

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

อ้อยเป็นพืชเศรษฐกิจของประเทศไทย โดยทั่วไปหมายถึงอ้อยโรงงาน ใช้เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมอ้อยและน้ำตาล ประเทศไทยบริโภคน้ำตาลปีละ 1.6-1.7 ล้านตัน เป็นมูลค่า 17,000-19,000 ล้านบาท และมีการส่งออกมากกว่าปีละ 3 ล้านตัน เป็นมูลค่า 20,000-30,000 ล้านบาท ทำให้ประเทศไทยเป็นผู้ส่งออกน้ำตาลอันดับ 4 ของโลก ปริมาณผลผลิตอ้อยในแต่ละปีไม่แน่นอน ขึ้นอยู่กับพื้นที่ปลูกและผลผลิตต่อไร่ พื้นที่ปลูกผันแปรระหว่าง 5.6-6.6 ล้านไร่ แหล่งปลูกอ้อยที่สำคัญอยู่ในหลายภาคของประเทศ ได้แก่ ภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยภาคตะวันออกเฉียงเหนือปลูกอ้อยมากที่สุด คิดเป็น 43 เปอร์เซ็นต์ของทั้งประเทศในปี 2548/2549 (สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย, 2549) เป็นพื้นที่ปลูกอ้อยที่อยู่ในเขตชลประทาน ประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ ที่เหลืออาศัยน้ำฝน ผลผลิตอ้อยรวมในแต่ละปีอยู่ระหว่าง 40-60 ล้านตัน มีผลผลิตต่อไร่ระหว่าง 8-9 ตัน (http://www.doa.go.th/pl_data/SUGAR/1stat/st01.html) นอกจากนี้กากน้ำตาลซึ่งเป็นผลพลตรงยังมีความสำคัญในอุตสาหกรรมต่างๆ ด้วย เช่น อุตสาหกรรมผลิตอาหารสัตว์ อุตสาหกรรมผลิตแอลกอฮอล์ เป็นต้น จากการที่น้ำมันในตลาดโลกมีราคาสูงขึ้น ทำให้รัฐบาลส่งเสริมให้มีการผลิตเอทานอลเพื่อผสมในน้ำมันเบนซิน อันเป็นการลดการนำเข้าน้ำมันเชื้อเพลิงได้ทางหนึ่ง ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องเพิ่มผลผลิตอ้อยขึ้นด้วย

จากรายงานผลการสำรวจพื้นที่ปลูกอ้อยด้วยข้อมูลดาวเทียมปีการผลิต 2548/49 โดยสำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทรายพบว่าในปี 2548/49 และปี 2547/48 โดยรวมของประเทศ มีพื้นที่ปลูกอ้อย 5,890,426 และ 6,343,372 ไร่ ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าพื้นที่ปลูกอ้อยลดลง 7.14 เปอร์เซ็นต์ โดยภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีพื้นที่ปลูกอ้อย 2,533,467 และ 2,723,886 ไร่ในปี 2548/49 และปี 2547/48 ตามลำดับ โดยลดลง 6.99 เปอร์เซ็นต์ สาเหตุเนื่องมาจากภัยธรรมชาติที่เกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องตลอดปี ส่งผลกระทบต่อปริมาณผลผลิตเฉลี่ยต่อพื้นที่ (สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย, 2549)

ในการปลูกอ้อยมักจะต้องมีการใส่ปุ๋ย ที่สำคัญคือปุ๋ยไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโปแตสเซียม โดยไนโตรเจนเป็นธาตุที่ช่วยให้อ้อยเจริญเติบโตทางด้านลำต้นและใบ ทำให้อ้อยแตกกอดีมีจำนวนลำมาก ทำให้น้ำหนักอ้อยมาก ถ้าอ้อยขาดไนโตรเจน จะทำให้ใบเหลืองแคระแกร็น แดกหน่อช้า หน่อไม่เจริญ อ้อยจะแก่เร็วกว่าปกติและคุณภาพอ้อยจะต่ำ จักรินทร์ และคณะ (2535) ทดสอบปุ๋ยไนโตรเจนในอ้อย 3 พันธุ์ (อู่ทอง 1, อู่ทอง 2 และ 80-1-128) พบว่าการใส่ปุ๋ยไนโตรเจน 0, 12, 24 และ 36 kgN/ไร่ (กิโลกรัมไนโตรเจนต่อไร่) ไม่ทำให้ผลผลิตอ้อย ซีซีเอส จำนวนลำ และน้ำหนักลำ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทาง

สถิติ อย่างไรก็ตามการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนในอัตราที่สูงขึ้นมีแนวโน้มที่ทำให้ผลผลิตอ้อยสูงขึ้น ตั้งแต่ปี 1974 พบว่าเชื้อ *Azospirillum* สามารถตรึงไนโตรเจนได้และมีการค้นพบเชื้อที่สามารถตรึงไนโตรเจนบริเวณรากพืชใบเลี้ยงเดี่ยว เช่น หญ้า ข้าว ข้าวโพด อ้อย จากเดิมที่พบว่าเชื้อ *Rhizobium* สามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้โดยการสร้างเป็นปมที่รากของพืชตระกูลถั่ว จากนั้นก็ได้มีการศึกษาความสัมพันธ์ของเชื้อกับพืชเหล่านั้นเพื่อลดการใช้ปุ๋ยเคมีไนโตรเจนลง (Boddey and Dobereiner, 1988) ซึ่งเป็นการลดต้นทุนการปลูกอ้อย ดังนั้นการศึกษาวิจัยในครั้งนี้จึงมุ่งเน้นที่จะคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนจากอากาศที่มีประสิทธิภาพสูงและมีคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของอ้อยเป็นหลัก ซึ่งจะต้องมีการศึกษาความสัมพันธ์ของจุลินทรีย์ พันธุ์อ้อย รวมทั้งดินที่จะใช้ในการเพาะปลูก จะต้องเหมาะสมกันจึงจะได้ประโยชน์สูงสุด (Oliveira *et al*, 2006) ก่อนที่จะใช้ผลิตเป็นกล้าเชื้อที่มีประสิทธิภาพให้เกษตรกรนำไปใช้ประโยชน์ เพื่อเพิ่มผลผลิต ลดการใส่ปุ๋ย ซึ่งอาจเป็นการช่วยลดต้นทุนการผลิตอ้อย และปัญหาในการผลิตอ้อยไม่เพียงพอต่อการส่งโรงงานของเกษตรกรต่อไปในอนาคต

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1.2.1 ศึกษาดำเนินการเพิ่มปริมาณและเก็บรักษาเชื้อแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนให้เหมาะสมและสะดวกต่อการนำไปใช้

1.2.2 ตรวจสอบความคงทน และคุณสมบัติหรือกิจกรรมของเชื้อที่เก็บรักษาและพร้อมใช้งาน

1.2.3 ตรวจสอบประสิทธิภาพของการส่งเสริมการเจริญเติบโตของอ้อยจากเชื้อจุลินทรีย์ที่เก็บไว้และเตรียมด้วยวัสดุที่เหมาะสมต่อการนำไปใช้ในสภาพเรือนทดลอง

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

ตรวจสอบการเพิ่มจำนวนของเชื้อแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนที่คัดเลือกไว้ในวัสดุปลูกทางการเกษตรที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องและในตู้เย็นเป็นเวลา 30 และ 60 วัน จากนั้นทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนที่คัดเลือกไว้ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของอ้อยในกระถางโดยใช้ดินที่ไม่ใส่และใส่ธาตุไนโตรเจนเปรียบเทียบการใส่และไม่ใส่เชื้อแบคทีเรีย แล้วดูการเจริญเติบโตของอ้อย

1.4 วิธีดำเนินการวิจัยโดยสรุปทฤษฎี

เตรียมเชื้อแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนที่คัดเลือกไว้ในวัสดุปลูกทางการเกษตร โดยเลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 ชนิด เก็บเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องและในตู้เย็นเป็นเวลา 30 และ 60 วัน ตรวจสอบปริมาณเชื้อก่อนที่จะทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนนั้นกับอ้อยในกระถาง โดยปลูกอ้อยในกระถางก่อนจนอ้อยเริ่มงอกหรือแทงหน่อ จึงใส่เชื้อแบคทีเรียที่เตรียมไว้ ส่วนกลุ่มควบคุมจะเติมเฉพาะวัสดุปลูกในปริมาณที่เท่ากัน เมื่ออ้อยอายุครบ 30 วัน จึงเติมปุ๋ยฟอสฟอรัส และโปแตสเซียมในปริมาณที่เท่ากันทุกกระถาง ส่วนปริมาณไนโตรเจนนั้นจะแยกออกเป็นดินที่ไม่เติมไนโตรเจน (NO) และที่เติม

ไนโตรเจนครึ่งหนึ่ง (N) รดน้ำตามปกติ แล้วตรวจผลการเจริญเติบโตของอ้อย โดยนับจำนวนกอ วัตถุประสงค์ ความสูงและน้ำหนักอ้อย รวมทั้งตรวจหาปริมาณเชื้อแบคทีเรียในดินและส่วนต่างๆ ของอ้อย

1.5 แนวทางความคิดที่นำมาใช้ในโครงการวิจัย

การปลูกอ้อยเพื่อให้ได้ผลผลิตของน้ำตาลสูง จำเป็นต้องมีการใส่ปุ๋ยบำรุงดิน โดยเฉพาะปุ๋ยไนโตรเจน เพื่อให้อ้อยมีการเจริญเติบโต แข็งแรง และไม่เป็นโรค ก๊าซไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบที่มีอยู่ในปริมาณมากในอากาศ ถึง 78 เปอร์เซ็นต์ การใส่แบคทีเรียตรึงไนโตรเจนจากอากาศในแปลงปลูกอ้อยจะช่วยลดต้นทุนในการซื้อปุ๋ยไนโตรเจน ลดการใช้ปุ๋ยเคมี เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม เพราะลดการชะล้างหน้าดินที่มีไนเตรทหรือแอมโมเนียลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ ส่งผลทางอ้อมในการลดภาวะโลกร้อน

ในการปลูกอ้อยมักจะต้องมีการใส่ปุ๋ย ที่สำคัญคือปุ๋ยไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโปแตสเซียม โดยไนโตรเจนเป็นธาตุที่ช่วยให้อ้อยเจริญเติบโตทางด้านลำต้นและใบ ทำให้อ้อยแตกกอได้มีจำนวนลำมาก ทำให้น้ำหนักอ้อยมาก ถ้าอ้อยขาดไนโตรเจน จะทำให้ใบเหลืองแคระแกร็น แตกหน่อช้า หน่อไม่เจริญ อ้อยจะแก่เร็วกว่าปกติและคุณภาพอ้อยจะต่ำ ทำให้ผลผลิตน้ำตาลต่ำไปด้วย แบคทีเรียตรึงไนโตรเจนมีคุณสมบัติในการรีดิวส์ก๊าซไนโตรเจนจากอากาศเพื่อเปลี่ยนเป็นแอมโมเนียให้พืชนำไปใช้ประโยชน์ได้นอกจากนี้แบคทีเรียตรึงไนโตรเจนบางชนิดยังสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชด้วย ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนจากอากาศที่มีคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของอ้อยเพื่อผลิตเป็นกล้าเชื้อและเผยแพร่ให้เกษตรกรนำไปใช้ต่อไปในอนาคต

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ (ในปีที่ 3)

- 1.6.1 ได้ตำรับวิธีการเพิ่มปริมาณและเก็บรักษาเชื้อแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนที่มีประสิทธิภาพสูง
- 1.6.2 ผลิตนักศึกษาระดับปริญญาเอก 1 คน
- 1.6.3 นำเสนอผลงานวิจัยในงานประชุมวิชาการระดับนานาชาติ

1.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จักรินทร์ และคณะ (2535) ทดสอบปุ๋ยไนโตรเจนในอ้อย 3 พันธุ์ (อู่ทอง 1, อู่ทอง 2 และ 80-1-128) พบว่าการใส่ปุ๋ยไนโตรเจน 0, 12, 24 และ 36 kgN/ไร่ (กิโลกรัมไนโตรเจนต่อไร่) ไม่ทำให้ผลผลิตอ้อย ซีซีเอส จำนวนลำ และน้ำหนักลำ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนในอัตราที่สูงขึ้นมีแนวโน้มทำให้ผลผลิตอ้อยสูงขึ้น

Cavalcante and Dobereiner (1988) รายงานว่าดินที่มีการเติมไนโตรเจนต่ำจะพบแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนได้มาก และพบแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนชนิดใหม่ที่ทนกรด คือ *Acetobacter nitrocapta*n ซึ่งจะมีความสำคัญในดินที่มีการใส่ปุ๋ยร่วมด้วย เพราะเชื้อ *A. nitrocapta*n จะช่วยตรึงไนโตรเจนจากอากาศร่วมด้วยแม้ว่าดินนั้นจะมีไนเตรทปนอยู่ก็ตาม

แบคทีเรียตรึงไนโตรเจนที่พบในอ้อยมีทั้งชนิดที่อยู่เป็นอิสระ ได้แก่ *Beijerinckia*, *Azospillirum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Derxia*, *Enterobacter* และชนิดที่อยู่เป็น endophyte ภายในรากหรือลำต้นอ้อย ได้แก่ *Acetobacter*, *Azospillirum*, *Herbaspirillum*, *Burkholderia*, *Klebsiella*, *Pantoea* (Boddey and Dobereiner, 1988; Reis *et al*, 1994; Mirza *et al*, 2001; Sevilla *et al*, 2001; Loiret *et al*, 2004; Reis *et al*, 2004; Govindarajan *et al*, 2007;) นอกจากนี้ยังพบว่าแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนบางชนิดมีคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของอ้อยได้ด้วย เช่นการสร้างสารเหนี่ยวนำให้สร้างฮอร์โมนพืช เช่น การสร้างสาร auxin ที่เป็น indole-3-acetic acid (IAA) (Govindarajan *et al*, 2007)

Plant growth promoting bacteria (PGPB) เป็นแบคทีเรียตามธรรมชาติที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช พบได้ทั้งในดินบริเวณรอบๆ รากพืช (rhizosphere) นอกจากนี้ยังพบเชื้อที่อาศัยอยู่ภายในรากและลำต้นของพืชเป็น endophyte ด้วย (Reis *et al*, 1994; Sevilla *et al*, 2001; Loiret *et al*, 2004; Reis *et al*, 2004) โดยจุลินทรีย์ที่เป็น PGPB ต้องมีบทบาทส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชโดยมีความสามารถในการตรึงไนโตรเจน มีความสามารถในการเพิ่มความชื้นของธาตุอาหารพืช เช่น ละลายฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม เป็นต้น มีความสามารถในการสร้างสารฮอร์โมนพืช (phytohormone) เช่น auxin, cytokinin มีความสามารถในการสร้าง indole-3-acetic acid (IAA) มีความสามารถในการสร้างสารยับยั้งเชื้อราก่อโรค มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยสลายผนังเซลล์ของเชื้อราก่อโรค มีความสามารถในการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ (antagonist) ยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืช เป็นต้น (หนึ่ง เตียอำรุง และคณะ, 2548; Compant *et al*, 2005)

กลไกของ PGPB ในการเข้าสู่ระบบรากพืช โดยแบคทีเรียจะใช้ระบบส่งสัญญาณเพื่อสื่อสารกันที่เรียกว่า quorum sensing โดยจะต้องมีปริมาณของแบคทีเรียถึงระดับหนึ่งจึงจะเกิดเหตุการณ์นี้ได้ จากนั้นแบคทีเรียจะเคลื่อนเข้าสู่บริเวณผิวของราก ซึ่งกลไกนี้จะคล้ายกับการสร้าง biofilm ในสิ่งแวดล้อมอื่นๆ ในขณะที่เซลล์ของ PGPB เพิ่มจำนวนและจับกลุ่มบริเวณรากมากขึ้น พืชจะมีการตอบสนองต่อสารบางชนิดที่ PGPB ผลิตปล่อยออกมาโดยผ่านระบบที่เรียกว่า systemic acquired resistance (SAR) ซึ่งเป็นระบบหนึ่งในการป้องกันตนเองจากสิ่งแปลกปลอม ซึ่งได้แก่ ethylene, jasmonic acid และ salicylic acid ซึ่งมีบทบาทในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช

PGPB ที่อาศัยอยู่บริเวณรากพืชสามารถใช้กรดอะมิโน เช่น tryptophan แล้วเปลี่ยนเป็นสาร IAA ซึ่งเปรียบเสมือนฮอร์โมนของพืชส่งผลให้เซลล์ของพืชเจริญเติบโตและยืดยาวออกไป นอกจากนี้ PGPB ยังสามารถสร้าง ACC deaminase เพื่อย่อย 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) เนื่องจาก ACC เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ ethylene ดังนั้นเมื่อ ACC ถูก deaminase จึงส่งผลให้ปริมาณ ACC ในเซลล์ของพืชลดลง ทำให้ปริมาณ ethylene ลดลงด้วยเซลล์ของพืชเจริญยืดยาว (หนึ่ง เตียอำรุง และคณะ, 2548) นอกจากนี้ PGPB บางชนิดยังสามารถสร้างสาร siderophore ซึ่งจะมีผลไปแย่งจับธาตุเหล็กที่อยู่ในดิน ซึ่งเป็นธาตุที่เชื้อก่อโรคพืชมักจะต้องการใช้ในการเจริญเติบโต ในขณะที่

พืชต้องการธาตุเหล็กน้อยมาก ดังนั้นเชื้อแบคทีเรียก่อโรคพืชจึงไม่สามารถเจริญเพิ่มจำนวนได้ (หนึ่ง เตียอำรุง และคณะ, 2548; Compant *et al*, 2005)

ตัวอย่างการศึกษา PGPB และแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนในพืชต่างๆ เช่น

Cattelan *et al* (1999) แยกเชื้อ PGPB จากดินบริเวณรากถั่วเหลือง พบเชื้อ PGPB 23 isolates ที่สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของถั่วเหลืองที่เลี้ยงในดินที่ไม่ปลอดเชื้อ โดย PGPB 6 ใน 8 isolates สร้างสาร ACC deaminase, 4 ใน 7 isolates สร้างสาร siderophore, 3 ใน 4 isolates สร้างสาร β -1,3-glucanase, และ 2 ใน 5 isolates สามารถละลายฟอสเฟตได้

Khalid *et al* (2004) แยกเชื้อ PGPB จากดินบริเวณรากข้าวสาลี พบเชื้อที่สร้าง auxin เป็น IAA และ IAM (indole acetamide) จากดินที่ไม่อุดมสมบูรณ์ เมื่อนำเชื้อที่ได้ไปทดลองกับข้าวสาลีที่เพาะเลี้ยงในดินที่ไม่อุดมสมบูรณ์ในกระถางพบว่า ทำให้รากข้าวสาลีที่ปลูกเชื้อ PGPB รวมด้วยยาวขึ้น 17.3% น้ำหนักรากเพิ่มขึ้น 13.5% ลำต้นยาวขึ้น 37.7% น้ำหนักแห้งลำต้นเพิ่มขึ้น 36.3% เมื่อเปรียบเทียบกับต้นกล้าที่ไม่ได้ปลูกเชื้อ PGPB นอกจากนี้ยังทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นถึง 14.7% และ 27.5% เมื่อทดลองในกระถางและในสภาพไร่ ตามลำดับ

Reis *et al* (2004) แยกเชื้อแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนจากดินบริเวณรากพืชและรากของอ้อย ข้าวโพด และหญ้าในบราซิล เม็กซิโก และแอฟริกาใต้ เมื่อศึกษาลักษณะรูปร่าง บ่งเอกลักษณ์จากปฏิกิริยาชีวเคมีและการศึกษา 16S rRNA พบว่าเป็นเชื้อ *Burkholderia tropica*

Kumar *et al* (2005) แยกเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* จากดินบริเวณรากข้าว ซึ่งมีฤทธิ์กว้างขวางในการป้องกันเชื้อโรคหลายชนิด นอกจากนี้ยังสามารถสร้างสาร siderophore, IAA, phosphatase และ protease ซึ่งเหมาะที่จะนำมาทำเป็นปุ๋ยชีวภาพ

Idris *et al* (2007) แยกเชื้อ PGPB ที่สามารถควบคุมเชื้อ *Fusarium oxysporum* สาเหตุโรครากเน่าในข้าวโพด พบว่าเชื้อ *Bacillus* หลายสายพันธุ์รวมทั้ง *Chromobacterium* สามารถป้องกันโรครากเน่าได้

ตัวอย่างการศึกษา PGPB และแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนในอ้อย เช่น

Reis *et al* (1994) พบเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter* (ชื่อพ้อง *Gluconacetobacter*) *diazotrophicus* ซึ่งเป็น endophyte ที่สามารถตรึงไนโตรเจนในอ้อย

Sevilla *et al* (2001) พบว่า *A. diazotrophicus* สายพันธุ์ PA15 สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของอ้อยสายพันธุ์ SP70-1143 ทั้งในสภาพเรือนทดลองและสภาพไร่ โดยพบว่าในสภาพที่ไม่มีไนโตรเจน อ้อยที่มีการปลูกเชื้อ *A. diazotrophicus* จะเจริญเติบโตได้ดีกว่าและมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดมากกว่าอ้อยที่ไม่ได้ปลูกเชื้อหลังจาก 60 วันของการปลูกเชื้อ ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นถึงกลไกการตรึงไนโตรเจนของเชื้อแล้วเปลี่ยนถ่ายไปยังต้นอ้อย เมื่อปลูกอ้อยในสภาวะที่ไม่จำกัดไนโตรเจน ก็พบว่าอ้อยที่มีการปลูกเชื้อ *A. diazotrophicus* ทั้งในสายพันธุ์ดั้งเดิมและสายพันธุ์กลาย *Nif* มีการ

เจริญเติบโตที่ดีกว่าอ้อยที่ไม่มีการปลูกเชื้อ *A. diazotrophicus* ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเชื้อนี้ส่งเสริมการเจริญเติบโตของอ้อย

Oliveira *et al* (2006) ศึกษาแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนชนิดต่างๆ เช่น *Gluconacetobacter*, *Herbaspirillum*, *Azospirillum*, *Burkholderia* ทั้งที่เป็นเชื้อเดี่ยวและเชื้อผสมกับอ้อย 2 สายพันธุ์ในดินที่ไม่อุดมสมบูรณ์ อุดมสมบูรณ์ปานกลาง และอุดมสมบูรณ์มาก โดยศึกษาเปรียบเทียบกับ การปลูกอ้อยตามปกติในไร่ พบว่าแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนสามารถเพิ่มผลผลิตอ้อยในดินที่ไม่อุดมสมบูรณ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่ดินที่อุดมสมบูรณ์ปานกลาง ผลผลิตจะเพิ่มขึ้นไม่มากนัก แต่ในดินที่อุดมสมบูรณ์มาก ผลผลิตจะลดลงเล็กน้อย การศึกษานี้แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ของเชื้อ พันธุ์อ้อย และดิน ซึ่งจะต้องเหมาะสมกัน จึงจะเกิดประโยชน์สูงสุด

Govindarajan *et al* (2007) แยกเชื้อ endophyte diazotroph จากรากและลำต้นของอ้อย พบเชื้อที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของอ้อยและข้าว คือ *Pseudomonas*, *Burkholderia* และ *Klebsiella pneumoniae* และได้ศึกษาการส่งเสริมการเจริญเติบโตของอ้อยโดยใช้เชื้อ diazotroph ชนิดอื่นด้วย ได้แก่ *G. diazotrophicus*, *Herbaspirillum seropedicae*, *Azospirillum lipoferum* 4B และ *Burkholderia* พบว่าเชื้อ *K. pneumoniae* มีประสิทธิภาพสูงสุดในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของอ้อยเมื่อทดลองในกระถาง