

ผลของปริมาณธาตุไนโตรเจนต่อผลผลิตและปริมาณสารพฤกษเคมี ในฟ้าทะลายโจรที่ปลูกในดินทราย

Effects of Nitrogen Content on Yield and Phytochemical Concentration of *Andrographis paniculate* Planting in Sandy Soils

บุญญิสดา ตระกูลยิ่งเจริญ*
Punyisa Trakoonyingcharoen*

ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม 73140
Soil Science Department, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng
Saen Campus, Nakhon Pathom 73140

* Corresponding author: agrpyst@ku.ac.th

(Received: 25 May 2022; Revised: 25 July 2022; Accepted: 15 August 2022)

Abstract

Nitrogen played the important role on quantity and quality of economic crops. However, no researches had been conducted the suitable nitrogen content in medicinal plants as *Andrographis paniculate*. Therefore, the objective of this experiment was to determine the effects of nitrogen content on yield and phytochemical concentration of *Andrographis paniculate* planting in sandy soils. Complete randomized design experiment was carried out with 5 treatments of different nitrogen content and 5 replications. The five treatments were difference in N-P₂O₅-K₂O of chemical fertilizer as treatment 1 (T1) recommended nutrient content 30-30-30 kg/rai/crop; treatment 2 (T2) 30-0-30; treatment 3 (T3) 15-0-30; treatment 4 (T4) 7.5-0-30 and treatment 5 (T5) 0-0-30. The fertilizer was split evenly and applied for 3 times 5, 21 and 41 days after planting. Fresh mass (FM) and dry mass (DM) of root and shoot, length of root and shoot, total chlorophyll, andrographolide content, H₂O₂ content, nitrogen and potassium concentrations in *Andrographis paniculate* were collected at harvest stage. The results showed that fresh and dry mass of shoot and root of T3 was significantly higher than other treatments. Root length, and root and shoot mass ratio of T1 and T2 was significant lowest among treatments. Nitrogen concentration in leave had positive correlation with total chlorophyll at $r = 0.73$, consistency with nitrogen application. H₂O₂ did not differ significantly between treatments. Andrographolide content in plant (andrographolide by weight multiplied with shoot dry mass) was significant highest for treatment 3 (50% of recommended nitrogen). We concluded that nitrogen content reduction could increase phytochemical concentration with no effect on *Andrographis paniculate* yield.

Keywords: Nitrogen, phytochemical, *Andrographis paniculate*, sandy soils

บทคัดย่อ

ไนโตรเจนมีบทบาทความสำคัญต่อปริมาณและคุณภาพผลผลิตในพืชเศรษฐกิจทั่วไป แต่ในพืชสมุนไพรเช่นฟ้าทะลายโจร ยังไม่มีงานวิจัยที่ชี้ให้เห็นปริมาณไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการปลูกฟ้าทะลายโจร งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อต้องการทราบผลของปริมาณธาตุไนโตรเจนต่อผลผลิตและสารพฤกษเคมีในฟ้าทะลายโจรที่ปลูกในดินเนื้อทราย วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ 5 ซ้ำ 5 ดำรับการทดลอง แต่ละดำรับการทดลองได้รับปริมาณธาตุอาหาร $N-P_2O_5-K_2O$ (กิโกรัมต่อไร่ต่อรอบปลูก) จากปุ๋ยเคมีแตกต่างกันดังนี้ T1: 30-30-30 (ธาตุอาหารแนะนำ), T2: 30-0-30 T3: 15-0-30 T4: 7.5-0-30 และ T5: 0-0-30 โดยแบ่งใส่ปุ๋ย 3 ครั้ง ที่ 5 21 และ 41 วันหลังย้ายกล้า วิเคราะห์ผลผลิตเมื่อเก็บเกี่ยวที่อายุ 113 วัน ได้แก่ มวลสดและมวลแห้งของรากและส่วนเหนือดิน ความยาวราก ความยาวลำต้น สัดส่วนมวลของรากต่อลำต้น ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด ปริมาณสารแอนโดรกราโฟไลด์ ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ธาตุไนโตรเจนและโพแทสเซียมในใบและลำต้นของฟ้าทะลายโจร ผลการทดลองพบว่า T3 ให้มวลสดและมวลแห้งในส่วนเหนือดินและรากสูงที่สุดและมีนัยสำคัญทางสถิติ สำหรับ T1 และ T2 ซึ่งได้รับปริมาณไนโตรเจนตามคำแนะนำ ให้ความยาวราก และสัดส่วนมวลของรากต่อส่วนเหนือดินน้อยที่สุด ทั้งนี้ปริมาณไนโตรเจนในใบพืชและคลอโรฟิลล์มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับปริมาณไนโตรเจนที่กำหนดในดำรับการทดลองซึ่งมีค่า $r = 0.73$ สำหรับปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระ พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ แสดงถึงความเครียดของพืชใกล้เคียงกัน อีกทั้งปริมาณสารแอนโดรกราโฟไลด์ต่อต้น (ปริมาณสารแอนโดรกราโฟไลด์คูณกับมวลแห้งส่วนเหนือดิน) มีค่าสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติใน T3 แสดงให้เห็นว่าการลดไนโตรเจนในระดับที่เหมาะสมสามารถเพิ่มสารพฤกษเคมีโดยไม่มีผลกระทบต่อผลผลิตในการปลูกฟ้าทะลายโจร

คำสำคัญ: ไนโตรเจน สารพฤกษเคมี ฟ้าทะลายโจร ดินทราย

บทนำ

บทบาทธาตุอาหารมีผลต่อผลผลิตและคุณภาพ โดยตรงกับพืช โดยเฉพาะธาตุไนโตรเจนเป็นธาตุองค์ประกอบที่สำคัญในการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ วิตามิน สาร ATP และเป็นธาตุที่ใช้สร้างโปรตีนซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญที่สุดของโปรตีนพลาซิม ไนโตรเจนยังเป็นส่วนประกอบของเอนไซม์ต่าง ๆ เช่น nitrate reductase pyruvate kinase rubisco ที่ช่วยเร่งและควบคุมปฏิกิริยาต่าง ๆ ในพืชให้ดำเนินไปอย่างปกติ (Kishorekumar *et al.*, 2020) ธาตุไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบของคลอโรฟิลล์ซึ่งเป็นส่วนสำคัญในกระบวนการสังเคราะห์แสง (Bassi *et al.*, 2018) เมื่อให้ธาตุไนโตรเจนเหมาะสมแก่พืช จะทำให้ใบมีสีเขียวขึ้นและช่วยทำให้การเจริญเติบโตและความแข็งแรงของใบและลำต้นสูงขึ้น แต่หากพืชได้รับไนโตรเจนมากเกินไป อาจเป็นปฏิปักษ์กับธาตุโพแทสเซียม ทองแดง เหล็ก และโบรอนได้ ทำให้คุณภาพและปริมาณผลผลิตลดลง ลำต้นอ่อนแอ หักล้มง่าย ความต้านทานโรคลดลง (Sun *et al.*, 2020) และมีผลทำให้ดินได้รับผลตกค้างจากกรดมากขึ้น (Schroder *et al.*, 2011) ในทางกลับกันพืชที่ได้รับไนโตรเจนน้อยจนขาดแคลน ทำให้การสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ลดลง จึงส่งผลให้การสังเคราะห์แสงลดลง พืชที่แสดงอาการขาดไนโตรเจนจะสังเกตเห็นใบเป็นสีเหลือง ลำต้นสูงผอม พืชโตช้า และปริมาณผลผลิตต่ำ (Zhang *et al.*, 2015) ขณะที่พืชที่มี

การขาดไนโตรเจนเล็กน้อยและไม่รุนแรง จะมีผลต่อกับอัตราการเติบโต (growth rate) ได้แก่ การเพิ่มมวล การเพิ่มจำนวนเซลล์ใหม่และขยายเซลล์เก่า ส่วนอัตราการนำไนโตรเจนไปใช้ประโยชน์ (assimilation rate) จะลดลง (Shitan, 2016; Ncube and Van Staden, 2015) กระบวนการภายในเซลล์พืชจะเกิดการสังเคราะห์คาร์โบไฮเดรตและสะสมในเซลล์เป็นปริมาณมาก แต่การสังเคราะห์โปรตีนจะลดลง ปริมาณโปรตีนที่ลดลงเป็นการกระตุ้นให้เซลล์พืชสร้างโมเลกุลสัญญาณ ได้แก่ อนุมูลอิสระ หรือฮอร์โมนต่าง ๆ ซึ่งอนุมูลอิสระที่ได้พบทั่วไปและมีบทบาทมากในการส่งสัญญาณให้พืชปรับตัว คือ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) เมื่อพืชรับรู้ถึงสัญญาณ พืชจะสร้างกลไกขึ้นมา 2 ด้านเพื่อพืชปรับตัวให้มีชีวิตรอด คือ สร้างสารต้านอนุมูลอิสระหรือสร้างสารเมแทบอลิต์ทุติยภูมิ และปรับกลไกการทำงานหรือปรับสรีระพืช เช่น เร่งการปิดปากใบ กระตุ้นการแตกราก ให้สอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์ ดังนั้นจะเห็นได้ว่าปริมาณอนุมูลอิสระมีผลดีในการส่งสัญญาณทำให้กระตุ้นการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ หรือสร้างสารกลุ่มเมแทบอลิต์ทุติยภูมิเพื่อกำจัดปริมาณอนุมูลอิสระให้ลดลง (Huang *et al.*, 2019) แต่หากพืชได้รับความเครียด เช่น การขาดธาตุอาหาร ขาดความชื้น ฯลฯ ในระยะเวลาที่นานหรือรุนแรงมากเกินไป การสังเคราะห์อนุมูลอิสระจะมากเกินไปจนเกิดภาวะออกซิเดชันที่สูงเกินไป (oxidative

injury) ทำให้กระบวนการเมแทบอลิซึมหยุดทำงาน และพืชจะตายในที่สุด (ยงยุทธ, 2559)

ดังนั้นจึงเห็นได้ว่าปริมาณธาตุไนโตรเจนมีความสำคัญในหลายกระบวนการของเซลล์พืช รวมทั้งกระบวนการสังเคราะห์แสงและกระบวนการสังเคราะห์ฟลูคกษเคมี ซึ่งส่วนใหญ่เป็นสารที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพมนุษย์ในการป้องกันหรือรักษาโรคต่าง ๆ และช่วยให้พืชได้รับอันตรายจากสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงอย่างรุนแรง (Borquaye *et al.*, 2017; Kishorekumar *et al.*, 2020) เช่น สารแอนโดรกราโฟไลด์ในฟ้าทะลายโจร เป็นสารกลุ่มไดเทอร์ปีนแลคโตน (diterpene lactones) มีฤทธิ์ลดไข้ ต้านการอักเสบ ต้านเชื้อไวรัส (กรมการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก, 2564) แต่ยังไม่มีการวิจัยที่แสดงปริมาณธาตุอาหารที่เหมาะสมต่อการสังเคราะห์สารฟลูคกษเคมีให้ได้ความเข้มข้นสูงในฟ้าทะลายโจร จะมีของบางหน่วยงานที่แนะนำให้ใช้ปุ๋ยคอก 2.5 ตันต่อไร่และปุ๋ยสูตรเสมอ (15-15-15) อัตรา 50 กิโลกรัมต่อไร่ จำนวน 2 ครั้งต่อรอบการปลูก คิดเป็นปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ได้ทั้งจากปุ๋ยคอกและปุ๋ยเคมีประมาณ 52.5 กิโลกรัมไนโตรเจนต่อไร่ (กรมวิชาการเกษตร, 2564) ซึ่งทำให้ปริมาณผลผลิตสูง แต่จากที่กล่าวมาการสร้างสภาพให้พืชมีข้อจำกัดของธาตุไนโตรเจนมีโอกาสนี้จะทำให้ความเข้มข้นของสารฟลูคกษเคมีต่อมวลสูงขึ้น เช่น การทดลองของ Bukhori *et al.* (2020) พบว่าการใช้อัตราปุ๋ยไนโตรเจนและโพแทสเซียมที่สัดส่วน 0 : 30 ให้แก่สมุนไพรมะต่าปิง ทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบต่ำกว่าการให้ในสัดส่วน 90 : 0 ขณะที่ปริมาณทั้งหมดของคาร์โบไฮเดรต ฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ กลับสูงกว่าพืชที่ได้รับปุ๋ยในสัดส่วน 90 : 0 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ รายงานของ รัญญกานต์ (2565) พบว่า การใส่ปุ๋ยหมักปริมาณสูงถึง 4 ตันต่อไร่ ทำให้ฟ้าทะลายโจรมีสารแอนโดรกราโฟไลด์ที่สังเคราะห์ได้ปริมาณต่ำกว่าการปลูกในสภาพดินป่าที่มีความอุดมสมบูรณ์ต่ำ งานวิจัยของ Allahdadi and Farzane (2018) พบว่า การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนในปริมาณที่สูงขึ้นทำให้สารฟลูคกษเคมีในต้นอะติโซกมีปริมาณลดลงและได้แนะนำให้ใส่ไนโตรเจน 16 กิโลกรัม N/ไร่ (100 กิโลกรัม N/เฮกตาร์) เพื่อใช้ผลิตในเชิงการแพทย์ การจัดการธาตุอาหารเพื่อมุ่งหวังปริมาณผลผลิตสูง อาจส่งผลเชิงคุณภาพโดยเฉพาะปริมาณสารฟลูคกษเคมีในพืชสมุนไพรมะต่าปิง การลดปริมาณธาตุไนโตรเจนให้พืชเกิดความเครียดเพียงเล็กน้อย น่าจะช่วยเพิ่มการสังเคราะห์สารฟลูคกษเคมีในพืชสมุนไพรมะต่าปิงได้ และช่วยลดต้นทุนด้านปุ๋ยได้อีกด้วย

จึงเป็นวัตถุประสงค์ในการทดลองนี้ คือ เพื่อให้ทราบแนวทางการใช้ปุ๋ยไนโตรเจน ที่ทำให้ผลผลิตและสารฟลูคกษเคมีในฟ้าทะลายโจรมีปริมาณสูง

อุปกรณ์และวิธีการ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ จำนวน 5 ดำรับการทดลอง จำนวน 5 ซ้ำ โดยใช้ปริมาณธาตุอาหารตามคำแนะนำการใช้ปุ๋ยในฟ้าทะลายโจรของกรมวิชาการเกษตร (2564) กำหนดปริมาณธาตุอาหารทั้งหมดที่พืชจะได้รับในหนึ่งรอบการปลูก ซึ่งกำหนดให้มีการใช้ปุ๋ยคอก (ปุ๋ยมูลวัว) จำนวน 2.5 ตันต่อไร่ ใส่ก่อนปลูกครั้งเดียว และปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 ปริมาณ 50 กิโลกรัมต่อไร่ จำนวน 2 ครั้งต่อรอบการปลูก ดังนั้น ในหนึ่งรอบการปลูกจึงมีการให้ปุ๋ยเคมีรวมเป็น 100 กิโลกรัมต่อไร่ ปริมาณธาตุอาหาร N-P₂O₅-K₂O จากการใช้ปุ๋ยคอกตามคำแนะนำ คิดเป็นร้อยละ 1.50-1.35-1.49 ดังนั้น เมื่อรวมปริมาณธาตุอาหารตามคำแนะนำจากปุ๋ยทั้งสองชนิดจึงได้ปริมาณ N-P₂O₅-K₂O เป็น 52.50-48.75-52.25

สำหรับการทดลองนี้ใช้ปุ๋ยคอก 1.5 ตันต่อไร่ จึงคำนวณธาตุอาหารที่จะใส่จากปุ๋ยเคมีเพิ่ม เพื่อให้ไนโตรเจนเท่ากับปริมาณธาตุอาหารตามคำแนะนำ ในดำรับการทดลองที่ 1 ได้ใช้ปุ๋ยสูตรเสมอ (15-15-15) ให้เหมือนกับคำแนะนำ ปริมาณรวมของฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมจึงสูงกว่าคำแนะนำเล็กน้อยเป็น 52.50-50.50-52.35 ส่วนดำรับการทดลองอื่น ลดปริมาณไนโตรเจนลง แสดงใน Table 1 ซึ่งสังเกตได้ว่า ดำรับการทดลอง T2, T3, T4 และ T5 ไม่ได้ให้ธาตุฟอสฟอรัสจากปุ๋ยเคมีเพิ่ม เนื่องจากในทุกดำรับการทดลองได้ผสมมูลวัวแห้งในดินก่อนปลูก ซึ่งในมูลวัวมีปริมาณฟอสฟอรัสจำนวนหนึ่งแล้ว ประกอบกับฟ้าทะลายโจรเป็นพืชล้มลุกที่เน้นการเจริญทางกิ่งใบ มีการใช้ธาตุไนโตรเจนและโพแทสเซียมเป็นโคแฟกเตอร์หลักสำหรับกระบวนการสังเคราะห์แสงและกระบวนการสังเคราะห์ฟลูคกษเคมี (Borquaye *et al.*, 2017)

ในการทดลองนี้ได้ปลูกฟ้าทะลายโจรในกระถางที่บรรจุดินบนของชุดดินน้ำพอง (Grossarenic Haplustalfs) หนัก 6 กิโลกรัม ซึ่งเป็นดินทรายจัด มีการชะละลายสูง และมีปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในดินต่ำมาก ร้อยละ 0.1, 0.005 และ 0.008 ตามลำดับ จึงมีการแบ่งใส่ปุ๋ย 3 ครั้ง ครั้งละเท่า ๆ กัน ดังแสดงในคอลัมน์สุดท้ายของ Table 1

Table 1 Treatments for experimental research

Treatment	N-P ₂ O ₅ -K ₂ O applied in research kg/rai/crop		Chemical fertilizer applied in g/pot/cycle			Chemical fertilizer applied g/pot/application		
	N-P ₂ O ₅ -K ₂ O	N-P ₂ O ₅ -K ₂ O	15-15-15	NH ₄ SO ₄	KCl	15-15-15	NH ₄ SO ₄	KCl
	organic fertilizer	chemical fertilizer						
T1: nutrient recommendation	22.5-20.5-22.35	30-30-30	3.84			1.28		
T2: nitrogen recommendation	22.5-20.5-22.35	30-0-30		2.76	0.96		0.92	0.32
T3: 50% of nitrogen recommendation	22.5-20.5-22.35	15-0-30		1.36	0.96		0.46	0.32
T4: 75% of nitrogen recommendation	22.5-20.5-22.35	7.5-0-30		0.68	0.96		0.23	0.32
T5: without nitrogen	22.5-20.5-22.35	0-0-30		0	0.96		0	0.32

การเก็บข้อมูลและวิเคราะห์ข้อมูล

เมื่อทำการเพาะเมล็ดฟ้าทะลายโจรพันธุ์พื้นเมือง กำแพงแสน ในวัสดุเพาะกล้า จนอายุ 55 วันจึงย้ายกล้าลงในกระถางขนาด 8 นิ้ว ที่มีการผสมดิน 6 กิโลกรัมกับปุ๋ยคอก 29 กรัม ก่อนย้ายปลูก 2 สัปดาห์ ทดลองปลูกพืชในโรงเรือนที่พรางแสง 60 เปอร์เซ็นต์ ด้วยตาข่ายสีดำ เมื่อฟ้าทะลายโจรมีอายุ 5, 21 และ 41 วันหลังย้ายกล้า ใส่ปุ๋ยสูตรเสมอ ในตำรับการทดลองที่ 1 และแอมโมเนียมซัลเฟต (NH₄SO₄) กับโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) ในตำรับการทดลองอื่น ๆ ตามปริมาณธาตุอาหารที่กำหนดใน Table 1 ให้น้ำวันละ 2 ครั้ง ครั้งละ 200 มิลลิลิตรเท่ากันในทุกตำรับการทดลอง เมื่อฟ้าทะลายโจรอายุ 113 วัน ทำการเก็บตัวอย่างพืชเพื่อนำมาวิเคราะห์ ดังต่อไปนี้

ด้านผลผลิต ได้แก่ มวลสดส่วนเหนือดิน (shoot fresh mass) มวลสดราก (root fresh mass) มวลแห้งส่วนเหนือดิน (shoot dry mass) มวลแห้งราก (root dry mass) ความยาวราก (root length) ความยาวลำต้น (shoot length)

สารพิษแคมี วิเคราะห์ปริมาณสารแอนโดรกราโฟไลด์ ต่อน้ำหนัก จากส่วนเหนือดินอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส บดและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 250 ไมครอน

นำไปเตรียมตัวอย่างตามวิธีของ Wongkittipong, *et al.* (2004) แล้ววัดด้วยเครื่อง High-performance liquid chromatography (Pump Delta 600E, USA) คำนวณสารแอนโดรกราโฟไลด์ต่อต้นโดยนำปริมาณสารแอนโดรกราโฟไลด์ต่อมวลแห้งคูณกับมวลแห้งส่วนเหนือดิน สำหรับปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดใช้ใบสด สกัดด้วย acetone ที่ความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์ แล้ววิเคราะห์การดูดกลืนแสงด้วย spectrophotometer (Genesy 10 S UV-vis spectrophotometer, USA) โดยใช้แสงที่ความยาวคลื่น 645 และ 663 นาโนเมตร ค่าการดูดกลืนแสงถูกคำนวณเป็นปริมาณคลอโรฟิลล์ตามสมการของ Arnon, (1949)

ปริมาณอนุโมลอิสระ วิเคราะห์ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โดยใช้ใบสดสกัดด้วย 1% trichloro acetic acid (TCA) สารละลายถูกวัดด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 390 นาโนเมตร (Velikova *et al.*, 2000)

ปริมาณธาตุอาหาร ปริมาณไนโตรเจนในใบและลำต้นแห้งวิเคราะห์ด้วยวิธี Kjeldahl (Bremner, 1965) ปริมาณโพแทสเซียมในใบและลำต้นแห้งสกัดด้วยกรดซัลฟูริกเข้มข้น และวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Atomic adsorption spectrophotometer (Savant AA, Australia) (ทักษิณี และจรงค์, 2542)

วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (analysis of variance) ของข้อมูลผลผลิตฟัาทะลายโจรและปริมาณสารสำคัญต่าง ๆ พร้อมเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยเหล่านี้ด้วยวิธี Duncan's multiple range tests (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ 0.05 และวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ Pearson correlation coefficient (r) ด้วยโปรแกรม SPSS

ผลการวิจัยและวิจารณ์

มวลส่วนเหนือดินและมวลราก

มวลสดของส่วนเหนือดินจากทุกตำรับการทดลองนี้มีค่าเฉลี่ย 77 ถึง 115 กรัม และมีความแตกต่างทางสถิติ (Table 2) โดยพบว่า ตำรับที่ไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน (T5) มีมวลส่วนเหนือดินน้อยที่สุดคือ 77 กรัม แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับตำรับอื่น ๆ โดยตำรับการทดลองที่ 3 มีมวลส่วนเหนือดินสูงที่สุดและสูงมากกว่าตำรับที่ 1 และ 2 ซึ่งเป็นตำรับการทดลองที่ได้รับธาตุไนโตรเจนสูงที่สุด เป็นไปได้ว่าตำรับการทดลองที่ 1 และ 2 เป็นปริมาณไนโตรเจนที่ฟัาทะลายโจรได้รับมากเกินไป ทำให้เกิดสภาวะพิษกับธาตุอาหารอื่น

การใช้ธาตุอาหารอื่นจึงไม่มีประสิทธิภาพ หรือการลดปริมาณไนโตรเจนลงร้อยละ 50 ของคำแนะนำในตำรับการทดลองที่ 3 ฟัาได้รับไนโตรเจนลดลงเล็กน้อย ทำให้มวลเพิ่มขึ้น แต่ตำรับการทดลองที่มีการลดปริมาณไนโตรเจนลงร้อยละ 75 ของคำแนะนำของตำรับการทดลองที่ 4 และการไม่ใส่ไนโตรเจนเลยในตำรับการทดลองที่ 5 มีมวลสดส่วนเหนือดินน้อยที่สุด อาจเป็นเพราะปริมาณไนโตรเจนไม่เพียงพอกับความต้องการของฟัา และเมื่อสังเกตจากปริมาณคลอโรฟิลล์พบว่า มีค่าน้อยกว่าตำรับการทดลองอื่น (Table 3) ซึ่งคลอโรฟิลล์มีผลต่อการสังเคราะห์แสง (Ncube and Van Staden, 2015) จึงเป็นการจำกัดการเจริญของเซลล์ฟัา

สำหรับมวลสดรากมีค่าระหว่าง 8.2-55.7 กรัม และมวลแห้งรากมีค่าระหว่าง 1.03-9.95 กรัม ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างตำรับการทดลอง โดยตำรับการทดลองที่ 5 ซึ่งไม่ได้รับไนโตรเจนมีมวลสดรากและมวลแห้งรากมากที่สุด ส่วนตำรับที่ได้รับไนโตรเจนลดลงร้อยละ 50 และ 75 (T3 และ T4) มีมวลสดรากมากกว่าตำรับที่ได้รับไนโตรเจนปริมาณสูงสุด (T1 และ T2)

Table 2 Mean values of growth for various nitrogen applications in *Andrographis paniculate*

Treatment	shoot FM (g)	root FM (g)	root length (cm)	shoot length (cm)	shoot DM (g)	root DM (g)	root shoot DM
T1	106bc	15.8ab	17.7a	68	14.97a	1.88ab	0.125a
T2	100b	8.20a	17.9a	66	15.69a	1.03a	0.082a
T3	115c	34.2c	34.9b	68	20.63b	6.08c	0.295b
T4	95b	20.6b	27.7b	65	17.34ab	3.78b	0.217ab
T5	77a	55.7d	34.6b	66	13.7a	9.95d	0.736c
P-value	0.002	<0.000	0.036	0.865	0.011	<0.000	<0.000
%C.V	15.2	37.2	33.6	5.42	23.3	44.0	42.9

Remarks: Values followed by the same letter in a column are not significant at 5% level by the Duncan Multiple Range Test

Table 3 Mean values of phytochemical, radicals (H₂O₂) and nutrients in various nitrogen applications in *Andrographis paniculate*

Treatment	Chlorophyll (mg/g)	H ₂ O ₂ (μmol/g)	N in leave (%)	N in stem (%)	K in leave (%)	Andrographolide (% w/w)	Andrographolide in plant (g/plant)
T1	0.326b	2.75	2.88bc	1.89	1.53	3.13	0.460ab
T2	0.447c	2.48	3.20c	1.91	1.67	3.06	0.371a
T3	0.273b	3.49	1.88a	1.23	1.75	3.97	0.825c
T4	0.241ab	3.15	2.34ab	1.60	1.74	3.80	0.660bc
T5	0.167a	3.75	1.73a	2.06	1.80	4.04	0.545ab
P-value	0.028	0.641	0.007	0.22	0.498	0.493	0.023
%C.V	36.6	33.6	28.5	27.4	25.2	23.6	35.6

สัดส่วนมวลแห้งของรากต่อส่วนเหนือดิน พบว่า การได้รับการทดลองที่ลดไนโตรเจนและการทดลองที่ไม่ได้รับไนโตรเจน (T3, T4, T5) มีสัดส่วนมวลแห้งของรากต่อส่วนเหนือดินสูงกว่าการทดลองที่ได้รับไนโตรเจน

สูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 2) ความสัมพันธ์ของปริมาณไนโตรเจนในใบผกผันกับสัดส่วนของมวลแห้งของรากต่อส่วนเหนือดิน ที่ $r = -0.67$ (Table 4)

Table 4 Correlation matrix of collected data in different nitrogen content application

Property	shoot FM g	shoot DM g	root FM g	root DM g	root shoot DM	root length cm	total chlorophyll mg/g	H ₂ O ₂ μmol/g	N leave+ stem %	N leave %	Andrographolide in plant g/plant
N leave	0.15	-0.19	-0.75**	-0.75**	-0.67**	-0.75**	0.73**	-0.27	0.89**	1	
Andrographolide in plant	0.37	0.66*	0.38	0.40	0.19	0.41	-0.36	0.39	-0.72**	-0.52*	1

Remarks: ** r was statistically significant at 1% level.; * r was statistically significant at 5% level

ความยาวรากและลำต้น

การได้รับไนโตรเจนในปริมาณที่ลดลงไม่มีผลต่อความยาวของส่วนเหนือดิน แต่มีผลต่อความยาวราก โดยตำรับที่ 3 4 และ 5 มีความยาวรากมากกว่าตำรับที่ 1 และ 2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 2) การได้รับไนโตรเจนสูงทำให้การเจริญส่วนเหนือดินมากกว่าส่วนของราก จึงเห็นความสัมพันธ์เชิงลบของปริมาณไนโตรเจนในใบพืชกับความยาวราก ที่ $r = -0.75$ ($p < 0.001$) ดัง Table 4 ที่แสดงให้เห็นว่า การลดปริมาณไนโตรเจน ทำให้พืชมีความเครียดมากขึ้น พืชจึงเกิดการปรับตัวทางสรีรวิทยา โดยการกระตุ้นการยึดตัวของราก (Zhang *et al.*, 2007) และสร้างราก

แขนงมากขึ้นเพื่อหาธาตุอาหาร (Chen *et al.*, 2020) จึงส่งผลให้สัดส่วนของมวลแห้งของรากต่อส่วนเหนือดินมีค่ามากขึ้นดังเช่นผลการวิจัยก่อนหน้านี้ และหากพืชได้รับไนโตรเจนเพียงพอ การใช้คาร์โบไฮเดรตเพื่อสร้างโปรตีนและโปรโตพลาสซึมของส่วนเหนือดินจะมากขึ้น คาร์โบไฮเดรตจึงเคลื่อนย้ายลงสู่รากลดลง การเจริญส่วนเหนือดินจึงเป็นไปในอัตราที่เร็วกว่าส่วนราก (ยงยุทธ, 2558)

ปริมาณธาตุไนโตรเจนและโพแทสเซียมในใบพืช

ปริมาณธาตุไนโตรเจนในใบพืชแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในแต่ละการทดลอง ซึ่งสัมพันธ์กับ

ปริมาณไนโตรเจนที่ได้รับ โดยตำรับที่ได้รับธาตุไนโตรเจนอัตราสูงคือตำรับการทดลองที่ 1 และ 2 มีปริมาณไนโตรเจนในใบพืชสูงสุด คือ 2.88-3.20 เปอร์เซ็นต์ ต่างจากตำรับที่ได้รับไนโตรเจนลดลงและไม่ได้รับไนโตรเจน (T3, T4 และ T5) ซึ่งมีการสะสมไนโตรเจนต่ำกว่าชัดเจน (1.73-2.34 เปอร์เซ็นต์) ดังแสดงใน Table 3 เนื่องจากเป็นตำรับที่ได้รับไนโตรเจนลดลงและไม่ได้รับไนโตรเจน พืชจะนำไนโตรเจนเท่าที่มีอยู่ไปใช้สังเคราะห์เซลล์เพื่อสร้างการเจริญ เช่น ขยายหรือสร้างเซลล์ จึงเหลือไนโตรเจนสะสมในรูปของสารประกอบไนโตรเจนหรือโมเลกุลของสารอินทรีย์น้อย (Shitan, 2016; Ncube and Van Staden, 2015) ซึ่งให้ผลการทดลองที่ตรงข้ามกับตำรับที่ได้รับไนโตรเจนปริมาณสูง

ปริมาณโพแทสเซียมในใบพืชไม่มีความแตกต่างระหว่างสำหรับการทดลองเนื่องจากทุกตำรับการทดลองได้รับโพแทสเซียมปริมาณเท่ากัน การที่ทุกตำรับการทดลองยังคงกำหนดการให้ปริมาณโพแทสเซียม เนื่องจากธาตุโพแทสเซียมในพืชมีบทบาทสำคัญหลายด้าน เช่น กระตุ้นกิจกรรมชีวเคมีที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ต่าง ๆ ในกระบวนการต่าง ๆ และสะสมโภชนาการที่สำคัญ ซึ่งเกิดขึ้นในไซโทซอลและออร์แกเนลล์ต่าง ๆ รวมทั้งสร้างสมดุลของประจุในเซลล์และควบคุมการเปิดปิดปากใบในเซลล์คุม ซึ่งพืชดูดใช้โพแทสเซียมได้ในปริมาณที่สูงพอ ๆ กับไนโตรเจน และสูงกว่าฟอสฟอรัสหลายเท่า (Ali *et al.*, 2020; Singh *et al.*, 2021) จึงจำเป็นต้องให้โพแทสเซียมทุกตำรับการทดลองเพื่อส่งเสริมกิจกรรมต่าง ๆ ให้พืชหลายใจเจริญเติบโตและสังเคราะห์สารสำคัญ

ปริมาณคลอโรฟิลล์

ปริมาณคลอโรฟิลล์มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยมีปริมาณคลอโรฟิลล์เฉลี่ยระหว่าง 0.167-0.447 มิลลิกรัม/กรัม และพบความสัมพันธ์เชิงบวกของคลอโรฟิลล์ทั้งหมดกับไนโตรเจนในพืชที่ $r = 0.73$ (Table 4) ผลความสัมพันธ์ดังกล่าวเนื่องจากไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบที่สำคัญมากของคลอโรฟิลล์ (Uysal, 2018; Bojović and Marković, 2009) เมื่อพืชได้รับไนโตรเจนมากจึงนำไปใช้สังเคราะห์คลอโรฟิลล์ได้มาก

ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เป็นอนุมูลอิสระชนิดหนึ่งทำหน้าที่เป็นตัวส่งสัญญาณให้พืชปรับตัวทั้งด้านสรีรวิทยา

และการสังเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระหรือสารพิษเคมี พืชจะสังเคราะห์ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มากเมื่อพืชได้รับความเครียดจากสภาพแวดล้อมยาวนานหรือรุนแรง (ยงยุทธ, 2559) แต่ถ้าพืชเครียดรุนแรงหรือยาวนานจะทำให้มีการสังเคราะห์อนุมูลอิสระปริมาณมากเกินไปจนพืชตายได้ ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เฉลี่ยที่ตรวจวัดได้มีค่าระหว่าง 2.48-3.75 ไมโครโมล/กรัม โดยไม่มีความแตกต่างกันในแต่ละตำรับการทดลอง พบว่าการให้ไนโตรเจนสูงสุดของตำรับการทดลองที่ 1 และ 2 มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์น้อยกว่าตำรับที่ได้รับไนโตรเจนลดลงของตำรับการทดลองที่ 3 และ 4 และตำรับที่ไม่ได้รับไนโตรเจนของตำรับการทดลองที่ 5 ดัง Table 3 อาจเนื่องจากปริมาณไนโตรเจนของตำรับการทดลองที่ 1 และ 2 เป็นปริมาณที่มากพอ และไม่ได้ทำให้พืชเครียดจนส่งผลให้เพิ่มการสังเคราะห์อนุมูลอิสระปริมาณมาก ขณะที่ตำรับการทดลองที่เหลือได้รับความเครียดจากการลดลงของไนโตรเจนทำให้เกิดการสังเคราะห์อนุมูลอิสระได้มากกว่า จึงพบปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มากกว่า

ปริมาณสารแอนโดรกราโฟไลด์

ร้อยละสารแอนโดรกราโฟไลด์ต่อมวลแห้งระหว่างตำรับการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (Table 3) แต่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในตำรับที่ได้รับไนโตรเจนลดลง (ตำรับการทดลองที่ 3 และ 4) และตำรับที่ไม่ได้รับไนโตรเจน (ตำรับการทดลองที่ 5) เมื่อพิจารณาปริมาณสารแอนโดรกราโฟไลด์ต่อต้น (ปริมาณสารแอนโดรกราโฟไลด์คูณกับมวลแห้งของส่วนเหนือดิน) พบว่ามีความแตกต่างทางสถิติ โดยตำรับการทดลองที่ 3 ให้ปริมาณสารแอนโดรกราโฟไลด์ต่อต้นสูงสุด และพบความสัมพันธ์เชิงลบของปริมาณไนโตรเจนในใบพืชและไนโตรเจนในใบรวมกับลำต้นกับปริมาณสารแอนโดรกราโฟไลด์ต่อต้นที่ $r = -0.52$ และ -0.72 ดัง Table 4 จากการศึกษาที่พืชได้รับไนโตรเจนลดลง ทำให้พืชเกิดการสังเคราะห์อนุมูลอิสระ (H_2O_2) มากขึ้นดัง Table 3 และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ทำหน้าที่ส่งสัญญาณให้เซลล์พืชสังเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระและสารพิษเคมีมากขึ้น ซึ่งเป็นการปรับตัวของพืชเมื่อได้รับความเครียด (ยงยุทธ, 2559) สอดคล้องกับงานวิจัยจำนวนมาก เช่น การพบสารแอนโดรกราโฟไลด์ในฟ้าทะลายโจรที่ปลูกในดินป่าอุดมสมบูรณ์ต่ำ ซึ่งมีปริมาณสารแอนโดรกราโฟไลด์มากกว่าในแปลงปลูกฟ้าทะลายโจรที่มีการจัดการธาตุอาหาร (ธัญญกานต์, 2565) และงานวิจัย

ของ Allahdadi and Farzane (2018) พบความสัมพันธ์ผกผันของปริมาณไนโตรเจนต่อปริมาณสารพฤกษเคมีไนตันอาร์ทีโซก โดยตำรับการทดลองที่ไม่ใส่ปุ๋ยเลยให้สารพฤกษเคมีสูงที่สุด อย่างไรก็ตามหากปลูกเชิงการค้าและเพื่อความยั่งยืนของทรัพยากรดิน แนะนำให้ใส่ไนโตรเจนปริมาณ 16 กิโลกรัม N/ไร่ (100 กิโลกรัม N/เฮกตาร์) ซึ่งเป็นอัตราไนโตรเจนต่ำที่สุดของงานวิจัยดังกล่าว จึงเห็นได้ว่าการใช้ธาตุอาหารเพื่อสังเคราะห์สารพฤกษเคมีของฟ้าทะลายโจรมีความแตกต่างจากการผลิตในพืชเศรษฐกิจทั่วไป เพราะพืชทั่วไปต้องการไนโตรเจนปริมาณมากและมากเท่า ๆ กับโพแทสเซียม (Ali *et al.*, 2020; Singh *et al.*, 2021) ขณะที่การลดปริมาณธาตุไนโตรเจนแต่ยังคงปริมาณโพแทสเซียม ทำให้ผลผลิตและสารพฤกษเคมีในฟ้าทะลายโจรสูงที่สุด

สรุปผลการวิจัย

การทดลองนี้พบว่า การให้ปริมาณธาตุไนโตรเจนต่างกันมีผลต่อปริมาณผลผลิตและคุณภาพของฟ้าทะลายโจร การลดปริมาณไนโตรเจนต่ำกว่าคำแนะนำลงครึ่งหนึ่ง ทำให้ผลผลิต และปริมาณสารแอนโดรกราโฟไลด์ทั้งต้นมีปริมาณสูงสุด อาจจะเป็นแนวทางการใช้ปุ๋ยในพืชสมุนไพรอื่นได้ด้วย แต่การลดปริมาณไนโตรเจนมากเกินไปมีผลต่อมวลสดและปริมาณแอนโดรกราโฟไลด์ต่อต้น ซึ่งอาจเกี่ยวข้องกับ การเกิดอนุมูลอิสระที่มากเกินไปจนเกิดความเสียหายกับพืชได้ จึงต้องระมัดระวังในการลดการใช้ไนโตรเจน สำหรับการให้ไนโตรเจนสูงตามคำแนะนำ ทำให้พืชมีผลผลิตสูง แต่พืชสังเคราะห์สารแอนโดรกราโฟไลด์ได้ต่ำกว่าพืชที่ได้รับไนโตรเจนลดลงจากคำแนะนำหรือไม่ได้รับไนโตรเจน ดังนั้น การผลิตฟ้าทะลายโจรสามารถลดปริมาณปุ๋ยลงจากคำแนะนำได้ระดับหนึ่ง โดยไม่กระทบต่อปริมาณแต่ยังช่วยเพิ่มคุณภาพได้ รวมทั้งลดต้นทุนได้มาก

เอกสารอ้างอิง

กรมการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก. 2564. ข้อควรรู้เกี่ยวกับการใช้ “สารแอนโดรกราโฟไลด์” ในผลิตภัณฑ์ “ฟ้าทะลายโจร” เพื่อ “การรักษาโควิด-19”. (พิมพ์ครั้งที่ 1). บริษัทปิยอนต์ ฟัปลิซซิง จำกัด. กรุงเทพฯ. 16 หน้า.
กรมวิชาการเกษตร. 2564. คู่มือสำหรับเกษตรกร การผลิตฟ้าทะลายโจร. กรมวิชาการเกษตร.

ทัศนีย์ อัดตะนันท์ และจงรักษ์ จันท์เจริญสุข. 2542. แบบฝึกหัดและคู่มือปฏิบัติการการวิเคราะห์ดินและพืช. ภาควิชาปฐพีวิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ัญญกานต์ แซ่เครือ. 2565. รายงานความก้าวหน้าโครงการทดสอบประสิทธิภาพปลูกพืชสมุนไพรตามศักยภาพของพื้นที่สนับสนุนเป้าหมายการขับเคลื่อนและพัฒนาคุณภาพวัตถุดิบสมุนไพรของกระทรวงเกษตรและสหกรณ์. ศูนย์ศึกษาวิธีการฟื้นฟูที่ดินเสื่อมโทรมเขาชะงุ้มอันเนื่องมาจากพระราชดำริ.

ยงยุทธ โอสถสภา. 2558. ธาตุอาหารพืช. (พิมพ์ครั้งที่ 4). สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ยงยุทธ โอสถสภา. 2559. ความเครียดของพืชและการบรรเทาความเครียด. วารสารดินและปุ๋ย 38: 47-78.

Ali, S., A. Hafeez, X. Ma, S. Atta Tung and G. Yang. 2020. Relative potassium ratio balanced the carbon-nitrogen assimilation in cotton leaf under reducing nitrogen application. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 20: 761-774.

Allahdadi, M. and P. Farzane. 2018. Influence of different levels of nitrogen fertilizer on some phytochemical characteristics of artichoke (*Cynara scolymus* L.) leaves. *Journal of Medicinal Plants Studies* 6(1): 109-115.

Amon, D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol.* 24: 1-15.

Bassi, D., M. Menossi and L. Mattiello. 2018. Nitrogen supply influences photosynthesis establishment along the sugarcane leaf. *Scientific Reports* 8: 2327. doi:10.1038/s41598-018-20653-1.

Bojović, B. and A. Marković. 2009. Correlation between nitrogen and chlorophyll content in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Kragujevac J. Sci.* 31: 69-74.

Borquaye, L.S., G. Darko, M.K. Laryea, E.N. Gasu, N.A.A. Amponsah and E.N.J.C.F. Appiah. 2017.

- Nutritional and anti-nutrient profiles of some Ghanaian spices. 3: 1348185.
- Bremner, J.M. 1965. Total Nitrogen. Methods of Soil Analysis, pp. 1149-1178. In A.G. Norman (eds.), Agronomy Monographs. <https://doi.org/10.2134/agronmonogr9.2.c32>.
- Chen, J., L. Liu, Z. Wang, Y. Zhang, H. Sun and S. Song. 2020. Nitrogen fertilization increases root growth and coordinates the root–shoot relationship in cotton. 11. doi:10.3389/fpls.2020.00880.
- Cui, J., I. Pottosin, E. Lamade and G. Tcherkez. 2020. What is the role of putrescine accumulated under potassium deficiency? Plant, Cell & Environment 43: 1331-1347.
- Huang, H., F. Ullah, D.-X. Zhou, M. Yi and Y. Zhao. 2019. Mechanisms of ROS regulation of plant development and stress responses. 10. doi:10.3389/fpls.2019.00800.
- Kishorekumar, R., M. Bulle, A. Wany and K.J. Gupta. 2020. An Overview of Important Enzymes Involved in Nitrogen Assimilation of Plants. Methods in molecular biology (Clifton, N.J.) 2057: 1-13. doi:10.1007/978-1-4939-9790-9_1.
- Ncube, B. and J. Van Staden. 2015. Tilting plant metabolism for improved metabolite biosynthesis and enhanced human benefit. Molecules (Basel, Switzerland) 20: 12698-12731. doi:10.3390/molecules200712698.
- Schroder, J.L., H. Zhang, K. Girma, W.R. Raun, C.J. Penn and M.E.J.S.S.o.A.J. Payton. 2011. Soil acidification from long-term use of nitrogen fertilizers on winter wheat. 75: 957-964.
- Shitan, N. 2016. Secondary metabolites in plants: transport and self-tolerance mechanisms. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry 80: 1283-1293. doi:10.1080/09168451.2016.1151344.
- Singh, V.K., B.S. Dwivedi, S.S. Rathore, R.P. Mishra, T. Satyanarayana and K. Majumdar. 2021. Timing Potassium Applications to Synchronize with Plant Demand, pp. 363-384. In T.S. Murrell (eds.), Improving Potassium Recommendations for Agricultural Crops.
- Sun, J., W. Li, C. Li, W. Chang, S. Zhang and Y. Zeng. 2020. Effect of different rates of nitrogen fertilization on crop yield, soil properties and leaf physiological attributes in banana under subtropical regions of China. 11. doi:10.3389/fpls.2020.613760.
- Uysal, E. 2018. Effects of nitrogen fertilization on the chlorophyll content of apple. Fruit Science 5: 12-17.
- Velikova, V., I. Yordanov and A. Edereva. 2000. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain treated bean plants. Protective role of exogenous polyamines. Plant Sci. 151: 59-66.
- Wongkittipong, R., L. Prat, S. Damronglerd and C. Gourdon. 2004. Solid-liquid extraction of andrographolide from plants—experimental study, kinetic reaction and model. Separation and Purification Technology 40: 147-154. doi:<https://doi.org/10.1016/j.seppur.2004.02.002>.
- Zhang, H., H. Rong and D. Pilbeam. 2007. Signaling mechanisms underlying the morphological responses of the root system to nitrogen in *Arabidopsis thaliana*. Journal of experimental botany 58: 2329-2338. doi:10.1093/jxb/erm114.
- Zhang, X., E.A. Davidson, D.L. Mauzerall, T.D. Searchinger, P. Dumas and Y. Shen. 2015. Managing nitrogen for sustainable development. Nature 528: 51-59. doi:10.1038/nature15743.