterization and the Comparison of Chitin and Chitin Modified with Maleic Anhydride, *Oriental Journal of Chemistry*, 31 (2), 619-627.
- Zia, K. M., Bhatti, I. A., Barikani, M., Zuber, M. & Sheikh, M. A., (2008). XRD studies of chitin-based polyurethane elastomers, *International Journal of Biological Macromolecules*, 43 (2): 136-141.
- Zia, K. M., Bhatti, I. A., Barikani, M., Zuber, M., Bhatti, H. N., (2009). XRD studies of polyurethane elastomers based on chitin/1,4-butane diol blends, *Carbohydrate Polymers*, 76 (2), 183–187.

SEM, XRD and PCR studies on sexual dimorphism of *Colymbetes fuscus* (L., 1758), (Dytiscidae: Coleoptera)

Extended abstract

Colymbetes fuscus (Linnaeus, 1758); is member of Genus *Colymbetes* Clairville, 1806. *Colymbetes*; is a small genus represented by 15 species in Palearctic region and only by two species in Turkey. They range in total body length from 11 to 20 mm. Family Dytiscidae that include *Colymbetes* is represented by 143 genera and approximately 4,300 species, which are distributed around the world. In the Palearctic region, it is represented by 15 tribes, 42 genera, and approximately 1100 species. This family is represented by 27 genera and 141 species in our country.

They are generally adapted to all aquatic habitats, and can be found in deep pits, tree cavities, hot springs, bitter waters, alkaline waters, forest lakes, swamps, dirty puddles, wheel tracks filled with water and artesian wells. They are good swimmers due to their flattened bodies. Adults and larvae are located in the same environments.

In this study, some differences between male and female specimens of *Colymbetes fuscus* (Linnaeus, 1758) were illustrated. Male and female Pattern shapes, crystalline sizes of outer surface of wings and DNA molecular weights were compared by using X-Ray Diffractometer (XRD), Scanning Electron Microscope (SEM) and Polymerase Chain Reaction (PCR).

Specimens of *Colymbetes fuscus* were collected from the puddles of Eğil Brook (38°24'38N, 40°08'05E, 20.X.2013, 10 Ex.) that was about to dried, by using a net with a mesh size of 0.5 mm, from Eğil, district of Diyarbakır Province of Southeastern Anatolian Region of Turkey. Beetles were killed with 70% ethanol at spot. Coarse particles of beetles were cleaned with a small paintbrush also minor particles were cleaned with portable ultrasonic cleaner.

Male specimens were slightly larger [17.05 mm (16.73 - 17.48) n=5] than female ones [16.67 mm (16.36 - 17.25) n=5]. Males were also slightly lighter brownish according to females.

According to the SEM images; fly wings patterns of males *Colymbetes fuscus* look like regular hexagonal and uniform distribution of patterns could be seen. Dimensions of male hexagons were approximately at the same size. In female; beside the hexagonal patterns, pentagonal and heptagonal patterns could be seen. The irregularity of female wings patterns could be seen at first glance.

XRD peak of male and female samples; In both samples have two distinct peaks and their appearance is very similar but some values obtained are different. In both samples, the crystal size of the first peak is greater than the crystal size of second peak. Average 2θ values of female and male are 9.293 and 19.62. This shows us that crystal sizes are shrinking.

Representations of the RAPD-PCR profiles produced for male and female *Colymbetes fuscus*; From two random primers a total of 31 bands were defined. The similarity coefficients (SC) between male and female individuals, upon pair wise were 66% for 5'- GAA TGC GAC G primer and 75% for 5' - ACC GGG AAC G primer.

Keywords: *Colymbetes fuscus*, XRD, DNA, SEM, Diyarbakır