บทที่ 6

อภิปรายผลการศึกษา

การศึกษาปัจจัยทางกายภาพ และเคมี

เปอร์เซ็นต์ความชื้นเฉลี่ยมีค่าสูงในป่าที่มีลักษณะเป็นทุ่งหญ้า มากกว่าป่าที่เป็นป่าฟื้นสภาพและป่าดิบแล้ง ตามลำดับ เนื่องจากผลที่เกิดจากชนิดของประชากรพืช ในป่าทุ่งหญ้ามีระบบรากเป็นระบบรากฝอยทำให้มีโอกาสที่จะอุ้มน้ำไว้ได้มากกว่า โดยที่ในป่าดิบแล้งชนิดของพืชส่วนใหญ่เป็นไม้ขนาดใหญ่และไม้พุ่มที่มีระบบรากลึกกว่า ทำให้ไม่สามารถอุ้มน้ำให้กับดินได้มากเท่าระบบรากฝอย ในเดือน ธันวาคม 2540 และเดือน มีนาคม 2542 เป็นช่วงที่มีเปอร์เซ็นต์อินทรียวัตถุต่ำที่สุด เนื่องจากเป็นช่วงฤดูแล้ง แต่จะมีการคลาดเคลื่อนไปบ้าง เนื่องจากขึ้นอยู่กับอิทธิพลของฝนที่ตกในแต่ละปี

เปอร์เซ็นต์อินทรียวัตถุโดยเฉลี่ยมีค่าสูงในป่าที่มีลักษณะเป็นป่าทุ่งหญ้า มากกว่าป่าดิบแล้งและป่าฟื้นสภาพตามลำดับ เนื่องจากผลที่เกิดจากชนิดของพืชเช่นเดียวกับเปอร์เซ็นต์ความชื้น ในป่าทุ่งหญ้าใบหญ้าที่มีลักษณะเป็นพุ่มกอ ใบแห้งและทับถมบริเวณกอจำนวนมาก ทำให้เกิดอินทรียวัตถุแก่ดิน ในขณะที่ป่าดิบแล้งมีต้นไม้ขนาดใหญ่มีการร่วงหล่นของใบไม้ที่ทับถมกันมากกว่าป่าฟื้นสภาพที่มีลูกไม้และไม้พุ่มขึ้นอยู่มากกว่า ในเดือน ธันวาคม ของทั้ง 2 ปีที่ศึกษาพบว่ามีเปอร์เซ็นต์อินทรียวัตถุมากที่สุด เนื่องจากเป็นช่วงที่มีการร่วงหล่นของใบพืชบางชนิด มีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิและความยาวช่วงวันเริ่มเข้าสู่ฤดูหนาว อากาศเย็นทำให้ activity ของจุลินทรีย์ในดินลดลง เป็นผลให้มีการสะสมของเปอร์เซ็นต์อินทรียวัตถุมากขึ้น การที่เปอร์เซ็นต์ความชื้นมีค่ามาก ไม่ได้มีความหมายว่าดินจะมีความสมบูรณ์ ซึ่งค่าที่เหมาะสมของเปอร์เซ็นต์ความชื้นในดินจะขึ้นกับเนื้อดินและชนิดของป่า เมื่อใดที่ค่าเปอร์เซ็นต์ความชื้นมีค่าค่อนข้างคงที่ สม่ำเสมอ จึงจะแสดงว่าป่านั้นมีความอุดมสมบูรณ์ (ศรีศักดิ์ ธานี, 2540)

เปอร์เซ็นต์อินทรียวัตถุบ่งบอกถึงการมีแหล่งอาหารของจุลินทรีย์ในดิน การหมุนเวียนธาตุอาหารในดิน ในกรณีของเปอร์เซ็นต์อินทรียวัตถุนี้ในป่าสมบูรณ์จะต้องมีการหมุนเวียนอย่างสม่ำเสมอ การเกิดแหล่งคาร์บอน และการหมุนเวียนของวัฏจักรคาร์บอนในดิน ซึ่งระบบนิเวศน์ในป่าเขตร้อนที่สมบูรณ์การหมุนเวียนธาตุอาหารจะเป็นวงจรปิดหรือใกล้ปิด (nearly close cycle) คือ ธาตุอาหารที่ถูกปลดปล่อยออกมาจากการสลายตัวของวัตถุต้นกำเนิดดินหรือหิน ซากสิ่งมีชีวิตที่ตายทับถมกัน โดยผ่านกระบวนการย่อยสลายของจุลินทรีย์ดิน บางส่วนจะถูกพืชใช้ไปในการเจริญ

เติบโต ดำรงชีพ เมื่อพืชตายลงก็จะถูกย่อยสลายกลายเป็นธาตุอาหารหมุนเวียนในดิน ซึ่งจะมีจำนวนน้อยที่ถูกชะล้างโดยน้ำ (ศรีศักดิ์, 2540)

ค่าความเป็นกรด-ด่างของดินในพื้นที่จะอยู่ในช่วง 5.5-7.0 ซึ่งเป็นช่วงที่เป็นกลางถึงกรดซึ่งโดยทั่วไปจุลินทรีย์ในดินจะเจริญได้ดีในช่วง pH ประมาณ 6.8 ตลอดปีไม่มีการเปลี่ยนแปลงค่า pH มากนักโดยส่วนใหญ่เฉลี่ยแล้วอยู่ในช่วงประมาณ 6.0-6.7 โดยในป่าดิบแล้งมีสภาพที่เป็นกรดมากกว่าในป่าทุ่งหญ้าและป่าฟื้นสภาพ ซึ่งเป็นปัจจัยหนึ่งที่ช่วยส่งเสริมให้มีจำนวนเชื้อรามากขึ้น

การศึกษาความสัมพันธ์ของปัจจัยทางกายภาพและเคมีบางประการที่มีผลต่อจำนวนแบคทีเรียและเชื้อราในดินนั้น จำเป็นต้องศึกษาปัจจัยหลายประการ ในงานวิจัยนี้เลือกศึกษาเปอร์เซ็นต์ความชื้น เปอร์เซ็นต์อินทรียวัตถุ และค่าความเป็นกรด-ด่าง ซึ่งไม่เพียงพอที่จะเป็นตัวกำหนดจำนวนของแบคทีเรียและเชื้อราในดินได้ เพราะยังมีปัจจัยร่วมอื่น ๆ ที่มีผลต่อจำนวนจุลินทรีย์ในดินอีกมากมาย (ประกิตต์สิน สีหนนท์, 2540) ซึ่งหากต้องการศึกษาความสัมพันธ์ของปัจจัยต่าง ๆ กับจำนวนแบคทีเรียและเชื้อรา จำเป็นต้องเพิ่มเติมการวิเคราะห์องค์ประกอบของตัวอย่างดิน เช่น เนื้อดิน อุณหภูมิ การระบายอากาศ แร่ธาตุต่าง ๆ เป็นต้น

การศึกษาจำนวนแบคทีเรียและเชื้อราในดิน

การแยกเชื้อราด้วยวิธี soil dilution plate เป็นวิธีการที่ใช้ในการนับจำนวนแบคทีเรียและเชื้อราในธรรมชาติได้ดีโดยเฉพาะกับดิน (Jha, Shama และ Mishara, 1992) โดยทั่วไปแบคทีเรียและเชื้อราจะมีจำนวนลดลงเมื่อทำการเก็บตัวอย่างดินที่ระดับความลึกลงไปเรื่อย ๆ ในงานวิจัยนี้ทำการเก็บตัวอย่างดินที่ความลึก 0-20 เซนติเมตร ซึ่งเป็นช่วงผิวหน้าดิน (top soil) ซึ่งจะมีจุลินทรีย์อยู่เป็นจำนวนมาก (ปทุมพร เมืองพระ และ อรุณี สมมณี, 2532) ดังนั้นจำนวนแบคทีเรียและเชื้อราที่นับได้อาจจะมีจำนวนมากกว่าค่าเฉลี่ยดังที่เคยมีรายงานมาก่อน (กรรณิการ์ ว่องวุฒิญาณ, 2536) แต่การเก็บตัวอย่างดินที่ความลึก 0-20 เซนติเมตรนั้นจะเป็นการเพิ่มโอกาสที่จะคัดเลือกตัวอย่างของ เชื้อจุลินทรีย์ได้มากกว่า เหมาะสมที่จะนำมาใช้เป็นตัวอย่างดินที่จะคัดเลือกเชื้อราที่สามารถย่อยสลายเซลลูโลสหรือนำมาใช้ประโยชน์ในด้านอื่น ๆ ได้ นอกจากนี้ยังเพิ่มโอกาสให้มีความหลากหลายของสายพันธุ์เชื้อราจึงเหมาะสมที่จะนำมาศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมต่อไป

จำนวนแบคทีเรียในดินของพื้นที่โครงการมีค่าเฉลี่ยในช่วง 1.36-4.16 x 10^8 CFU/ 1 กรัมดิน พบว่าในพื้นที่ที่เป็นป่าทุ่งหญ้ามีจำนวนมากกว่า ป่าฟื้นสภาพ และป่าดิบแล้งตามลำดับ แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ เนื่องจากดินบริเวณป่าทุ่งหญ้ามีความชื้นค่อนข้างสูงกว่าในแปลงศึกษาที่เป็นป่าชนิดอื่น นอกจากนี้รากพืชที่แทรกอยู่ในดินมีความสัมพันธ์กับจำนวนแบคทีเรียโดยตรง เพราะรากพืชจะชักนำให้มีจุลินทรีย์มาอยู่รวมกันบริเวณรอบๆ รากพืช (ปทุมพร เมืองพระ และ อรุณี สมมณี, 2532) โดยเฉพาะระบบรากฝอยของพืชตระกูลหญ้าที่สามารถพยุง หน้าดินและลดการชะล้างหน้าดินได้ดีกว่าระบบรากแก้วที่ลึกลงไปในดิน (วิทูร ชินพันธุ์, 2537) อย่างไรก็ตามจำนวนของแบคทีเรียยังไม่สามารถเป็นตัวบ่งชี้ความอุดมสมบูรณ์ของดินได้ เนื่องจากจำนวนของแบคทีเรียจากแต่ละชนิดป่าไม่แตกต่างกัน และปัจจัยที่มีผลเกี่ยวข้องกับจำนวนของแบคทีเรียก็มีมากมายหลายประการ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศที่มีความแปรปรวนในแต่ละปีย่อมมีผลโดยตรงกับปัจจัยทางกายภาพและเคมีของดิน ซึ่งมีความสัมพันธ์กับชนิดและจำนวนของแบคทีเรีย

จำนวนเชื้อราในดินของพื้นที่โครงการ มีค่าเฉลี่ยในช่วง 1.8 x 10^4 ถึง 1.09 x 10^5 CFU / 1 กรัมดิน จากผลการวิจัยพบว่าในพื้นที่แปลงศึกษาที่เป็นป่าดิบแล้งที่มีลำห้วยธรรมชาติไหลผ่าน และในแปลงศึกษาที่เป็นบริเวณที่มีการขุดดันดินกั้นน้ำขนาดใหญ่มีจำนวนเชื้อราเฉลี่ยตลอดระยะเวลา 2 ปีสูงกว่าแปลงศึกษาอื่นๆ ซึ่งอาจเป็นผลมาจากทั้ง 2 แปลงศึกษามีความคล้ายคลึงกันในด้านของสภาพแวดล้อมที่มีแหล่งน้ำอยู่ในแปลงศึกษาจึงเป็นที่น่าสังเกตว่าแหล่งน้ำน่าจะเป็นปัจจัยอย่างหนึ่งที่ช่วยให้มีการเพิ่มของจำนวนเชื้อราในดินของแปลงศึกษานั้นๆ แต่ก็อาจมีปัจจัยอื่นร่วมอยู่ด้วย เช่น ลักษณะของเนื้อดินของแปลงทดลองทั้ง 2 ที่มีความคล้ายคลึงกันเนื่องจากเป็นแปลงศึกษาที่อยู่ใกล้เคียงกัน จึงมีความเป็นไปได้ที่จะมีจำนวนเชื้อราในดินสูงใกล้เคียงกันมากกว่าแปลงศึกษาอื่นๆ สำหรับบริเวณที่มีค่าเฉลี่ยของจำนวนเชื้อราต่ำที่สุดคือบริเวณทางที่ใช้สัญจร ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติกับแปลงศึกษาที่เป็นป่าดิบแล้งและบริเวณที่มีการขุดดันดินกั้นน้ำขนาดใหญ่ เป็นการสนับสนุนว่าการใช้งานที่ดิน การรบกวนจากภายนอก ทำให้จำนวนเชื้อราลดลง (กรรณิการ์ วงวุฒิญาณ, 2540)

แต่การแยกชื้อราโดยวิธี soil dilution plate ไม่ได้เหมาะสมกับการแยกเชื้อราทุกชนิด (เลขา มาโนช, 2535) ซึ่งวิธีการนี้เหมาะสมกับเชื้อราที่มีจำนวนมากในระดับหนึ่งในธรรมชาติไม่มีความเจาะจงต่อเชื้อ เชื้อนั้นจะต้องมีความทนทาน เช่น อยู่ในรูปของสปอร์ ก็จะสามารถใช้วิธีนี้ในการแยกได้ดี จากการทดลองจะพบว่าเชื้อที่แยกได้ส่วนใหญ่เป็นเชื้อราในกลุ่ม Deuteromycetes ซึ่งเป็นราที่อาศัยอยู่เป็นส่วนมากในธรรมชาติ มีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมได้ดี เช่น ทนแล้ง ความร้อน หรือน้ำท่วมขัง มีการแพร่กระจายพันธุ์ได้อย่างรวดเร็วเนื่องจากมีการสืบพันธุ์โดยการ

สร้างสปอร์โดยไม่อาศัยเพศ ทำให้สามารถแพร่กระจายในสถานที่ต่าง ๆ ได้ดี และมีจำนวนมากพอที่จะนำมาใช้ศึกษาได้ด้วยวิธี soil dilution plate

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเพื่อการจัดจำแนก

เชื้อราที่แยกได้จากวิธี soil dilution plate method โดยการ pour plate ส่วนใหญ่เป็นเชื้อราในกลุ่ม Ascomycetes และ Deuteromycetes ที่พบมากคือเชื้อราใน genus *Aspergillus* และกลุ่มที่เกี่ยวเนื่องกัน เช่น *Emericella sp.* ซึ่งเป็นเชื้อราที่มีรายงานว่าเป็น dominant species ในหลายงานวิจัยที่ผ่านมา (สุภาพร ธรรมสุระกุล, 2528) โดยเชื้อราที่คัดเลือกจากการทดสอบความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลสแล้วนำมาศึกษาสัณฐานวิทยา พบว่าเป็นเชื้อรา *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger* และ*Aspergillus sp.* ซึ่งเป็นเชื้อราที่มีรายงานว่าพบในดินป่าทั่วไป (สุภลักษณ์ เจนถนอมม้า, 2524) นอกจากนี้ยังพบเชื้อรา *Emericella sp.* และ *Pennicillium purpurogenum* ที่สามารถย่อยสลายเซลลูโลสได้ดี

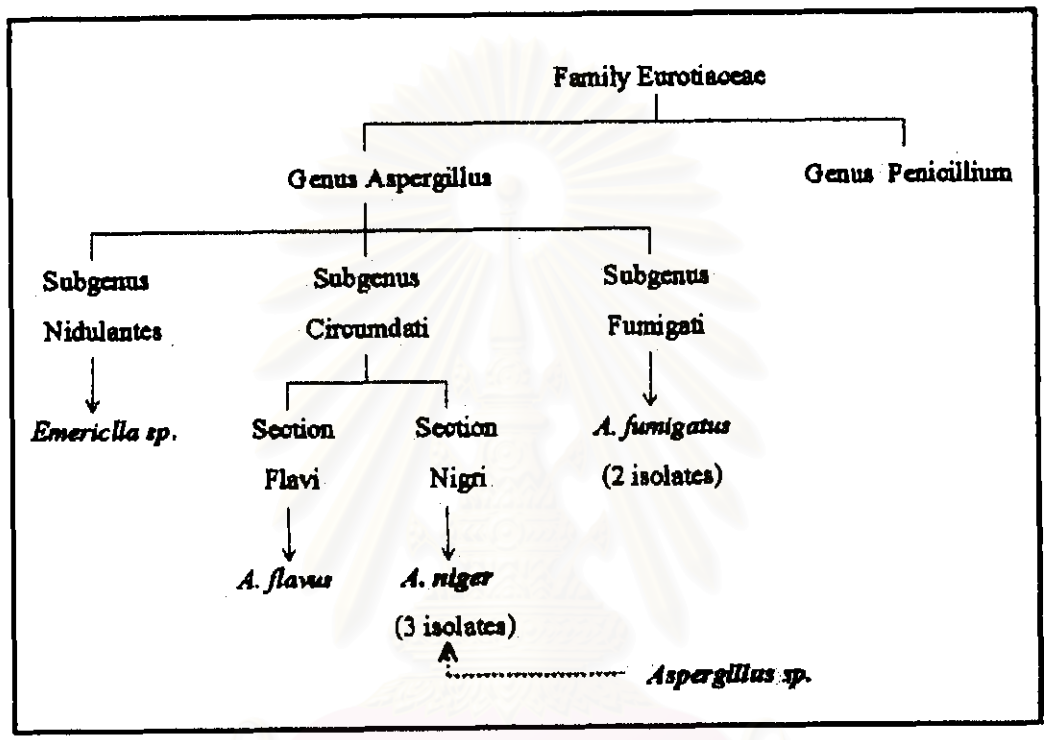
การทดสอบความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลส

เชื้อราที่แยกได้ส่วนใหญ่มีความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลส ถึงแม้ว่าบางสายพันธุ์จะไม่สามารถตรวจสอบการเกิด clear zone ได้ แต่การที่สามารถเจริญได้บนอาหารที่มี carboxymethyl cellulose เป็นแหล่งคาร์บอนเพียงอย่างเดียว แสดงให้เห็นว่าเชื้อราสามารถย่อยสลายเซลลูโลสได้แต่มีประสิทธิภาพต่ำ สำหรับเชื้อราเหล่านี้เมื่อนำมาจัดจำแนกส่วนใหญ่เป็นเชื้อราในกลุ่ม zygomycetes ที่พบมากได้แก่ *Rhizomucur sp.* สำหรับเชื้อราที่ให้ผลการย่อยสลายเซลลูโลสได้ดีส่วนใหญ่เป็นเชื้อราในกลุ่ม Ascomycetes และ Deuteromycetes ที่พบเป็น dominant species คือเชื้อรา *Aspergillus sp.* และ *Penicillium sp.* ซึ่งมีค่าความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลสอยู่ในช่วง 0.12-1.11

การศึกษาความแตกต่างของสายพันธุ์โดยใช้ไอโซไซม์

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อราโดยการใช้การเปรียบเทียบแบบแผนของไอโซเอนไซม์ แสดงให้เห็นถึงความแตกต่างของสายพันธุ์เชื้อราทั้งใน species เดียวกันและต่างสายพันธุ์ออกไป ซึ่งจากการทดลองนี้ได้ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อรา *Aspergillus niger* ที่แยกได้ทั้ง 3 ไอโซเลท โดยมี *Aspergillus flavus* เป็นเชื้อราที่จัดอยู่ใน subgenus Circumdati เช่นเดียวกันเป็นตัวเปรียบเทียบ และมีเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* ที่แยกได้ 2 ไอโซเล

ท ซึ่งจัดอยู่ใน subgenus Fumigati กับเชื้อรา *Emericella sp.* เป็น teleomoph ของเชื้อรา *Aspergillus sp.* ที่จัดอยู่ใน subgenus Nidulantes เป็นตัวเปรียบเทียบความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่าง subgenus นอกจากนี้ได้ใช้เชื้อราในกลุ่ม *Penicillium* อีก 2 สายพันธุ์เป็นตัวเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่าง genus และในได้นำเชื้อรา *Aspergillus sp.* ที่มีลักษณะสัณฐานวิทยาคล้ายกับ *Aspergillus niger* มาใช้ทดสอบในการใช้แบบแผนไอโซไซม์ในการจำแนกเชื้อราชนิดนี้อีกด้วย (ภาพที่ 55)



ภาพที่ 55 การจัดจำแนกเชื้อราที่นำมาศึกษาแบบแผนไอโซไซม์จากลักษณะสัณฐานวิทยาตามวิธีของ Klich และ Pitt, 1988

การวิเคราะห์แบบแผนไอโซไซม์ปรากฏผลดังนี้

เอนไซม์ Acid phosphatase (ACP)

จากแบบแผนไอโซเอนไซม์ที่ปรากฏพบว่าเอนไซม์ ACP ของเชื้อราที่นำมาศึกษาปรากฏแถบสีไม่ครบในทุกตัวอย่าง ซึ่งตัวอย่างที่พบแถบสีปรากฏขึ้นได้แก่ เอนไซม์ที่สกัดจากเชื้อราในกลุ่ม *Penicillium* ทั้งสองสายพันธุ์ และพบในเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* ทั้งสองไอโซเลท รวมทั้งเชื้อรา Aspergillus sp. โดยในทุกตัวอย่างปรากฏแถบสีเพียงหนึ่งแถบแสดงว่าเอนไซม์ ACP ของเชื้อราที่ศึกษามีโครงสร้างไมเลกุลเป็นแบบ monomer ซึ่งมีเพียง 1 locus (Soltis และ Soltis, 1989)

เอนไซม์ Alcohol dehydrogenase (ADH)

จากแบบแผนไอโซเอนไซม์ที่ปรากฏพบว่าเอนไซม์ ADH ของเชื้อราที่นำมาศึกษาปรากฏแถบสีไม่ครบในทุกตัวอย่าง โดยไม่พบแถบสีในตัวอย่างที่เป็นเชื้อรา *Aspergillus niger* 1 ไอโซเลท เพียงตัวอย่างเดียว โดยในตัวอย่างที่ปรากฏแถบสีส่วนใหญ่พบแถบสีมากกว่า 1 แถบ แสดงว่าเอนไซม์ ADH ของเชื้อราที่นำมาศึกษาน่าจะมีโครงสร้างโมเลกุลเป็นแบบ dimer ซึ่งน่าจะมีหลาย locus (Soltis และ Soltis, 1989)

เอนไซม์ Esterase (EST)

จากแบบแผนไอโซเอนไซม์ที่ปรากฏพบว่าเอนไซม์ EST ของเชื้อราที่นำมาศึกษาปรากฏแถบสีไม่ครบในทุกตัวอย่าง โดยไม่พบแถบสีในตัวอย่างที่เป็นเชื้อรา *Aspergillus niger* 2 ไอโซเลท เชื้อรา *Aspergillus flavus* และเชื้อรา *Aspergillus sp.* โดยในตัวอย่างที่ปรากฏแถบสีพบแถบสีจำนวนมากซึ่งแสดงว่าเอนไซม์ EST ของเชื้อราที่ศึกษาน่าจะมีโครงสร้างโมเลกุลเป็นแบบ monomer และ dimer ซึ่งน่าจะมีหลาย locus (Banke, Frisvad และ Rosendhal, 1997)

เอนไซม์ Phosphogluconate dehydrogenase (PGD)

จากแบบแผนไอโซเอนไซม์ที่ปรากฏพบว่าเอนไซม์ PGD ของเชื้อราที่นำมาศึกษาปรากฏแถบสีไม่ครบในทุกตัวอย่าง โดยไม่พบแถบสีในตัวอย่างที่เป็นเชื้อรา *Aspergillus niger* 1 ไอโซเลท เพียงตัวอย่างเดียว เช่นเดียวกับเอนไซม์ ADH โดยในตัวอย่างที่ปรากฏแถบสีส่วนใหญ่ พบแถบสี มากกว่า 1 แถบ แสดงว่าเอนไซม์ PGD ของเชื้อราที่นำมาศึกษาน่าจะมีโครงสร้างโมเลกุลเป็นแบบ dimer ซึ่งน่าจะมีหลาย locus (Soltis และ Soltis, 1989)

เอนไซม์ Peroxidase (PRX)

จากแบบแผนไอโซเอนไซม์ที่ปรากฏพบว่าเอนไซม์ PRX ของเชื้อราที่นำมาศึกษาปรากฏแถบสีไม่ครบในทุกตัวอย่าง ซึ่งตัวอย่างที่พบแถบสีปรากฏขึ้นได้แก่ เอนไซม์ที่สกัดจากเชื้อราในกลุ่ม *Penicillium* ทั้งสองสายพันธุ์ และพบในเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* ทั้งสองไอโซเลท รวมทั้งเชื้อรา *Aspergillus sp.* โดยในทุกตัวอย่างปรากฏแถบสีเพียงหนึ่งแถบแสดงว่าเอนไซม์ PRX ของเชื้อราที่ศึกษามีโครงสร้างโมเลกุลเป็นแบบ monomer ซึ่งมีเพียง 1 locus (Soltis และ Soltis, 1989)

เอนไซม์ Malate dehydrogenase (MDH)

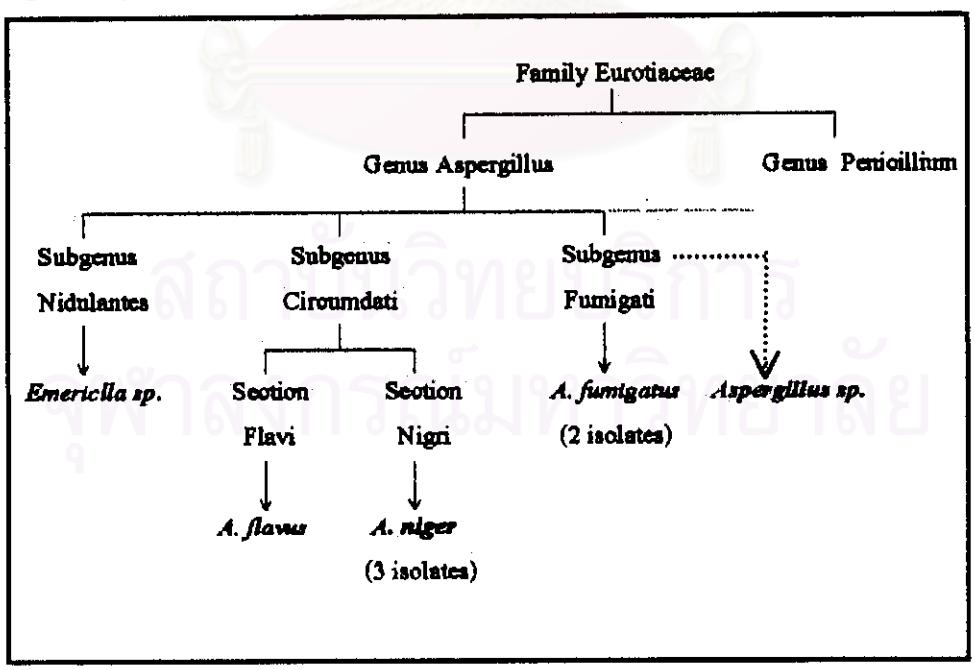
จากแบบแผนไอโซเอนไซม์ที่ปรากฏพบว่าเอนไซม์ MDH ของเชื้อราที่นำมาศึกษาปรากฏแถบสีครบทุกตัวอย่าง โดยในตัวอย่างที่ปรากฏแถบสีพบแถบสีจำนวนมาก แสดงว่า

เอนไซม์ MDH ของเชื้อราที่ศึกษาน่าจะมีโครงสร้างไมเลกุลเป็นแบบ monomer และ dimer ซึ่งน่าจะมีหลาย locus (Banke, Frisvad และ Rosendhal, 1997)

เอนไซม์ Shikimate dehydrogenase (SKD)

จากแบบแผนไอโซเอนไซม์ที่ปรากฏพบว่าเอนไซม์ SKD ของเชื้อราที่นำมาศึกษาปรากฏแถบสีครบทุกตัวอย่าง โดยในตัวอย่างที่ปรากฏแถบสีพบแถบสีจำนวนมาก แสดงว่าเอนไซม์ SKD ของเชื้อราที่ศึกษาน่าจะมีโครงสร้างไมเลกุลเป็นแบบ monomer และ dimer ซึ่งน่าจะมีหลาย locus (Soltis และ Soltis, 1989)

การใช้แบบแผนไอโซไซม์ในการจัดจำแนกเชื้อราในกลุ่ม *Aspergillus sp.* และเชื้อราอื่นที่มีความเกี่ยวเนื่องทางพันธุกรรมกันทั้ง 10 สายพันธุ์ พบว่าระบบเอนไซม์ MDH และ SKD ปรากฏแถบสีในทุกไอโซเลท ซึ่งน่าจะนำมาใช้ในการจัดจำแนกเชื้อราในกลุ่มนี้ได้ดีตามรายงานของ Banke, Frisvad และ Rosendahl (1997) จากการทดลองนี้พบความแตกต่างระหว่างเชื้อ *Aspergillus niger* 3 ไอโซเลท ที่แยกได้จากแปลงศึกษาที่เป็นป่าฟื้นสภาพ ป่าทุ่งหญ้าที่มีการปลูกกล้าไม้ร่วมกับการขุดคันดินกั้นน้ำ และป่าทุ่งหญ้าที่มีการปลูกกล้าไม้ นอกจากนี้เชื้อรา *Aspergillus sp.* RFD01 ที่พบว่ามีลักษณะคล้าย *Aspergillus niger* แต่มีลักษณะบางประการไม่สอดคล้องกับที่เคยมีรายงานมาก่อน จากการศึกษาแบบแผนไอโซไซม์พบว่าเชื้อรานี้ไม่ใช่เชื้อราใน species เดียวกับ *Aspergillus niger* (ภาพที่ 56)



ภาพที่ 56 การจัดจำแนกเชื้อราที่นำมาศึกษาแบบแผนไอโซไซม์จากลักษณะสัณฐานวิทยาตามวิธีของ Klich และ Pitt, 1988 ร่วมกับการพิจารณาแบบแผนไอโซไซม์