



**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



YÜKSEK LİSANS TEZİ

**PETROL REZERVUARLARINDA
MİKROFUNGUSLARIN VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI**

Sedat Berke SÜMER

Biyoloji Anabilim Dalı

Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Programı

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Duygu KADAİFÇİLER**

Haziran, 2020

İSTANBUL

Bu çalışma, 18.06.2020 tarihinde aşğıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı, Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Programında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

Doç. Dr. Duygu KADAİFÇİLER(Danışman)
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakültesi

Prof. Dr. Esra İLHAN SUNGUR
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakültesi

Prof. Dr. Hakan HOŞGÖRMEZ
İstanbul Üniversitesi - Cerrahpaşa
Mühendislik Fakültesi



20.04.2016 tarihli Resmi Gazete’de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, İstanbul Üniversitesi’nin aboneli olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Fen Bilimleri Enstitüsü’nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.

ÖNSÖZ

“Petrol Rezervuarlarında Mikrofungusların Varlığının Araştırılması” başlıklı Yüksek Lisans tezimin gerçekleştirilmesinde değerli fikirleri ile bana yol gösteren ve mikrobiyolojiye olan sevgimi funguslara yönlendirmemde etkili olan danışmanım sevgili Doç. Dr. Duygu KADAİFÇİLER’e tüm kalbimle teşekkürlerimi sunar ve bilim alanındaki danışmanlık yaptığı ilk öğrencisi olmaktan gurur duyarım.

Tez çalışmam sırasında yanımda olan ve değerli fikirleriyle yolumu aydınlatan Prof. Dr. Esra İLHAN SUNGUR’a teşekkürü borç bilirim. Çalışmamda kullandığım örneklerin temini için yardımcı olan Tuğçe TÜCCAR, Duygu ARSLAN ve TPAO Adıyaman Bölge Müdürlüğü’ne teşekkür ederim. Çalışmam sırasında desteğini esirgemeyen çok değerli Esra Merve DİZGE’ye teşekkür ederim.

Her an maddi ve manevi desteklerini hissettiğim annem Tomris Ufuk SÜMER, rahmetli babam Ömer Onur Sümer’e, ağabeyim Oğuz Batuhan SÜMER ile sevgili eşi Emel SÜMER’e ve arkadaşlarım Uğur KARABAYIR ile Ömer Alperen ARSLANTAŞ’a teşekkürü borç bilirim.

Haziran 2020

Sedat Berke SÜMER

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ŞEKİL LİSTESİ	vii
TABLO LİSTESİ.....	viii
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ	x
ÖZET	xi
SUMMARY	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL KISIMLAR.....	2
2.1. PETROLÜN TANIMI VE GENEL ÖZELLİKLERİ	2
2.2. PETROLÜN OLUŞUMU VE ÜRETİMİ	2
2.3. ÜRETİM ATIKSUYUNUN TANIMI VE GENEL ÖZELLİKLERİ.....	4
2.4. ÜRETİM ATIKSUYUNUN ÇEVRE KİRLİLİĞİ ÜZERİNE ETKİSİ.....	4
2.5. PETROL VE ÜRETİM ATIKSUYUNUN MİKROBİYOLOJİSİ	6
3. MALZEME VE YÖNTEM.....	11
3.1. ÜRETİM ATIKSU ÖRNEKLERİNİN ALINMASI	11
3.2. ÜRETİM ATIKSU ÖRNEKLERİNİN MİKROLOJİK ANALİZİ	11
3.2.1. Aerobik Mezofilik Mikrofungus Sayımı	11
3.2.2. Aerobik Mezofilik Mikrofungusların Makroskopik, Mikroskopik Özelliklerinin İncelenmesi ve İzolasyonu	11
3.2.3. İzole Edilen Saf Mikrofungus İzolatlarının Uzun Süreli Olarak Saklanması	12
3.3. MİKROFUNGUSLARIN HÜCRE DIŞI ENZİMATİK AKTİVİTELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ.....	12
3.3.1. Enzimatik Aktivite Deneyleri İçin Taze Kültürlerin Hazırlanması.....	12
3.3.2. Selüloz Aktivitesi.....	13
3.3.3. Jelatinaz Aktivitesi	13
3.3.4. Amilaz Aktivitesi.....	13
3.3.5. Lipaz Aktivitesi	13
3.4. MİKROFUNGUSLARIN CİNS VEYA TÜR DÜZEYİNDE TAYİNİ	14
3.5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	16

3.6. KULLANILAN BESİYERLERİ VE KİMYASAL MADDELER.....	16
3.6.1. Patates Dekstroz Agar Besiyeri	16
3.6.2. Malt Ekstrakt Agar Besiyeri	16
3.6.3. Sabouraud Dekstroz Agar Besiyeri	17
3.6.4. Dikloran Gliserol 18 Agar	17
3.6.5. Czapek Dox Agar Besiyeri	18
3.6.6. Czapek Stok Solüsyonu Hazırlanışı	18
3.6.7. Czapek Yeast Extract Agar	19
3.6.8. %20 Sükrozlu Czapek Yeast Agar Besiyeri	19
3.6.9. Yeast Extract Sükroz Agar Besiyeri	19
3.6.10. Kreatin Sükroz Agar Besiyeri	20
3.6.11. %25 Gliserol Nitrat Agar Besiyeri	21
3.6.12. Karboksimetil Selüloz Agar Besiyeri	21
3.6.13. Jelatin Agar Besiyeri	22
3.6.14. Nişasta Agar Besiyeri	22
3.6.15. Tween 20 ilaveli Temel Besiyeri	23
3.6.16. Laktofenol Pamuk Mavisi Solüsyonu	23
4. BULGULAR.....	24
4.1. ÜRETİM ATIKSUYU ÖRNEKLERİNİN AEROBİK MEZOFİLİK MİKROFUNGUS BAKIMINDAN DEĞERLENDİRİLMESİ	24
4.2. ÜRETİM ATIKSU ÖRNEKLERİNDEN İZOLE EDİLEN MİKROFUNGUSLARIN HÜCRE DIŞI ENZİMATİK AKTİVİTELERİ BAKIMINDAN DEĞERLENDİRİLMESİ	34
4.3. ÜRETİM ATIKSU ÖRNEKLERİNDEN İZOLE EDİLEN MİKROFUNGUSLARIN CİNS VEYA TÜR DÜZEYİNDE TAYİNİ	44
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	54
KAYNAKLAR.....	66
ÖZGEÇMİŞ	87

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1: Petrol oluşum sisteminin unsur ve süreçleri (Yalçın, 2012).	3
Şekil 4.1: G kuyusuna ait üretim atıksu örneğinin (A) DG18 besiyerinde üreme durumu, E kuyusuna ait üretim atıksu örneğinin (B) DG18 besiyerinde üreme durumu.	24
Şekil 4.2: Mikrofunga izolatların tek bir enzimi ya da birden fazla sayıda enzimi üretebilme yeteneklerinin gösterimi.	34
Şekil 4.3: S15 (A), S19 (B), S41 (C) ve S47 (D) kodlu mikrofunga izolatların amilaz aktivitesi.	38
Şekil 4.4: S27 (A), S39 (B), S41 (C) ve S42 (D) kodlu mikrofunga izolatların selülaa aktivitesi.	39
Şekil 4.5: S2 (A), S5 (B), S14 (C) ve S46 (D) kodlu mikrofunga izolatların lipaz aktivitesi.	43
Şekil 4.6: <i>Aspergillus sp.</i> (A) CDA besiyerinde, (B) MEA, (C) CY20S besiyerinde 7 günlük görünümü, (D) Mikroskobik görünümü x 1000.	45
Şekil 4.7: <i>Aspergillus flavus</i> (A) CDA besiyerinde, (B) MEA besiyerinde, (C) CY20S besiyerinde 7 günlük koloni görünümü, (D) Mikroskobik görünümü x 1000.	46
Şekil 4.8: <i>Aspergillus versicolor</i> (A) CDA besiyerinde, (B) MEA besiyerinde, (C) CY20S besiyerinde 7 günlük koloni görünümü, (D) Mikroskobik spor görünümü x 1000.	47
Şekil 4.9: <i>Cladosporium cucumerinum</i> (A) PDA besiyerinde 14 günlük koloni görünümü, (B) Mikroskobik görünümü x 1000.	48
Şekil 4.10: <i>Chaetomium sp.</i> (A) MEA besiyerinde 14 günlük koloni görünümü, (B) Mikroskobik görünümü x 1000.	48
Şekil 4.11: <i>Penicillium chrysogenum</i> (A) CYA besiyerinde, (B) MEA, (C) KSA besiyerinde 7 günlük koloni görünümü, (D) Mikroskobik görünümü x 1000.	49
Şekil 4.12: <i>Penicillium solitum</i> (A) CYA besiyerinde, (B) MEA, (C) KSA besiyerinde 7 günlük koloni görünümü, (D) Mikroskobik görünümü x 1000.	50

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 3.1: <i>Aspergillus</i> cinsine ait türlerin tayininde kullanılan genel makromorfolojik ve mikromorfolojik özellikler.....	14
Tablo 3.2: <i>Penicillium</i> cinsine ait türlerin tayininde kullanılan genel makromorfolojik ve mikromorfolojik özellikler.....	15
Tablo 4.1: A kuyusuna ait AMM koloni sayıları.....	26
Tablo 4.2: B kuyusuna ait AMM koloni sayıları.....	26
Tablo 4.3: C kuyusuna ait AMM koloni sayıları.....	27
Tablo 4.4: D kuyusuna ait AMM koloni sayıları.....	27
Tablo 4.5: E kuyusuna ait AMM koloni sayıları.....	28
Tablo 4.6: F kuyusuna ait AMM koloni sayıları.....	29
Tablo 4.7: G kuyusuna ait AMM koloni sayıları.....	29
Tablo 4.8: Mikrofunga1 izolat1ara verilen kodlar, izolasyonlarının yapıldığı kuyu ve besiyerlerine ait bilgiler.....	30
Tablo 4.8 (devam): Mikrofunga1 izolat1ara verilen kodlar, izolasyonlarının yapıldığı kuyu ve besiyerlerine ait bilgiler.....	31
Tablo 4.8 (devam): Mikrofunga1 izolat1ara verilen kodlar, izolasyonlarının yapıldığı kuyu ve besiyerlerine ait bilgiler.....	32
Tablo 4.8 (devam): Mikrofunga1 izolat1ara verilen kodlar, izolasyonlarının yapıldığı kuyu ve besiyerlerine ait bilgiler.....	33
Tablo 4.9: 53 adet mikrofunga1 izolata1ın amilaz ve selü1az enzimatik aktivitelere ait besiyerlerinde ölçülen ortalama koloni çapı, çökelti çapı, zon çapı ve hesaplanan enzimatik aktivite indeks değeri1eri.....	35
Tablo 4.9 (devam): 53 adet mikrofunga1 izolata1ın amilaz ve selü1az enzimatik aktivitelere ait besiyerlerinde ölçülen ortalama koloni çapı, çökelti çapı, zon çapı ve hesaplanan enzimatik aktivite indeks değeri1eri.....	36
Tablo 4.9 (devam): 53 adet mikrofunga1 izolata1ın amilaz ve selü1az enzimatik aktivitelere ait besiyerlerinde ölçülen ortalama koloni çapı, çökelti çapı, zon çapı ve hesaplanan enzimatik aktivite indeks değeri1eri....	37

Tablo 4.10: 53 adet mikrofungal izolatın lipaz ve jelatinaz enzimatik aktivitelerine ait besiyerlerinde ölçülen ortalama koloni çapı, çökelti çapı, zon çapı ve hesaplanan enzimatik aktivite indeks değerleri.....	40
Tablo 4.10 (devam): 53 adet mikrofungal izolatın lipaz ve jelatinaz enzimatik aktivitelerine ait besiyerlerinde ölçülen ortalama koloni çapı, çökelti çapı, zon çapı ve hesaplanan enzimatik aktivite indeks değerleri.	41
Tablo 4.10 (devam): 53 adet mikrofungal izolatın lipaz ve jelatinaz enzimatik aktivitelerine ait besiyerlerinde ölçülen ortalama koloni çapı, çökelti çapı, zon çapı ve hesaplanan enzimatik aktivite indeks değerleri.	42
Tablo 4.11: İzole edilen mikrofungusların cins veya tür adı, izolat kodları ve sayıları.	44



SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
----------	----------

%	: Yüzde
°C	: Santigrat derece
±	: Standart sapma

Kısaltmalar	Açıklama
-------------	----------

mm	: Milimetre
cm	: Santimetre
m	: Metre
mg/L	: Litre başına miligram
µl	: Mikrolitre
ml	: Mililitre
L	: Litre
spp.	: Türler
AMM	: Aerobik mezofilik mikrofungus
PDA	: Patates dekstrozu agar
SDA	: Sabouraud dekstrozu agar
CDA	: Czapek dox agar
MEA	: Malt ekstrakt agar
DG18	: Dikloran gliserol 18 agar
CMC	: Karboksimetil selüloz agar
JA	: Jelatin agar
NA	: Nişasta agar
CYA	: Czapek yeast extract agar
CY20S	: %20 Sükrozlu Czapek yeast agar
G25N	: %25 Gliserol nitrat agar
YES	: Yeast extract sükroz agar
KSA	: Kreatin sükroz agar

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

PETROL REZERVUARLARINDA MİKROFUNGUSLARIN VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

Sedat Berke SÜMER

İstanbul Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman : Doç. Dr. Duygu KADAİFÇİLER

Üretim atıksuyu, petrol ve doğalgazın yer altında sahip olduğu su ve çıkarılmaları sırasında kullanılan suyun karışımıdır. Yüzeye çıkarılan petrolün birkaç katı hacimde olabilen bu üretim atıksuları yapılarında hidrokarbon bileşiklerini, tuz ve çeşitli mineralleri içerirler. Üretim atıksuları mikroorganizmaların canlılığı için yüksek tuzluluk oranı ve ağır metallerin varlığı gibi olumsuz yaşam koşullarına sahip olmasına rağmen mikrofungusların bu şartlara uyum sağladığı bilinmektedir. Son yıllarda yapılan araştırmalarda üretim atıksularından izole edilen *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Mucor*, *Penicillium*, *Rhizopus* ve *Trichoderma* cinsi mikrofungusların petrol hidrokarbonlarının parçalanmasında kullanılabileceği bildirilmiştir.

Bu çalışmada Adıyaman ilinde bulunan farklı petrol sahalarındaki 7 adet petrol kuyusuna ait üretim atıksularında 5 farklı besiyeri (PDA, SDA, CDA, MEA ve DG18) ve yüzeye yayma ekim yöntemi kullanılarak kültüre edilebilir mikrofungusların varlığı, toplam koloni sayıları, çeşitliliği ve izole edilen mikrofungusların amilaz, selülaz, lipaz ve jelatinaz enzim aktivite indeks değerleri araştırılmıştır. Bu kapsamda örnekleme yapılan tüm petrol kuyularında mikrofungus varlığı saptanmıştır. Ekim yapılan besiyerleri içerisinde en fazla tür çeşitliliğinin sırasıyla CDA, DG18, PDA, SDA ve MEA besiyerlerinde olduğu saptanmıştır. 7 farklı üretim atıksuyu örneğinden toplam 53 adet mikrofungus izole edilmiş ve bu izolatların 43'ünün amilaz ve selülaz, 23'ünün lipaz enzimi ürettiği tespit edilmiştir. İzole edilen 53 adet mikrofungal izolatın 26 adedi *Aspergillus versicolor*, 8 adedi *Penicillium chrysogenum*, 7 adedi *Penicillium solitum*, 4 adedi *Aspergillus flavus*, 3 adedi maya, 2 adedi spor oluşturmeyen fungus, 1 adedi

Aspergillus sp., 1 adedi *Chaetomium sp.* ve 1 adedi *Cladosporium cucumerinum* olarak tayin edilmiştir.

Elde edilen sonuçlar Adıyaman ilinde bulunan farklı petrol sahalarına ait petrol üretim atıksularında mikrofungal biyoçeşitliliğin mevcut olduğunu, izole edilen mikrofungusların endüstriyel açıdan önemli bazı hücre dışı enzimleri üretebilme yeteneklerine sahip olduklarını, enzimatik aktivite indeks değerlerinin suşa bağlı olarak değişkenlik gösterebildiğini ve metabolik açıdan farklı mikrofungusların izolasyonunda farklı besiyeri kullanımının gerekli olduğunu vurgulamaktadır.

Haziran 2020, 101 sayfa.

Anahtar kelimeler: MİKROFUNGUS, PETROL KUYUSU, ÜRETİM ATIKSUYU



SUMMARY

M.Sc. THESIS

THE INVESTIGATION OF THE PRESENCE OF MICROFUNGI IN PETROLEUM RESERVOIRS

Sedat Berke SÜMER

İstanbul University

Institute of Graduate Studies in Science and Engineering

Department of Biology

Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Duygu KADAİFÇİLER

Produced water is a mixture of oil and natural gas that has water underground and the water used during extraction. These produced waters, which can be several times the volume of petroleum extracted to the surface, contain hydrocarbon compounds, salt and various minerals in their structures. Although produced water has unfavourable living conditions such as high salinity rate and presence of heavy metals for the viability of microorganisms, microfungi are known to adapt these conditions. Studies made in recent years, it has been reported that *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Mucor*, *Penicillium*, *Rhizopus* and *Trichoderma* microfungi genres which isolated from produced water can be used for the breakdown of petroleum hydrocarbons.

In this study, the presence, total colony number and diversity of the culturable microfungi that can be cultivated by using spread plate method in 5 different media (PDA, SDA, CDA, MEA and DG18) and also amylase, cellulase, lipase and gelatinase enzyme activity index values of isolated microfungi were investigated in 7 oil wells in different oil fields in Adıyaman province. In this context, the presence of microfungi was determined in all oil wells sampled. Among cultivated media it was determined that the highest species diversity is in CDA, DG18, PDA, SDA and MEA media, respectively. A total of 53 microfungi were isolated from 7 different produced water samples and 43 of these isolates produced amylase and cellulase and 23 of them produced lipase enzymes. Of the 53 isolated microfungal isolates, 26 are *Aspergillus versicolor*,

8 are *Penicillium chrysogenum*, 7 are *Penicillium solitum*, 4 are *Aspergillus flavus*, 3 are yeast, 2 are non-sporulating fungus, 1 is *Aspergillus* sp., 1 is *Chaetomium* sp. and 1 of them was identified as *Cladosporium cucumerinum*.

The obtained results emphasizes that microfungal biodiversity is present in oil production wastewater of different oil fields in Adıyaman province, that the isolated microfungi have the ability to produce some industrially important extracellular enzymes, the enzymatic activity index values can vary depending on the strain and use of different media is necessary for the isolation of metabolically different microfungi.

June 2020, 101 pages.

Keywords: MICROFUNGUS, OIL-WELL, PRODUCED WATER



1. GİRİŞ

Petrol ve doğalgazın eldesi sırasında ortaya çıkan üretim atıksuları, petrol rezervuarlarının jeolojik oluşumu ve coğrafi lokasyonuna bağlı olmak üzere yapılarında petrol hidrokarbonları ve ağır metaller gibi çevre kirleticilerini barındırır (Bader, 2007; Chikwe ve Okwa, 2016). Her petrol rafinerisinde bu üretim atıksularındaki kirleticilerin giderilmesi için farklı yöntemler uygulamasına rağmen yine de bir kısım üretim atıksuyu doğrudan toprağa veya açık denizlere deşarj edilmektedir (Hasan ve diğ., 2016). Bu kirleticilerin doğadan uzaklaştırılmasındaki ilk adım da mikroorganizmaların çevreye zararlı özellikteki petrol hidrokarbonlarını parçalaması veya metabolize etmesidir (Odjegba ve Atebe, 2010; Achal ve diğ., 2011). Mikroorganizmaların enzimleri aracılığıyla çevresel ortamlarda bulunan toksik bileşikler tamamen ortadan kaldırması ya da daha zararsız hale dönüştürmesi gibi yararlarının yanında; petrol kuyularında meydana gelen petrolün mikrobiyolojik degradasyonu petrolün kalitesinde azalmaya ve ekonomik olarak zarara sebep olmaktadır (Wenger ve diğ., 2002).

Yurt dışında petrol rezervuarları veya petrolle kirlenmiş çevrelerde bakteri ve fungus gibi mikroorganizmaların varlıkları, metabolizmaları ve ekolojileri üzerine çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Wemedo ve diğ., 2009; Okunbowa ve diğ., 2011; Chaudhry ve diğ., 2012; Al-Jawhari, 2014; Zafra ve diğ., 2014). Ülkemizde petrol rezervuarlarına yönelik çalışmalar kısıtlı olmakla birlikte sadece bakteriyolojik analizler üzerinedir (Coral ve Karagöz, 2005; Balk, 2007; Avcı ve Dönmez, 2008; Hoşhan ve diğ., 2008; Erdoğan ve diğ., 2012; Tüccar ve diğ., 2019). Fakat mikrofungusların petrol rezervuarlarındaki ve/veya petrolle ilişkili çevrelerdeki varlığını bildiren bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu kapsamda Adıyaman ilinde bulunan 7 adet petrol kuyusuna ait üretim atıksu örneklerinde klasik kültür yöntemleri ile mikrofungusların varlığının araştırılarak toplam koloni sayılarının ve biyoçeşitliliğinin saptanması, izole edilen mikrofungusların amilaz, selüloz, lipaz ve jelatinaz gibi temel hücre dışı enzimatik aktivite indeks değerlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Türkiye’de ilk olma özelliği taşıyan çalışmamız, yurt içi ve yurt dışında yapılabilecek petrol ve petrolle ilişkili çalışmalarda araştırmacılara bilgi sağlaması açısından önem arz etmektedir.

2. GENEL KISIMLAR

2.1. PETROLÜN TANIMI VE GENEL ÖZELLİKLERİ

Latince petro (taş) ve oleum (yağ) kelimelerinden oluşan petrol kelimesi taşıyağı anlamına gelmektedir. Petrol, yerküre altında bitki ve hayvan kalıntılarının, anaerobik koşullar, optimum ısı ve basınç altında meydana gelmesiyle oluşan yanıcı ve heterojen özellikteki bir sıvıdır (Özyürek, 2016).

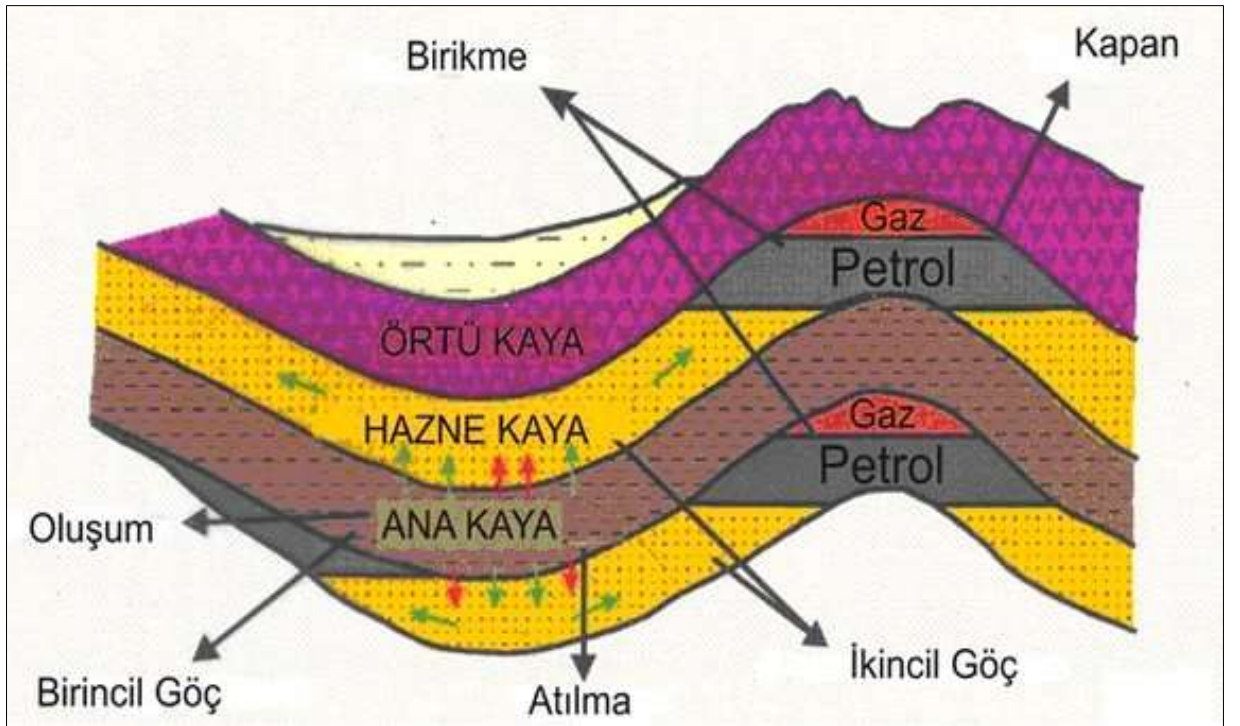
Element bileşiminde genel olarak ham petrol yaklaşık %84 oranında karbon, %14 hidrojen, %1-3 arasında sülfür ve %1'den daha az nitrojen, oksijen, metal ve tuz olmak üzere diğer elementleri ihtiva eder (Freudenrich, 2001). Aynı zamanda hidrokarbon olan petrolün yapısı alifatik ve aromatik hidrokarbonlar olarak ikiye ayrılır. Petrol çeşitlerine göre miktarı farklı olmakla birlikte hidrokarbonlar, yalnızca karbon ve hidrojen atomlarından oluşur. Bununla birlikte hidrokarbon bileşimi moleküler ağırlık ve kimyasal yapı olarak büyük farklılıklar gösterebilir (Özyürek, 2016).

Petrol katı, sıvı ve gaz hallerinde bulunabilir. Ham petrol olarak adlandırılan rafine edilmemiş petrol sıvı formda olup ticari açıdan en önemli olan petroldür. Gaz halindeki petrol doğal gaz, ağır hidrokarbon ve katrandan oluşan petrol ise katı haldeki petroldür. Katı haldeki petrol özelliklerine ve kullanımına göre asfalt, zift, katran gibi isimler de alır (Devlet Planlama Teşkilatı, 2007).

2.2. PETROLÜN OLUŞUMU VE ÜRETİMİ

İçerisinde petrol oluşan çökel kayalara ana kaya denir (Devlet Planlama Teşkilatı, 2007). Petrol ve doğalgaz yeterli miktarda organik madde içeren ana kayaların derinlere gömülmesi ile birlikte artan sıcaklığın sonucunda organik maddenin kimyasal değişimler geçirmesiyle oluşur. Derinlik arttıkça sıcaklığın 60-70 °C olduğu seviyelerde petrol, gömülmenin devam etmesiyle de sıcaklığın 100-120 °C'ye ulaşması sonucunda doğalgaz oluşur. Göç olarak adlandırılan hareketinde petrol ve doğalgaz ana kayadan hareketine başlar. Göç süresince petrol ve doğalgaz, gözenekli geçirgenliğe ve bu gözeneklerinde suya sahip hazne kayalar boyunca yukarı doğru hareket eder. Bu hareketin nedeni petrol ve doğalgazın özgül ağırlığının sudan

daha küçük olmasıdır. Göç hareketi, petrol ve doğalgazın birikebileceği koşullara sahip “kapan” adı verilen yerlere kadar devam eder. Kapan oluşumu için petrol ve doğalgazın yukarıya doğru hareketine izin vermeyen geçirimsiz örtü kayaya, petrol ve doğalgazın birikebileceği bir hazne kayaya ihtiyaç vardır. Bu şartlar sağlandığında petrol ve doğalgaz birikmeye başlar ve petrol-doğalgaz yatakları oluşur (Yalçın, 2012). Petrol ve doğalgaz göç ettiği gözenekli kayalar içerisinde su ile düşey olarak yer değiştirmeye başlar. Bu olaya da petrolün ikincil göçü denir (Şekil 2.1) (Devlet Planlama Teşkilatı, 2007).



Şekil 2.1: Petrol oluşum sisteminin unsur ve süreçleri (Yalçın, 2012).

Üretim kuyularından çıkarılması hedeflenen petrol, yeraltında yüksek basınca sahip ise açılan kuyudan kendi enerjisi ile yüzeye gelir. Bulunduğu rezervuarındaki basınç yeterli değil ise pompalar yardımı ile çıkarılır. Üretim kuyularındaki petrolün pompaların yardımı ve doğal enerjisi ile çıkarılan üretime birincil üretim denir. Dünyada en sık kullanılan pompa cinsi atbaşı pompalarıdır. Türkiye’de de bu üretimde dünyaya paralel olarak atbaşı pompalar kullanılır. İkincil üretim yöntemleri ise rezervuara su, karbondioksit, çeşitli kimyevi maddeler, buhar ve hidrokarbonların enjekte edilmesine yöneliktir (Tüccar, 2011). Bu kuyularda petrolle birlikte üretilen formasyon suları da 1996 yılından bu yana Petrol İşleri Genel Müdürlüğü’nden alınan enjeksiyon izinleri ile yeraltına geri basılmaktadır (Devlet Planlama Teşkilatı, 2001).

2.3. ÜRETİM ATIKSUYUNUN TANIMI VE GENEL ÖZELLİKLERİ

Yer altında bulunan petrolün eldesi sırasında kullanılan basınçlı su ve buhar, hidrokarbonların altındaki doğal su katmanıyla birleşerek yeryüzüne çıkmakta ve üretim atıksuyunu oluşturmaktadır. Yüze çıkkan bu su bazı durumlarda petrolün birkaç katı miktarda olabilmektedir (Ahmadun ve diğ., 2009). Üretim atıksuyu organik ve inorganik maddelerin karışımından meydana gelmektedir. Petrolün çıkarıldığı bölgenin jeokimyasal özelliklerine ve petrolün eldesi sırasında kullanılan suyun kimyasal yapısına bağlı olarak oluşan üretim atıksuyunun yapısında değişkenlik göstermektedir. Üretim atıksuyu yapısı itibariyle çok sayıda ve farklılıkta kompleks organik ve inorganik kimyasallar içerir (Yeung, 2010). Fakat genel olarak üretim atıksuları benzen, fenol, yüksek miktarda tuz, çözünmüş ve askıda hidrokarbonlar, hidrojen sülfid, radyoaktif maddeleri ve bunların yanında kalsiyum, arsenik ve radyum gibi elementleri de içerir (Reis, 1992; McCormack ve diğ., 2001). Petrol çıkarma teknolojisine, rezervuar özelliklerine ve petrol çıkarma hızına bağlı olarak oluşan üretim atıksuyunun miktarı değişmektedir. Petrol kuyularında, üretilen her varil petrol başına üç veya dört varil atıksu oluşmaktadır (Ahmadun ve diğ., 2009). Çin’de yılda 50 milyon ton üretim atıksuyu olduğu rapor edilmiştir (Qiao ve diğ., 2008). Amerika’da, üretimden kaynaklanan atıksuyun hacmi, üretilen petrol hacminin sekiz katıdır. Amerikan Petrol Enstitüsü, tarafından yılda 15 milyar varilin üzerinde üretim atıksuyu üretildiği belirtilmiştir (API, 1997).

Doğalgaz üretimi sırasında oluşan üretim atıksuyu, deniz suyuna oranla 14 kat daha fazla klorid içermekte ve petrol sahalarında oluşan üretim atıksularına kıyasla daha asidik olup uçucu bileşen yoğunluğu da daha fazladır. (Utvik, 2003; Faksness ve diğ., 2004).

2.4. ÜRETİM ATIKSUYUNUN ÇEVRE KİRLİLİĞİ ÜZERİNE ETKİSİ

Karmaşık yapısı ve içinde barındırdığı potansiyel kirleticilerle üretim atıksuyu bırakıldığı çevrenin ekosistemi üzerinde olumsuz etkiler yaratabilir. Üretim atıksuyundaki hidrokarbon konsantrasyonunun sığ su deşarjlarına yakın bentik topluluklardaki tür çeşitliliğini etkilediği bilinmektedir (Middleditch, 1984; Neff, 1987). Neff ve diğ. (1989) kıyı sularındaki toplam petrol hidrokarbon konsantrasyonunun; kıyı deşarjında deşarj noktasından 300 m mesafeye kadar, kıyından uzakta yapılan deşarjlarda ise 100 m öteye kadar etkili olduğunu belirtmiştir. Hum ve diğ. (2006) üretim atıksularının yeraltına deşarjının uzun vadede su ortamlarındaki biyota, yüzeydeki flora ve fauna için olumsuz etkilerinin olabileceğini belirtmiştir.

Sadece hidrokarbon oranıyla bile üretim atıksuyu birçok organizma üzerinde ölümcül etkiye sahiptir. Paine ve diğ. (1992) balık larvalarının üretim atıksuyuna kısa süreli maruz kaldıklarında 1.3 mg/L hidrokarbon konsantrasyonunun ölümcül, 0.13 mg/L hidrokarbon konsantrasyonun ise toksik etkileri olduğunu bildirmiştir. Bazı çalışmalar üretim atıksuyundaki hidrokarbonun deniz canlılarında üreme ve gelişim süreçlerini olumsuz etkilediğini (Nicolas 1999; Meier ve diğ., 2007), biyokimyasal ve hormonal değişikliklere (Schwaiger ve diğ., 2002) ve genetik deformasyona (Aas ve diğ., 2000) sebep olduğunu ortaya koymuştur. Üretim atıksuyu, içeriğindeki hidrokarbonun dışında yüksek tuz oranıyla da karides ve golyan balıklarında olumsuz etkileri olmaktadır (Pillard ve diğ., 1999).

Üretim atıksuyundaki bazı maddeler kolayca metabolize edilebilir veya yıkıma uğrayabilir. Bu durum sudaki kontaminantların giderilmesi, enjeksiyon öncesi veya tahliye sonrası çevreye zararlı etkilerini azaltabilir. Bu amaç doğrultusunda üretim atıksuyunda bulunan hidrokarbon ve kirliliklerin giderilmesi için çeşitli arıtma metotları geliştirilmiştir. Elektrokimyasal arıtım, membran filtrasyon, biyolojik arıtım, kimyasal koagülasyon bu metotlara örnek olarak verilebilir (Nalbur ve Karaelli, 2019). Membran filtrasyon işlemlerinden; ultrafiltrasyon, mikrofiltrasyon, nanofiltrasyon ve ters osmoz özellikle petrol ve doğalgaz üretim atıksularının arıtımında tercih edilmektedir (Erdem, 2010; Kaya ve diğ., 2018). Mikrofiltrasyon ile ultrafiltrasyon, nanofiltrasyon ve ters osmoz için atıksudaki askıda katı maddeleri ve bulanıklığı düşürmek için bir ön arıtma olmaktadır (Erdem, 2010). Son yıllarda gelişen çevreci bilinç ve sıkı deşarj standartları sonucunda üretim atıksularının arıtılması ile tekrar endüstriyel ve tarımsal uygulamalarda kullanılması uygun hale gelmiştir (Vlasopoulos ve diğ., 2006). Nitekim 2009 yılında 42 milyar L'ye yakın arıtılmış üretim atıksuyu tarımsal amaçlarla kullanılmıştır (Tiedeman, 2006). Çalışmalar Kern Nehri petrol sahasından arıtma metotları uygulanmış günlük 760.000 varil (1 varil = Yaklaşık 120 L) üretim atıksuyunun Kaliforniya'da bir su hizmeti sağlayıcısına gönderilerek burada diğer kaynaklardan gelen sular ile karıştırılarak sulamalarda kullanıldığını göstermektedir (Onishi 2014).

Ülkemizde Kaya ve diğ. (2018), yaptıkları çalışmada petrol ve doğalgaz üretimi yapan tesisten aldıkları atıksuyunun arıtılması için ardışık kesikli reaktör sistemini kullanmıştır. Doğalgaz üretim sahasındaki atıksuyun yüksek tuzluluk içeriğinden ötürü biyolojik arıtılabilirliğin düşük seviyelerde olduğu görülmüştür. Petrol üretim atıksuyunun arıtımında ise ortalama kimyasal

oksijen ihtiyacı giderim veriminin %68 seviyesine ulaştıklarını bildirmişlerdir. Nalbur ve Karaelli (2019), akaryakıtsu kirliliği kontrolü depolama tesisinden kaynaklanan atıksuyunun arıtımında kullandıkları asit kraking metodunun atıksularında kirletici olarak görülen kimyasal oksijen ihtiyacı giderim verimini %94, askıda katı madde giderim verimini %96 ve yağ gres giderim verimini %98 olarak tespit etmişlerdir.

Her ülkede farklı olmakla birlikte Türkiye’de üretim atıksularının deşarjı “Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği: Petrol Sanayii (Hidrokarbon Üretim Tesisleri)” yönetmeliğinde belirlenen limit değerleri sağlanacak şekilde yapılmaktadır (T.C. Resmi Gazete, 31 Aralık 2004, sayı: 25687).

2.5. PETROL VE ÜRETİM ATIKSUYUNUN MİKROBİYOLOJİSİ

Üretim atıksuyu yüksek hidrokarbon içeriğiyle bazı canlılar üzerinde olumsuz etki yaratırken, bazı mikroorganizmalar da bu duruma uyum sağlayabilmiştir. Hidrokarbonla kirlenmiş çevrelerde yaşayan bu mikroorganizmalar aromatik hidrokarbonları biyolojik olarak yıkma yeteneği geliştirmiştir (Atlas and Cerniglia, 1995; Van Hamme ve diğ., 2003). Petrol hidrokarbonlarını parçalayan mikroorganizma türlerinde başı çeken bakteri ve funguslar genellikle deniz, tatlı su ve toprak habitatlarında bulunmaktadır (Atlas, 1981; Dutta ve Singh, 2016).

Petrol ve türevleri gibi doğaya zararlı etkileri bulunan maddelerin mikroorganizmalar tarafından parçalanmasına mikrobiyal biyoremediasyon denmektedir. Geniş alanlarda uygulama açısından kolay, ucuz bir teknik olup kirleticinin kısmen veya tamamen ortadan kaldırılmasını sağlamaktadır (Odjegba ve Atebe, 2010; Achal ve diğ., 2011). Ancak hidrokarbon kirleticilerinin mikrobiyal yıkımı genellikle çok yavaş bir süreç olup pH, sıcaklık, besin ve uygun mikrobiyal topluluğa bağlıdır (Akpoveta ve diğ., 2011). Bazı halofilik bakteriler, maya ve filamentöz morfolojideki funguslar hidrokarbonları besin olarak kullanma yeteneğinden ötürü üretim atıksularının arıtılmasında tercih edilmiştir (Xie ve diğ., 2016). Bakterilere kıyasla funguslar düşük pH, düşük nem ve yüksek sıcaklık gibi olumsuz çevre şartlarında da üreyebilir (Cerniglia ve diğ., 1992). Mikoremediasyon olarak tanımlanan bu süreçte funguslar hidrokarbon bileşiklerini sitokrom P450 monooksijenaz, nitroredüktaz ve transferaz gibi intraselüller enzimlerinin yanında lakkaz ve mangan peroksidaz gibi hücre dışı enzimleri ile parçalayabilmektedir (Harms ve diğ., 2011; Vanishree, 2014a). Bunların dışında

funguslar selüloz ve lignin bozulmasına katılan enzimleri sentezleme yetenekleri ile aromatik yapılar da dahil olmak üzere birçok kompleks yapıyı parçalayabilir (Potin ve diğ., 2004).

Hidrokarbonların mikroorganizmalar tarafından tüketilip dönüştürülmesi petrol kalitesinin düşmesine ve metal boru yüzeylerinde korozyon sorununa da yol açmaktadır. Mikrobiyal korozyon denilen bu olayda mikroorganizmaların metabolik aktiviteleri sonucu oluşan organik ve inorganik asitler, hidrojen sülfür ve amonyak gibi uçucu bileşikler metal yüzeylerde korozyona sebep olmaktadır. Nitekim yakıtların depolandığı tanklarda hidrokarbonların biyolojik yıkımı sonucunda lokal korozyon gerçekleşmektedir (Stowe, 1995; Hill, 2003). Mikroorganizmaların korozif etkileri bulundukları ortamdaki besinin elektrolit bileşimine, pH'sına özellikle klorid ve fosfat seviyesine bağlıdır (Bento ve diğ., 2005).

Hidrokarbonu besin kaynağı olarak kullanan bakteriler içerisinde fermentatifler (Magot ve diğ., 1997; L'Haridon ve diğ., 2002), metanojenler (Nazina ve diğ., 1995; Mueller ve Nielsen, 1996), mangan ve demir indirgeyenler (Greene ve diğ., 1997; Slobodkin ve diğ., 1999), nitrat ve sülfat indirgeyen (Cord-Ruwish ve diğ., 1987; Leu ve diğ., 1998) türler örnek gösterilebilir.

Yapılan araştırmalar sonucunda *Alternaria*, *Aureobasidium*, *Aspergillus*, *Candida*, *Cephalosporium*, *Cladosporium*, *Cunninghamella*, *Fusarium*, *Geotrichum*, *Gliocladium*, *Mucor*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Pleurotus*, *Polyporus*, *Rhizopus*, *Rhodotolura*, *Saccharomyces*, *Talaromyces*, *Torulopsis* ve *Trichosporon* cinslerine ait türlerin hidrokarbonları parçalayabildiği bildirilmiştir (Jones ve Edington, 1968; Ahearn ve diğ., 1971; Walker ve Colwell, 1974; Bartha ve Atlas, 1977; Vanishree, 2014a, 2014b; Dutta ve Singh, 2016).

Farklı ülkelerde mikrofungusların petrol ile kontamine olmuş topraklarda, üretim atıksularında, denizlerde ve tatlı sulardaki varlığı ve hidrokarbonları parçalayabilme yeteneği merak konusu olmuştur.

El-Shafie ve diğ. (2007) Umman Körfezi'nde yaptıkları araştırmada denizlerde katılaştıran petrol kalıntısından izole ettikleri *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus* ve *Penicillium chrysogenum*'un ham petrolü parçalayabilme yeteneğinin son derece iyi olduğuna dikkat çekmişlerdir.

Okora (2008) yaptığı çalışmada *Penicillium* sp. ve *Aspergillus niger*'in Nijerya'daki bir petrol üretim sahasına ait üretim atıksuyu örneklerinden izole etmiş ve bunların n-alkanları, aromatik karbonları ve poliaromatik hidrokarbonları parçalayabilme yeteneğini araştırmıştır. Bildirdiği sonuçlara göre, *Penicillium* cinsine ait izolat n-alkanların %89.3'ünü, aromatik karbonların %93'ünü ve poliaromatik hidrokarbonların %99.7'sini parçalayabilmiştir. *Aspergillus niger* ise n-alkanların %90.7'sini, aromatik karbonların %95.32'sini ve poliaromatik hidrokarbonların %90.4'ünü parçalayabilmiştir.

Al-Nasrawi (2012) Meksika Körfezi'nde petrolle kontamine olmuş kum örneklerinden izole ettiği *Aspergillus niger*, *Penicillium decumbens*, *Cochliobolus lunatus* (Güncel: *Curvularia lunata*) ve *Fusarium solani* (Güncel: *Neocosmospora solani*)'nin ham petrolü parçalayabildiği saptanmıştır.

Stanley ve Immanuel (2015) yaptıkları çalışmada bir makrofungus olan *Lentinus subnudus* (Güncel: *Lentinus squarrosulus*)'un petrolle kontamine olmuş toprakta bulunan toplam hidrokarbon içeriğini %20.46 ila %91.94 oranında parçalayabildiğini ve fosfat, nitrat, potasyum gibi elementlerin konsantrasyonunu azaltabildiğini bildirmiştir.

Ameen ve diğ. (2016) yaptıkları çalışmada Suudi Arabistan'a ait bir bölgedeki sedimentten *Aspergillus*, *Acremonium*, *Alternaria*, *Emericella*, *Eurotium*, *Exophiala*, *Candida*, *Cladosporium*, *Geosmithia*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Pichia* cinsi mikrofungusları izole etmiştir. Bu mikrofungusların her birinin mazotu parçalayabildiğini ve birlikte kullanıldıklarında da antagonistik etki göstermediklerini bildirmiştir.

Mohammadian ve diğ. (2017) yaptıkları çalışmada İran'da bulunan petrol sahalarına ait petrolle kontamine olmuş topraklardan *Acremonium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Exophiala*, *Fusarium*, *Stemphylium*, *Trichoderma*, *Ulocladium* cinsi mikrofunguslarını izole etmiştir. Bu mikrofungusların benzen, ksilen, toluen, naftalin gibi hidrokarbonları parçalayabildiğini raporlamışlardır.

Ülkemizde yürütülen çalışmalarda özellikle petrol üretim sahalarına ait toprakların ve formasyon sularının mikrobiyolojisinin araştırıldığı dikkat çekmektedir.

Babaarslan ve diğ. (2003) yaptıkları çalışmada Adıyaman ilindeki petrol üretim sahasına ait formasyon suyundan klasik kültür yöntemleri ile *Psuedomonas stutzeri* ve *Vibrio mimicus*

bakterilerini izole etmişlerdir. İzole edilen bu bakterilerin hem tek başına hem de birlikte benzen ve tolueni parçalayabilme yeteneklerini araştırmışlardır. Araştırmalarının sonucunda bakteri kültürlerinin benzen ve tolueni 3 ila 2 gün içinde tamamen parçalayabildikleri tespit edilmiştir.

Coral ve Karagöz (2005) Mersin'deki petrol üretim sahalarından alınan toprak örneklerinden *Pseudomonas* cinsi bakterileri klasik kültür yöntemleri ile izole etmiş ve bir hidrokarbon türevi olan fenantreni parçalayabilme yeteneklerini yüksek performanslı sıvı kromatografisi kullanarak araştırmışlardır.

Balk (2007) yaptığı çalışmada Adıyaman ilindeki petrol üretim sahasına ait formasyon suyundan klasik kültür yöntemleri ile anaerobik bakteri izole etmiş ve bu izolatu TP1 kodu ile isimlendirmiştir. TP1'in tiyosülfat, sülfid ve arsenatı indirgeyebilme yeteneğine sahip olduğunu bildirmiştir.

Ülkemizde yapılan başka bir çalışmada petrol üretim sahasından anaerobik kültür yöntemleriyle izole edilen *Thermoanaerobacter* cinsi bakterilerin pH 10'nun üzerinde ve pH 6'nın altında, %3'lük tuz konsantrasyonunun üstünde üremedikleri ve ayrıca bakterilerden bazılarının organik bileşiklerin bir kısmını parçalayabildikleri bildirilmiştir (Avcı ve Dönmez, 2008).

Hoşhan ve diğ. (2008) Adıyaman ilindeki petrol üretim kuyularında yaşanan korozyon sorunun araştırılması amacıyla yürüttükleri çalışmanın sonucunda kuyulara ait formasyon sularının yüksek tuzluluk, çözünmüş oksijen ve karbondioksit gibi kimyasal özelliklerin ve sülfat indirgeyen bakterilerin varlığının bu sorunlara sebep olduğunu tespit etmişlerdir.

Erdoğan ve diğ. (2011) Adana, Batman ve Adıyaman illerindeki petrolle kirlenmiş topraklardan klasik kültür yöntemleri ile 33 bakteri suşu (*Pseudomonas* spp., *Escherichia* spp., *Enterobacter* spp., *Acinetobacter* spp. vb.) izole etmiş ve bu suşların petrolü parçalayabildiğini bildirilmiştir.

Tüccar ve diğ. (2019) yaptıkları çalışmada Diyarbakır iline ait petrol üretim kuyularına ait formasyon sularından klasik kültür yöntemlerinin yanı sıra denatüran gradiyent jel elektroforezi gibi moleküler yöntemlerini de kullanarak korozyona sebep olabilen sülfat indirgeyen bakteriler, fermentatif bakteriler, asetojenik bakteriler, nitrat indirgeyen bakteriler, ve sülfür indirgeyen bakterilerin formasyon sularındaki varlığını ve dağılımını tespit etmişlerdir.

Ülkemizde petrol üretim sahalarında yürütülen çalışmalarda detaylı bakteriyolojik analizler yapılmış olmakla birlikte, yapılan literatür araştırmalarında petrol veya üretim atıksularında mikrofungusların varlığının, biyoçeşitliliğinin, hücre dışı enzimatik aktivitelerinin veya hidrokarbonları parçalayabilme yeteneklerinin araştırıldığı herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu tez çalışması kapsamında, Adıyaman ilinde bulunan farklı petrol sahalarında petrol üretimi yapılan rezervuarlardan alınan üretim atıksu örneklerinde (i) kültüre edilebilir mikrofungusların varlığının ve toplam koloni sayılarının tespiti, (ii) elde edilen izolatların selülaz, amilaz, jelatinaz, lipaz gibi temel hücre dışı enzimlerin aktivite indeks değerlerinin belirlenmesi ve (iii) mikrofungal izolatların morfolojik yöntemler kullanılarak cins veya tür tayinlerinin yapılması amaçlanmıştır.

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. ÜRETİM ATIKSU ÖRNEKLERİNİN ALINMASI

Tez çalışması kapsamında 2017 yılı Haziran ayında Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nin Adıyaman ilinde bulunan 7 farklı petrol kuyusundan üretim atıksu örnekleri toplanmıştır. Örnek alınan kuyular alfabetik olarak sırasıyla A, B, C, D, E, F ve G olarak kodlandırılmıştır. Örnekler steril plastik şişelere alınmış ve kontaminasyonu önlemek amacıyla kapakları sıkıca kapatılmıştır. Örnekleri içeren şişeler, Aerobik Mezofilik Mikrofungus (AMM) sayımı ve izolasyonu için alındığı ortam koşullarını sabit tutan portatif örnek taşıma dolapları içinde laboratuvara getirilmiş ve örneklerin analizleri hiç bekletilmeden yapılmıştır.

3.2. ÜRETİM ATIKSU ÖRNEKLERİNİN MİKOLOJİK ANALİZİ

3.2.1. Aerobik Mezofilik Mikrofungus Sayımı

AMM sayımı ve izolasyonu için 9 cm'lik Petri kutularına 15-20 mm kalınlığında dökülmüş Patates Dekstroz Agar (PDA), Sabouraud Dekstroz Agar (SDA), Czapek Dox agar (CDA), Malt Ekstrakt Agar (MEA) ve Dikloran Gliserol 18 Agar (DG18) besiyerleri kullanılmıştır. Daha fazla metabolik çeşitlilikte mikrofungus tespit edebilmek amacıyla 5 farklı içeriğe sahip besiyeri kullanımı tercih edilmiştir. Besiyerlerine bakteriyel üremeyi engellemek amacıyla Streptomisin antibiyotiği eklenmiştir. Üretim atık su örnekleri vorteks cihazı ile homojen hale getirildikten sonra içerisinden 1 ml alınarak yüzeye yayma yöntemi kullanılarak ekim yapılmıştır. Deneyler 7 tekrarlı yapıp, Petri kutuları 25 °C'de 30 güne kadar bekletilmiştir. (Al-Nasrawi, 2012; Mohsenzadeh ve Shirkhani, 2016). Bekleme süresi sonunda üreyen kolonilerin sayımı yapılmıştır.

3.2.2. Aerobik Mezofilik Mikrofungusların Makroskobik, Mikroskobik Özelliklerinin İncelenmesi ve İzolasyonu

Bekleme süresi sonunda oluşan mikrofungal kolonilerin öncelikle koloni dokusu vb. makroskobik özellikleri stereo mikroskop kullanılarak incelenmiştir. Daha sonra mikrofungal kolonilerin laktofenol pamuk mavisi solüsyonu kullanılarak lam-lamel arası ve selofan bant yöntemleri ile preparatları hazırlanmış ve ışık mikroskobu kullanılarak mikroskobik özellikleri

incelenerek not edilmiştir. Farklı makro ve mikromorfolojik özellikleri olduğu tespit edilen mikrofungal kolonilerin izolasyonu yapılmıştır.

Her bir koloni yatık PDA besiyerine transfer edilerek saf kültürleri alınıp, temel hücre dışı enzimatik aktivite deneyleri ve mikrofungusların cins veya tür düzeyinde tayinini gerçekleştirmek amacıyla stok kültür olarak 4 °C'deki buzdolabında kısa süreli olarak saklanmıştır (Arvanitidou ve diğ., 2002; Florencio ve diğ., 2012).

3.2.3. İzole Edilen Saf Mikrofungus İzolatlarının Uzun Süreli Olarak Saklanması

Saf kültürleri alınan mikrofungal izolatlarını uzun süreli saklamak amacıyla her izolat için PDA içeren Petri kutularına ekim yapılmış ve Petri kutuları 25°C'de 7-14 gün bekletilmiştir. Bekleme süresi sonunda üreyen kolonilerin genç misellerinden ve spor yoğunluğunun olduğu kısımlardan bir miktar alınarak içerisinde 1 ml spor süspansiyonu tamponu bulunan krio tüplere transfer edilmiştir. Krio tüplere son hacim %30 olacak şekilde steril gliserol eklenmiş ve tüpler -86 °C'deki derin dondurucuya kaldırılmıştır (Samson ve diğ., 2014).

3.3. MİKROFUNGUSLARIN HÜCRE DIŞI ENZİMATİK AKTİVİTELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Kültür yöntemi ile elde edilen saf mikrofungal izolatların, PDA besiyerinde 25 °C'de taze kültürleri hazırlanmıştır. Elde edilen taze kültürlerin amilaz, selülaz, lipaz ve jelatinaz aktivitesi gösterip göstermediği tespit edilmiştir. Ekimler üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Hücre dışı enzimatik aktivite gösteren izolatların koloni çapları, ve oluşturdukları açık renkli hidroliz zon çapları, ayrıca lipaz enzimatik aktivitesinin belirlenmesinde kolonilerin oluşturdukları beyaz çökeltilerin çapları mm cinsinden ölçülmüştür. Enzimatik aktivite indeks değerlerinin belirlenmesinde Coronada-Ruiz ve diğ. (2018) ve Ferreira ve diğ. (2019) uyguladığı esaslar kullanılmıştır.

$$\text{Enzim Aktivite İndeksi (\%)} = \frac{\text{Koloni Çapı (mm)} + \text{Hidroliz Zonu (mm)}}{\text{Koloni Çapı (mm)}} \quad (3.1)$$

3.3.1. Enzimatik Aktivite Deneyleri İçin Taze Kültürlerin Hazırlanması

Taze kültür elde edebilmek amacı ile önceden hazırlanan stok fungus kültürlerinin her birinden PDA besiyerine üç nokta ekim yapılmış ve ekim yapılan Petri kutuları 25 °C'de 7 gün

bekletilmiştir. Bekleme süresi sonunda üreyen kolonilerden steril distile su içeren falkon tüplerin içerisine 6 mm çapında agar bloklar alınmış ve vortekslenerek homojen hale getirilmiştir. Oluşan fungus süspansiyonu, taze kültür olarak enzimatik aktivite deneylerinde kullanılmıştır (Hankin ve Anagnostakis, 1975).

3.3.2. Selülaaz Aktivitesi

Selülitik mikrofungusları tespit edebilmek için selülaaz enziminin varlığı araştırılmıştır. Taze fungus kültürü içeren süspansiyondan 10 µl alınarak Karboksimetil Selülaaz Agar (CMC) içeren Petri kutularına nokta ekim yapılmış ve 25 °C’de 7 gün bekletilmiştir (Topal ve diğ., 2000; Borrego ve diğ., 2010; Shahriarın ve diğ., 2011). Bekleme süresi sonunda besiyerinin yüzeyine Gram’s iodine solüsyonu damlatılmış ve koloni etrafında açık renkli bir hidroliz zonunun gözlenmesi ile selülaaz üretimi doğrulanmıştır.

3.3.3. Jelatinaz Aktivitesi

Proteolitik mikrofungusları tespit edebilmek için jelatinaz enziminin varlığı araştırılmıştır. Taze fungus kültürü içeren süspansiyondan 10 µl alınarak Jelatin Agar (JA) içeren Petri kutularına nokta ekim yapılmış ve 25 °C’de 7 gün bekletilmiştir (Topal ve diğ., 2000; Atlas, 2010). Bekleme süresi sonunda jelatinaz enzimine sahip olan koloninin etrafında açık renkli bir hidroliz zonunun gözlenmesi ile jelatinaz üretimi doğrulanmıştır.

3.3.4. Amilaz Aktivitesi

Amilolitik mikrofungusları tespit edebilmek için amilaz enziminin varlığı araştırılmıştır. Taze fungus kültürü içeren süspansiyondan 10 µl alınarak Nişasta Agar (NA) içeren Petri kutularına nokta ekim yapılmış ve 25 °C’ de 7 gün bekletilmiştir (Topal ve diğ., 2000; Borrego ve diğ., 2010). Bekleme süresi sonrasında besiyeri yüzeyine Gram’s iodine solüsyonu damlatılmış ve koloni etrafında açık renkli bir hidroliz zonun gözlenmesi ile amilaz üretimi doğrulanmıştır.

3.3.5. Lipaz Aktivitesi

Lipolitik mikrofungusların tespiti için lipaz enziminin varlığı araştırılmıştır. Taze fungus kültürü içeren süspansiyondan 10 µl alınarak steril Tween 20 ilaveli temel besiyeri içeren Petri kutularına nokta ekim yapılmış ve 25 °C’de 7 gün bekletilmiştir. Bekleme süresi sonunda lipaz enzimine sahip olan koloninin etrafında beyaz çökeltinin gözlenmesi ile lipaz üretimi doğrulanmıştır (Sierra 1957; Ferreira ve diğ., 2019).

3.4. MİKROFUNGUSLARIN CİNS VEYA TÜR DÜZEYİNDE TAYİNİ

İzole edilen mikrofungusların cins düzeyinde tayini Barnett ve Hunter'ın (1999) "Illustrated Genera of Imperfect Fungi" adlı eserinden yararlanılarak yapılmıştır. Tür tayini için *Cladosporium* cinsi ve *Chaetomium* cinsi mikrofungusların yatık agardaki stok kültürlerinden PDA ve MEA besiyerlerine nokta ekimleri yapılmıştır. Petri kutuları 25 °C'de 14 gün bekletilmiştir (Ellis, 1971). Bekleme süresi sonunda *Cladosporium* cinsine ait mikrofungusların koloni rengi, koloni tersi rengi, konidiofor, konidi özellikleri incelenmiş ve tayin için "Dematiaceous Hypomycetes" (Ellis, 1971) eserinden yararlanılmıştır.

İzole edilen *Aspergillus* cinsine ait mikrofungusların tür düzeyinde tayinleri için; Czapek Dox Agar (CDA), MEA, Czapek Yeast Ekstrakt Agar (CYA), %20 Sükrozlu Czapek Yeast Extract Agar (CY20S) içeren Petri kutularına üç nokta ekimleri yapılarak 25 °C'de 7 gün bekletilmiştir. CYA bulunan bir başka Petri kutusuna da ekim yapılmış ve 37 °C'de 7 gün bekletilmiştir (Klich, 2002). Bekleme süresi sonunda *Aspergillus* cinsine ait mikrofungusların Tablo 3.1'de belirtilen genel makromorfolojik ve mikromorfolojik özellikleri incelenmiştir (Klich, 2002; Samson ve diğ., 2010). Tür tayini için, "Identification of Common *Aspergillus* Species" (Klich, 2002) ve "The Genus *Aspergillus*" (Raper ve Fennel, 1965) adlı eserlerden yararlanılmıştır.

Tablo 3.1: *Aspergillus* cinsine ait türlerin tayininde kullanılan genel makromorfolojik ve mikromorfolojik özellikler.

Makromorfolojik Özellikler	Mikromorfolojik Özellikler
Koloni Çapı (mm)	Seriasyon (Uniseriat/Biseriat)
Koloni rengi	Konidia (Boyut, Pürüzlü/Pürüzsüz)
Koloni tersi rengi	Askospor (Var/Yok)
Koloni Tekstürü/Dokusu/Özelliği	Stipe (Boyut, Renk, Pürüzlü/Pürüzsüz)
Eksuda (Var/Yok)	Fiyalid (Bir/İki Sıra)
Çözünür Pigmentasyon (Var/Yok)	Vesikül (Eliptik/Oval)
Sklerotia (Var/Yok)	Hülle hücresi (Var/Yok)
Kleistotesyum (Var/Yok)	

mm: Milimetre

İzole edilen *Penicillium* cinsine ait mikrofungusların tür düzeyinde tayini için; CYA, %25 Gliserol Nitrat Agar (G25N), Yeast Ekstrakt Sükroz Agar (YES), MEA, Kreatin Sükroz Agar (KSA) besiyerleri içeren Petri kutularına üç nokta ekimleri yapılmış ve besiyerleri 7 gün boyunca 25 °C sıcaklıkta bekletilmiştir. Ayrıca her izolat için 2 adet CYA besiyerine ekim yapılmış ve 7 gün boyunca 1 adet Petri kutusu 5 °C ve diğer Petri kutusu ise 37 °C sıcaklıkta bekletilmiştir. (Pitt, 1979; 1986; Pitt ve Hocking, 2009).

Bekleme süresi sonunda *Penicillium* cinsine ait mikrofungusların Tablo 3.2’de belirtilen genel makromorfolojik ve mikromorfolojik özellikleri incelenmiştir (Samson ve diğ., 2010; Visagie ve diğ., 2014). Tür tayini için, “Food and Indoor Fungi” (Samson ve diğ., 2010) ve “The Genus *Penicillium* and Its Teleomorphic States *Eupenicillium* and *Talaromyces*” (Pitt, 1979) adlı eserlerden yararlanılmıştır.

Tablo 3.2: *Penicillium* cinsine ait türlerin tayininde kullanılan genel makromorfolojik ve mikromorfolojik özellikler.

Makromorfolojik Özellikler	Mikromorfolojik Özellikler
Koloni çapı (mm)	Konidiofor dallanma yapısı (Monoverticillate/Biverticillate/Terverticillate/Quarverticillate)
Koloni rengi	Konidyal baş (Küresel/Sütunsal)
Koloni tersi rengi	Konidia (Boyut, Pürüzlü/Pürüzsüz)
Pigmentasyon (Var/Yok)	Stipe (Boyut, Dallanmış/Dallanmamış/Pürüzlü/Pürüzsüz)
Eksuda (Var/Yok)	Metula (Var/Yok)
Sklerotia (Var/Yok)	Aski ve Askokarp
Koloni tekstürü/dokusu/özelliği	
Eşeyli üreme yapısı (Var/Yok)	
Asit/Baz oluşumu	

mm: Milimetre

Tayini yapılan mikrofungusların ve yazarların isimleri “Index Fungorum Partnership” sitesine göre güncellenmiş ve standardize edilmiştir (9 Nisan 2020). Ayrıca cins veya tür tayinleri yapılan mikrofungusların mensup oldukları filum Mycobank sitesine göre güncellenmiştir (8 Mayıs 2020).

3.5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Değerlerin normal dağılım gösterip göstermedikleri ve aralarındaki istatistiksel ilişkilerin belirlenmesi için SPSS 22 programı kullanılmıştır. Hücre dışı enzimatik aktivite indeks değerlerinin ortalamalar açısından farkının değerlendirilmesi, Kruskal Wallis testi kullanılarak yapılmıştır. Anlamlılık düzeyi $p \leq 0.05$ olarak kabul edilmiştir.

3.6. KULLANILAN BESİYERLERİ VE KİMYASAL MADDELER

3.6.1. Patates Dekstroz Agar Besiyeri

Fungusların izolasyonu ve Dematiaceous Hyphomycetes sınıfına ait mikrofungusların cins veya tür düzeyindeki tayininde kullanılan Patates Dekstroz Agar besiyerinin bileşimi;

Patates ekstraktı	40 g
Glikoz ($C_6H_{12}O_6$)	20 g
Agar	15 g
Distile su	1000 ml

pH: 5.6 ± 0.2 121 °C’de 15 dk steril edilir (Bills ve Foster, 2004; Mohsenzadeh ve Shirkhani, 2016).

3.6.2. Malt Ekstrakt Agar Besiyeri

Fungusların izolasyonunda, ayrıca Dematiaceous Hyphomycetes sınıfına ait mikrofungusların, *Aspergillus* ve *Penicillium* cinslerine ait türlerinin tayininde kullanılan Malt Ekstrakt Agar besiyerinin bileşimi;

Malt ekstraktı	20 g
Pepton	1.0 g
Glikoz ($C_6H_{12}O_6$)	20 g
Agar	20 g

Distile Su	1000 ml
------------	---------

121 °C’de 15 dk steril edilir (Pitt, 2000; Klich, 2002; Bensch ve diğ., 2012).

3.6.3. Sabouraud Dekstroz Agar Besiyeri

Tıbbi öneme sahip fungusların izolasyonunda kullanılan Sabouraud Dekstroz Agar besiyerinin bileşimi;

Mikolojik pepton	10 g
------------------	------

Glikoz	40 g
--------	------

Agar	15 g
------	------

Distile su	1000 ml
------------	---------

pH 5.6±0.2 121 °C’de 15 dakika steril edilir (Bills ve Foster, 2004; Silva ve diğ., 2004).

3.6.4. Dikloran Gliserol 18 Agar

Kserofilik mikrofungusların izolasyonunda kullanılan Dikloran Gliserol 18 Agar besiyerinin bileşimi;

Glikoz (C ₆ H ₁₂ O ₆)	10 g
---	------

Pepton	5 g
--------	-----

Potasyum dihidrojen fosfat (KH ₂ PO ₄)	1.0 g
---	-------

Magnezyum sülfat heptahidrat (MgSO ₄ - 7H ₂ O)	0.5 g
--	-------

Agar	15 g
------	------

Distile su	1000 ml
------------	---------

Gliserol	220 g
----------	-------

pH 5.6 ± 0.2. 121 °C’de 15 dakika steril edilir (Beuchet, 1992).

3.6.5. Czapek Dox Agar Besiyeri

Saprofit mikrofungusların izolasyonunda ve *Aspergillus* cinsine ait türlerinin tayininde kullanılan Czapek Dox Agar besiyerinin bileşimi;

Dipotasyum hidrojen fosfat (K_2HPO_4)	1.0 g
Sükroz ($C_{12}H_{22}O_{11}$)	30 g
Agar	17,5 g
Czapek solüsyonu	10 ml
Distile su	1000 ml

121 °C’de 15 dk steril edilir (Thom ve Raper, 1945; Klich, 2002).

3.6.6. Czapek Stok Solüsyonu Hazırlanışı

Bu solüsyon *Aspergillus* ve *Penicillium* cinslerine ait türleri tayin etmek amacıyla kullanılan CDA, CMA, CM20S besiyerlerinin yapımında kullanılır. Bileşimi;

Sodyum nitrat ($NaNO_3$)	30 g
Potasyum klorür (KCl)	5.0 g
Magnezyum sülfat heptahidrat ($MgSO_4 - 7H_2O$)	5.0 g
Demir (III) sülfat heptahidrat ($FeSO_4 - 7H_2O$)	0.1 g
Bakır sülfat pentahidrat ($CuSO_4 - 7H_2O$)	0.05 g
Çinko sülfat heptahidrat ($ZnSO_4 - 7H_2O$)	0.1 g
Distile su	100 ml

Steril edilmeksizin önerilen miktarlarda besiyerlerine eklenir (Pitt, 2000; Klich, 2002).

3.6.7. Czapek Yeast Extract Agar

Aspergillus ve *Penicillium* cinslerine ait türlerin tayininde kullanılan Czapek Yeast Agar besiyerinin bileşimi;

Dipotasyum hidrojen fosfat (K_2HPO_4)	1.0 g
Maya ekstraktı	5 g
Sükroz ($C_{12}H_{22}O_{11}$)	30 g
Agar	15 g
Czapek solüsyonu	10 ml
Distile su	1000 ml

121 °C’de 15 dk steril edilir (Pitt, 2000; Klich, 2002).

3.6.8. %20 Sükrozlu Czapek Yeast Agar Besiyeri

Aspergillus cinsine ait türlerin tayininde kullanılan besiyerinin bileşimi;

Dipotasyum hidrojen fosfat (K_2HPO_4)	1.0 g
Maya ekstraktı	5 g
Sükroz ($C_{12}H_{22}O_{11}$)	200 g
Agar	15 g
Czapek solüsyonu	10 ml
Distile su	1000 ml

121 °C’de 15 dk steril edilir (Klich, 2002).

3.6.9. Yeast Extract Sükroz Agar Besiyeri

Aspergillus ve *Penicillium* cinslerine ait türlerin tayininde kullanılan Yeast Ekstrakt Sükroz Agar besiyeri bileşimi;

Yeast ekstrakt (Difco)	20 g
Sükroz ($C_{12}H_{22}O_{11}$)	150 g
Magnezyum sülfat heptahidrat ($MgSO_4 - 7H_2O$)	0.5 g
Bakır sülfat pentahidrat($CuSO_4 - 7H_2O$)	0.005 g
Çinko sülfat heptahidrat ($ZnSO_4 - 7H_2O$)	0.001 g
Agar	20 g
Distile su	885 ml

pH 6.5 ± 0.2 121 °C’de 15 dakika steril edilir (Frisvad 1981; Frisvad ve Filtenborg, 1989).

3.6.10. Kreatin Sükroz Agar Besiyeri

Penicillium cinsine ait türlerine tayininde kullanılan Kreatin Sükroz Agar besiyerinin bileşimi;

Sükroz ($C_{12}H_{22}O_{11}$)	30 g
Kreatin monohidrat ($C_4H_9N_3O_2$)	3 g
Potasyum fosfat tribazik heptahidrat ($K_3PO_4 - 7H_2O$)	1.6 g
Magnezyum sülfat heptahidrat ($MgSO_4 - 7H_2O$)	0.5 g
Potasyum klorür (KCl)	0.5 g
Demir (III) sülfat heptahidrat ($FeSO_4 - 7H_2O$)	0.01 g
Bakır sülfat pentahidrat($CuSO_4 - 7H_2O$)	0.005 g
Çinko sülfat heptahidrat ($ZnSO_4 - 7H_2O$)	0.01 g
Bromokresol moru	0.05 g
Agar	20 g
Distile su	1000 ml

pH 8.0 ± 0.2 . 121 °C’de 15 dakika steril edilir (Frisvad,1985).

3.6.11. %25 Gliserol Nitrat Agar Besiyeri

Penicillium cinsine ait türlerine tayininde kullanılan besiyerinin bileşimi;

Dipotasyum hidrojen fosfat (K_2HPO_4)	0.75 g
Maya ekstraktı	3.7 g
Gliserol	250 g
Agar	12 g
Czapek solüsyonu	7.5 ml
Distile su	750 ml

121 °C’de 15 dakika steril edilir (Pitt, 1979; 2000).

3.6.12. Karboksimetil Selüloz Agar Besiyeri

Selüloolitik mikrofungusların tespitinde kullanılan Karboksimetil Selüloz Agar besiyeri bileşimi;

Sodyum nitrat ($NaNO_3$)	6.5 g
Dipotasyum fosfat (K_2HPO_4)	6.5 g
Magnezyum sülfat heptahidrat ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$)	3 g
Potasyum klorür (KCl)	6,5 g
Sodyum karboksimetilselüloz	10 g
Maya ekstraktı	0.3 g
Agar	17.5 g
Distile Su	1000 ml

121 °C’de 15 dakika steril edilir (Shahriarin, 2011).

3.6.13. Jelatin Agar Besiyeri

Proteolitik mikrofunguslarına tespitinde kullanılan Jelatin Agar besiyeri bileşimi;

Jelatin	40 g
Pepton	4 g
Maya ekstrakt	1 g
Agar	15 g
Distile Su	1000 ml

121°C’de 15 dk steril edilir (Topal, 2000).

3.6.14. Nişasta Agar Besiyeri

Amilolitik mikrofungusların tespitinde kullanılan Nişasta Agar besiyeri bileşimi;

Sodyum nitrat (NaNO_3)	3 g
Dipotasyum fosfat (K_2HPO_4)	1 g
Magnezyum sülfat heptahidrat ($\text{MgSO}_4 - 7\text{H}_2\text{O}$)	0.50 g
Potasyum klorür (KCl)	0.50 g
Nişasta	5 g
Agar	20 g
Distile su	1000 ml

121°C’de 15 dk steril edilir (Topal, 2000).

3.6.15. Tween 20 ilaveli Temel Besiyeri

Lipolitik mikrofungusların tespitinde kullanılan Tween 20 ilaveli Temel Besiyeri bileşimi;

Pepton	10 g
Sodyum klorür (NaCl)	5 g
Kalsiyum klorid dihidrat ($\text{CaCl}_2 - 2\text{H}_2\text{O}$)	0,1 g
Agar	20 g
Distile Su	1000 ml
Tween 20 (Sigma)	10 ml
pH. 6.0 121°C'de 15 dk steril edilir (Sierra, 1957).	

3.6.16. Laktofenol Pamuk Mavisi Solüsyonu

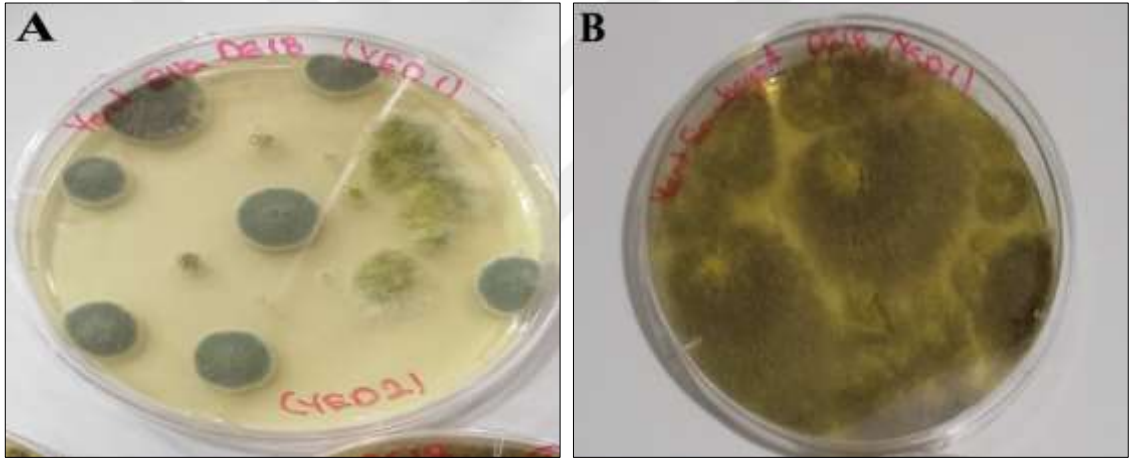
Mikrofungusların mikromorfolojik karakterlerinin incelenmesinde kullanılan laktofenol pamuk mavisi bileşimi;

Fenol kristali	20 g
Anilin mavisi	250 g
Agar	0.05 g
Laktik asit	20 ml
Gliserin	40 ml
Distile su	20 ml

4. BULGULAR

4.1.ÜRETİM ATIKSUYU ÖRNEKLERİNİN AEROBİK MEZOFİLİK MİKROFUNGUS BAKIMINDAN DEĞERLENDİRİLMESİ

Çalışma kapsamında incelenen 7 farklı petrol kuyusuna ait üretim atıksuyu örneklerinden daha fazla mikrofungus biyoçeşitliliği elde edebilmek için PDA, SDA, CDA, MEA ve DG18 besiyerlerine eş zamanlı olarak yüzeye yayma yöntemi kullanılarak ekimler gerçekleştirilmiştir. Bekleme süresi sonunda Petri kutularında gözlenen üreme durumu ve koloni morfolojilerine ait örnek görüntüler Şekil 4.1’de verilmiştir. 7 farklı kuyuya ait üretim atık su örneklerinde üreyen AMM’lerin PDA, SDA, CDA, MEA ve DG18 besiyerlerinde hem üreme durumlarında hem de üreme yoğunluklarında farklılıklar tespit edilmiştir.



Şekil 4.1: G kuyusuna ait üretim atıksu örneğinin (A) DG18 besiyerinde üreme durumu, E kuyusuna ait üretim atıksu örneğinin (B) DG18 besiyerinde üreme durumu.

Üretim atık sularının PDA, SDA, CDA, MEA, ve DG18 besiyerlerine ekimleri yapıldıktan sonra 30 güne kadar olan bekleme süreleri boyunca, AMM kolonilerinin oluşumu 24 saatlik periyotlarda takip edilmiştir. Genel olarak koloni sayımlarının bekleme süresinin 3. gününden itibaren, izolasyonlarının ise 7. günden itibaren yapılabildiği saptanmıştır. Kolonilerin makromorfolojilerindeki farklılıkların bekleme süresinin 5. gününden itibaren ayırt edilebildiği tespit edilmiştir.

PDA besiyerinde 2. günden sonra koloni sayımı yapılabilmiş ve 5. günden itibaren koloni makromorfolojilerindeki farklılıklar ayırt edilebilmiştir. Bu süre bazı Petri kutularında 20. günde koloni sayımı yapılmasına ve 25. günde koloni makromorfolojilerindeki farklılıklarının ayırt edilebilmesine kadar uzamıştır.

SDA besiyerinde 4. günden sonra koloni sayımı yapılabilmiş ve 6. günden itibaren koloni makromorfolojilerindeki farklılıklar ayırt edilebilmiştir. Bu süre bazı Petri kutularında 20. günde koloni sayımı yapılmasına ve 25. günde koloni makromorfolojilerindeki farklılıklarının ayırt edilebilmesine kadar uzamıştır.

CDA besiyerinde 2. günden sonra koloni sayımı yapılabilmiş ve 5. günden itibaren koloni makromorfolojilerindeki farklılıklar ayırt edilebilmiştir. Bu süre bazı Petri kutularında 19. günde koloni sayımı yapılmasına ve 21. günde koloni makromorfolojilerindeki farklılıklarının ayırt edilebilmesine kadar uzamıştır.

MEA besiyerinde 8. günden sonra koloni sayımı yapılabilmiş ve 10. günden itibaren koloni makromorfolojilerindeki farklılıklar ayırt edilebilmiştir. Bu süre bazı Petri kutularında 25. günde koloni sayımı yapılmasına ve 27. günde koloni makromorfolojilerindeki farklılıklarının ayırt edilebilmesine kadar uzamıştır.

DG18 besiyerinde 10. günden sonra koloni sayımı yapılabilmiş ve 12. günden itibaren koloni makromorfolojilerindeki farklılıklar ayırt edilebilmiştir. Bu süre çoğu Petri kutularında 19. günde koloni sayımı yapılmasına ve 22. günde koloni makromorfolojilerindeki farklılıklarının ayırt edilebilmesine kadar uzamıştır.

Çalışılan 7 farklı üretim atık su örneğinde yüzeye yayma yöntemi ile tespit edilen toplam AMM koloni sayıları sırasıyla Tablo 4.1-4.7’de verilmiştir.

Tablo 4.1.’de A kodlu petrol kuyusuna ait üretim atıksuyunda saptanan toplam AMM koloni sayıları verilmiştir. Buna göre ekim yapılan 5 farklı besiyerinde toplam 3 mikrofungal koloninin ürediği tespit edilmiştir. Bu kolonilerin 3’ünün de sadece CDA besiyerinde ürediği saptanmıştır.

Tablo 4.1: A kuyusuna ait AMM koloni sayıları.

Besiyerleri	1. Petri	2. Petri	3. Petri	4. Petri	5. Petri	6. Petri	7. Petri	Toplam Koloni Sayısı
PDA	0	0	0	0	0	0	0	0
SDA	0	0	0	0	0	0	0	0
CDA	1	1	1	0	0	0	0	3
MEA	0	0	0	0	0	0	0	0
DG18	0	0	0	0	0	0	0	0

Tablo 4.2.'de B kodlu petrol kuyusuna ait üretim atık suyunda saptanan toplam AMM koloni sayıları verilmiştir. Buna göre ekim yapılan 5 farklı besiyerinde toplam 5 mikrofungal koloninin ürediği tespit edilmiştir. Bu kolonilerin 3'ünün CDA besiyerinde, 1'inin PDA ve 1'inin ise DG18 besiyerinde ürediği saptanmıştır. SDA ve MEA besiyerlerinde ise üreme saptanmamıştır

Tablo 4.2: B kuyusuna ait AMM koloni sayıları.

Besiyerleri	1. Petri	2. Petri	3. Petri	4. Petri	5. Petri	6. Petri	7. Petri	Toplam Koloni Sayısı
PDA	1	0	0	0	0	0	0	1
SDA	0	0	0	0	0	0	0	0
CDA	1	1	1	0	0	0	0	3
MEA	0	0	0	0	0	0	0	0
DG18	1	0	0	0	0	0	0	1

Tablo 4.3.'de C kodlu petrol kuyusuna ait üretim atıksuyunda saptanan toplam AMM koloni sayıları verilmiştir. Buna göre ekim yapılan 5 farklı besiyerinde toplam 10 mikrofungal koloninin ürediği tespit edilmiştir. Bu kolonilerin 7'sinin PDA besiyerinde, 2'sinin DG18

besiyerinde ve 1'inin MEA besiyerinde ürediği saptanmıştır. SDA ve CDA besiyerlerinde ise üreme saptanmamıştır.

Tablo 4.3: C kuyusuna ait AMM koloni sayıları.

Besiyerleri	1. Petri	2. Petri	3. Petri	4. Petri	5. Petri	6. Petri	7. Petri	Toplam Koloni Sayısı
PDA	1	4	2	0	0	0	0	7
SDA	0	0	0	0	0	0	0	0
CDA	0	0	0	0	0	0	0	0
MEA	1	0	0	0	0	0	0	1
DG18	1	1	0	0	0	0	0	2

Tablo 4.4.'de D kodlu petrol kuyusuna ait üretim atıksuyunda saptanan toplam AMM koloni sayıları verilmiştir. Buna göre ekim yapılan 5 farklı besiyerinde toplam 10 mikrofungal koloninin ürediği tespit edilmiştir. Bu kolonilerin 6'sının PDA besiyerinde, 2'sinin CDA besiyerinde ve 2'sinin DG18 besiyerinde ürediği saptanmıştır. SDA ve MEA besiyerlerinde ise üreme saptanmamıştır.

Tablo 4.4: D kuyusuna ait AMM koloni sayıları.

Besiyerleri	1. Petri	2. Petri	3. Petri	4. Petri	5. Petri	6. Petri	7. Petri	Toplam Koloni Sayısı
PDA	1	2	1	1	1	0	0	6
SDA	0	0	0	0	0	0	0	0
CDA	1	1	0	0	0	0	0	2
MEA	0	0	0	0	0	0	0	0
DG18	1	1	0	0	0	0	0	2

Tablo 4.5.'de E kodlu petrol kuyusuna ait üretim atıksuyunda saptanan toplam AMM koloni sayıları verilmiştir. Buna göre ekim yapılan 5 farklı besiyerinde toplam 13 mikrofungal koloninin ürediği tespit edilmiştir. Bu kolonilerin 9'unun DG18 besiyerinde, 2'sinin CDA besiyerinde, 1'inin PDA ve 1'inin SDA besiyerinde ürediği saptanmıştır. MEA besiyerinde ise üreme saptanmamıştır.

Tablo 4.5: E kuyusuna ait AMM koloni sayıları.

Besiyerleri	1. Petri	2. Petri	3. Petri	4. Petri	5. Petri	6. Petri	7. Petri	Toplam Koloni Sayısı
PDA	1	0	0	0	0	0	0	1
SDA	1	0	0	0	0	0	0	1
CDA	1	1	0	0	0	0	0	2
MEA	0	0	0	0	0	0	0	0
DG18	2	2	5	0	0	0	0	9

Tablo 4.6.'de F kodlu petrol kuyusuna ait üretim atıksuyunda saptanan toplam AMM koloni sayıları verilmiştir. Buna göre ekim yapılan 5 farklı besiyerinde toplam 16 mikrofungal koloninin ürediği tespit edilmiştir. Bu kolonilerin 8'inin PDA besiyerinde, 4'ünün MEA besiyerinde ve 4'ünün DG18 besiyerinde ürediği saptanmıştır. SDA ve CDA besiyerinde ise üreme saptanmamıştır.

Tablo 4.6: F kuyusuna ait AMM koloni sayıları.

Besiyerleri	1. Petri	2. Petri	3. Petri	4. Petri	5. Petri	6. Petri	7. Petri	Toplam Koloni Sayısı
PDA	8	0	0	0	0	0	0	8
SDA	0	0	0	0	0	0	0	0
CDA	0	0	0	0	0	0	0	0
MEA	1	1	2	0	0	0	0	4
DG18	1	2	1	0	0	0	0	4

Tablo 4.7.'de G kodlu petrol kuyusuna ait üretim atık suyunda saptanan toplam AMM sayıları verilmiştir. Buna göre ekim yapılan 5 farklı besiyerinde toplam 32 mikrofungal koloninin ürediği tespit edilmiştir. Bu kolonilerin 29'unun DG18 besiyerinde, 1'inin PDA, 1'inin SDA ve 1'inin MEA besiyerlerinde ürediği saptanmıştır. CDA besiyerinde ise üreme saptanmamıştır.

Tablo 4.7: G kuyusuna ait AMM koloni sayıları.

Besiyerleri	1. Petri	2. Petri	3. Petri	4. Petri	5. Petri	6. Petri	7. Petri	Toplam Koloni Sayısı
PDA	1	0	0	0	0	0	0	1
SDA	1	0	0	0	0	0	0	1
CDA	0	0	0	0	0	0	0	0
MEA	1	0	0	0	0	0	0	1
DG18	13	2	7	7	0	0	0	29

7 farklı petrol kuyusu içerisinde en yüksek toplam AMM koloni sayısı (32 adet) G kuyusuna ait üretim atık suyundan, en düşük toplam AMM koloni sayısı ise (3 adet) A kuyusuna ait üretim atıksuyunda saptanmıştır.

Üretim atıksu örneklerine ait PDA, SDA, CDA, MEA, ve DG18 besiyerlerinde bekleme süresi sonunda oluşan mikrofungal kolonilerin morfolojileri stereo mikroskop kullanılarak (koloni boyutu-mm, tipi, yapısı, koloni üst ve alt rengi, pigmentasyon vb.) makroskobik ve ışık mikroskobu kullanılarak mikroskobik olarak incelenmiş ve farklı morfolojide olduğu tespit edilen kolonilerin izolasyonu yapılmıştır. Bu izolatların seçiminde aynı cins ve türlerin farklı besiyerinde farklı morfolojik özellikleri gösterebilmesi durumu da bilinmesine rağmen, cins ve tür çeşitliliğini kaybetmemek adına bu yönüyle herhangi bir eleme işlemine gidilmemiştir.

İzolasyonu yapılan mikrofungal kolonilerinin her birine harf ve sayıdan oluşan bir kod verilmiş ve izolasyon süreçlerine ait bilgiler Tablo 4.8’de belirtilmiştir. A kuyusundan 3 adet, B kuyusundan 5 adet, C ve D kuyularından 10’ar adet, E kuyusundan 9 adet, F ve G kuyularından 8’er adet olmak üzere toplam 53 adet mikrofungal izolatı elde edilmiştir. Bu izolatların 2 adedi SDA, 6 adedi MEA, 10 adedi CDA, 17 adedi PDA ve 18 adedi DG18 besiyerlerinden izole edilmiştir.

Tablo 4.8: Mikrofungal izolatlara verilen kodlar, izolasyonlarının yapıldığı kuyu ve besiyerlerine ait bilgiler.

İzolat Kodu	İzolasyon Yapılan Kuyu	İzolasyon Yapılan Besiyeri
S1	A Kuyusu	CDA
S2	A Kuyusu	CDA
S3	A Kuyusu	CDA
S4	B Kuyusu	CDA
S5	B Kuyusu	CDA
S6	B Kuyusu	CDA
S7	B Kuyusu	DG18
S8	B Kuyusu	PDA

Tablo 4.8 (devam): Mikrofungaİ izolatİara verilen kodİar, izolasyonİarının yapıİığı kuyu ve besiyerİerine ait bilgiler.

İzolot Kodu	İzolasyon Yapılan Kuyu	İzolasyon Yapılan Besiyeri
S9	C Kuyusu	CDA
S10	C Kuyusu	CDA
S11	C Kuyusu	DG18
S12	C Kuyusu	DG18
S13	C Kuyusu	PDA
S14	C Kuyusu	PDA
S15	C Kuyusu	PDA
S16	C Kuyusu	PDA
S17	C Kuyusu	PDA
S18	C Kuyusu	PDA
S19	D Kuyusu	DG18
S20	D Kuyusu	DG18
S21	D Kuyusu	PDA
S22	D Kuyusu	PDA
S23	D Kuyusu	PDA
S24	D Kuyusu	MEA

Tablo 4.8 (devam): Mikrofungaİ izolatİara verilen kodİar, izolasyonİarının yapıİığı kuyu ve besiyerİerine ait bilgiler.

İzolot Kodu	İzolasyon Yapılan Kuyu	İzolasyon Yapılan Besiyeri
S25	D Kuyusu	PDA
S26	D Kuyusu	PDA
S27	D Kuyusu	PDA
S28	D Kuyusu	PDA
S29	E Kuyusu	PDA
S30	E Kuyusu	DG18
S31	E Kuyusu	DG18
S32	E Kuyusu	CDA
S33	E Kuyusu	CDA
S34	E Kuyusu	DG18
S35	E Kuyusu	DG18
S36	E Kuyusu	DG18
S37	E Kuyusu	SDA
S38	F Kuyusu	DG18
S39	F Kuyusu	MEA
S40	F Kuyusu	MEA

Tablo 4.8 (devam): Mikrofungal izolatlara verilen kodlar, izolasyonlarının yapıldığı kuyu ve besiyerlerine ait bilgiler.

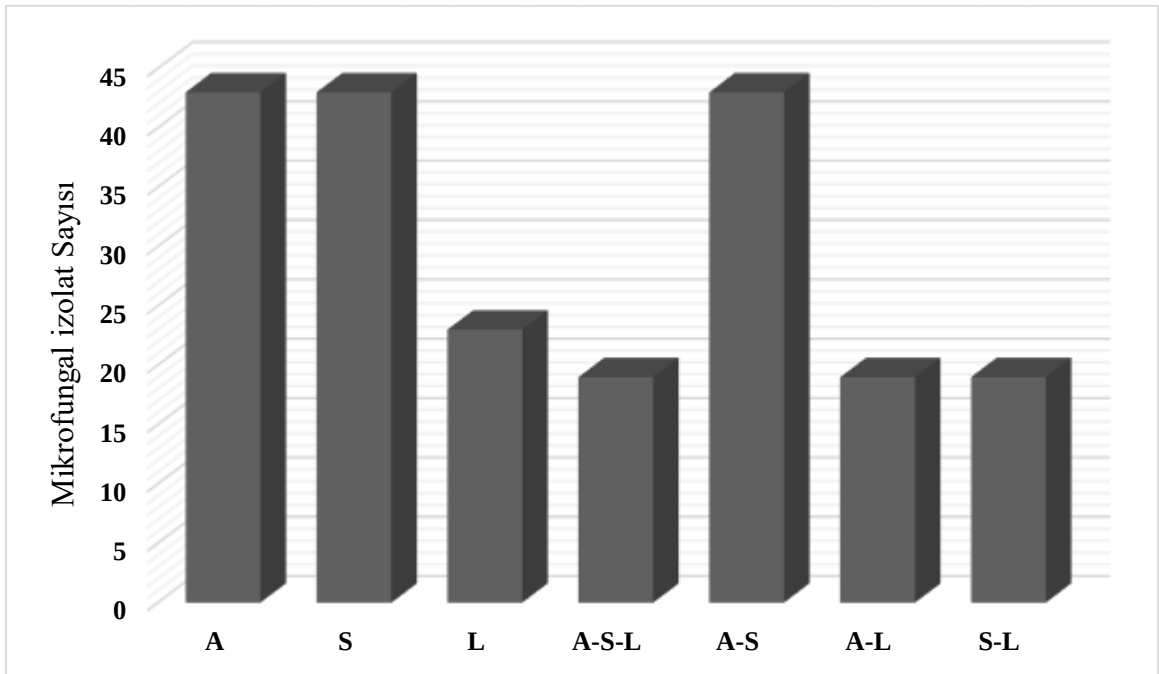
İzolat Kodu	İzolasyon Yapılan Kuyu	İzolasyon Yapılan Besiyeri
S41	F Kuyusu	MEA
S42	F Kuyusu	MEA
S43	F Kuyusu	DG18
S44	F Kuyusu	DG18
S45	F Kuyusu	PDA
S46	G Kuyusu	MEA
S47	G Kuyusu	PDA
S48	G Kuyusu	SDA
S49	G Kuyusu	DG18
S50	G Kuyusu	DG18
S51	G Kuyusu	DG18
S52	G Kuyusu	DG18
S53	G Kuyusu	DG18

CDA: Czapek Dox Agar, DG18: Dikloran Gliserol 18 Agar, MEA: Malt Ekstrakt Agar, PDA: Patates Dekstroz Agar, SDA: Sabouraud Dekstroz Agar

4.2. ÜRETİM ATIKSU ÖRNEKLERİNDEN İZOLE EDİLEN MİKROFUNGUSLARIN HÜCRE DIŞI ENZİMATİK AKTİVİTELERİ BAKIMINDAN DEĞERLENDİRİLMESİ

İzolasyonu yapılan 53 izolatın her birinin amilaz, selüloz, lipaz ve jelatinaz enzimlerini üretebilme yeteneklerinin tespiti için koloni çapları, hidroliz ve ayrıca lipaz için çökelti zon çapları milimetrik cetvel ile ölçülmüş, ortalama değerleri ve enzimatik aktivite indeksleri (%) hesaplanmıştır.

Yapılan deneyler sonucunda mikrofungal izolatların %81'inin (43 adet izolat) nişastayı, %81'inin (43 adet izolat) selülozu ve %43'ünün (23 adet izolat) lipazı parçalama yeteneğinde olduğu tespit edilmiştir. Buna göre enzim aktivitelerinin 3'ünü de gösteren izolat sayısı 19 adet, amilaz ve selüloz aktivitelerini gösteren izolat sayısı 43 adet, amilaz ve lipaz aktivitelerini gösteren izolat sayısı 19 adet, selüloz ve lipaz aktivitelerini gösteren izolat sayısı 19 adet, sadece lipaz enzim aktivitesi gösteren izolat sayısı ise 23 adet olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.2). Yapılan deneyler sonucunda 53 izolatın tamamının jelatinaz enzimi üretebilme yeteneğine sahip olmadığı tespit edilmiştir.



Şekil 4.2: Mikrofungal izolatların tek bir enzimi ya da birden fazla sayıda enzimi üretebilme yeteneklerinin gösterimi.

A: Amilaz, S: Selüloz, L: Lipaz

53 adet mikrofungal izolatın amilaz ve selüloz enzimatik aktivitelerinin gözlemlendiği besiyerlerinde ölçülen ortalama koloni çapı, zon çapı ve hesaplanan enzimatik aktivite indeks değerleri Tablo 4.9’da verilmiştir.

Amilaz enzimi üretebilme yeteneğine sahip olan izolatların S1, S2, S4, S5, S6, S7, S8, S9, S10, S11, S12, S13, S14, S15, S16, S17, S18, S19, S20, S25, S26, S27, S28, S29, S32, S33, S35, S36, S37, S38, S39, S40, S41, S42, S43, S45, S46, S47, S48, S49, S51, S52, S53 kodlu mikrofunguslar olduğu tespit edilmiştir. Amilaz aktivitesi gözlemlenen izolatlara ait örnek fotoğraflar Şekil 4.3’te gösterilmiştir. En yüksek amilaz aktivite indeks değeri %2.33 ile S33 izolatına, en düşük amilaz aktivite indeks değeri ise %1.15 olup S36 izolatına ait olduğu saptanmıştır.

Selüloz enzimi üretebilme yeteneğine sahip olan izolatların S1, S2, S4, S5, S6, S7, S8, S9, S10, S11, S12, S13, S14, S15, S16, S17, S18, S19, S20, S25, S26, S27, S28, S29, S32, S33, S35, S36, S37, S38, S39, S40, S41, S42, S43, S45, S46, S47, S48, S49, S51, S52, S53 kodlu mikrofunguslar olduğu tespit edilmiştir. Selüloz aktivitesi gözlemlenen izolatlara ait örnek fotoğraflar Şekil 4.4’te gösterilmiştir. En yüksek selüloz aktivite indeks değeri %3.42 ile S2 izolatına, en düşük selüloz aktivite indeksi değeri ise %1.30 olup S33 izolatına ait olduğu saptanmıştır.

Tablo 4.9: 53 adet mikrofungal izolatın amilaz ve selüloz enzimatik aktivitelerine ait besiyerlerinde ölçülen ortalama koloni çapı, çökelti çapı, zon çapı ve hesaplanan enzimatik aktivite indeks değerleri.

İzolat Kodu	Amilaz			Selüloz		
	Koloni Çapı (mm)	Zon Çapı (mm)	Enzim Aktivite İndeksi (%)	Koloni Çapı (mm)	Zon Çapı (mm)	Enzim Aktivite İndeksi (%)
S1	15.00± 1.00	15.00± 1.00	2.00	15.00± 1.10	9.00± 1.20	1.60
S2	12.00± 2.00	4.00± 1.00	1.33	7.00± 1.80	17.00± 1.30	3.42
S3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
S4	14.00± 1.00	15.00± 2.00	2.07	11.00± 1.20	11.00± 1.10	2.00
S5	15.00± 1.00	17.00± 1.00	2.13	12.00± 1.30	7.00± 1.10	1.58
S6	24.00± 3.00	8.00± 2.00	1.33	7.00± 1.10	12.00± 0.90	2.71
S7	17.00± 2.00	18.00± 2.00	2.05	11.00± 1.20	18.00± 1.00	2.63

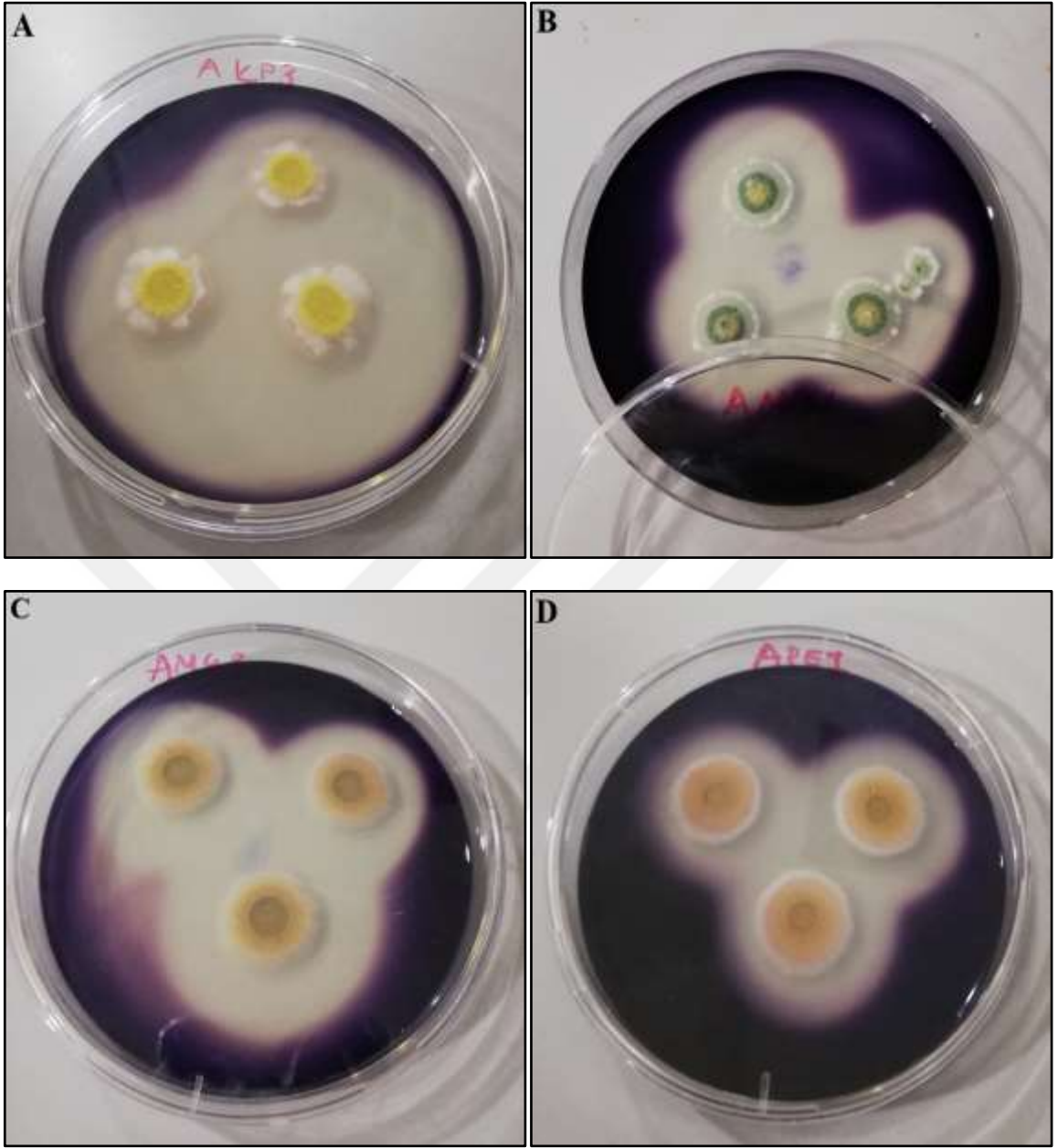
Tablo 4.9 (devam): 53 adet mikrofungal izolatın amilaz ve selüloz enzimatik aktivitelerine ait besiyerlerinde ölçülen ortalama koloni çapı, çökelti çapı, zon çapı ve hesaplanan enzimatik aktivite indeks değerleri.

İzolat Kodu	Amilaz			Selüloz		
	Koloni Çapı (mm)	Zon Çapı (mm)	Enzim Aktivite İndeksi (%)	Koloni Çapı (mm)	Zon Çapı (mm)	Enzim Aktivite İndeksi (%)
S8	20.00± 1.00	10.00± 1.00	1.50	9.00± 1.30	16.00± 0.80	2.77
S9	19.00± 1.00	16.00± 1.50	1.84	12.00± 1.50	10.00± 1.20	1.83
S10	18.00± 2.00	7.00± 2.50	1.38	8.00± 1.10	4.00± 0.60	1.50
S11	24.00± 4.00	9.00± 2.00	1.37	19.00± 1.00	10.00± 1.00	1.52
S12	26.00± 1.00	10.00± 1.50	1.38	20.00± 2.00	10.00± 1.60	1.50
S13	19.00± 2.00	13.00± 1.00	1.68	14.00± 1.60	14.00± 1.40	2.00
S14	16.00± 1.00	8.00± 2.00	1.50	15.00± 1.40	15.00± 1.80	2.00
S15	18.00± 1.50	14.00± 1.50	1.77	18.00± 1.10	19.00± 1.00	2.05
S16	24.00± 1.00	9.00± 2.00	1.37	9.00± 1.30	14.00± 1.00	2.55
S17	32.00± 1.00	6.00± 1.40	1.18	34.00± 1.80	16.00± 1.60	1.47
S18	17.00± 1.00	17.00± 2.00	2.00	17.00± 1.90	30.00± 2.00	2.76
S19	16.00± 1.00	19.00± 1.60	2.18	12.00± 1.20	18.00± 1.60	2.50
S20	15.00± 2.00	9.00± 2.10	1.60	12.00± 1.20	19.00± 1.40	2.58
S21	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
S22	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
S23	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
S24	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
S25	22.00± 3.00	14.00± 1.70	1.63	21.00± 1.10	16.00± 1.00	1.76
S26	21.00± 1.00	11.00± 1.60	1.52	16.00± 2.10	16.00± 2.20	2.00
S27	14.00± 1.00	17.00± 1.50	2.21	15.00± 1.20	17.00± 1.10	2.13
S28	20.00± 2.00	14.00± 2.30	1.70	14.00± 1.00	12.00± 0.70	1.85
S29	30.00± 1.00	10.00± 2.10	1.33	16.00± 1.20	6.00± 1.10	1.37
S30	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

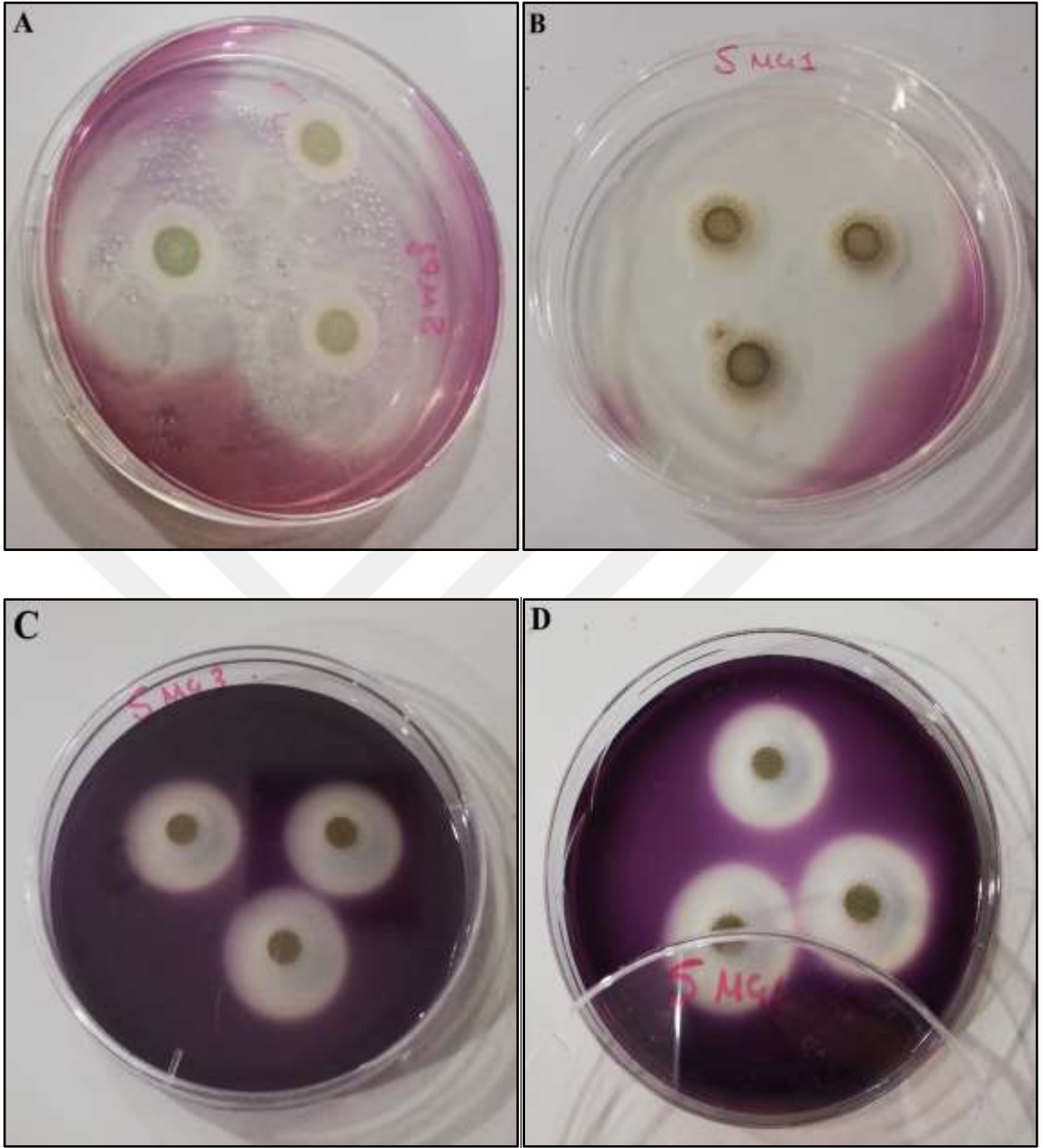
Tablo 4.9 (devam): 53 adet mikrofungal izolatın amilaz ve selüloz enzimatik aktivitelerine ait besiyerlerinde ölçülen ortalama koloni çapı, çökelti çapı, zon çapı ve hesaplanan enzimatik aktivite indeks değerleri.

İzolat Kodu	Amilaz			Selüloz		
	Koloni Çapı (mm)	Zon Çapı (mm)	Enzim Aktivite İndeksi (%)	Koloni Çapı (mm)	Zon Çapı (mm)	Enzim Aktivite İndeksi (%)
S31	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
S32	25.00± 1.00	9.00± 1.20	1.36	16.00± 1.00	10.00± 1.00	1.62
S33	12.00± 2.00	16.00± 1.30	2.33	10.00± 1.00	3.00± 0.80	1.30
S34	6.00± 3.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
S35	22.00± 2.00	13.00± 1.80	1.59	18.00± 1.50	7.00± 1.20	1.38
S36	19.00± 1.00	3.00± 1.10	1.15	20.00± 1.10	8.00± 1.40	1.40
S37	24.00± 3.00	11.00± 1.00	1.45	18.00± 1.20	9.00± 1.30	1.50
S38	20.00± 1.00	8.00± 0.90	1.40	19.00± 1.20	10.00± 1.00	1.52
S39	22.00± 2.00	14.00± 0.50	1.63	20.00± 1.30	20.00± 1.40	2.00
S40	22.00± 2.00	12.00± 0.60	1.54	17.00± 1.20	11.00± 1.00	1.64
S41	19.00± 1.00	15.00± 1.20	1.78	16.00± 1.10	10.00± 1.00	1.62
S42	24.00± 2.00	9.00± 0.20	1.37	16.00± 1.00	10.00± 1.10	1.62
S43	12.00± 1.50	5.00± 0.10	1.41	8.00± 0.20	11.00± 0.30	2.37
S44	5.00± 2.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
S45	13.00± 2.50	9.00± 1.20	1.69	8.00± 0.10	5.00± 0.10	1.62
S46	22.00± 2.00	13.00± 1.10	1.59	17.00± 1.00	8.00± 0.80	1.47
S47	21.00± 1.50	14.00± 0.60	1.66	15.00± 1.00	7.00± 1.10	1.46
S48	18.00± 1.50	14.00± 0.20	1.77	16.00± 1.10	16.00± 1.20	2.00
S49	11.00± 2.00	8.00± 2.00	1.72	7.00± 0.30	9.00± 0.40	2.28
S50	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
S51	17.00± 3.00	8.00± 2.40	1.47	13.00± 0.30	9.00± 0.30	1.69
S52	20.00± 2.50	10.00± 1.60	1.50	14.00± 0.20	12.00± 0.20	1.85
S53	19.00± 1.00	11.00± 1.50	1.57	12.00± 0.10	10.00± 0.10	1.83

mm: Milimetre, ±: Standart Sapma



Şekil 4.3: S15 (A), S19 (B), S41 (C) ve S47 (D) kodlu mikrofungal izolatların amilaz aktivitesi.



Şekil 4.4: S27 (A), S39 (B), S41 (C) ve S42 (D) kodlu mikrofungal izolatların selüloz aktivitesi.

53 adet mikrofungal izolatın lipaz ve jelatinaz enzimatik aktivitelerine ait besiyerlerinde ölçülen ortalama koloni çapı, çökelti çapı, zon çapı ve hesaplanan enzimatik aktivite indeks değerleri Tablo 4.10’da verilmiştir.

Lipaz enzimi üretebilme yeteneğine sahip olan izolatların S2, S4, S5, S11, S13, S14, S15, S20, S22, S23, S25, S27, S29, S34, S36, S37, S39, S41, S42, S44, S45, S46, S49 kodlu mikrofunguslar olduğu tespit edilmiştir. Lipaz aktivitesi gözlemlenen izolatlara ait örnek

fotoğraflar Şekil 4.5'te gösterilmiştir. En yüksek lipaz aktivite indeks değeri %4.33 ile S2 izolatına, en düşük lipaz aktivite indeks değeri ise %1.45 olup S46 izolatına ait olduğu saptanmıştır.

Tablo 4.10: 53 adet mikrofungal izolatın lipaz ve jelatinaz enzimatik aktivitelerine ait besiyerlerinde ölçülen ortalama koloni çapı, çökelti çapı, zon çapı ve hesaplanan enzimatik aktivite indeks değerleri.

İzolat Kodu	Lipaz			Jelatinaz		
	Koloni Çapı (mm)	Çökelti Çapı (mm)	Enzim Aktivite İndeksi (%)	Koloni Çapı (mm)	Zon Çapı (mm)	Enzim Aktivite İndeksi (%)
S1	0.00	0.00	0.00	13.00± 1.20	0.00	0.00
S2	15.00± 1.20	50.00± 1.20	4.33	9.50± 1.00	0.00	0.00
S3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
S4	21.00± 1.40	14.00± 1.50	1.66	12.00± 1.50	0.00	0.00
S5	24.00± 1.30	50.00± 1.60	3.08	14.00± 1.00	0.00	0.00
S6	0.00	0.00	0.00	16.00± 1.30	0.00	0.00
S7	0.00	0.00	0.00	13.00± 1.40	0.00	0.00
S8	0.00	0.00	0.00	8.00± 1.00	0.00	0.00
S9	0.00	0.00	0.00	16.00± 1.00	0.00	0.00
S10	0.00	0.00	0.00	14.00± 2.00	0.00	0.00
S11	35.00± 1.30	60.00± 1.50	2.71	20.00± 1.20	0.00	0.00
S12	0.00	0.00	0.00	12.00± 1.30	0.00	0.00
S13	23.00± 1.50	19.00± 1.80	1.82	11.00± 1.80	0.00	0.00
S14	26.00± 1.70	52.00± 1.60	3.00	12.00± 1.00	0.00	0.00
S15	30.00± 1.20	60.00± 1.70	3.00	17.00± 1.20	0.00	0.00
S16	0.00	0.00	0.00	20.00± 1.50	0.00	0.00
S17	0.00	0.00	0.00	26.00± 1.10	0.00	0.00
S18	0.00	0.00	0.00	15.00± 1.00	0.00	0.00
S19	0.00	0.00	0.00	16.00± 1.20	0.00	0.00

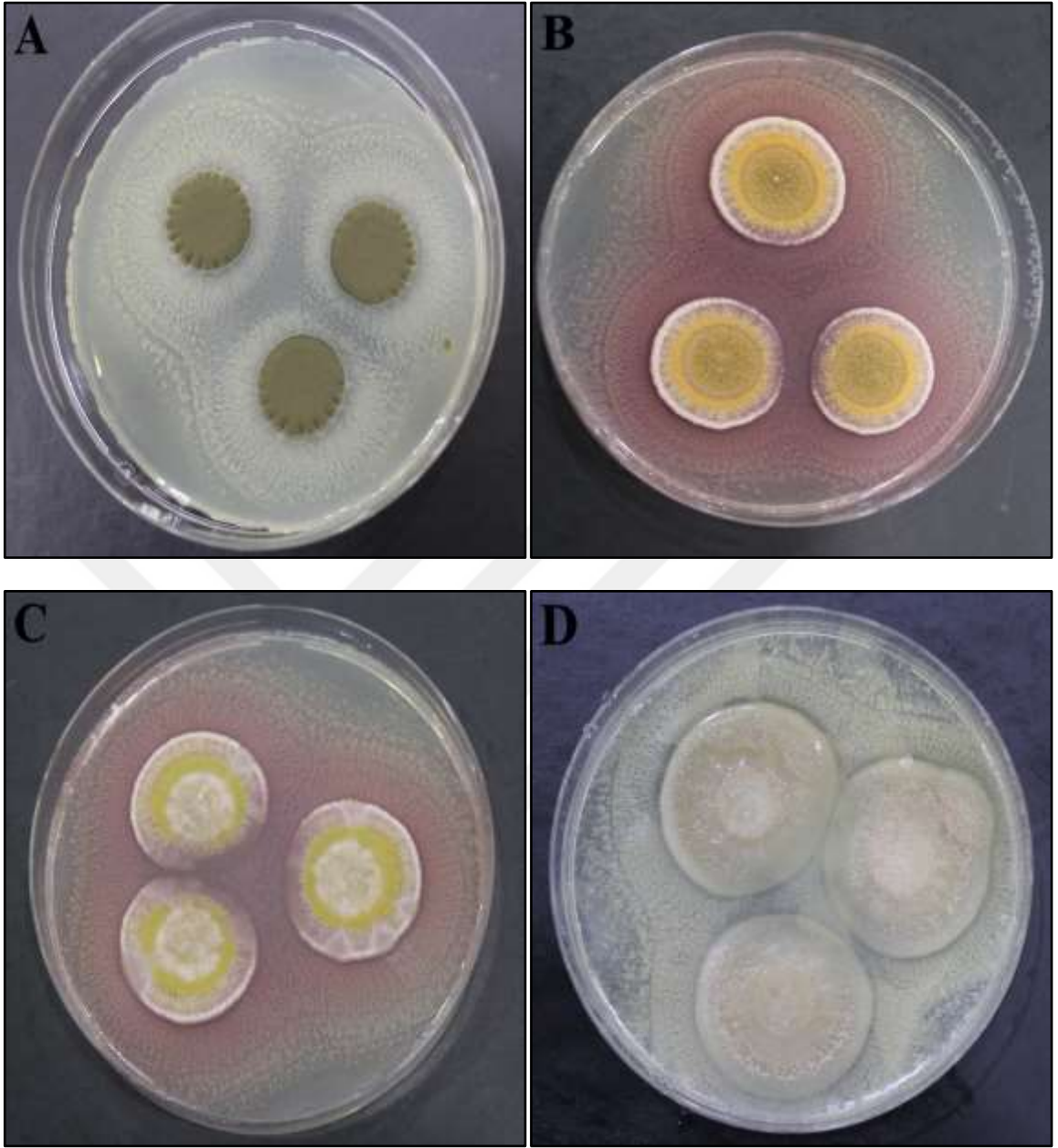
Tablo 4.10 (devam): 53 adet mikrofungal izolatın lipaz ve jelatinaz enzimatik aktivitelerine ait besiyerlerinde ölçülen ortalama koloni çapı, çökelti çapı, zon çapı ve hesaplanan enzimatik aktivite indeks değerleri.

İzolat Kodu	Lipaz			Jelatinaz		
	Koloni Çapı (mm)	Çökelti Çapı (mm)	Enzim Aktivite İndeksi (%)	Koloni Çapı (mm)	Zon Çapı (mm)	Enzim Aktivite İndeksi (%)
S20	26.00± 1.40	58.00± 1.20	3.23	14.00± 1.30	0.00	0.00
S21	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
S22	32.00± 1.90	19.00± 2.00	1.62	0.00	0.00	0.00
S23	39.00± 1.60	60.00± 1.20	2.53	0.00	0.00	0.00
S24	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
S25	28.00± 1.40	50.00± 1.60	2.78	18.00± 1.40	0.00	0.00
S26	0.00	0.00	0.00	17.00± 2.00	0.00	0.00
S27	20.00± 1.10	18.00± 1.20	1.90	14.00± 1.60	0.00	0.00
S28	0.00	0.00	0.00	16.00± 1.70	0.00	0.00
S29	30.00± 1.00	50.00± 1.10	2.66	18.00± 1.00	0.00	0.00
S30	0.00	0.00	0.00	22.00± 1.30	0.00	0.00
S31	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
S32	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
S33	0.00	0.00	0.00	22.00± 1.00	0.00	0.00
S34	21.00± 1.20	26.00± 1.20	2.23	12.00± 1.20	0.00	0.00
S35	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
S36	20.00± 1.00	18.00± 1.10	1.90	21.00± 1.50	0.00	0.00
S37	32.00± 1.00	26.00± 1.20	1.81	17.00± 1.50	0.00	0.00
S38	0.00	0.00	0.00	18.00± 2.10	0.00	0.00
S39	32.00± 1.20	18.00± 1.30	1.56	20.00± 2.30	0.00	0.00

Tablo 4.10 (devam): 53 adet mikrofungal izolatın lipaz ve jelatinaz enzimatik aktivitelerine ait besiyerlerinde ölçülen ortalama koloni çapı, çökelti çapı, zon çapı ve hesaplanan enzimatik aktivite indeks değerleri.

İzolat Kodu	Lipaz			Jelatinaz		
	Koloni Çapı (mm)	Çökelti Çapı (mm)	Enzim Aktivite İndeksi (%)	Koloni Çapı (mm)	Zon Çapı (mm)	Enzim Aktivite İndeksi (%)
S40	0.00	0.00	0.00	23.00± 1.70	0.00	0.00
S41	32.00± 1.20	70.00± 1.40	3.18	21.00± 1.60	0.00	0.00
S42	26.00± 1.50	50.00± 1.50	2.92	24.00± 1.50	0.00	0.00
S43	0.00	0.00	0.00	20.00± 1.00	0.00	0.00
S44	24.00± 1.60	40.00± 1.50	2.66	19.00± 1.50	0.00	0.00
S45	25.00± 1.50	50.00± 1.50	3.00	12.00± 1.00	0.00	0.00
S46	33.00± 1.00	16.00± 1.50	1.45	0.00	0.00	0.00
S47	0.00	0.00	0.00	10.00± 0.50	0.00	0.00
S48	0.00	0.00	0.00	22.00± 1.00	0.00	0.00
S49	25.00± 2.00	24.00± 1.50	1.96	18.00± 0.60	0.00	0.00
S50	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
S51	0.00	0.00	0.00	16.00± 1.20	0.00	0.00
S52	0.00	0.00	0.00	18.00± 1.00	0.00	0.00
S53	0.00	0.00	0.00	20.00± 1.30	0.00	0.00

mm: Milimetre, ±: Standart Sapma



Şekil 4.5: S2 (A), S5 (B), S14 (C) ve S46 (D) kodlu mikrofungus izolatlarının lipaz aktivitesi.

Yapılan istatistiksel analiz sonucunda selüloz, amilaz ve lipaz aktivite indeks değerleri arasında anlamlı bir farkın olmadığı saptanmıştır.

4.3. ÜRETİM ATIKSU ÖRNEKLERİNDEN İZOLE EDİLEN MİKROFUNGUSLARIN CİNS VEYA TÜR DÜZEYİNDE TAYİNİ

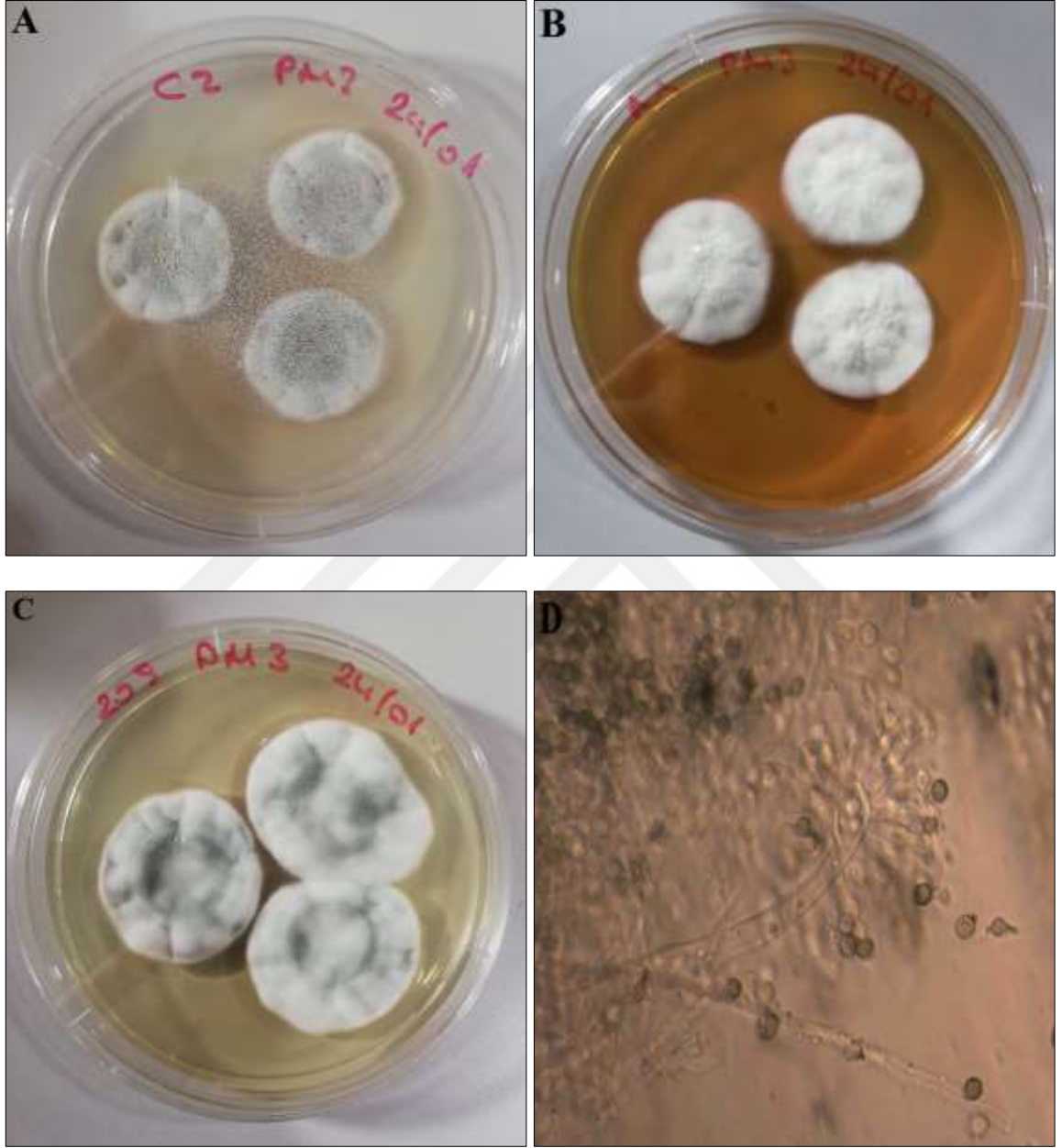
İncelenen 7 petrol kuyusuna ait üretim atıksu örneklerinden izole edilen mikrofungusların cins veya tür düzeyinde tayinleri, tespit edildikleri kuyular ve izolat sayıları Tablo 4.11’de gösterilmiştir.

Tablo 4.11: İzole edilen mikrofungusların cins veya tür adı, izolat kodları ve sayıları.

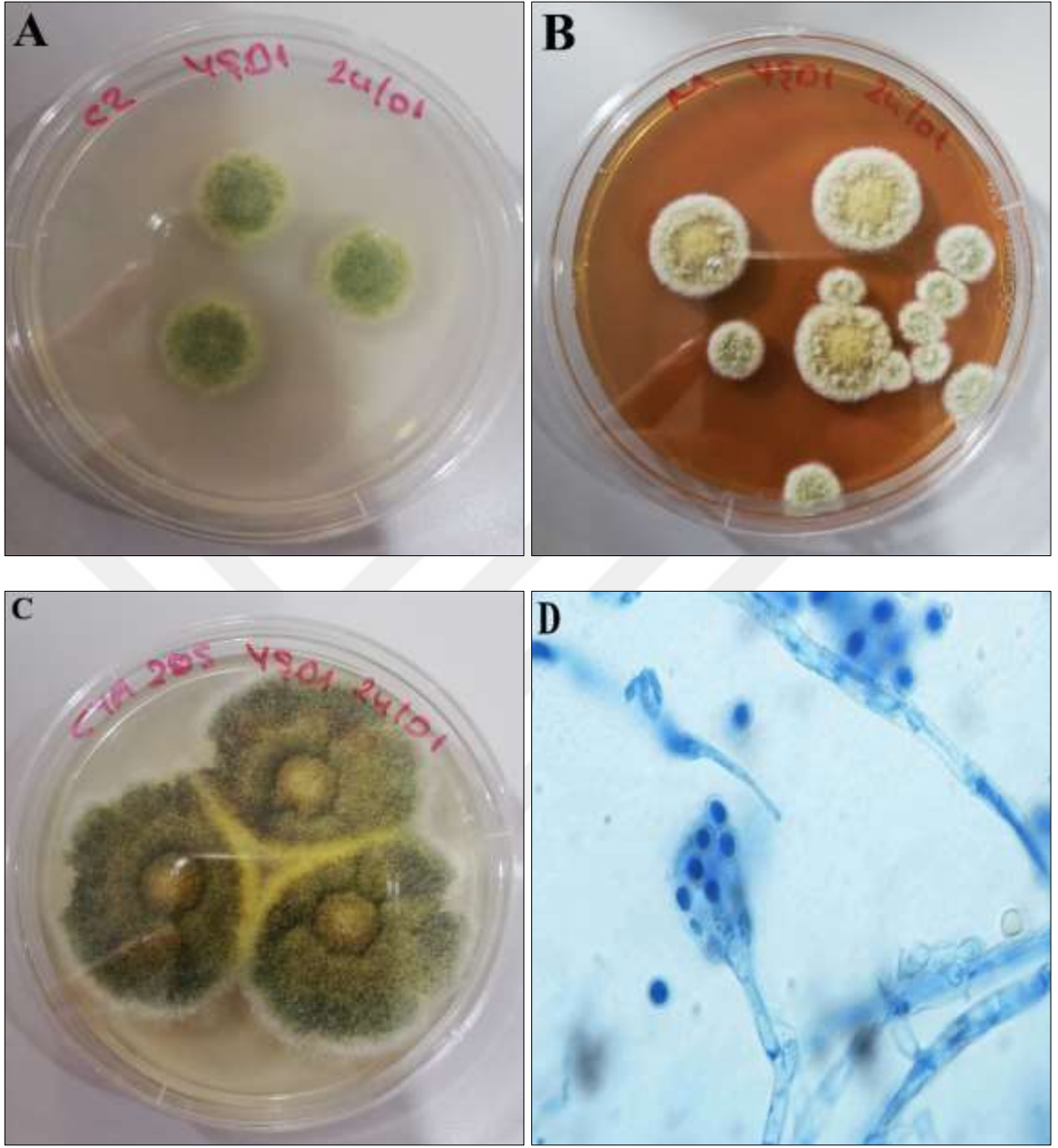
Cins veya Tür Adı	İzolat Kodu	İzolasyonun Yapıldığı Kuyu ve İzolat Sayısı
<i>Aspergillus sp.</i> P. Micheli 1729	S23	D (1)
<i>Aspergillus flavus</i> Link 1809	S33, S34, S36, S44	E (3), F (1)
<i>Aspergillus versicolor</i> (Vuill.) Tirab. 1908	S4, S5, S9, S10, S11, S12, S13, S14, S15, S19, S20, S22, S25, S26, S27, S28, S29, S37, S39, S40, S41, S42, S45, S46, S47, S48	B (2), C (7), D (7), E (2), F (5), G (3)
<i>Chaetomium sp.</i> Kunze 1817	S21	D (1)
<i>Cladosporium cucumerinum</i> Ellis & Arthur 1889	S2	A (1)
<i>Penicillium chrysogenum</i> Thom 1910	S1, S6, S17, S35, S49, S50, S51, S52	A (1), B (1), C (1), E (1), G (4)
<i>Penicillium solitum</i> Westling 1911	S7, S8, S16, S18, S32, S43, S53	B (2), C (2), E (1), F (1), G (1)
Spor oluşturmeyen fungus	S3, S38	A (1), F (1)
Maya	S24, S30, S31	D (1), E (2)

7 farklı petrol kuyusuna ait üretim atık suyu örneklerinden izole edilen 53 mikrofungusun, 1 adedi (%2) *Aspergillus sp.*, 4 adedi (%8) *Aspergillus flavus*, 26 adedi (%49) *Aspergillus versicolor*, 1 adedi (%2) *Chaetomium sp.*, 1 adedi (%2) *Cladosporium cucumerinum*, 8 adedi (%15) *Penicillium chrysogenum*, 7 adedi (%13) *Penicillium solitum*, 2 adedi (%4) spor oluşturmeyen fungus ve 3 adedi (%6) maya olarak tayin edilmiştir. Cins veya tür düzeyinde

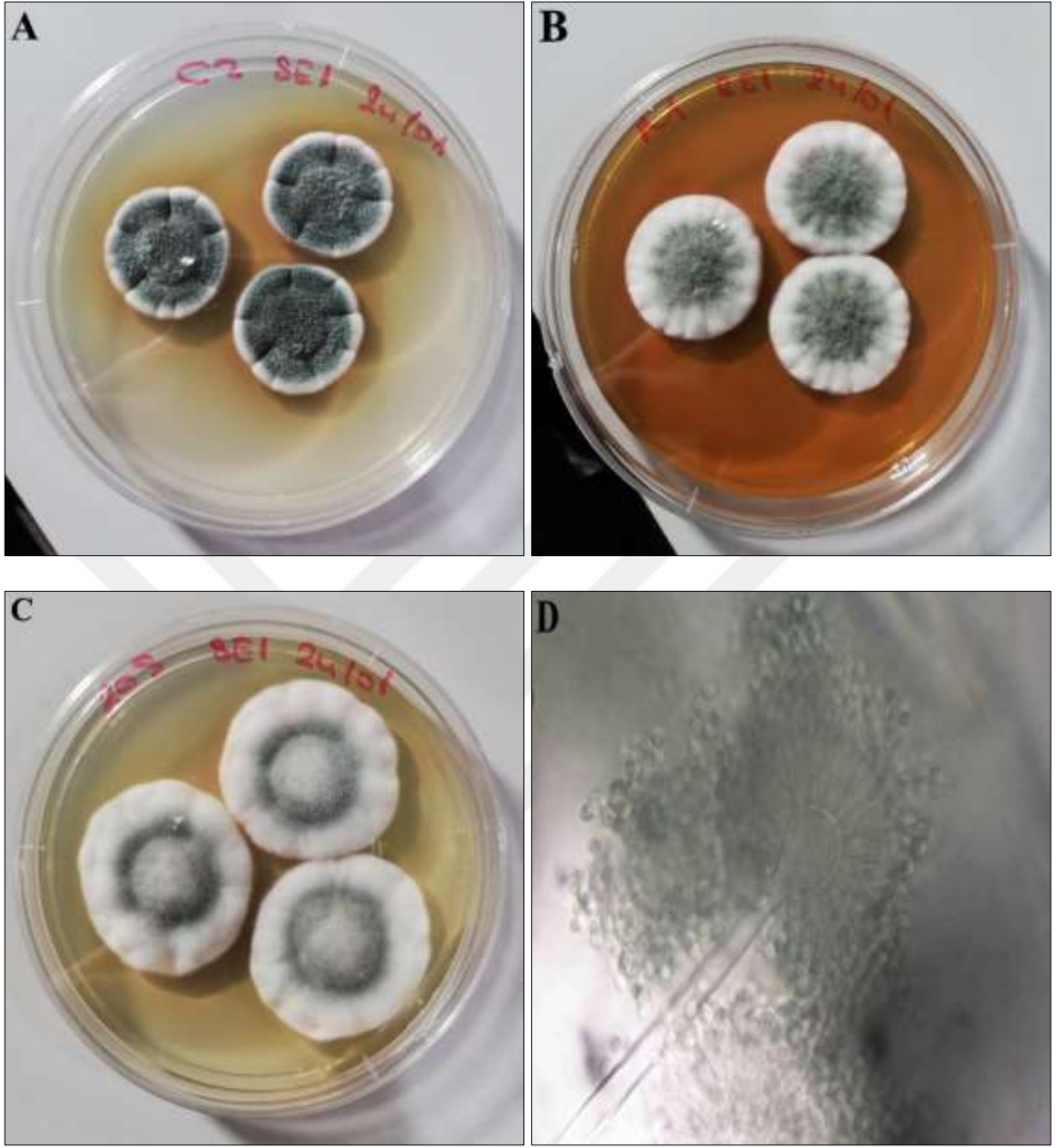
tayini yapılan mikrofunguslara ait örnek makroskopik ve mikroskopik görüntüler Şekil 4.6-4.12’de verilmiştir.



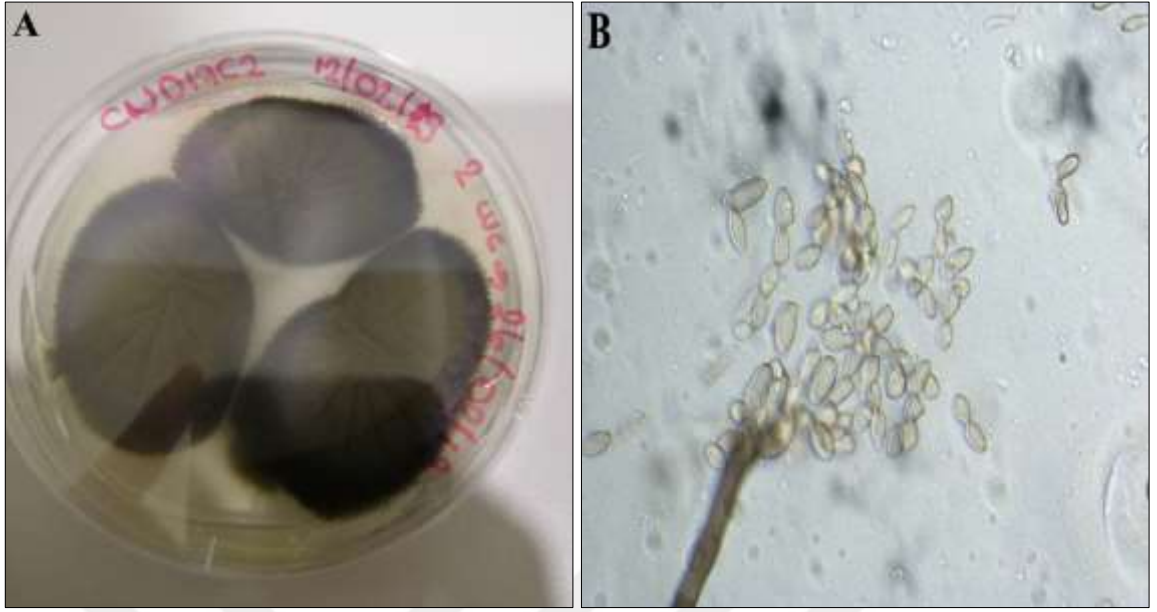
Şekil 4.6: *Aspergillus* sp. (A) CDA besiyerinde, (B) MEA, (C) CY20S besiyerinde 7 günlük görünümü, (D) Mikroskopik görünümü x 1000.



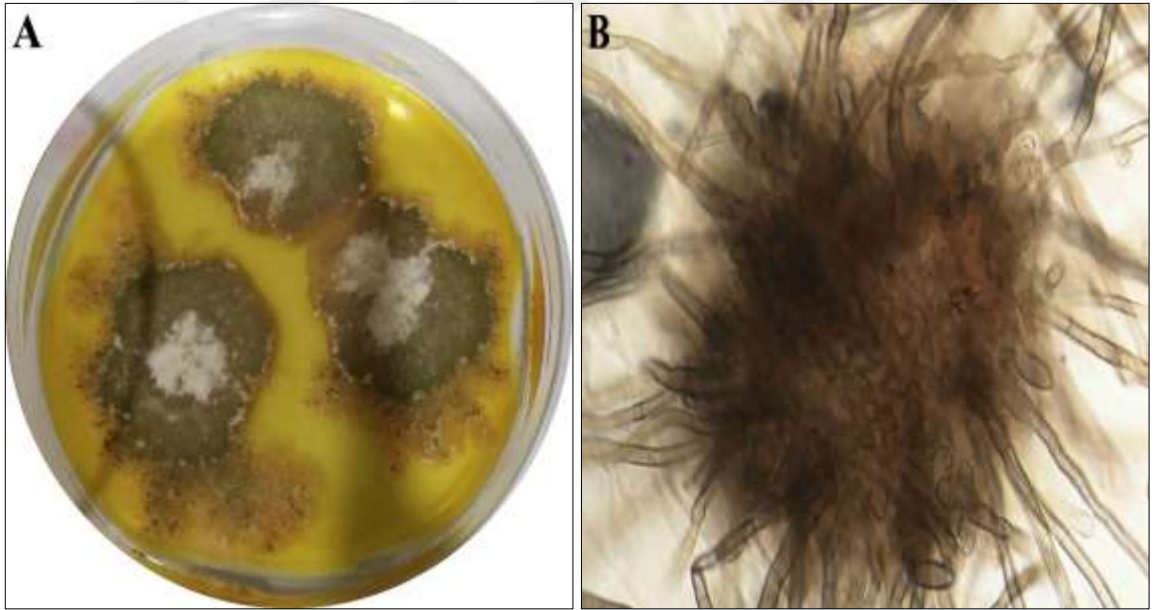
Şekil 4.7: *Aspergillus flavus* (A) CDA besiyerinde, (B) MEA besiyerinde, (C) CY20S besiyerinde 7 günlük koloni görünümü, (D) Mikroskopik görünümü x 1000.



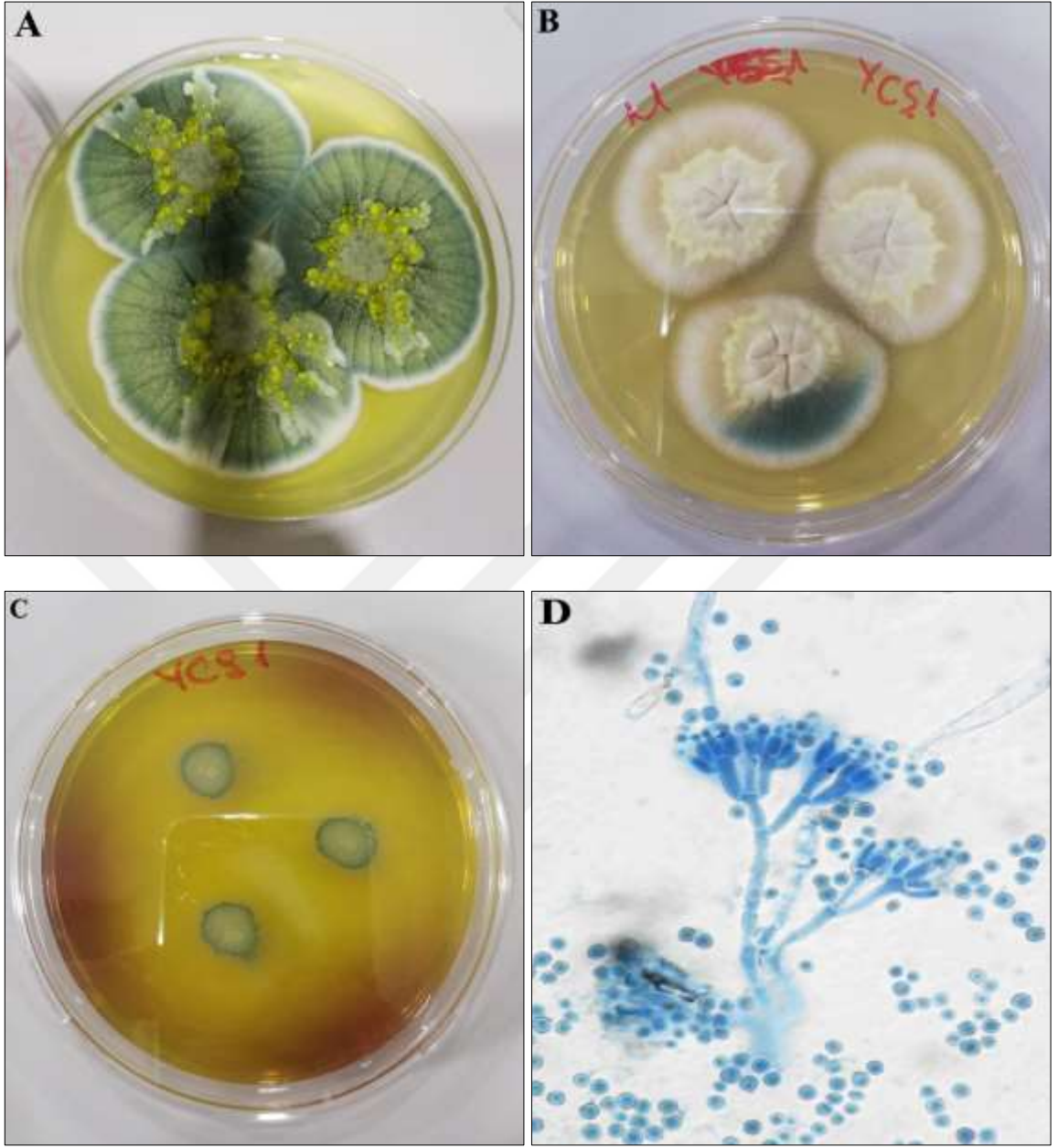
Şekil 4.8: *Aspergillus versicolor* (A) CDA besiyerinde, (B) MEA besiyerinde, (C) CY20S besiyerinde 7 günlük koloni görünümü, (D) Mikroskopik spor görünümü x 1000.



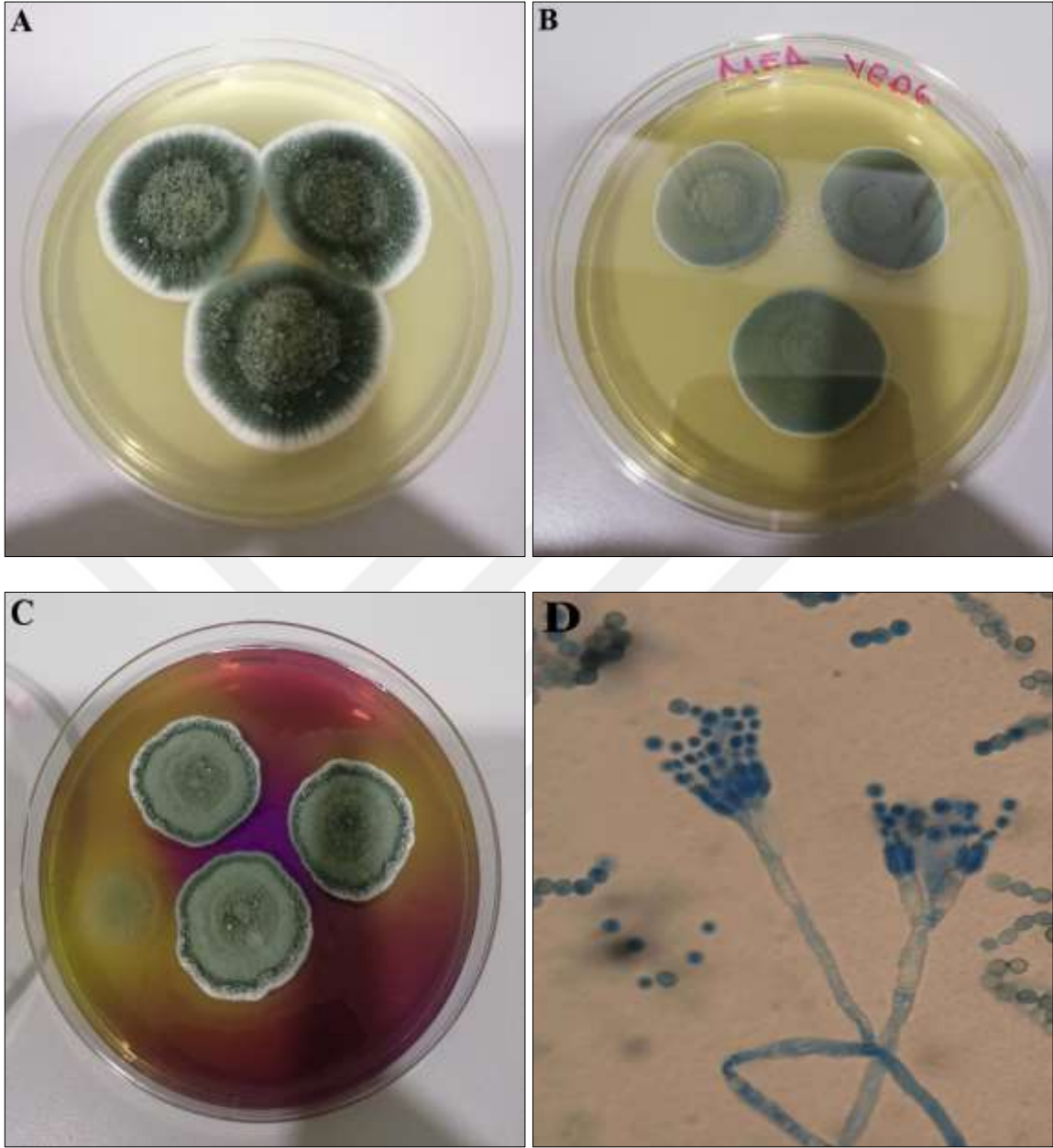
Şekil 4.9: *Cladosporium cucumerinum* (A) PDA besiyerinde 14 günlük koloni görünümü, (B) Mikroskopik görünümü x 1000.



Şekil 4.10: *Chaetomium* sp. (A) MEA besiyerinde 14 günlük koloni görünümü, (B) Mikroskopik görünümü x 1000.



Şekil 4.11: *Penicillium chrysogenum* (A) CYA besiyerinde, (B) MEA, (C) KSA besiyerinde 7 günlük koloni görünümü, (D) Mikroskopik görünümü x 1000.



Şekil 4.12: *Penicillium solitum* (A) CYA besiyerinde, (B) MEA, (C) KSA besiyerinde 7 günlük koloni görünümü, (D) Mikroskopik görünümü x 1000.

Tablo 4.11'e göre A kuyusuna ait üretim atıksu örneğinden izole edilen toplam 3 adet mikrofungusun *Penicillium chrysogenum*, *Cladosporium cucumerinum* ve spor oluşturmeyan fungus olduğu tayin edilmiştir.

B kuyusuna ait üretim atıksu örneğinden izole edilen toplamda 5 adet mikrofungusun 2'si (%40) *Aspergillus versicolor*, 2'si (%40) *Penicillium solitum* ve 1'i (%20) ise *Penicillium chrysogenum*'dur.

C kuyusuna ait üretim atıksu örneğinden izole edilen toplamda 10 adet mikrofungusun 7'si (%70) *Aspergillus versicolor*, 2'si (%20) *Penicillium solitum* ve 1'i (%10) ise *Penicillium chrysogenum*'dur.

D kuyusuna ait üretim atıksu örneğinden izole edilen 10 adet mikrofungusun 1'i (%10) *Aspergillus sp.*, 7'si (%70) *Aspergillus versicolor*, 1'i (%10) *Chaetomium sp.* ve 1'i (%10) mayadır.

E kuyusuna ait üretim atıksu örneğinden izole edilen 9 adet mikrofungusun 3'ü (%33.3) *Aspergillus flavus*, 2'si (%22.2) *Aspergillus versicolor*, 1'i (%22.2) *Penicillium solitum*, 1'i (%22.2) *Penicillium chrysogenum* ve 2'si (%22.2) mayadır.

F kuyusuna ait üretim atıksu örneğinden izole edilen 8 adet mikrofungusun 1'i (%12.5) *Aspergillus flavus*, 5'i (%62.5) *Aspergillus versicolor*, 1'i (%12.5) *Penicillium solitum* ve 1'i (%12.5) spor oluşturmeyen mikrofungustur.

G kuyusuna ait üretim atıksu örneğinden izole edilen 8 adet mikrofungusun 3'ü (%37.5) *Aspergillus versicolor*, 1'i (%12.5) *Penicillium solitum*, 4'ü (%50) *Penicillium chrysogenum*'dur.

Maya ve spor oluşturmeyen mikrofungal izolatlar dışındaki cins veya tür tayinleri yapılan tüm mikrofungal izolatların Ascomycota filumuna mensup olduğu saptanmıştır.

Tüm kuyular değerlendirildiğinde en fazla cins ve tür çeşitliliği 3 farklı cins ve 4 farklı türe sahip olmasıyla E kuyusunda tespit edilmiştir.

7 farklı petrol kuyusuna ait üretim atıksu örneklerinden izole edilen mikrofunguslar içerisinde en çok bulunan türlerin sırasıyla *Aspergillus versicolor*, *Penicillium chrysogenum* ve *Penicillium solitum* olduğu saptanmıştır.

7 farklı petrol kuyusuna ait üretim atıksu örneklerinde AMM varlığını tespit edebilmek ve daha fazla çeşit fungus saptayabilmek için 5 farklı içeriğe sahip besiyerine ekim yapılmış olup, tür çeşitliliği açısından bakıldığında sırasıyla 5 farklı türün izolasyonu ile CDA besiyerinin, 4 farklı türün izolasyonu ile DG18 besiyerinin, 3 farklı tür ve 3 farklı cinsin izolasyonu ile PDA

besiyerlerinin kullanımının SDA ve MEA besiyerlerinin kullanımına göre daha başarılı olduğu saptanmıştır (Tablo 4.8 ve 4.11).

Tür düzeyinde tayini yapılan mikrofungusların içerisinde 26 adet *Aspergillus versicolor* izolatının 25'inin (S4, S5, S9, S10, S11, S12, S13, S14, S15, S19, S20, S25, S26, S27, S28, S29, S37, S39, S40, S41, S42, S45, S46, S47, S48) amilaz ve selüloz enzimlerini, ayrıca bu izolatlardan 17'sinin (S4, S5, S11, S13, S14, S15, S20, S22, S25, S27, S29, S37, S39, S41, S42, S45, S46) lipaz enzimini de üretebilme yeteneğine sahip olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.9, 4.10 ve 4.11).

8 adet *Penicillium chrysogenum* izolatının (S1, S6, S17, S35, S49, S51, S52) 7'sinin amilaz ve selüloz enzimlerini ayrıca, S49 izolatının lipaz enzimini üretebilme yeteneğine sahip olduğu tespit edilmiştir.

7 adet *Penicillium solitum* izolatının (S7, S8, S16, S18, S32, S43, S53) amilaz ve selüloz enzimlerini üretebilme yeteneği olduğu tespit edilmiştir.

4 adet *Aspergillus flavus* izolatının (S33, S36) 2'sinin amilaz ve selüloz enzimlerini ayrıca, 3'ünün (S34, S36, S44) lipaz enzimini üretebilme yeteneğine sahip olduğu tespit edilmiştir.

1 adet *Cladosporium cucumerinum* izolatının (S2) amilaz, selüloz ve lipaz enzimlerini üretebilme yeteneğine sahip olduğu tespit edilmiştir.

Cins düzeyinde tayini yapılan mikrofunguslar içerisinde 1 adet *Aspergillus sp.* izolatının (S23) sadece lipaz enzimini üretebilme yeteneğine sahip olduğu tespit edilmiştir. 1 adet *Chaetomium sp.* izolatının (S21) amilaz, selüloz, lipaz ve jelatinaz enzimlerini üretebilme yeteneğine sahip olmadığı tespit edilmiştir (Tablo 4.9, 4.10 ve 4.11).

Ayrıca 2 adet spor oluşturmeyen fungus izolatından (S3, S38) 1'inin (S38) amilaz ve selüloz enzimlerini üretebilme yeteneğine sahip olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.9, 4.10 ve 4.11).

3 adet maya izolatının (S24, S30, S31) amilaz, selüloz, lipaz ve jelatinaz enzimlerini üretebilme yeteneklerine sahip olmadıkları tespit edilmiştir (Tablo 4.9, 4.10 ve 4.11).

53 mikrofungal izolatın tamamı değerlendirildiğinde en yüksek amilaz aktivite indeks değerine sahip (%2.33) S33 izolatı ve en düşük amilaz aktivite indeks değerine sahip (%1.15) S36 izolatının *Aspergillus flavus* olduğu saptanmıştır.

En yüksek selüloz aktivite indeks değerine sahip (%3.42) S2 izolatının *Cladosporium cucumerinum*, en düşük selüloz aktivite indeks değerine sahip (%1.30) S33 izolatının ise *Aspergillus flavus* olduğu saptanmıştır.

En yüksek lipaz aktivite indeks değerine sahip (%4.33) S2 izolatının *Cladosporium cucumerinum* iken en düşük lipaz aktivite indeks değerine sahip (%1.45) S46 izolatının ise *Aspergillus versicolor* olduğu saptanmıştır.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Funguslar canlılıklarını sürdürmek için doğadaki birçok zorlu koşula adapte olmuştur. *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Fusarium* ve *Trichoderma* gibi fungus cinsleri ve bu cinslere ait bazı fungus türleri petrol ve doğalgaz rezervleri gibi ekstrem koşullara sahip ortamlarda canlılıklarını sürdürüp, bu rezervlerin yer altından çıkarılması sırasında kullanılan üretim atıksuyu ile diğer çevrelere taşınırlar.

Yurt dışında, petrol rezervuarları ve bunlarla ilişkili ortamlarda bulunan bakteri, fungus gibi farklı mikroorganizmaların çeşitliliği ve ekolojileri üzerine çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Wemedo ve diğ., 2009; Okungbowa ve diğ., 2011; Chaudhry ve diğ., 2012; Al-Jawhari, 2014; Zafra ve diğ., 2014). Ülkemizde petrolle kontamine olmuş topraklarda, formasyon ve üretim atıksularında yapılan ayrıntılı çalışmalar sadece bakteriyolojik analizler üzerinedir (Coral ve Karagöz, 2005; Balk, 2007; Avcı ve Dönmez, 2008; Hoşhan ve diğ., 2008; Erdoğan ve diğ., 2012; Tüccar ve diğ., 2019). Yurt içinde petrol çevreleriyle ilgili yapılan çalışmalarda, çok farklı ortamlarda mevcudiyetini sürdürebilen ve bu ortamlardaki organik maddelerin biyolojik yıkımında önemli rolleri olan kültüre edilebilir mikrofungusların varlığının ve çeşitliliğinin değerlendirildiği, izolasyonlarında farklı besiyerlerinin kullanıldığı ve hücre dışı enzimatik aktivite özelliklerinin incelendiği kapsamlı bir çalışma bulunmamaktadır.

Bu nedenle tez çalışması sonucunda elde edilen veriler, özellikle ülkemizde petrol ile ilişkili çevrelerde yapılması planlanan petrol hidrokarbonlarının biyodegradasyonu veya biyoremediasyonu çalışmalarına kaynak sağlayacak olması bakımından önem arz etmektedir. Ayrıca mikrofungusların varlığının ve metabolik çeşitliliğinin saptanması, petrol kalitesinde bozulmalara ve boru materyallerinde korozyona yol açabilen başta sülfat indirgeyen bakteriler olmak üzere petrol kuyularındaki mikrobiyal yükün azaltılmasına veya önlenmesine karşı alınacak önlemlerin belirlenmesine yönelik çalışmalara da katkı sağlayabilecektir.

Çalışmamız kapsamında Adıyaman ili petrol sahalarından alınan üretim atıksularındaki mikrofungus varlığını ortaya koymak için yüzeye yayma ekim yöntemi tercih edilmiştir. Bu yöntem Amerikan Halk Sağlığı Birliği tarafından atıksularda fungus izolasyonu için önerilen (yüzeye yayma, dökme plak ve membran filtrasyon) ekim yöntemlerinden biri olup (APHA, 2005), aerobik mikroorganizmaların izolasyonu için özellikle örnek miktarının az olduğu çalışmalarda kullanılmaktadır. Çalışmamıza benzer olarak Wemedo ve diğ. (2009) Nijerya'daki

petrol sahalarına ait üretim atıksuyu örneklerinden, Christian ve diğ. (2014) Nijer Delta'sına ait petrolle kontamine olmuş topraklardan, Kottb ve diğ. (2019) Süveyş Körfezi'ndeki petrolle kontamine olmuş deniz sularından mikrofungus izolasyonu gerçekleştirmek amacıyla yüzeye yayma ekim yöntemini kullanmış ve mikrofungus izolasyonunu gerçekleştirmişlerdir.

Bu tez çalışması kapsamında yapılan deneysel çalışmalar sonucunda, üretim atıksuyu örnekleri incelenen Adıyaman petrol sahalarına ait 7 farklı petrol kuyusunda toplam 89 adet kültüre edilebilir mikrofungus kolonisi saptanmıştır. Dawoodi ve diğ. (2015) yaptıkları çalışma sonucunda fungusların birbirine yakın alanlardan izole edildiklerinde dahi sayısal olarak çok az benzerlik gösterdiklerini bildirmiştir. Nitekim çalışmamızda incelenen 7 petrol kuyusuna ait üretim atıksuyu örneklerinden; A kuyusundan toplam 3 adet, B kuyusundan 5 adet, C ve D kuyularından 10'ar adet, E kuyusundan 13 adet, F kuyusundan 16 adet ve G kuyusundan 32 adet olmak üzere farklı sayılarda mikrofungus kolonisi tespit edilmiştir. Çalışmamıza benzer olarak Wemedo ve diğ. (2009) Nijeryada'ki petrol sahalarındaki 5 farklı lokasyona ait üretim atıksuyu örneklerinden ve Kottb ve diğ. (2019) Süveyş Körfezi'ndeki petrolle kontamine olmuş 3 farklı lokasyona ait deniz suyu örneğinin her birinde farklı sayıda mikrofungus kolonisi saptamışlardır.

Mikrofungus koloni sayıları arasında saptanan bu farklılıklar, daha önce yapılan araştırma sonuçları ile açıklanabilmektedir. (İ) Obire ve Anyanwu (2009), yaptıkları çalışma sonucunda toprak örneklerinde bulunan petrolün oranının artmasına bağlı olarak mikrofungusların sayısında azalma meydana geldiğini bildirmişleridir. Bu durumun sebebinin bazı fungusların petroldeki toksik maddeleri parçalayarak hayatta kalabilirken bazı fungusların ise bu duruma adapte olamayıp, canlılıklarını sürdürememeleri olduğunu öne sürmüşlerdir. (İİ) Rousk ve Baath (2011), toprak ve sucul ortamlarda bulunan bakteriler ile mikrofunguslar arasındaki rekabetin de izole edilebilecek mikrofungusların sayılarını etkileyebileceğini bildirmişlerdir. Çalışmamız kapsamında üretim atıksularında sadece mikrofungus varlığı ve sayısı tespit edilmiş olup, bundan sonra yapılması planlanan çalışmalarda bakteriyolojik analizlerin de gerekliliği ortaya çıkmıştır. (İİİ) Petrolle kontamine olmuş toprak ve sucul çevrelerde kadmiyum, bakır ve çinko gibi ağır metallerin varlığı fungusların üremesini veya büyümesini kısıtlayabilir (Moreirinha ve diğ., 2010). Nitekim, Adesina ve Adelasoye (2014) Nijerya'da petrolle kontamine olmuş 5 toprak örneğinde kadmiyum, çinko, demir, nikel ve bakır metallerinin konsantrasyonu arttıkça fungus popülasyonunda azalma meydana geldiği

gösterilmiştir. Ayrıca, Azavedo ve Cássio (2010) sucul çevrelerdeki mikrofungusların katı ve sıvı besiyerinde nikel, çinko, kadmiyum ve bakır konsantrasyonu arttıkça büyümelerinin olumsuz yönde etkilendiğini bildirmişlerdir. Ek olarak petrolle kontamine olmuş çevrelerde tuzluluk oranı arttıkça, mikroorganizmaların hidrokarbonları parçalayabilme yetenekleri ile birlikte parçalayabilecekleri bileşik (substrat) sayısı ve çeşidi de azalmaktadır (Obuekwe ve diğ., 2005). Ancak bazı funguslar bulundukları çevrelerdeki bu yüksek tuzluluk oranlarına dayanıklıdır (Dhar ve diğ., 2014). Bu gibi parametreler petrol rezervuarlarındaki mikrofungus varlığını ve sayısını etkileyebilmektedir. Çalışmamız kapsamında üretim atıksu örneklerinin kimyasal parametreleri ölçülmemiş olup, ileride petrolle ilişkili örnekleme yapılması planlanan çevrelere ait tuz, pH ve ağır metal varlığı ve petrol hidrokarbonlarının içeriği gibi kimyasal parametrelerin ölçülmesi önerilmektedir. Ayrıca (İV) petrol kuyularının toprak içerisindeki derinliklerinin farklı olabilmesinden kaynaklanabilecek sıcaklık ve oksijen farklılıklarının (Ollivier ve diğ., 2007) mikroorganizmaların üreme kapasitelerinde değişkenlik gösterebileceği de düşünülmektedir.

Funguslar metabolizmaları için gerekli olan enerjiyi bulundukları çevrelerdeki farklı besinler üzerinden sağlar. Laboratuvar ortamında fungusları kültüre edebilmek için magnezyum sülfat, sodyum nitrat gibi bileşikler ile glikoz, süktroz ve pepton gibi karbon ve azot kaynağı olan besinleri sağlamak gerekir (Townsend, 1957; Hubballi ve diğ., 2010). Bu sebeple fungus izolasyonun yapılacağı ortam şartlarının da göz önüne alınarak besiyeri seçiminin yapılması, bekleme süresinin ve sıcaklığının belirlenmesi de kritik öneme sahiptir. Çalışmamızda tercih edilen besiyerlerinden; PDA besiyeri, zengin içeriği itibarıyla birçok küf ve mayanın üremesini desteklerken, düşük pH oranıyla bakteri gelişimini baskılayan bir besiyeri olma özelliğindedir (APHA, 2005; Sharma ve Pandey, 2010). SDA besiyeri, genellikle insan sağlığına zararlı fungusların izolasyonu için kullanılır ve fungusların gelişimlerini desteklemek için karbon kaynağı olarak dekstroza, azot kaynağı olarak da pepton içermektedir (Odds, 1991; Silva ve diğ., 2004). CDA besiyeri, düşük karbon kaynağı, nötr pH oranı ve inorganik azot kaynağına sahip olup, özellikle *Aspergillus*, *Penicillium*, *Paecilomyces* cinsi mikrofungusların izolasyonu için kullanılan bir besiyeridir (Nagy ve Olson, 1982; APHA, 2005). MEA besiyeri, zengin karbon kaynağı ile fungusların gelişimi için optimum şartları sağlayan bir besiyeri olup, farklı cins ve türlere ait küflerin morfolojik olarak birbirinden ayrılmasında da tercih edilmektedir (Sunesson ve diğ., 1995; APHA, 2005; Abdullah ve Saadullah, 2018). DG18 besiyeri, içeriğindeki pepton,

glikoz ve gliserol sayesinde özellikle kseroofilik fungusların izolasyonu için kullanılan bir besiyeridir (Sunesson ve diğ. 1995).

Çalışmamızda üretim atıksuyu örneklerinden farklı metabolik özelliklere sahip, daha fazla çeşitte mikrofungus izolasyonu yapabilmek amacıyla PDA, SDA, CDA, MEA ve DG18 besiyerleri kullanımı tercih edilmiştir. Besiyerleri içinde en fazla sayıda mikrofungus izolasyonu sırasıyla DG18, PDA, CDA, MEA ve SDA besiyerinden yapılmıştır (Tablo 4.8). Ayrıca en fazla tür çeşitliliği SDA ve MEA besiyerlerine kıyasla sırasıyla CDA, DG18 ve PDA besiyerinde saptanmıştır (Tablo 4.11). Çalışmamıza benzer olarak petrolle kontamine olmuş toprak ve su örneklerinden mikrofungus izolasyonu için PDA, SDA, CDA ve MEA besiyerlerinin kullanıldığı araştırmalar bulunmaktadır (April ve diğ., 1999; Okerentugba ve Ezeronye, 2003; Bello ve Abdullahi, 2016; Chukwura ve diğ., 2016). Ancak yapılan literatür araştırmalarında DG18 besiyerinin, üretim atıksuyu örneklerinden mikrofungus izole etmek için kullanıldığına dair herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bununla birlikte genel olarak üretim atıksuyunun tuzluluk oranı itibarıyla halofilik mikroorganizmaların canlılığı için uygun bir çevre olduğu bilinmektedir (Tellez ve diğ., 2002). Buna uygun olarak Moubasher ve diğ. (2018) yaptıkları çalışmada DG18 besiyerinin tuzluluk oranı yüksek ortamlardaki mikrofungusların izolasyonu için kullanılabileceğini bildirmiştir. Nitekim çalışmamız sonucunda en fazla sayıda mikrofungus izolasyonu DG18 besiyerinden yapılmış olup, tür çeşitliliği açısından da avantajlı bir besiyeri olduğu saptanmıştır. Çalışma sonucunda, üretim atıksuyu örneklerinde mikrofungus varlığını ve tür çeşitliliğini ortaya koyabilmek için izolasyon deneylerinde DG18, CDA ve PDA besiyerlerinin birlikte kullanılması önerilmektedir.

Fungus izolasyonunda kullanılan besiyerine ve izolasyonun yapılacağı ortam şartlarına bağlı olarak bekleme süreleri de değişebilmektedir. Literatürde her besiyeri için saptanan optimum sıcaklık ve bekleme süreleri bulunmaktadır (Corry ve diğ., 2011). Amerika Halk Sağlığı Birliği, atıksularından mikrofungus izolasyonunda CDA ve MEA besiyerlerinde 7 günlük bekleme süresinin uygun olduğunu açıklamıştır (APHA, 2005). Çalışmamızda üretim atıksu örneklerinden fazla sayıda mikrofungal tür çeşitliliği elde edebilmek ve üremeleri geç gerçekleştirebilen mikrofungusları da izole edebilmek için ekim yapılan Petri kutuları 30 güne kadar bekletilmiştir. Çalışmamızdan farklı olarak Bello ve Abdullahi (2016), atıksu örneklerinden yaptıkları ekimler sonucunda PDA besiyerlerini içeren Petri kutularını 5 gün;

Wemedo ve diğ. (2009), üretim atıksu örneklerinden yaptıkları ekimler sonucunda PDA ve Oil Agar besiyerlerini içeren Petri kutularını ise 2-7 gün bekletmişlerdir. Bunlara karşılık çalışmamızda ekim yapılmış CDA ve DG18 besiyerlerini içeren Petri kutularında 19. günden, PDA ve SDA besiyerlerini içeren petri kutularında 20. günden, MEA besiyerini içeren Petri kutularında ise 25. günden sonra bile mikrofungus üremesi tespit edilmiştir. Elde edilen veriler sonucunda, üretim atıksularından mikrofungus izolasyonu yapılabilmesi için bekleme süresinin en az 30 gün olması önerilmektedir. İlaveten, çalışmamızda mikrofungus izolasyonu için kullanılan sıcaklık 25 °C olup, bu sıcaklığın petrolle ilişkili çevrelerde yapılan izolasyon çalışmalarında da kullanıldığını ve mikrofungus izolasyonu için uygun olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Rad ve diğ., 2014; Al-Dossary ve diğ., 2019). Ancak çalışmamızdan farklı olarak petrolle kontamine olmuş toprak örneklerinde mikrofungus izolasyonu için 37 °C sıcaklığın tercih edildiği çalışmalar da bulunmaktadır (Vanishree ve diğ., 2014a; 2014b; Okerentugba ve Ezeronye, 2003). Ollivier ve diğ. (2007) petrol rezervuarlarındaki sıcaklığın, derinliğe bağlı olarak her 100 metrede yaklaşık 3 °C artabildiğini ve rezervuarlardaki sıcaklığın 180 °C'ye kadar ulaşabileceğini bildirmiştir. Bu sebeple mikrofungus izolasyonu ve biyoçeşitliliğinin araştırılacağı çalışmalarda 25 °C sıcaklığın uygulanması, ayrıca örnek alınacak kuyunun derinliğine de bağlı olarak ek sıcaklık seçimlerinin yapılması önerilmektedir.

Funguslar olumsuz çevre koşullarında etkili olabilen enzim aktiviteleri sonucunda hayatta kalabilir. Funguslar ürettikleri hücre dışı enzimleri ile petrol kalıntıları, endüstriyel atıklar ve deterjanlar gibi çevreye zararlı ya da toksik ürünleri parçalayabilir ve üremeleri için gerekli olan enerjiyi bu ürünlerden sağlayabilir (Gopinath ve diğ., 2005). Petrolle kontamine olmuş çevrelerde yaşayan mikrofungusların hücre dışı enzimatik aktivitelerinin tespit edilmesi ileride yapılabilecek biyodegradasyon, biyoremediasyon veya endüstriyel çalışmalar (gıda, eczacılık, kozmetik, tekstil, deterjan kimyası gibi) için önem taşıyabilmektedir. Çalışmamızda üretim atık sularından izole edilen 53 mikrofungus izolatının hücre dışına salınan amilaz, selüloz, jelatinaz ve lipaz enzimlerini üretme yetenekleri ve bu enzimlerin aktivite indeks değerleri araştırılmıştır.

Amilaz enzimi nişasta üzerinde etkili bir hücre dışı enzim olup funguslar tarafından üretilmektedir (Singh ve diğ., 2011). Amilaz enzimi endüstriyel kullanımda kağıt endüstrisinde, ekmek yapımında ve nişastadan bir biyoyakıt olan etanolün üretiminde kullanılır (Chi ve diğ., 2009; Gupta ve diğ., 2003). Çalışmamız kapsamında endüstriyel ve ticari öneme sahip amilaz enziminin, üretim atıksuyundan izole edilen 53 mikrofungal izolatın 43'ü tarafından

üretilebildiği saptanmıştır (Tablo 4.9). Cins düzeyinde tayinleri yapılan bu izolatlardan 27'sinin *Aspergillus* cinsine, 14'ünün *Penicillium* cinsine, 1'inin *Cladosporium* cinsine ait olduğu, 1'inin ise spor oluşturmeyen mikrofungus tarafından sentezlendiği tespit edilmiştir. *Aspergillus* ve *Penicillium* cinslerine ait mikrofungusların amilaz enzimi üretme kapasitesinin yüksek olduğu saptanmış olup, çalışma sonucumuz birçok literatürle de desteklenmektedir (Ertan ve diğ., 2006; Souza ve Magalhaes, 2010; Ayansina ve diğ., 2017). En yüksek amilaz aktivite indeks değerine sahip (%2.33) S33 izolatu ve en düşük amilaz aktivite indeks değerine sahip (%1.15) S36 izolatının *Aspergillus flavus* olduğu saptanmış olup, aynı türün enzimatik aktivite indeks değerleri arasındaki bu farkın, suş farklılığından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Selüloz enzimi, selüloz üzerine etkili bir hücre dışı enzimdir (Dashtban ve diğ., 2010). Selüloz enzimi de amilaz enzimi gibi endüstriyel alanlarda kağıt endüstrisinde, ekmek yapımında, alkollü içecek ve biyoyakıt olan etanolün üretiminde kullanılır (Behera ve diğ., 2017). Çalışmamız kapsamında selüloz enziminin üretim atıksuyundan izole edilen 53 mikrofungus izolatının 43'ü tarafından üretilebildiği saptanmıştır (Tablo 4.9). Bu izolatlardan 27'sinin *Aspergillus* cinsine, 14'ünün ise *Penicillium* cinsine ait mikrofunguslar tarafından sentezlendiği tespit edilmiş olup, El-Morsy (1999), Luo ve diğ. (2005) tarafından yapılan çalışmaların sonuçları da bulgumuzu desteklemektedir. Bununla birlikte, en yüksek selüloz aktivite indeks değerine sahip (%3.42) S2 izolatının *Cladosporium cucumerinum*, en düşük selüloz aktivite indeks değerine sahip (%1.30) S33 izolatının ise *Aspergillus flavus* olduğu saptanmıştır. *Cladosporium cucumerinum*, ölü bitkilerin kök ve yapraklarında saprofit olarak yaşayan bir mikrofungus olup metabolizması ve ekolojisi sebebiyle selüloz enzim aktivitesinin yüksek olması beklenen bir sonuçtur (Skare ve diğ., 1975; Bensch ve diğ., 2012).

Lipaz enzimi, triaçilgliserolü gliserol ve yağ asitlerine hidrolizini katalize eden bir enzimdir (Gupta ve diğ., 2004). Endüstride deterjan, yemek, ilaç, deri ve kozmetik alanlarında kullanılmaktadır (Thomson ve diğ., 1999; Ray, 2012). Lipaz enzimi üreten mikroorganizmalar tarımsal atıklarda, bitkisel yağ işletim fabrikalarda ve petrolle kontamine olmuş topraklarda bulunabilmektedir. Bulundukları çevrelerde yağ ve petrol konsantrasyonu arttıkça lipaz enzimi üretimleri de artmaktadır (Bharathi ve diğ., 2018). Çalışmamızda, lipaz enziminin üretim atıksuyundan izole edilen 53 mikrofungus izolatının 23'ü tarafından üretilebildiği saptanmıştır (Tablo 4.10). Bu izolatlardan 21'inin *Aspergillus*, 1'inin *Cladosporium*, 1'inin *Penicillium* cinsine ait mikrofunguslar tarafından sentezlendiği tespit edilmiştir. *Aspergillus* cinsine ait

fungusların lipaz enzimini üretme kapasitesi yüksek iken *Penicillium* cinsine ait fungusların lipaz enzimini üretme kapasitesinin az olduğu bilinmektedir (Garcia-Lepe ve diğ., 1997). Çalışma sonucumuz literatürdeki bu bilgiyi desteklemektedir. Bununla birlikte, en yüksek lipaz aktivite indeks değerine sahip (%4.33) S2 izolatının *Cladosporium cucumerinum*, iken en düşük lipaz aktivite indeks değerine sahip (%1.45) S46 izolatının ise *Aspergillus versicolor* olduğu saptanmıştır. *Cladosporium cucumerinum*'un lipaz enzimi üretimiyle ilgili bir çalışma bulunmamasına rağmen, yüksek tuz içeren çevrelerde dahil olmak üzere farklı ortamlarda yaygın olarak bulunabilen *Cladosporium* cinsine ait fungusların iyi birer lipaz üreticisi oldukları bilinmektedir (Chinaglia ve diğ., 2014; Jaouani ve diğ., 2014).

Jelatinaz enzimi, hayvansal kollajen türevi olan jelatini, elastin ve fibronektin gibi bileşikler hidrolize eden bir enzimdir (Seçkin ve Dostbil, 2018; Yuivar ve diğ., 2019). Mikroorganizmalar bu bileşikler peptid ve aminoasitlere parçalayarak metabolizmasında kullanır. Endüstride jelatinaz enzimi kimya, gıda ve alkollü içecek alanlarında kullanılmaktadır (Gopinath ve diğ., 2005; Balan ve diğ., 2012). Çalışmamızda, jelatinaz enziminin üretim atıksuyundan izole edilen mikrofunguslar tarafından üretilmediği saptanmıştır (Tablo 4.10). Buna karşılık literatürde az da olsa jelatinaz aktivitesi gösteren *Aspergillus*, *Cunninghamella*, *Fusarium* ve *Penicillium* türlerinin bulunduğu çalışmalar mevcuttur (Gopinath ve diğ., 2005).

Çalışma kapsamındaki 7 petrol kuyusu biyoçeşitlilik bakımından karşılaştırıldığında, kuyular arasında farklar saptanmış olmakla beraber en fazla tür ve cins çeşitliliği E kuyusunda tespit edilmiştir. Saptanan bu farklılıkların kuyulardaki (İ) petrol hidrokarbon yapılarının farklı olmasına bağlı olarak fungusların bu yapılara adapte olma yeteneklerinin değişkenlik göstermesinden ve hidrokarbon bileşiklerini besin kaynağı olarak kullanıp kullanamamalarından kaynaklanabileceği (Borowik ve diğ., 2017), (İİ) ağır metallerin oranının değişiklik göstermiş olmasından kaynaklı funguslar üzerine toksik etkinin meydana gelebilmesinden veya bu metallere karşı direnç göstermelerinden kaynaklanabileceği (Baldrian, 2003), (İİİ) farklı pH oranlarında farklı fungal cins ve türlerin yaşamlarını sürdürebilmesinden (Grzadziel ve Galazka, 2019), (İV) farklı tuzluluk oranlarının, karasal ve sucul ortamlardaki funguslar tarafından toleransının değişkenlik gösterebilmesinden (Jones, 2000; Ghizelini ve diğ., 2019), (V) derinliklere bağlı olarak ortaya çıkan farklı sıcaklıklara karşı mezofilik, termofilik veya termotolerant fungusların adaptasyonlarının değişkenlik gösterebilmesinden ve

(Vİ) fungus/fungus ve/veya bakteri arasındaki sinerjistik veya antagonistik etkiler gibi farklı ekolojik ilişkilerden (Mille-Lindblom ve diğ., 2006) kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

İncelenen 7 petrol kuyusundan *Aspergillus* cinsine ait 31 adet, *Penicillium* cinsine ait 15 adet, *Chaetomium* ve *Cladosporium* cinsine ait 1'er adet, spor oluşturmayan funguslardan 2 adet ve maya morfolojisinde 3 adet mikrofungus izole edilmiştir. *Aspergillus* ve *Penicillium* cinsleri toprak ve su ile ilişkili çevreler haricinde petrolle kontamine olmuş çevrelerden de çoğunlukla izole edilen mikrofunguslardır (April ve diğ., 1999; Asan, 2004; D'Annibale ve diğ., 2006; Das ve Chandran, 2011). Petrolle kontamine olmuş toprak örneklerinden izole edilmiş *Aspergillus* ve *Penicillium* türlerinin hücre dışı enzimleri ile petrolü parçalayabildiği bilinmektedir (Vanishree ve diğ., 2014a, 2014b; Zhang ve diğ., 2016). Ayrıca *Penicillium* cinsi mikrofunguslar tuzluluğun fazla veya az olduğu çevrelerde de gelişebilmektedir (Vanishree ve diğ., 2014b). *Cladosporium* cinsi mikrofunguslar sıklıkla toprak ve hava ilişkili çevrelerde bulunmaktadır (Asan ve diğ., 2003; Bensch ve diğ., 2012). Petrolle kontamine olmuş topraklardan izole edilmiş türleri de bulunmakta olup petrolün parçalanmasında rol aldıkları bilinmektedir (Vanishree ve diğ., 2014a, 2014b) *Chaetomium* cinsi genellikle toprak ve havadan izole edilen mikrofungus olsalar da petrolle kontamine olmuş topraklardan izole edilmiş türleri de bulunmaktadır (Larone, 1995; Bello ve Abdullahi, 2016).

Çalışmamızda izole edilen mikrofungusların makromorfolojik ve mikromorfolojik özellikleri incelenmiş ve 46 adedinin tür düzeyinde tayinleri yapılmıştır. Tayini yapılan mikrofunguslardan 26'sının *Aspergillus versicolor*, 4'ünün *Aspergillus flavus*, 8'inin *Penicillium chrysogenum*, 7'sinin *Penicillium solitum*, ve 1'inin *Cladosporium cucumerinum*'a ait olduğu tespit edilmiştir. İlaveten cins düzeyinde tayini yapılmış 1'er adet *Aspergillus* sp. ve *Chaetomium* sp. bulunmaktadır. Ayrıca 2 adet spor oluşturmayan mikrofungus ve 3 adet maya izolatu bulunmaktadır. Çalışma sonucunda cins veya tür tayini yapılan mikrofungusların tamamının Ascomycota filumuna mensup oldukları belirlenmiştir. Nitekim petrolle ilişkili çevrelerde yapılan araştırmalar sonucunda da Ascomycota ve Basidiomycota filumlarına mensup birçok fungusun bu çevrelerde baskın mikroorganizmalar oldukları bilinmektedir (Lemos ve diğ., 2002; Bello ve Abdullahi, 2016; Chukwura ve diğ., 2016; Siles ve Margesin, 2018).

Çalışmamız sonucunda petrol kuyularına ait üretim atık sularında en fazla bulunan mikrofungus *Aspergillus versicolor*'dır. *Aspergillus versicolor* aerobik bir mikrofungus olup, 9 °C ile 37 °C

sıcaklık arasında üreyebilme özelliği ile mezofilik; düşük su aktivitesine sahip ortamlarda üreyebilme özelliği ile kseroofilik ve tuza dayanıklılığı ile halotolerant bir mikrofungustur (Gunde-Cimerman ve diğ., 2005; Pitt ve Hocking, 2009). Çalışma sonucumuza benzer olarak Al-Jawhari (2014) Irak'ta, Lemos ve diğ. (2002) Brezilya'da petrolle kontamine olmuş topraklardan *Aspergillus versicolor*'ı izole etmiştir.

Penicillium chrysogenum, aerobik bir mikrofungus türü olup, 4 °C ile 37 °C arasındaki sıcaklıklarda üreyebilme özelliği ile mezofilik; düşük su aktivitesinde gelişebilmesi ile kseroofilik ve tuza dayanıklılığı ile halotolerant bir mikrofungustur (Gunde-Cimerman ve diğ., 2005; Pitt ve Hocking, 2009). Çalışma sonucumuza benzer olarak Balaji ve diğ. (2014), Hindistan'da hidrokarbonlarla kontamine olmuş toprak örneklerinden ve Farid (2012), Irak'ta petrolle kontamine olmuş toprak örneklerinden *Penicillium chrysogenum*'u izole etmişlerdir.

Penicillium solitum, aerobik mezofilik bir mikrofungus türü olup, tuza dayanıklılığı ile halotolerant bir *Penicillium* türüdür (Gunde-Cimerman ve diğ., 2005; Gonçalves ve diğ., 2013). *Penicillium solitum* ile ilgili yapılan literatür araştırmalarında petrolle ilişki çevrelerden izole edildiğine dair çalışmaya rastlanmamıştır. Bu yönüyle çalışmamız *Penicillium solitum*'un petrol üretim atıksu örneklerinden izole edildiği ilk araştırma olma özelliği taşımaktadır.

Aspergillus flavus, aerobik ve 10 °C ile 55 °C arasında üreyebilme özelliği ile termotolerant; düşük su aktivitesinde gelişebilmesi ile kseroofilik ve tuza dayanıklılığı ile halotolerant bir mikrofungustur (Jackson ve Dobson, 2016). Çalışma sonucumuza benzer olarak Balaji ve diğ. (2014) Hindistan'da hidrokarbonlarla kontamine olmuş toprak örneklerinden, Bello ve Abdullahi (2016), Nijerya'da bulunan petrol üretim atıksularından *Aspergillus flavus*'u izole etmişlerdir.

Mayalar, filamentöz funguslara kıyasla bulundukları çevrede sıcaklık, pH ve besin oranlarındaki değişimlere daha duyarlıdır (Vanishree ve diğ., 2014b). Ancak bu durum onları petrolle kontamine olmuş çevrelerde bulunmasına ve petrol hidrokarbonlarını biyolojik olarak parçalama yeteneklerine engel olmaz. Çalışma sonucumuza benzer olarak Bokhary ve Pervez (1993), petrolle kontamine olmuş toprak örneklerinden; Chukwura ve diğ. (2016), Nijerya'daki petrolle kontamine olmuş toprak örneklerinden maya izolasyonu yapmışlardır.

Spor oluşturmayan mikrofunguslar, cins veya tür tayinleri için ayırt ettirici özellikte hif veya spor oluşturmayan funguslardır. Bu durum onların, klasik kültür yöntemleri kullanılarak

tainlerinin yapılabilmesini zorlaştırmaktadır. Ancak Pounder ve diğ. (2006) saf fungus kültürleri ile gerçekleştirdikleri ITS-PCR sonucunda yapılan sekans analizlerinde bazı spor oluşturmeyan mikrofungusların Ascomycota ve Basidiomycota'ya mensup olduklarını bildirmişlerdir. Tez çalışmamız sonucunda spor oluşturmeyan mikrofungusların cins veya tür düzeyinde tainlerinin yapılabilmesi için, kültürel yöntemlere ek olarak moleküler yöntemlerinde kullanılması önerilmektedir. Yapılan literatür araştırmaları sonucunda spor oluşturmeyan fungusların, petrolle ilişkili çevrelerden kültür yöntemi ile izole edildiklerine dair bir çalışma bulunmamıştır. Çalışmamız üretim atıksuyu örneklerinden spor oluşturmeyan mikrofungusların izole edildiği ilk çalışma olma özelliği taşımaktadır.

Cladosporium cucumerinum, aerobik ve mezofilik özelliklere sahip bir mikrofungustur (Wang ve diğ., 2008). Çalışmamızda izole edilen *Cladosporium cucumerinum* ile ilgili yapılan literatür araştırmalarında petrolle ilişki çevrelerden izole edildiğine dair bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamız petrol kuyularına ait üretim atıksuyu örneklerinden *Cladosporium cucumerinum*'un izole edildiği ilk çalışma olma özelliği taşımaktadır.

Chaetomium sp., aerobik, mezofilik özellikte bir mikrofungus olup tuzluluk oranı yüksek toprak ve sulardan izole edilmiş türleri bulunmaktadır (Zucconi ve diğ., 1996; Andersen ve diğ., 2011). Çalışmamız sonucuna benzer olarak Bello ve Abdullahi (2016) Nijerya'da petrolle kontamine olmuş su örneklerinden *Chaetomium* sp. izole etmiştir.

Fungusların ekstrem koşullara sahip yaşam alanlarında bulunmaları, biyoçeşitliliği ve metabolizmaları ile ilgili yapılan çalışmalar günden güne artmaktadır. Petrol rezervuarları inorganik madde yükünün fazla olması, yüksek sıcaklık ve yüksek tuzluluk oranına sahip olması itibariyle canlılık için en zorlu çevrelerden biri sayılabilir. Ancak funguslar, gerek enzimatik aktiviteleri ile polimerleri parçalayarak enerji elde edebilmeleri gerekse zorlu koşullara dayanıklı sklerotia, eşeyli üreme yapılarıyla bu şartların üstesinden gelebilmektedir. Ayrıca yeryüzünde ekolojik dengenin sağlanabilmesi, endüstriyel alanların çevreye olan zararlı etkilerinin önlenmesi ve giderilmesinde önemli bir etkiye sahiptirler. Temel mikrobiyolojik çalışmalar, hangi fungusun hangi çevre koşullarında bulunabileceğinin bilgisini vermenin yanı sıra ekolojik dengenin sağlanabilmesi için hangi fungusların araç olarak kullanabileceği konusunda uygulamalı mikrobiyoloji çalışmalarına da önemli katkı sağlamaktadır. Bu konuda Türkiye'de ilk olma özelliği taşıyan çalışmamız, yurt içi ve yurt dışında yapılabilecek çalışmalarda araştırmacılara bilgi sağlaması açısından önem arz etmektedir.

Bu çalışmadan elde edilen bulgular neticesinde varılan sonuçlar ve önerilerimiz aşağıda kısaca özetlenmiştir:

- Üretim atıksu örneklerinden yüzeye yayma ekim yöntemi kullanılarak mikrofungus izolasyonun gerçekleşebileceği ve fungal biyoçeşitliliğin ortaya konulabileceği saptanmış olmakla beraber, yüksek miktarda örnek alımının gerçekleşebileceği çalışmalar için membran filtrasyon yönteminin kullanılması önerilmektedir.
- Fungal biyoçeşitliliğin en çok tespit edildiği besiyerleri olan DG18, PDA ve CDA'nın petrolle ilişkili çevrelerdeki mikrofungus varlığını ve çeşitliliğini ortaya koyabilmek için izolasyon deneylerinde birlikte kullanılması, 25 °C sıcaklığın uygun olmasının yanında kuyu derinliğine bağlı olarak ek sıcaklık seçimlerinin yapılması ve bekleme süresinin 30 gün olması önerilmektedir.
- Mikrofungus izolasyonu yapılan Adıyaman iline ait petrol kuyuları arasında fungus sayıları ve fungus biyoçeşitliliği açısından farklar saptanmıştır. Bu farkların sebeplerinin belirlenmesi amacıyla yapılacak çalışmalarda; atıksu örneklerinde, petrol hidrokarbonlarının kimyasal çeşitliliği, tuzluluk, pH ve bakteri populasyonu gibi parametrelerin de araştırılması gerekliliği ortaya çıkmıştır.
- Çalışmamızda en yüksek amilaz aktivite indeks değeri gösteren mikrofungusun *Aspergillus flavus*, en yüksek selüloz ve lipaz aktivite indeks değerleri gösteren mikrofungusun *Cladosporium cucumerinum* olduğu tespit edilmiştir.
- Petrol ile ilgili çevrelerden izole edilen mikrofungusların petrol hidrokarbonlarını parçalayabilme yeteneklerinin analiz edilebilmesi amacıyla lakkaz ve mangan peroksidaz gibi hücre dışı enzimleri de üretebilme yeteneklerinin ve enzim aktivite indeks değerlerinin araştırılmasını öneriyoruz.
- *Aspergillus versicolor*, *Penicillium solitum* ve *Penicillium chrysogenum* Adıyaman iline ait petrol kuyularında en sık bulunan mikrofunguslardır. Cins veya tür tayini yapılan 48 adet mikrofungusun Ascomycota filumuna mensup olduğu belirlenmiştir.
- Çalışmamız, *Cladosporium cucumerinum* ve *Penicillium solitum*'un petrol üretim atıksu örneklerinden izole edildiği ilk araştırma olma özelliği taşımaktadır. Bu sonuca bağlı olarak sonraki çalışmalarımızda her iki mikrofungusun petrol hidrokarbonlarını parçalayabilme özelliğinin araştırılması gerekliliği ortaya çıkmıştır.

- Çalışmamızda izole edilen spor oluşturmeyan mikrofungusların cins veya tür tayinlerinin yapılabilmesi için klasik kültür yöntemleri ile birlikte farklı gen bölgelerini hedef alan moleküler yöntemlerin de kullanılmasının gerekliliği ortaya çıkmıştır.
- Çalışmamızda petrol rezervuarlarından mayalar da izole edilmiş olup, petrol biyoremediasyonun da potansiyeli yüksek olan mayaların cins ve/veya tür tayinlerinin yapılabilmesi için morfolojik özelliklerinin incelenmesinin yanı sıra asimilasyon-fermentasyon özelliklerinin ön planda olduğu biyokimyasal yöntemlerin ve DNA bazlı moleküler yöntemlerin kullanılmasına da ihtiyaç duyulduğu sonucuna varılmıştır.



KAYNAKLAR

- Aas, E.B., 2000, Pah metabolites in bile, cytochrome P4501a and DNA adducts as environmental risk parameters for chronic oil exposure: a laboratory experiment with atlantic cod, *Aquatic toxicology*, 2, 241-258.
- Abdullah, B. and Saadullah, A., 2018, Effect of types cultures media on isolation of fungi from indoor swimming pools, *2018 International conference on pure and applied science*, Iraq.
- Achal, V., Kumari, D. and Pan, X., 2011, Bioremediation of chromium contaminated soil by a brown-rot fungus *Gloeophyllum sepiarium*, *Research journal of microbiology*, 6(2), 166-171.
- Adesina, G.O. and Adelasoye, K.A., 2014, Effect of crude oil pollution on heavy metal contents, microbial population in soil, and maize and cowpea growth, *Agricultural sciences*, 5(1), 43-50.
- Ahearn, D.G., Meyers, S.P. and Standard, P.G., 1971, The role of yeasts in the decomposition of oils in marine environments, *Dev. Ind. Microbiol*, 12, 126-134.
- Ahmadun, F.R., Pendashteh, A., Abdullah, L.C., Biak, D.A., Madaeni, S. and Abidin, Z.Z., 2009, Review of technologies for oil and gas produced water treatment, *Journal of hazardous materials*, 170(2-3), 530-551.
- Akpoveta, O.V., Egharevba, F. and Medjor, O.W., 2011, A pilot study on the biodegradation of hydrocarbon and its kinetics on kerosene simulated soil. *International journal of environmental sciences*, 2(1), 54-67.
- Al-Dossary, M.A., Abood, S.A. and Al-Saad, H.T., 2019, Biodegradation of crude oil using *Aspergillus* species, *Journal of biology, agriculture and healthcare*, 9(4).
- Al-Jawhari, I.H., 2014 Ability of some soil fungi in biodegradation of petroleum hydrocarbon, *Journal of applied & environmental microbiology*, 2(2), 46-52.

- Al-Nasrawi, H., 2012, Biodegradation of crude oil by fungi isolated from Gulf of Mexico, *Journal of bioremediation & biodegradation*, 3(4), 1-6.
- Ameen, F., Moslem, M., Hadi, S. and Al-Sabri, A.E., 2016, Biodegradation of diesel fuel hydrocarbons by mangrove fungi from red sea coast of Saudi Arabia, *Saudi journal of biological sciences*, 23(2), 211-218.
- American Public Health Association (APHA), 2005, *Standard methods for the examination of water and wastewater*, 21th ed., Washington DC, USA.
- Andersen, B., Frisvad, J.C., Søndergaard, I., Rasmussen, I.S. and Larsen, L.S., 2011, Associations between fungal species and water-damaged building materials, *Applied and environmental microbiology*, 77(12), 4180-4188.
- API, 1997, *Oil and gas waste management – preliminary results from API survey*, American Petroleum Institute.
- April, T.M., Foght, J.M. and Currah, R.S., 1999, Hydrocarbon-degrading filamentous fungi isolated from flare pit soils in northern and western Canada, *Canadian journal of microbiology*, 46(1), 38-49.
- Arvanitidou, M., Kanellou, K., Katsouyannopoulos, V. and Tsakris, A., 2002, Occurrence and densities of fungi from northern Greek coastal bathing waters and their relation with faecal pollution indicators, *Water research*, 36(20), 5127-5131.
- Asan, A., 2004, *Aspergillus*, *Penicillium* and related species reported from Turkey, *Mycotaxon*, 89(1), 155-157.
- Asan, A., Kırız, T., Şen, B., Çamur–Elipek, B., Güner, U. and Güher, H., 2003, Isolation identification and seasonal distrubution of airborne and waterborne fungi in Terkos Lake (Istanbul–Turkey), *Journal of basic microbiology*, 43(2), 83-95.
- Atlas, R.M., 1981, Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: an environmental perspective, *Microbiological reviews*, 45(1), 180-209.
- Atlas, R.M., 1995, Bioremediation of petroleum pollutants, *International biodeterioration & biodegradation*, 35(1-3), 335-336.

- Atlas, R.M., 2010, *Handbook of microbiological media*, 4th ed., Washington D.C., CRC press.
- Atlas, R.M. and Cerniglia, C.E., 1995, Bioremediation of petroleum pollutants, *BioScience*, 45(15), 332-338.
- Avcı, A. and Dönmez, S., 2008, A novel thermophilic anaerobic bacteria producing cyclodextrin glycosyltransferase, *Process biochemistry*, 44(1), 36-42.
- Ayansina, A.V., Adelaja, A.O. and Mohammed, S.D., 2017, Characterization of amylase from some *Aspergillus* and *Bacillus* species associated with cassava waste peels, *Advances in microbiology*, 7(4), 280-292.
- Azavedo, M.M. and Cássio, F., 2010, Effects of metals on growth and sporulation of aquatic fungi, *Drug and chemical toxicology*, 33(3), 269-278.
- Babaarslan, Ç., Tekeli, A. and Mehmetoğlu, T., 2003, Biodegradation of btex compounds by a mixed culture obtained from petroleum formation water, *Energy sources*, 25(7), 733-742.
- Bader, M.S.H., 2007, Seawater versus produced water in oil-fields water injection operations, *Desalination*, 208(1-3), 159-168.
- Balaji, V., Arulazhagan, P. and Ebenezer, P.J., 2014, Enzymatic bioremediation of polyaromatic hydrocarbons by fungal consortia enriched from petroleum contaminated soil and oil seeds, *Journal of environmental biology*, 35(3), 521-529.
- Balan, S.S., Nethaji, R., Sankar, S. and Jayalakshmi, S., 2012, Production of gelatinase enzyme from *Bacillus* spp. isolated from the sediment sample of Porto-Novo coastal sites, *Asian pacific journal of tropical biomedicine*, 2(3), 1811-1816.
- Baldrian, P., 2003, Interactions of heavy metals with white-rot fungi. *Enzyme and microbial technology*, 32(1), 78-91.
- Balk, M., 2007, Life in the absence of oxygen: alternative electron acceptors for anaerobic microorganisms in a petroleum environment. *Turkish Journal of biology*, 31(2), 59-66.

- Bandh, S.A., Kamili, A.N. and Ganai, B.A., 2011, Identification of some *Penicillium* species by traditional approach of morphological observation and culture, *African journal of microbiology research*, 5(21), 3493-3496.
- Barnett, K.L. and Hunter, B.B., 1999, *Illustrated genera of imperfect fungi*, 4th ed., St. Paul, Minnesota, USA, APS Press.
- Bartha, R. and Atlas, R.M., 1977, The microbiology of aquatic oil spills, *Advances in applied microbiology*, 22(C), 225-266.
- Behera, B.C., Sethi, B.K., Mishra, R.R., Dutta, S.K. and Thatoi, H.N., 2017, Microbial cellulases - diversity & biotechnology with reference to mangrove environment: a review, *Journal of genetic engineering and biotechnology*, 15(1), 197-210.
- Bello, O. and Abdullahi, I., 2016, Tolerance to heavy metals by some fungal isolates from petroleum refinery effluent in Kaduna, Nigeria, *British microbiology research journal*, 12(6), 1-8.
- Bensch, K., Braun, U., Groenewald, J.Z. and Crous, P.W., 2012, The genus *Cladosporium*, *Studies in mycology*, 1-401.
- Bento, F.M., Beech, I.B., Gaylarde, C.C., Englert, G.E. and Muller, I.L., 2005, Degradation and corrosive activities of fungi in a diesel-mild steel-aqueous system, *World journal of microbiology and biotechnology*, 21(2), 135-142.
- Beuchat, L.R., 1992, Media for detecting and enumerating yeasts and moulds, *International journal of food microbiology*, 17(2), 145-158.
- Bharathi, D., Rajalakshmi, G. and Komathi, S., 2018, Optimization And production of lipase enzyme from bacterial strains isolated from petrol spilled soil, *Journal of king saud university - science*, 15(1), 898-901.
- Bills, G.F. and Foster, M.S., 2004, Formulae for selected materials used to isolate and study fungi and fungal allies, *Biodiversity of fungi*, 595-618.
- Bokhary, H.A. and Parvez, S., 1993, Fungi from petroleum-contaminated Saudi Arabian soils, *Arid land research and management*, 7(2), 191-195.

- Borowik, A., Wyszowska, J. and Oszust, K., 2017, Functional diversity of fungal communities in soil contaminated with diesel oil, *Frontiers in microbiology*, 8, 1862.
- Borrego, S., Guamet, P., Gomez De Saravia, S., Batistini, P., Garcia, M., Lavin, P. and Perdomo, I., 2010, The quality of air at archives and the biodeterioration of photographs, *International biodeterioration & biodegradation*, 64(2), 139-145.
- Cerniglia, C.E., Sutherland, J.B. and Crow, S.A., 1992, Fungal metabolism of aromatic hydrocarbons, *Microbial degradation of natural products*, 193-217.
- Chaudhry, S., Luhach, J., Sharma, V. and Sharma, C., 2012, Assessment of diesel degrading potential of fungal isolates from sludge contaminated soil of petroleum refinery, Haryana, *Research journal of microbiology*, 7(3), 182-190.
- Chi, Z., Chi, Z., Liu, G., Wang, F., Ju, L. and Zhang, T., 2009, *Saccharomycopsis fibuligera* and its applications in biotechnology, *Biotechnology advances*, 27(4), 423-431.
- Chikwe, T. and Okwa, F., 2016, Evaluation of the physico-chemical properties of produced water from oil producing well in the Niger Delta area, Nigeria, *Journal of applied sciences and environmental management*, 20(4), 1113-1117.
- Chinaglia, S., Chiarelli, L.R., Maggi, M., Rodolfi, M., Valentini, G. and Picco, A.M., 2014, Biochemistry of lipolytic enzymes secreted by *Penicillium solitum* and *Cladosporium cladosporioides*, *Bioscience, biotechnology and biochemistry*, 78(2), 245-254.
- Christian, I., Okerentugba, P., Orji, F. and Tega, A., 2014, Hydrocarbon degradation potentials of indigenous fungal isolates from a petroleum hydrocarbon contaminated soil in Sakpenwa community, Niger Delta, *Global advanced research journal of environmental sciences and toxicology*, (3), 6-11.
- Chukwura, E.I., Ojiegbo, N.M. and Nwankwegu, A.S., 2016, Hydrocarbon degradation potentials of fungi associated with oil-contaminated soil from selected mechanic workshops in Awka, Anambra State, Nigeria, *Frontiers in environmental microbiology*, 2(6), 36.

- Coral, G. and Karagöz, S., 2005, Isolation and characterization of phenanthrene-degrading bacteria from a petroleum refinery soil, *Annals of microbiology*, 55(4), 255-259.
- Cord-Ruwisch, R., Kleinitz, W. and Widdel, F., 1987, Sulfate-reducing bacteria and their activities in oil production, *Journal of petroleum technology*, 39(1), 97-106.
- Coronado-Ruiz, C., Avendaño, R., Escudero-Leyva, E., Conejo-Barboza, G., Chaverri, P. and Chavarría, M., 2018, Two new cellulolytic fungal species isolated from a 19th-century art collection, *Scientific reports*, 8(1), 1-9.
- Corry, J.E., Curtis, G.D. and Baird, R.M., 2011, *Handbook of culture media for food and water microbiology*, 3rd ed., Royal Society of Chemistry.
- D'annibale, A., Rosetto, F., Leonardi, V., Federici, F. and Petruccioli, M., 2006, Role of autochthonous filamentous fungi in bioremediation of a soil historically contaminated with aromatic hydrocarbons, *Applied and environmental microbiology*, 72(1), 28-36.
- Das, N. and Chandran, P., 2011, Microbial degradation of petroleum hydrocarbon contaminants: an overview, *Biotechnology research international*.
- Dashtban, M., Maki, M., Leung, K. T., Mao, C. and Qin, W., 2010, Cellulase activities in biomass conversion: measurement methods and comparison, *Critical reviews in biotechnology*, 30(4), 302-309.
- Dawoodi, V., Madani, M., Tahmourespour, A. and Golshani, Z., 2015, The study of heterotrophic and crude oil-utilizing soil fungi in crude oil contaminated regions, *Journal of bioremediation & biodegradation*, 06(02), 270.
- De Hoog, G.S. and Al, E., 2000, *Atlas of clinical fungi*, 2nd ed., Utrech: Centraalbureau Voor Schimmelcultures.
- Devlet Planlama Teşkilatı, 2001, *Sekizinci kalkınma planı, Madencilik özel ihtisas komisyonu raporu, Enerji hammaddeleri alt komisyonu petrol-doğalgaz çalışma grubu*, 2606-ÖİK: 617, 975-19-2826-5: Ankara.
- Devlet Planlama Teşkilatı, 2007, *Dokuzuncu kalkınma planı, Petrol ve petrol ürünleri sanayi özel ihtisas komisyonu raporu*, DPT.2716 - ÖİK.669, 1978-975-19-4035-3: Ankara.

- Dhar, K., Dutta, S. and Anwar, M.N., 2014, Biodegradation of petroleum hydrocarbon by indigenous fungi isolated from ship breaking yards of Bangladesh, *International research journal of biological sciences*, 3, 22-30.
- Dixon, D.M. and Polak-Wyss, A., 2009, The medically important dematiaceous fungi and their identification, *Mycoses*, 34(1-2), 1-18.
- Dutta, S. and Singh, P., 2016, Hydrocarbon degradation potential of indigenous fungal isolates from Indian oil refinery, Haldia, (WB), India. *Sci res reporter*, 6(1), 04-11.
- El-Hanafy, A.E., Anwar, Y., Sabir, J.S., Mohamed, S.A., Al-Garn, S.M., Zinadah, O.A. and Ahmed, M.M., 2016, Characterization of native fungi responsible for degrading crude oil from the coastal area of Yanbu, Saudi Arabia. *Biotechnology & biotechnological equipment*, 31(1), 105-111.
- Ellis, M.B., 1971, *Dematiaceous hyphomycetes*, Kew Surrey, UK, Commonwealth Mycological Institute.
- El-Morsy, E.M., 1999, Microfungi from the ectorrhizosphere-rhizoplane zone of different halophytic plants from the red sea coast of Egypt, *Mycologia*, 91(2), 228-236.
- El-Shaarawi, A., Qureshi, A.A. and Dutka, B.J., 1977, Study of microbiological and physical parameters in lake Ontario adjacent to the Niagara River, *Journal of great lakes research*, 3(3-4), 196-203.
- El-Shafie, A., Alkindi, A.Y., Al-Busaidi, S., Bakheit, C. and Albahry, S.N., 2007, Biodegradation of crude oil and n-alkanes by fungi isolated from Oma, *Marine pollution bulletin*, 54(11), 1692-1696.
- Erdem, S., 2010, *Hidrokarbon içeren tuzlu atıksuların membran prosesler ile arıtımı*, Yüksek lisans tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi.
- Erdoğan, E.E., Şahin, F. and Karaca, A., 2011, Determination of petroleum-degrading bacteria isolated from crude oil-contaminated soil in Turkey, *African journal of biotechnology*, 11(21), 4853-4859.

- Ertan, F., Balkan, B., Balkan, S. and Aktaç, T., 2006, Solid state fermentation for the production of α -amylase from *Penicillium chrysogenum* using mixed agricultural by-products as substrate, *Biologia*, 61(6), 657-661.
- Faksness, L.G., Grini, P.G. and Daling, P.S., 2004, Partitioning of semi-soluble organic compounds between the water phase and oil droplets in produced water, *Marine pollution bulletin*, 48(7-8), 731-742.
- Farid, W.A., 2012, Bioremediation of oil contaminated oil by axenic and mixed cultures of bacteria and fungi, *Journal of al-taqani*, 25(2), 1-16.
- Ferreira, A.M., Fischer, I.H., Leite, L.G., Padovani, C.R. and Bueno, C.J., 2019, Culture media to detect and criteria to evaluate and report the activity of extracellular enzymes produced by phytopathogenic fungi, *Arquivos do instituto biológico*, 86.
- Florencio, C., Couri, S. and Farinas, C.S., 2012, Correlation between agar plate screening and solid-state fermentation for the prediction of cellulase production by *Trichoderma* strains, *Enzyme research*, 2012, 1-7.
- Freudenrich, C., 2021, *HowStuffWorks.com*.
<https://science.howstuffworks.com/environmental/energy/oil-refining.htm> [Ziyaret tarihi: 12 Aralık 2019]
- Frisvad, J.C., 1981, Physiological criteria and mycotoxin production as aids in identification of common asymmetric penicillia, *Appl. environ. microbiol.*, 41(3), 568-579.
- Frisvad, J.C., 1985, Creatine sucrose agar, a differential medium for mycotoxin producing terverticillate *Penicillium* species, *Letters in applied microbiology*, 1(6), 109-113.
- Frisvad, J.C. and Filtenborg, O., 1989, Terverticillate penicillia: chemotaxonomy and mycotoxin production, *Mycologia*, 81(6), 837-861.
- Garcia-Lepe, R., Nuero, O. M., Reyes, F. and Santamaría, F., 1997, Lipases in autolysed cultures of filamentous fungi, *Letters in applied microbiology*, 25(2), 127-130.

- Gerginova, M., Manasiev, J., Yemendzhiev, H., Terziyska, A., Peneva, N. and Alexieva, Z., 2013, Biodegradation of phenol by antarctic strains of *Aspergillus fumigatus*, *Zeitschrift für naturforschung c*, 68(9-10), 384-393.
- Ghizelini, A.M., Martins, K.G., Giebelmann, U.C., Santoro, E., Pasqualette, L., Mendonça-Hagler, L.C., Rosado, A.S. and Macrae, A., 2019, Fungal communities in oil contaminated mangrove sediments—who is in the mud?, *Marine pollution bulletin*, 139, 181-188.
- Goldbeck, R., 2012, Screening and identification of cellulase producing yeast-like microorganisms from Brazilian biomes, *African journal of biotechnology*, 11(53), 11595-11603.
- Gonçalves, V.N., Campos, L.S., Melo, I.S., Pellizari, V.H., Rosa, C.A. and Rosa, L.H., 2013, *Penicillium solitum*: a mesophilic, psychrotolerant fungus present in marine sediments from Antarctica, *Polar biology*, 36(12), 1823-1831.
- Gopinath, S.B., Hilda, A. and Anbu, P., 2005, Extracellular enzymatic activity profiles in fungi isolated from oil-rich environments, *Mycoscience*, 46(2), 119-126.
- Greene, A.C., Patel, B.C. and Sheehy, A.J., 1997, *Deferribacter thermophilus* gen., nov., sp. nov., a novel thermophilic manganese and iron-reducing bacterium isolated from a petroleum reservoir, *International journal of systematic bacteriology*, 47(2), 505-509.
- Grzadziel, J. and Galazka, A., 2019, Fungal biodiversity of the most common types of polish soil in a long-term microplot experiment, *Frontiers in microbiology*, 10, 6.
- Gunde-Cimerman, N., Butinar, L., Sonjak, S., Turk, M., Uršič, V., Zalar, P. and Plemenitaš, A., 2005, *Halotolerant and halophilic fungi from coastal environments in the arctics*, Cellular origin, life in extreme habitats and astrobiology, In: Gunde-Cimerman N., Oren A., and Plemenitaš A., Springer, Dordrecht, 397-423.
- Gupta, R., Gigras, P., Mohapatra, H., Goswami, V. K. and Chauhan, B., 2003, Microbial α -amylases: a biotechnological perspective, *Process biochemistry*, 38(11), 1599-1616.

- Gupta, R., Gupta, N. and Rathi, P., 2004, Bacterial lipases: an overview of production, purification and biochemical properties, *Applied microbiology and biotechnology*, 64(6), 763-781.
- Hankin, L. and Anagnostakis, S.L., 1975, The use of solid media for detection of enzyme production by fungi, *Mycologia*, 67(3), 597.
- Harms, H., Schlosser, D. and Wick, L.Y., 2011, Untapped potential: exploiting fungi in bioremediation of hazardous chemicals, *Nature reviews microbiology*, 9(3), 177-192.
- Hasan, I.J., Mhail, N.J. and Ali, S.F., 2016, Evaluation the quality of the oil waste to Al-Nasiriya refinery and possibility of treatment by some filamentous fungi, *Advances in environmental biology*, 10(4), 34-43.
- Hill, T., 2003, Microbial growth in aviation fuel, *Aircraft engineering and aerospace technology*, 75(5), 497-502.
- Hoşhan, P., Çelik, S. and Çanga, B., 2008, Adıyaman bölgesi sahalarındaki üretim kuyularında ve rod korozyon problemleri ve çözüm önerileri, *Uluslararası korozyon sempozyumu*, İzmir: 22-25 Ekim 2008.
- Hubballi, M., Nakkeeran, S., Raguchander, T., Anand, T. and Samiyappan, R., 2010, Effect of environmental conditions on growth of *Alternaria alternata* causing leaf blight of noni, *World journal of agricultural sciences*, 6, 171-177.
- Hum, F., Tsang, P., Harding, T. and Kantzas, A., 2006, Review of produced water recycle and beneficial reuse, *University of Calgary, Alberta, Institute of sustainable energy*, 51.
- Index Fungorum Partnership, 2008, ISF Search Index Fungorum, <http://www.indexfungorum.org/Names/Names.asp> [Ziyaret Tarihi: 9 Nisan 2020].
- Jackson, S.A. and Dobson, A.W., 2016, Yeasts and molds: *Aspergillus flavus*, *Reference module in food science*, 785-791.
- Jaouani, A., Neifar, M., Prigione, V., Ayari, A., Sbissi, I., Ben Amor, S., Ben Tekaya, S., Varese, G.C., Cherif, A. and Gtari, M., 2014, Diversity and enzymatic profiling of

- halotolerant micromycetes from Sebkha El Melah, a Saharan Salt Flat in Southern Tunisia, *BioMed research International*, 2014, 1-11.
- Johnsen, S., Roe Utvik, T.I., Garland, E., De Vals, B. and Campbell, J., 2004, Environmental fate and effect of contaminants in produced water, *7th SPE international conference on health, safety and environment in oil and gas exploration and production*, 29-31 March, Calgary, Alberta, Canada, Society of Petroleum Engineers, Richardson, 9.
- Jones, E.G., 2000, Marine fungi: some factors influencing biodiversity, *Fungal diversity*, 4(193), 53-73.
- Jones, J.G. and Edington, M.A., 1968, An ecological survey of hydrocarbon-oxidizing micro-organisms, *Journal of general microbiology*, 52(3), 381-390.
- Kaya, R., Özgün, H., Köse-Mutlu, B., Erşahin, M. E., Altınbaş, M., Sayılı, S., Hoşhan, P., Atay, D., Eren, E., Kınacı, C. and Koyuncu, İ., 2018, Petrol ve doğalgaz üretim atıksularının biyolojik arıtılabilirliğinin incelenmesi, *Uludağ university journal of the faculty of engineering*, 23(2), 13-28.
- Klich, M.A., 2002, *Identification of common Aspergillus species*, Utrecht, Centraalbureau voor schimmelcultures, ISBN 90-70-351-46-3.
- Kottb, M.R., El-Agroudy, N., Ali, A.A., Hamed, M. and Ezz El-Din, H., 2019, Biodegradation of some petroleum hydrocarbons by fungi isolated from Gulf of Suez, *Catrina, the international journal of environmental sciences*, 18(1), 169-175.
- L'Haridon, S., 2002, *Petrogalea olearia* sp., nov., and *petrogalea sibirica* sp., nov., two thermophilic bacteria isolated from a continental petroleum reservoir in Western Siberia, *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 52(5), 1715-1722.
- Larone, D.H., 1995, *Medically important fungi - a guide to identification*, 3rd ed., Washington, D.C., Asm Press.

- Lemos, J.L., Rizzo, A.C., Millioli, V.S., Soriano, A.U., Sarquis, M.M. and Santos, R., 2002, Petroleum degradation by filamentous fungi, *9th Annual international petroleum conference*, 21-25 October, New Mexico, USA.
- Leu, J.Y., McGovern-Traa, C.P., Porter, A.J., Harris, W.J. and Hamilton, W.A., 1998, Identification and phylogenetic analysis of thermophilic sulfate-reducing bacteria in oil field samples by 16S rDNA gene cloning and sequencing, *Anaerobe*, 4(3), 165-174.
- Luo, W., Vrijmoed, L.P. and Jones, E.G., 2005, Screening of marine fungi for lignocellulose-degrading enzyme activities, *Botanica marina*, 48(5-6), 379-386.
- Magot, M., Ravot, G., Campagnolle, X., Ollivier, B., Patel, B.K.C., Fardeau, M.-L., Thomas, P., Crolet, J.-L. and Garcia, J.-L., 1997, *Dethiosulfovibrio peptidovorans* gen., nov., sp., nov., a new anaerobic, slightly halophilic, thiosulfate-reducing bacterium from corroding offshore oil wells, *International journal of systematic bacteriology*, 47(3), 818-824.
- McCormack, P., Jones, P., Hetheridge, M.J. and Rowland, S.J., 2001, Analysis of oilfield produced waters and production chemicals by electrospray ionisation multi-stage mass spectrometry (ESI-MSn), *Water research*, 35(15), 3567-3578.
- Meier, S., Andersen, T.E., Norberg, B., Thorsen, A., Taranger, G.L., Kjesbu, O.S., Dale, R., Morton, H.C., Klungsøyr, J. and Svardal, A., 2007, Effects of alkylphenols on the reproductive system of atlantic cod (*Gadus morhua*), *Aquatic toxicology*, 81(2), 207-218.
- Middleditch, B.S., 1984, Ecological effects of produced water effluents from offshore oil and gas production platforms, *Ocean management*, 9(3-4), 191-316.
- Mille-Lindblom, C., Fischer, H. and Tranvik, L., 2006, Antagonism between bacteria and fungi: substrate competition and a possible tradeoff between fungal growth and tolerance towards bacteria, *Oikos*, 113(2), 233-242.
- Mohammadian, E., Arzanlou, M. and Babai-Ahari, A., 2017, Diversity of culturable fungi inhabiting petroleum-contaminated soils in southern Iran, *Antonie van Leeuwenhoek*, 110(7), 903-923.

- Mohsenzadeh, F. and Shirkhani, Z., 2016, Removing of crude oil from polluted areas using the isolated fungi from Tehran oil refinery, *Soil and sediment contamination: an international journal*, 25(5), 536-551.
- Moreirinha, C., Duarte, S., Pascoal, C. and Cassio, F., 2010, Effects of cadmium and phenanthrene mixtures on aquatic fungi and microbially mediated leaf litter decomposition, *Archives of environmental contamination and toxicology*, 61(2), 211-219.
- Moubasher, A.H., Abdel-Sater, M.A. and Soliman, Z.M., 2018, Diversity of yeasts and filamentous fungi in mud from hypersaline and freshwater bodies in Egypt, *Czech mycology*, 70(1), 1-32.
- Mueller, R.F. and Nielsen, P.H., 1996, Characterization of thermophilic consortia from two souring oil reservoirs, *Applied and environmental microbiology*, 62(9), 3083-3087.
- Murray, K.E., 2013, State-scale perspective on water use and production associated with oil and gas operations, Oklahoma, U.S., *Environmental science & technology*, 47(9), 4918-4925.
- MycoBank, 2008, International Mycological Association, <http://www.mycobank.org/quicksearch.aspx>, [Ziyaret tarihi: 08 Mayıs 2020].
- Nagy, L.A. and Olson, B.H., 1982, The occurrence of filamentous fungi in drinking water distribution systems, *Canadian journal of microbiology*, 28(6), 667-671.
- Nalbur, B.E. and Karaelli, E., 2019, Petrol içeren atıksuların arıtılabilirliği ve arıtım sisteminin tasarlanması, *Uludağ university journal of the faculty of engineering*, 24(1), 231-242.
- Nazina, T.N., Nazina, A.E., Golubeva, O.V., Ibatullin, R.R., Belyaev, S.S. and Ivanov, M.V., 1995, Occurrence of sulfate-and iron-reducing bacteria in stratal waters of the Romashkinskoe oil field, *Microbiology-new york*, 64(2), 203-208.
- Neff, J.M., 1987, *Biological effects of drilling fluids, drill cuttings and produced waters*, Long-term environmental effects of offshore oil and gas development, In: Boesch, D.F. and Rabalais N.N., CRC press, United States, 479-548.

- Neff, J.M., Sour, T.C. and Maciolek, N., 1989, Fate and effects of produced water discharges in nearshore marine waters, *American petroleum institute*, 300.
- Nicolas, J.M., 1999, Vitellogenesis in fish and the effects of polycyclic aromatic hydrocarbon contaminants, *Aquatic toxicology*, 45(2-3), 77-90.
- Nyongesa, B.W., Okoth, S. and Ayugi, V., 2015, Identification key for *Aspergillus* species isolated from maize and soil of Nandi County, Kenya, *Advances in microbiology*, 5(4), 205-229.
- Obire, O. and Anyanwu, E.C., 2009, Impact of various concentrations of crude oil on fungal populations of soil, *International journal of environmental science & technology*, 6(2), 211-218.
- Obuekwe, C.O., Badrudeen, A.M., Al-Saleh, E. and Mulder, J.L., 2005, Growth and hydrocarbon degradation by three desert fungi under conditions of simultaneous temperature and salt stress, *International biodeterioration & biodegradation*, 56(4), 197-205.
- Odds, F.C., 1991, Sabouraud('s) agar, *Medical mycology*, 29(6), 355-359.
- Odjegba, V. and Atebe, J., 2010, The effect of used engine oil on carbohydrate, mineral content and nitrate reductase activity of leafy vegetable (*Amaranthus Hybridus L.*), *Journal of applied sciences and environmental management*, 11(2).
- Okerentugba, P.O. and Ezeronye, O.U., 2003, Petroleum degrading potentials of single and mixed microbial cultures isolated from rivers and refinery effluent in Nigeria, *African journal of biotechnology*, 2(9), 288-292.
- Okoro, C., 2008, Biodegradation of hydrocarbons in untreated produce water using pure fungal cultures, *African journal of microbiology research*, 2, 217-223.
- Okungbowa, F.I. and Edemaa, N.E., 2011, Fungi isolated from produced water and water-soluble fraction of crude oil, *Biological sciences-PJSIR*, 54(3), 163-166.
- Ollivier, B., Cayol, J. and Fauque, G., 2007, *Sulphate-reducing bacteria from oil field environments and deep-sea hydrothermal vents*, Sulphate-reducing bacteria

- environmental and engineered systems, In: Barton, L.L., Hamilton, W.A., (eds.), Cambridge University Press, New York, 305- 328.
- Onishi, N., 2014, *A California oil field yields another prized commodity*, <https://www.nytimes.com/2014/07/08/us/california-drought-chevron-oil-field-water-irrigation.html> [Ziyaret tarihi: 16 Temmuz 2019].
- Özyürek, S.B., 2016, *Ham petrol, sondaj çamuru ve çamur çukurundan izole edilen mikroorganizmalar ile petrol biyoyıkımının araştırılması*, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi.
- Paine, M., Leggett, W., Mrcuer, J. and Frank, K., 1992, Effects of hibernia crude oil on capelin (*Mallotus villosus*) embryos and larvae, *Marine environmental research*, 33(3), 159-187.
- Pillard, D.A., Dufresne, D.L., Tietge, J.E. and Evans, J.M., 1999, Response of mysid shrimp (*Mysidopsis bahia*), sheepshead minnow (*Cyprinodon variegatus*) and in land silverside minnow (*Menidia beryllina*) to changes in artificial seawater salinity, *Environmental toxicology and chemistry*, 18(3), 430-435.
- Pitt, J.I., 1979, *The genus Penicillium and its teleomorphic states Eupenicillium and Talaromyces*, London, Academic Press, ISBN : 0125577507.
- Pitt, J.I., 1986, *Nomenclatorial and taxonomic problems in the genus Eurotium*, Advances in *Penicillium* and *Aspergillus* systematics, In: Samson R.A. and Pitt J.I., Springer, Boston, MA, NATO ASI series (Series A: Life Sciences), 383-396.
- Pitt, J.I., 2000, *A laboratory guide to common Penicillium species*, Food science Australia, N.S.W., Australia.
- Pitt, J.I. and Hocking, A.D., 2009, *Fungi And Food Spoilage*, 3rd ed., Springer Us, Boston, MA.
- Potin, O., Rafin, C. and Veignie, E., 2004, Bioremediation of an aged polycyclic aromatic hydrocarbons (pahs) contaminated soil by filamentous fungi isolated from the soil, *International biodeterioration & biodegradation*, 54(1), 45-52.

- Pounder, J.I., Simmon, K.E., Barton, C.A., Hohmann, S.L., Brandt, M.E. and Petti, C.A., 2006, Discovering potential pathogens among fungi identified as nonsporulating molds, *Journal of clinical microbiology*, 45(2), 568-571.
- Qiao, X., Zhang, Z., Yu, J. and Ye, X., 2008, Performance characteristics of a hybrid membrane pilot-scale plant for oilfield-produced wastewater, *Desalination*, 225(1-3), 113-122.
- Rad, A.C., Malayeri, B.E., Mohsenzadeh, F. and Shirkhani, Z., 2014, Screening for plants and rhizospheral fungi with bioremediation potency of petroleum-polluted soils in a Tehran oil refinery area, *Toxicological & environmental chemistry*, 96(1), 84-93.
- Raper, K.B. and Fennel, D.I., 1965, *The genus Aspergillus*, Williams & Wilkins, Baltimore.
- Ray, A., 2012, Application of lipase in industry, *Asian j. pharm. technol.*, 2(2), 33-37.
- Reis, J.C., 1992, Coping with the waste stream from drilling for oil, *Mechanical engineering*, 114(6), 64.
- Rousk, J. and Baath, E., 2011, Growth of saprotrophic fungi and bacteria in soil, *Fems microbiology ecology*, 78(1), 17-30.
- Samson, R.A., Houbraken, J., Thrane, U., Frisvad, J.C. and Andersen, B., 2010, *Food and Indoor Fungi*, CBS KNAW Fungal Diversity Centre, Utrecht, The Netherlands.
- Samson, R.A., Visagie, C.M., Houbraken, J., Hong, S.B., Hubka, V., Klaassen, C.H., Perrone, G., Seifert, K.A., Susca, A., Tanney, J.B., Varga, J., Kocsubé, S., Szigeti, G., Yaguchi, T. and Frisvad, J.C., 2014, Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*, *Studies in mycology*, 78, 141-173.
- Schwaiger, J., Mallow, U., Ferling, H., Knoerr, S., Braunbeck, T., Kalbfus, W. and Negele, R., 2002, How estrogenic is nonylphenol, *Aquatic toxicology*, 59(3-4), 177-189.
- Seçkin, H. and Dostbil, N., 2018, A research study on the identification, characterization, and gelatinase enzyme activities of the halotolerant bacteria isolated from salinized sheep skins, *Commagene journal of biology*, 25-29.

- Shahriarin, M., Abd Wahab, M.N., Ariff, A. and Mohamad, R., 2011, Screening, isolation and selection of cellulolytic fungi from oil palm empty fruit bunch fibre, *Biotechnology (Faisalabad)*, 10(1), 108-113.
- Sharma, G. and Pandey, R.R., 2010, Influence of culture media on growth, colony character and sporulation of fungi isolated from decaying vegetable wastes, *Journal of yeast and fungal research*, 1(8), 157-164.
- Sierra, G., 1957, A simple method for the detection of lipolytic activity of microorganisms and some observations on the influence of the contact between cells and fatty substrates, *Antonie van leeuwenhoek*, 23(1), 15-22.
- Siles, J.A. and Margesin, R., 2018, Insights into microbial communities mediating the bioremediation of hydrocarbon-contaminated soil from an Alpine former military site, *Applied microbiology and biotechnology*, 102(10), 4409-4421.
- Silva, J.O., Franceschini, S.A., Lavrador, M.S. and Candido, R.C., 2004, Performance of selective and differential media in the primary isolation of yeasts from different biological samples, *Mycopathologia*, 157(1), 29-36.
- Singh, K. and Chandra, S., 2014, Treatment of petroleum hydrocarbon polluted environment through bioremediation: a review, *Pakistan journal of biological sciences*, 17(1), 1-8.
- Singh, S., Sharma, V., Soni, M.L. and Das, S., 2011, Biotechnological applications of industrially important amylase enzyme, *International journal of pharma and bio sciences*, 2(1), 486-496.
- Skare, N.H., Paus, F. and Raa, J., 1975, Production of pectinase and cellulase by *Cladosporium cucumerinum* with dissolved carbohydrates and isolated cell walls of cucumber as carbon sources, *Physiologia plantarum*, 33(3), 229-233.
- Slobodkin, A.I., Jeanthon, C., L'haridon, S., Nazina, T., Miroshnichenko, M. and Bonch-Osmolovskaya, E., 1999, Dissimilatory reduction of Fe(iii) by thermophilic bacteria and archaea in deep subsurface petroleum reservoirs of western Siberia, *Current microbiology*, 39(2), 99-102.

- Somerville, H.J., Bennett, D., Davenport, J.N., Holt, M.S., Lynes, A., Mahieu, A., McCourt, B., Parker, J.G., Stephenson, R.R., Watkinson, R.J. and Wilkinson, T., 1987, Environmental effect of produced water from North Sea oil operations, *Marine pollution bulletin*, 18(10), 549-558.
- Souza, P.M. and Magalhães, P.O., 2010, Application of microbial α -amylase in industry - a review, *Brazilian journal of microbiology*, 41(4), 850-861.
- Stanley, H. and Immanuel, O., 2015, Bioremediation potential of *Lentinus subnudus* in decontaminating crude oil polluted soil, *Nigerian journal of biotechnology*, 29(1), 21.
- Stephenson, M.T., 1992, Components of produced water: a compilation of industry studies, *Journal of petroleum technology*, 44(5), 548-603.
- Stowe, M.B., 1995, Microbially-induced corrosion and fuel-tank protection, *Aircraft engineering and aerospace technology*, 67(2), 5-9.
- Sunesson, A., Vaes, W., Nilsson, C., Blomquist, G., Andersson, B. and Carlson, R., 1995, Identification of volatile metabolites from five fungal species cultivated on two media, *Applied and environmental microbiology*, 61(8), 2911-2918.
- T.C. Resmi Gazete, 31 Aralık 2004, *Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği*, Sayı: 25687, <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2004/12/20041231.htm#9> [Ziyaret tarihi: 23 Nisan 2020].
- Tellez, G.T., Nirmalakhandan, N. and Gardea-Torresdey, J.L., 1995, Evaluation of biokinetic coefficients in degradation of oilfield produced water under varying salt concentrations, *Water research*, 29(7), 1711-1718.
- Tellez, G.T., Nirmalakhandan, N. and Gardea-Torresdey, J.L., 2002, Performance evaluation of an activated sludge system for removing petroleum hydrocarbons from oilfield produced water, *Advances in environmental research*, 6(4), 455-470.
- Thapa, B., Kc, A.K. and Ghimire, A., 1970, A review on bioremediation of petroleum hydrocarbon contaminants in soil, *Kathmandu university journal of science, engineering and technology*, 8(1), 164-170.

- Thom, C. and Raper, K.B., 1945, *A Manual of the Aspergilli*, Williams & Wilkins, Baltimore.
- Thomson, C.A., Delaquis, P.J. and Mazza, G., 1999, Detection and measurement of microbial lipase activity: a review, *Critical reviews in food science and nutrition*, 39(2), 65-187.
- Tiedeman, K., 2006, *Water use and produced water intensity of california petroleum extraction*, Thesis (Master), University of California.
- Topal, Ş., Pembeci, C., Borcaklı, M., Batum, M. and Çeltik, Ö., 2000, Türkiye'nin tarımsal mikoflorasının endüstriyel öneme sahip bazı enzimatik aktivitelerinin incelenmesi-I: amilaz, proteaz, lipaz, *Turk j. biol*, 24, 79-93.
- Townsend, B.B., 1957, Nutritional factors influencing the production of sclerotia by certain fungi, *Annals of botany*, 21(1), 153-166.
- Tüccar, T., 2011, *Güneydoğu Anadolu Bölgesi petrol sahalarından alınan petrol örneklerinde sülfat indirgeyen bakterilerin araştırılması*, Yüksek lisans tezi, İstanbul Üniversitesi.
- Tüccar, T., İlhan-Sungur, E., Abbas, B. and Muyzer, G., 2019, Coexistence of sulfate reducers with the other oil bacterial groups in Diyarbakır oil fields, *Anaerobe*, 59, 19-31.
- Utvik, T.I.R., 2003, Composition, characteristics of produced water in the North Sea, *Chemosphere*, 39(1999), 2593-2606.
- Van Hamme, J.D., Singh, A. and Ward, O.P., 2003, Recent advances in petroleum microbiology, *Microbiology and molecular biology reviews*, 67(4), 503-549.
- Vanishree, M., Thatheyus, A.J. and Ramya, D., 2014a, Biodegradation of petrol using *Aspergillus* sp., *Annual research & review in biology*, 4(6), 914-923.
- Vanishree, M., Thatheyus, A.J. and Ramya, D., 2014b, Biodegradation of petrol using the fungus *Penicillium* sp., *Science international*, 2(1), 26-31.
- Visagie, C.M., Houbraken, J., Frisvad, J.C., Hong, S.B., Klaassen, C.H.W., Perrone, G., Seifert, K.A., Varga, J., Yaguchi, T. and Samson, R.A., 2014, Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*, *Studies in mycology*, 78, 343-371.

- Vlasopoulos, N., Memon, F.A., Butler, D. and Murphy, R., 2006, Life cycle assessment of wastewater treatment technologies treating petroleum process waters, *Science of the total environment*, 367(1), 58-70.
- Walker, J.D. and Colwell, R.R., 1974, Microbial petroleum degradation: use of mixed hydrocarbon substrates, *Appl. environ. microbiol.*, 27(6), 1053-1060.
- Wang, Y.S., Wang, Y., Xu, H.C., Liu, Y.Y. and Ji, S.D., 2008, Biological characteristics of *Cladosporium cucumerinum*, *Hubei agricultural sciences*, 1.
- Ward, D.M. and Brock, T.D., 1978, Hydrocarbon biodegradation in hypersaline environments, *Applied and environmental microbiology*, 35(2), 353-359.
- Wemedo, S.A., Akani, N.P. and Eke, C.E., 2009, Fungi in an oilfield wastewater in Nigeria, *Asian journal of biological sciences*, 2(2), 54-57.
- Wenger, L.M., Davis, C.L. and Isaksen, G.H., 2002, Multiple controls on petroleum biodegradation and impact on oil quality, *SPE Reservoir evaluation & engineering*, 5(5), 375-383.
- Xie, Q., Bai, S., Li, Y., Liu, L., Wang, S. and Xi, J., 2016, Seasonal variations of microbial community in a full scale oil field produced water treatment plant, *Global journal of environmental science and management*, 2(1), 69-78.
- Yalçın, M.N., 2012, Kaya gazı (shale gas), *Doğal gaz dergisi*, 175, 66-68.
- Yeung, A.T., 2010, *Remediation technologies for contaminated sites*, Advances in environmental geotechnics, In: Chen, Y., Zhan, L., Tang, X., (eds.), Zhejiang University Press, Hangzhou, 328-369.
- Yuiivar, Y., Alcaïno, J., Cifuentes, V. and Baeza, M., 2019, Characterization of gelatinase produced by Antarctic *Mrakia* sp., *Journal of basic microbiology*, 59(8), 846-852.
- Zafra, G., Absalón, Á.E., Cuevas, M.C. and Cortés-Espinosa, D.V., 2014, Isolation and selection of a highly tolerant microbial consortium with potential for pah biodegradation from heavy crude oil-contaminated soils, *Water, air & soil pollution*, 225(2), 1826.

- Zhang, J.H., Xue, Q.H., Gao, H., Ma, X. and Wang, P., 2016, Degradation of crude oil by fungal enzyme preparations from *Aspergillus* spp., for potential use in enhanced oil recovery, *Journal of chemical technology & biotechnology*, 91(4), 865-875.
- Zobell, C.E., 1946, Action of microorganisms on hydrocarbons, *Bacteriological reviews*, 10(1-2), 1-49.
- Zucconi, L., Pagano, S., Tosi, S., Onofri, S., Fenice, M. and Selbmann, L., 1996, Growth Temperature preferences of fungal strains from Victoria Land, Antarctica, *Polar biology*, 16(1), 53-61.



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Sedat Berke Sümer
Doğum Yeri	Fatih/İstanbul
Doğum Tarihi	04.04.1994
Uyruğu	☒ T.C. ☐ Diğer:
Telefon	0538 059 13 17
E-Posta Adresi	sedatberkesumer@ogr.iu.edu.tr
Web Adresi	

Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi
Fakülte	Fen Fakültesi
Bölümü	Biyoloji Bölümü
Mezuniyet Yılı	07.07.2017

Yüksek Lisans	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji
Programı	Tezli Yüksek Lisans