

ĐẠI HỌC HUẾ
VIỆN CÔNG NGHỆ SINH HỌC

HATSADONG CHANTHANOUSONE

NGHIÊN CỨU HIỆU QUẢ SỬ DỤNG PHÂN BÓN SINH HỌC
TỪ CÂY CHÙM NGÂY CHO MỘT SỐ LOẠI RAU

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ

Chuyên ngành: Sinh học
Mã số: 9420101

Người hướng dẫn khoa học:

- PGS.TS TRƯƠNG THỊ HỒNG HẢI
- TS. NGUYỄN QUANG CƠ

HUẾ, 2023

Luận án được hoàn thành tại Viện Công nghệ sinh học Đại học Huế.

Người hướng dẫn:

1. PGS.TS. Trương Thị Hồng Hải, Viện Công nghệ sinh học, Đại học Huế

2. TS. Nguyễn Quang Cơ, Viện Công nghệ sinh học, Đại học Huế

Người phê bình 1:

.....
.....
.....

Người phê bình 2:

.....
.....
.....

Người phê bình 3:

.....
.....
.....

Luận án được bảo vệ tại Hội đồng chấm luận án Đại học Huế
lúc giờ Ngày..... Tháng Năm.....

Luận án có thể được truy cập trong Thư viện:

1. Thư viện Quốc gia Việt Nam.
2. Trung tâm Học liệu, Đại học Huế.
3. Thư viện Viện Công nghệ sinh học, Đại học Huế

CHƯƠNG 1. MỞ ĐẦU

1.1. Lý lịch

Moringa oleifera Lâm. (thường gọi là cây dùi trống) là loài cây đa công dụng, giàu dinh dưỡng và phân bố khắp Nam Ấn Độ, Đông Nam Á, Nam Mỹ và Châu Phi (Alavilli et al., 2022). Ngoài ra, bộ phận của cây chùm ngây còn rất giàu khoáng chất, protein, vitamin, hợp chất phenolic và flavonoid (Hassan et al., 2021). Ở Việt Nam, lá cây chùm ngây được dùng làm rau, làm trà, làm bột rau, còn hạt dùng để nhân giống. Những bộ phận còn lại: thân, rễ và vỏ cây chùm ngây, đều là rác thải. Vì vậy, việc sử dụng phế phụ phẩm từ cây chùm ngây để sản xuất phân bón sinh học là cần thiết. Bên cạnh đó, việc phát triển các giống cây trồng có khả năng chống chịu cao với điều kiện úng, mở rộng diện tích trồng dùi trống để cung cấp nguyên liệu cho sản xuất phân bón sinh học chùm ngây là rất quan trọng. Vì vậy, cần phải tiến hành “Nghiên cứu hiệu quả sử dụng phân bón sinh học từ cây chùm ngây cho một số loại rau”.

1.2. Mục tiêu nghiên cứu

1.2.1. Mục tiêu tổng thể

- Tạo ra phân bón sinh học từ phế phụ phẩm chùm ngây (thân, cuống lá già và các bộ phận không sử dụng được) phục vụ sản xuất nông nghiệp hữu cơ, góp phần giải quyết ô nhiễm môi trường, suy thoái kết cấu đất, cải thiện sinh trưởng, năng suất cây trồng, an toàn thực phẩm.

1.2.2. Mục tiêu chi tiết

- Lựa chọn khả năng chịu úng và đặc tính tốt của các dòng *M. oleifera* phục vụ sản xuất sinh khối ở Thừa Thiên Huế.
- Đánh giá ảnh hưởng của phân bón lá Moringa đến sinh trưởng, năng suất và chất lượng rau.
- Đánh giá ảnh hưởng của phân hữu cơ Moringa đến sinh trưởng của rau xà lách và rau cải xanh.
- Đánh giá hiệu quả sử dụng phân bón sinh học qua lá Moringa (MFB) trên rau.
- Đánh giá hiệu quả sử dụng phân hữu cơ Moringa (MOF) trên rau.

1.3. Đóng góp trong thực tế

- Lựa chọn ba dòng (SPLs 7, 18 và 65) cho khả năng chịu ngập úng cao và ba dòng (SPLs 21, 27 và 66) cho hàm lượng phenolic cao và ba dòng (SPLs 21, 73 và 66) cho hàm lượng flavonoid để nhân giống

Moringa trong tương lai ở Việt Nam cũng như ở Thừa Thiên Huế.

- Dự lượng Moringa chất lượng tốt nhất được lên men bằng sản phẩm EM và mật đường để sản xuất phân bón sinh học lá Moringa (MFB) trong bốn tháng ủ phân. Phân bón hữu cơ Moringa tối ưu (MOF) thu được sau thời gian ủ bảy tuần.

- Xác định lượng MFB thích hợp với 100 mL/lít nước và MOF với 25 tấn/ha đạt hiệu quả trồng rau ăn lá cao nhất tỉnh Thừa Thiên Huế.

CHƯƠNG 2. TỔNG QUAN

2.1. Cơ sở lý luận của nghiên cứu

2.1.1. Giới thiệu về cây chùm ngây

2.1.1.1. Đa dạng sinh học và thực vật học của Moringa

2.1.1.1.1. Đa dạng sinh học của Moringa

Chi *Moringa* bao gồm 13 loài được tìm thấy ở dãy cận Himalaya của Ấn Độ, Sri Lanka, Đông Bắc và Tây Nam Phi, Madagascar và Ả Rập. *Moringa pterygosperma* Gaerthn (syn. *Moringa oleifera* Lam) là loài nổi tiếng và phổ biến nhất. Các cây này có hoa màu trắng hoặc hồng. *Moringa peregrina*. Forsk, *Moringa optera* Gaerthn, *Moringa zeylanica* sieb., *Moringa arabica* (Boopathi & Raveendran, 2021).

2.1.1.1.2. Thực vật học chùm ngây

Cây chùm ngây là một loại cây gỗ mềm có nguồn gốc từ Ấn Độ, mọc hoang ở vùng cận Himalaya phía Bắc Ấn Độ và hiện được trồng khắp nơi trên thế giới ở các vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới. Nó được trồng khắp Ấn Độ vì vỏ hạt cứng, cũng như lá và hoa. Cây chùm ngây là một loại rau phổ biến trong ẩm thực miền Nam Ấn Độ và được đánh giá cao vì hương vị đặc biệt của chúng. *Cây chùm ngây có ở khắp các nước nhiệt đới.*

Botanical classification of Moringa:

Kingdom - Plantae

Division - Magnoliophyta

Class - Magnoliopsida

Order - Brassicales

Family - Moringaceae

Genus - Moringa

Species – *oleifera*

2.1.1.2. Đánh giá đa dạng di truyền của *M. oleifera*

Sự biến đổi di truyền của các loài thực vật là nguồn gốc chính của sự khác biệt về tính cách, giúp cải thiện khả năng thích nghi và phân bố của chúng (Carvalho et al., 2019).

2.1.1.2.1. Điểm đánh dấu hình thái

Thông thường, các đặc điểm hình thái định lượng và định tính khác nhau đã được sử dụng để xác định loài và phân biệt các giống cây trồng hoặc gia nhập (Adhikari et al., 2017).

2.1.1.2.2. Hóa chất thực vật các thành phần

Chất chống oxy hóa (vitamin A, C và E, β -carotene), chất sinh hóa (axit amin, glucosinolates, diệp lục, đường, protein hạt và protein tổng số), các chất dinh dưỡng đa lượng, các yếu tố kháng dinh dưỡng và polyphenol đã được sử dụng để đánh giá sự biến đổi di truyền giữa các giống *M. oleifera* và các dòng nhân giống tiên tiến từ Ấn Độ, Thái Lan, Lào, Philippines, Trung Quốc, Đài Loan, Ả Rập Saudi, Tanzania và Hoa Kỳ (Zhu et al., 2020).

2.1.1.3. Dấu hiệu phân tử

Các dấu hiệu phân tử được phân loại dựa trên phương pháp phân tích dựa trên sự lai tạo (ví dụ, đa hình chiều dài đoạn giới hạn (RFLP)), Phản ứng chuỗi polymerase (PCR)-based (e.g., DNA đa hình được khuếch đại ngẫu nhiên (RAPD)), hoặc dựa trên trình tự (e.g., đa hình nucleotide đơn (SNPs)) (Adhikari et al., 2017).

2.1.1.3.1. DNA đa hình được khuếch đại ngẫu nhiên (RAPD)

RAPD là một kỹ thuật dựa trên PCR sử dụng các đoạn mồi oligonucleotide ngắn (decamer) và ngẫu nhiên và không yêu cầu thông tin trình tự hoặc đầu dò phóng xạ; Các đoạn DNA được phân tách bằng điện di trên gel agarose và sau đó được hiển thị bằng cách nhuộm bằng ethidium bromide.

2.1.1.3.2. Đa hình khuếch đại liên quan đến trình tự (SRAP)

Kỹ thuật đánh dấu SRAP là một phương pháp đơn giản và hiệu quả để khuếch đại khung đọc mở (ORF) bằng cách sử dụng oligonucleotide 17-18-mer với các trình tự lõi ở đầu 5' bao gồm oligonucleotide 13-14-mer với các trình tự bổ sung khác nhau không chứa các trình tự cụ thể chẳng hạn như CCGG và AATT trong các mồi tiến và mồi ngược tương ứng và ba nucleotide chọn lọc ở đầu 3' (Li & Quiros, 2001).

2.1.2. Giới thiệu về phân bón sinh học

2.1.2.1. Phân bón sinh học

Phân sinh học là những chất có nguồn gốc sinh học (vi sinh vật), được bổ sung vào đất và xây dựng nhằm nâng cao độ phì nhiêu và khả năng sinh trưởng của cây trồng, phân sinh học bao gồm nấm, tảo xanh lam và vi khuẩn hoặc sự kết hợp của chúng với các sinh vật, phân sinh học là chất dinh dưỡng và là nguồn phân bón hóa học kinh tế, thiết thực và có thể tái tạo cho cây trồng. (Baboo, 2009).

2.1.2.2. Phân bón lá sinh học

Việc sử dụng phân bón qua lá là một phương pháp hiệu quả để cải thiện đặc tính dinh dưỡng của cây trồng (Otalora et al., 2018). Cải thiện các đặc tính sinh lý của cây trồng, đặc biệt trong môi trường hạn hán và stress nhẹ (Ruiz-Navarro et al., 2019).

2.1.3. Rau loại

2.1.3.1. Định nghĩa rau loại

Các loại rau lá rất quan trọng trong dinh dưỡng của con người, đặc biệt là nguồn cung cấp vitamin, khoáng chất, chất xơ và chất (Yahia et al., 2019), cũng như an ninh lương thực (Rani, 2020).

2.1.3.2. Sản xuất rau loại

Sản xuất rau được thực hiện bởi các hộ nông dân/công ty nhỏ sử dụng nhiều chiến lược sản xuất khác nhau. Rau được thừa nhận là một dự án kinh doanh có lợi nhuận để cải thiện sinh kế của nông dân và giải quyết các mối lo ngại về khả năng tự cung tự cấp, an ninh lương thực và phát triển kinh tế ở vùng sâu vùng xa. (Chagomoka et al., 2015).

2.1.4. Vai trò thành phần dinh dưỡng của rau

2.1.4.1. Nitơ (N)

Nitơ là nguyên tố dinh dưỡng chính mà cây cần cho sự phát triển của lá, cây có khả năng lấy Nitơ từ phân bón, phân hữu cơ, không khí và đất, nitơ, nguyên tố hóa học dạng khí (Yousaf et al., 2021).

2.1.4.2. Phốt pho (P)

Phốt pho là một trong những chất dinh dưỡng đa lượng dồi dào nhất trong mô thực vật và cần thiết cho một số chức năng quan trọng của cây như truyền năng lượng, quang hợp, chuyển hóa đường và tinh bột, vận chuyển chất dinh dưỡng trong cây và chuyển đặc điểm di truyền từ thế hệ này sang thế hệ tiếp theo. (Baroowa et al., 2022).

2.1.4.3. Kali (K)

Kali (K⁺), cùng với nitơ (N) và phốt pho (P), là một trong những chất dinh dưỡng thiết yếu cho cây trồng phát triển và sinh lý. (Perelman et al., 2022).

2.1.4.4. Canxi

Canxi là chất dinh dưỡng vô cơ cần thiết cho thực vật bậc cao; Nó cần thiết cho vai trò cấu trúc của thành tế bào và màng tế bào như là cation hóa trị hai (Ca^{2+}), như một chất chống lại các anion vô cơ và hữu cơ trong không bào, và như một chất truyền tin nội bào trong tế bào chất (Marschner, 1995)

2.1.4.5. Magie (Mg)

Magie được biết đến là một chất dinh dưỡng cần thiết cho nhiều sinh vật sống, bao gồm các loài thực vật, động vật và con người. làm giảm năng suất và chất lượng lâm nghiệp (Mitchell et al., 1999).

2.1.4.6. lưu huỳnh (S)

Lưu huỳnh là một trong những nguyên tố cơ bản cần thiết cho cây trồng. Nó là một thành phần của các axit amin có protein như methionine và cysteine, vitamin (biotin and thiamine), glutathione, phytochelatins, coenzyme A, chlorophyll, and S-adenosyl-methionine (Nakai & Maruyama-Nakashita, 2020).

2.1.4.7. Chất kích thích sinh học bổ sung phân bón tổng hợp từ cây chùm ngây

Phân bón là chất được sử dụng để kích thích sinh trưởng và năng suất cây trồng (Bulgari et al., 2019). Do đó, phân bón hóa học đã trở thành một phần thiết yếu của nền nông nghiệp hiện đại, cung cấp các chất dinh dưỡng thiết yếu cho cây trồng như nitơ, photpho và kali. (Savci, 2012).

2.2. Cơ sở thực tiễn của nghiên cứu

2.2.1. Tình hình sản xuất chùm ngây trên thế giới và Việt Nam

2.2.1.1. Tình hình sản xuất chùm ngây trên thế giới

Moringa oleifera Lam. (thường được biết là drumstick) là loài cây đa công dụng, giàu dinh dưỡng và phân bố khắp Nam Ấn Độ, Đông Nam Á, Nam Mỹ và Châu Phi. (Alavilli et al., 2022). Bộ phận cây chùm ngây còn giàu khoáng chất, protein, vitamin, hợp chất phenolic và flavonoid (Hassan et al., 2021).

2.2.1.2. Tình hình sản xuất chùm ngây tại Việt Nam

Ở Việt Nam, cây chùm hoa mọc tự nhiên ở các tỉnh Ninh Thuận, Bình Thuận, Đồng Nai, Kiên Giang. Do có giá trị dinh dưỡng và dược liệu cao, cũng như khả năng thích nghi rộng rãi nên những năm gần đây việc trồng cây chùm ngây đã xuất hiện ở nhiều tỉnh, thành phố trong cả nước. Nhu cầu lá chùm ngây để làm rau, sản xuất trà túi lọc, bột dinh dưỡng ngày càng tăng, trong khi chưa có nhà cung cấp quy

mô lớn có số lượng ổn định, đảm bảo chất lượng theo tiêu chuẩn vệ sinh an toàn thực phẩm, tiêu chuẩn GMP của Bộ Y tế. (Chau, 2016).

2.2.1.3. Sản xuất cây chùm ngây ở Thừa Thiên Huế

Vì cây chùm ngây có khả năng chịu đựng kém với điều kiện ngập úng. Hiện nay, yêu cầu đất thoát nước tốt nên không thích hợp trồng dài trồng ở những vùng thường xuyên có mưa lũ. (Dania et al., 2014). Ngoài ra, Thừa Thiên Huế nằm ở miền Trung Việt Nam, là nơi thường xuyên xảy ra mưa lũ bất lợi do ảnh hưởng áp thấp. Nguyen et al., (2023) đã lựa chọn được một dòng bố mẹ và 3 dòng tự thụ phấn có khả năng chống úng cao ở Thừa Thiên Huế sử dụng để sản xuất sinh khối trên diện tích 500 m² làm nguyên liệu làm phân bón sinh học. Vì vậy, diện tích sản xuất cần được mở rộng để sản xuất sinh khối phục vụ sản xuất phân bón trong tương lai.

2.2.2. Tình hình chăn nuôi *M.oleifera* trên thế giới và ở Việt Nam

2.2.2.1. Tình hình chăn nuôi *M.oleifera* trên thế giới

Cây chùm ngây là loài cây thụ phấn chéo và cũng được nhập tịch ở nhiều vùng; chúng thể hiện sự khác biệt về hình thái, năng suất và hàm lượng quang hóa (Lakshmiddevamma et al., 2021). Gandji and co-workers (2019). Cũng quan sát thấy sự đa dạng về đặc điểm hình thái của cây chùm ngây với sự thay đổi khí hậu và tập quán canh tác. (Drisya et al., 2021).

Cây chùm ngây có thể thích nghi và phát triển tốt ở nhiều độ cao, từ 600 đến 1200 m ở vùng nhiệt đới, với lượng mưa hàng năm từ 250 đến 1500 mm và nhiệt độ từ 25 đến 35°C. Ngoài ra, nó có thể chịu được sương giá nhẹ, nhiệt độ cao hơn khoảng 48°C trong bóng râm và đất thịt pha cát thoát nước tốt đến thịt pha sét, nhưng dễ bị đất úng và thoát nước kém. (Alavilli et al. 2022). Ở Trung Quốc, chương trình nhân giống chùm ngây tập trung vào việc xác định mối liên hệ của các gen đa dạng về chức năng và các đặc điểm nông học quan trọng. (Deng et al. 2016).

2.2.2.2. Nhân giống cây chùm ngây ở Việt Nam

Cây chùm ngây (*Moringa oleifera* Lam.) được trồng thương mại và sử dụng rộng rãi trong công nghệ dược phẩm, mỹ phẩm, nước giải khát, dinh dưỡng và thực phẩm chức năng tại hơn 80 quốc gia trên thế giới. Giống chùm ngây VI08718, có nguồn gốc từ Thái Lan, là giống thích nghi nhất để trồng ở tỉnh Thừa Thiên Huế (Truong et al., 2017), trong khi đó, PKM-1, có nguồn gốc từ Philippines, lại cho thấy khả năng thích nghi tốt ở tỉnh Quảng Trị (Nguyen et al. 2017).

2.2.3. Sản xuất và sử dụng phân bón sinh học

2.2.3.1. Tình hình sản xuất và sử dụng phân bón sinh học trên thế giới

Tổng cộng 11,3% giá trị của thị trường phân bón toàn cầu vào năm 2021 là nhờ kỹ thuật bón phân qua lá. Cây trồng trên đồng ruộng chiếm 83,65% thị trường phân bón bón phân vào năm 2021, tiếp theo là cây trồng làm vườn (11,2%), cây trồng cỏ và cây trang trí (7,1%) và cây trồng trên đồng ruộng (11,2%). Đối với phân bón lá cho cây trồng trên đồng ruộng, khu vực Châu Á - Thái Bình Dương và Châu Âu chiếm thị phần lần lượt là 40,2% và 33,8%.

2.2.3.2. Sản xuất và sử dụng phân bón sinh học ở Việt Nam

Thị trường hữu cơ Việt Nam tạo ra 132,15 triệu USD mỗi năm. Phần lớn sản phẩm hữu cơ của Việt Nam được xuất khẩu sang các nước. Chính phủ Việt Nam hỗ trợ phát triển phân bón hữu cơ tại Việt Nam và khuyến khích ứng dụng, sản xuất (Van Toan et al., 2019).

2.2.4. Việc sử dụng chàm ngậy làm phân bón

2.2.4.1. Tình hình sử dụng chàm ngậy làm phân bón trên thế giới

Phân bón sinh học (phân hữu cơ) rất cần thiết cho việc sản xuất rau ăn lá an toàn. Hơn nữa, việc sử dụng phân bón sinh học giúp bảo vệ môi trường khỏi suy thoái đất và ô nhiễm nước ngầm. Một trong những loại phân bón sinh học được nghiên cứu rộng rãi về tiềm năng cải thiện năng suất và tăng trưởng của cây trồng là chiết xuất lá chàm ngậy, được sản xuất từ cây chàm ngậy (Zulfiqar et al., 2020; Karthiga et al., 2022).

2.2.4.2. Tình hình sử dụng chàm ngậy làm phân bón ở Việt Nam

Hầu hết các bộ phận của cây chàm ngậy vẫn chưa được sử dụng và bị vứt bỏ như rác thải. Những vật liệu này có thể được sử dụng để tạo ra phân hữu cơ cho cây chàm ngậy. Các nghiên cứu trước đây chỉ ra rằng bón phân sinh học qua lá *Moringa* được sản xuất từ các bộ phận không ăn được sẽ thúc đẩy sự sinh trưởng, năng suất, hàm lượng axit ascorbic và độ Brix của xà lách, rau cải (Chanthanousone et al. 2020; Chanthanousone et al. 2022) và cải xanh (Truong et al. 2023).

CHƯƠNG 3. ĐỐI TƯƠNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

3.1. Nội dung nghiên cứu

- Tuyển chọn các dòng chùm ngây có triển vọng cho sản xuất sinh khối ở Thừa Thiên Huế.
- Ảnh hưởng của phân bón sinh học lá chùm ngây đến sinh trưởng, năng suất và chất lượng rau.
- Ảnh hưởng của phân hữu cơ chùm ngây đến sinh trưởng cây rau.
- Trình diễn bón phân sinh học chùm chùm cho rau.
- Trình diễn bón phân hữu cơ chùm ngây cho rau.

3.2. Tài liệu nghiên cứu

- Một trăm hạt tự thụ phấn được thu hoạch ngẫu nhiên từ một cây bố mẹ duy nhất VI048718.
- Giống rau xá lách (*Lactuca sativa L.*) của công ty Phú Nông Seeds và giống rau cải (*Brassica juncea*) của công ty Hà Nội Xanh, rau cải xanh của công ty giống Trang Nông.
- Tổng cộng 200 UBC (University of British Columbia) RAPD primers (synthesized by Bioneer, Korea).
- Tàn dư chùm ngây (bao gồm thân, cành và cuống lá)
- Tàn dư bột cây chùm ngây.
- Phân bón Seaweed lá hữu cơ có nguồn gốc từ Canada, và NPK phân bón lá được sản xuất bởi Công ty Southern Fertilizer Joint Stock.

Bàn 1. Trình tự mỗi dòng để xác định tính đa hình ở 76 dòng tự thụ phấn chùm ngây

số.	Tên Primer	Trình tự (5'-3')
1	UBC#350	TGACGCGCTC
2	UBC#368	ACTTGTGCGG
3	UBC#413	GAGGCGGCGA
4	UBC#433	TCACGTGCCT
5	UBC#437	AGTCCGCTGC
6	UBC#448	GTTGTGCCTG
7	UBC#489	CGCACGACA
8	me_1F	TGAGTCCAAACCCGATA

	em_4R	GACTGCGTACGAATTTGA
9	me_2F	TGAGTCCAAACCGGAGC
	em_1R	GACTGCGTACGAATTAAT
10	me_2F	TGAGTCCAAACCGGAGC
	em_4R	GACTGCGTACGAATTTGA

3.3. Phương pháp nghiên cứu

3.3.1. Tuyển chọn các dòng *M. oleifera* có triển vọng cho sản xuất sinh khối ở Thừa Thiên Huế

3.3.1.1. Hình thái và khả năng chịu úng

Sau khi cấy 40 ngày, khả năng chịu ngập úng của 76 cây SPL đã được thử nghiệm bằng cách tưới 10 L nước mỗi ngày trong 20 ngày. Màu sắc được xác định bằng cách sử dụng Methuen Handbook of Colours.

3.3.1.2. Phân tích đa dạng di truyền

- Trích xuất DNA: DNA bộ gen của cây bố mẹ và 76 SPL được chiết xuất từ lá tươi theo CTAB (cetyl-trimethyl ammonium bromide) thủ tục Doyle và Doyle (1986).

- Khuếch đại RAPD-PCR: Tổng cộng 200 UBC RAPD primers (Bioneer, Korea). The polymorphic UBC RAPD primers đã được sử dụng để tạo kiểu gen 76 SPL. Phản ứng PCR được thực hiện như mô tả trước đây (Truong et al. 2013).

- Khuếch đại đa hình khuếch đại liên quan đến trình tự (SRAP)-PCR: Tính đa hình khuếch đại liên quan đến trình tự được kiểm tra bằng cách sử dụng 15 tổ hợp mỗi (ba mỗi xuôi và 5 mỗi ngược) (Ridwan et al., 2020).

3.3.1.3. Xét nghiệm tổng hàm lượng phenolic

Hàm lượng phenolic tổng số trong lá chum ngâm được xác định bằng phương pháp Folin–Ciocalteu như mô tả trước đây. (Siddhuraju & Becker, 2003). Độ hấp thụ được đo ở bước sóng 758 nm (Hitachi U-2910, Japan).

3.3.1.4. Xét nghiệm tổng hàm lượng flavonoid

- Dịch chiết etanol được chuẩn bị như trên, và thực hiện pha loãng gấp 10 lần trong 70% etanol. Hàm lượng flavonoid tổng số được xác định theo mô tả của Siddhuraju và Becker (2003).

3.3.2. Ảnh hưởng của phân bón lá cây chum ngâm (MFB) đến sinh trưởng, năng suất, chất lượng rau

3.3.2.1. Chuẩn bị phân bón lá sinh học cây chùm ngây (MFB)

Phân bón sinh học qua lá *Moringa* được điều chế theo quy trình không sục khí. Tóm tắt, 70 kg bã chùm ngây (bao gồm cả thân, cành, cuống lá) được rửa sạch bằng nước để loại bỏ các hạt bụi trước khi cắt thành từng miếng nhỏ. Trong thùng chứa 100 lít, bã chùm ngây đã cắt nhỏ được rải thành một lớp dày 20 cm. Thứ hai, mật đường (5 L) và các sản phẩm vi sinh vật hữu hiệu (EM) (0,2 kg) sau đó được thêm lên trên cùng của lớp. Thùng chứa đầy vật liệu đã cắt nhỏ và nước được thêm vào 2/3 thùng. Sau đó thùng chứa được đậy kín. Hỗn hợp trong thùng được khuấy mỗi tháng một lần cho đến khi kết thúc giai đoạn ủ phân (ba đến bốn tháng).

3.3.2.2. Ảnh hưởng của thời gian ủ phân đến chất lượng của MFB Để đánh giá ảnh hưởng của thời gian ủ phân đến chất lượng của MFB, cặn được ủ trong 3; 3,5 hoặc 4 tháng. Đặc tính dinh dưỡng của dịch chiết bao gồm phân trăm nitơ (N), photpho (P), phosphorus pentoxide (P_2O_5), kali (K), potassium oxide (K_2O), và chất hữu cơ (OM) đã được xác định.

3.3.2.3. Bước đầu khảo sát phân bón lá sinh trưởng cây chùm ngây đến sinh trưởng và năng suất rau

Xà lách, cải và cải xanh ba đến bốn lá trồng trên ô 10 m² được phun 20, 25, 33,3, 50 hoặc 100 ml MFB pha loãng trong nước (tổng thể tích 1 L) (Nwokeji et al. 2022). Phân bón lá hữu cơ rong Seaweed và phân bón lá NPK được sử dụng làm đối chứng. Phân bón lá được phun 5 ngày một lần cho đến 5 ngày trước khi thu hoạch. Thí nghiệm được thiết kế theo kiểu khối hoàn toàn ngẫu nhiên (RCBD) với 5 liều phân bón và 3 lần lặp lại cho mỗi nghiệm thức.

3.3.2.4. Ảnh hưởng của liều lượng MFB khác nhau đến sinh trưởng, năng suất và chất lượng rau xà lách và cải

Cây ba đến bốn lá trong một ô rộng 10 m² được phun 100 ml, 50 ml, 33,3 mL, 25 mL hoặc 20 mL MFB pha loãng trong 1 L nước (Nwokeji và cộng sự 2022). Thí nghiệm được thiết kế theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên (CRD) với 5 liều phân bón và 3 lần lặp lại cho mỗi nghiệm thức.

3.3.2.5. Ảnh hưởng của các loại phân bón lá khác nhau đến sinh trưởng, năng suất và chất lượng rau xà lách và rau cải

Rau xà lách và cải 3 đến 4 lá trên lô đất rộng 10 m² được phun MFB (100 mL/L), phân chitosan thương mại, phân rong Seaweed và nước (đối chứng). Phân bón thương mại được pha loãng với nước theo

tỷ lệ 1,25:1 (Thể tích: Thể tích). Thí nghiệm được thiết kế theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên (CRD) với 5 liều phân bón và 3 lần lặp lại cho mỗi nghiệm thức.

3.3.3. Ảnh hưởng của phân hữu cơ cây chàm ngây (MOF) đến sinh trưởng loại rau

3.3.3.1. Chuẩn bị cây chàm ngây hữu cơ (MOF)

MOF được điều chế từ các bộ phận không ăn được của cây chàm ngây, bao gồm thân, cành và cuống lá. Phân bón được chuẩn bị với các nguyên liệu sau với số lượng định trước, bao gồm 70 kg bã chàm ngây xay, 50 kg phân chuồng, 0,2 kg phân Tricho (Sản phẩm gốc Trichoderma) và 2,0 kg supe lân (Lam Thao Fertilizers and Chemicals JSC). Đầu tiên, bã Moringa được cắt thành từng phần nhỏ rồi trộn với nước và Tricho-compost cho đến khi độ ẩm hỗn hợp đạt 70%. Sau ba tuần, bổ sung nước, khuấy đều hỗn hợp và ủ thêm 5 tuần, 7 tuần hoặc 9 tuần nữa.

3.3.3.2. Hàm lượng dinh dưỡng của MOF sau các thời gian ủ khác nhau

Trong thí nghiệm này, MOF được ủ trong 5 tuần (I1), 7 tuần (I2) và 9 tuần (I3). Các đặc tính hóa lý của MOF bao gồm tỷ lệ phân trăm N, P, P khả dụng, K khả dụng, chất hữu cơ và độ pH đã được nghiên cứu. Mỗi giai đoạn ủ bệnh lấy 3 mẫu để phân tích lý hóa.

3.3.3.3. Ảnh hưởng của hàm lượng MOF đến sinh trưởng, năng suất và chất lượng cây xà lách và cải

Thí nghiệm đồng ruộng được tiến hành từ tháng 1 đến tháng 3 năm 2021 với 2 đợt trồng. Cuộc điều tra được tiến hành theo thiết kế hoàn toàn ngẫu nhiên (CRD) sau bốn nghiệm thức với lượng MOF khác nhau được áp dụng (15 (R1), 20 (R2), 25 (R3) và 30 (R4) tấn mỗi ha). Diện tích lô mỗi lần xử lý là 10 m². Trước khi trồng, đất được cày xới và bón MOF làm lớp lót. Cây con giai đoạn 3-4 lá được trồng với mật độ 33 cây/m².

3.3.3.4. Ảnh hưởng của các loại phân hữu cơ khác nhau đến sinh trưởng, năng suất, chất lượng cây xà lách và cải

Thí nghiệm đồng ruộng được thực hiện từ tháng 3 đến tháng 5 năm 2021 với 2 thời vụ trồng nhằm so sánh ảnh hưởng của MOF và các loại phân hữu cơ khác đến sinh trưởng, năng suất và chất lượng rau ăn lá (xà lách và cải). Thí nghiệm được thực hiện theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên (CRD) với 4 nghiệm thức: F1 (25 tấn MOF/ha), F2 (Phân bò), F3 (Phân hữu cơ sinh học) và đối chứng (không bón phân). Diện tích lô mỗi lần xử

lý là 10 m². Cây con ở giai đoạn 3-4 lá được trồng với mật độ 33 cây/m², bón lót toàn bộ phân bón lót trước khi trồng.

3.3.4. Trình diễn bón phân sinh học lá chàm ngây (MFB) trên rau

Xà lách và rau cải được trồng với mật độ 33 cây/m² trên mảnh đất 100 m². Rau xà lách và cải 3 đến 4 lá được phun MFB (100 mL pha loãng với nước thành tổng thể tích 1 L) (Mô hình 1). Để kiểm soát (Mô hình 2), phân Nitrate Magness được phun theo khuyến nghị của nhà sản xuất (3,125 g trong 1 L nước). Phân bón lá được bón 5 ngày một lần cho đến 5 ngày trước khi thu hoạch. Thí nghiệm được thiết kế theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên (CRD), 3 lần lặp lại cho mỗi nghiệm thức.

3.3.5. Trình diễn phân hữu cơ chàm ngây (MOF) trên rau

Thí nghiệm đồng ruộng được thực hiện để so sánh ảnh hưởng của MOF (T1; 2,5 kg/m²) (Mô hình 1) và phân bón hóa học (T2; 7 g N, 7 g P₂O₅ và 4 g K₂O mỗi m²) (Mô hình 2) đến sự sinh trưởng, năng suất và chất lượng rau xà lách và rau cải. Phân bón được bón lót trước khi trồng. Xà lách và rau cải được trồng với mật độ 33 cây/m² trên mảnh đất 100 m². Thí nghiệm được thực hiện theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên (CRD) và 3 lần lặp lại cho mỗi nghiệm thức.

3.4. Thu thập và phân tích dữ liệu

Các dải DNA rõ ràng và không bị biến dạng được tính điểm là “1”, và các dải DNA vắng mặt (hoặc mờ) được tính điểm là “0”. Dữ liệu ma trận logic này được sử dụng để xác định sự đa dạng di truyền bằng cách sử dụng POPGENE version 1.32 (Yeh et al., 1999). Cây phát sinh chủng loại được xây dựng bằng thuật toán UPGMA trong NTSYSpc (version 2.1), trong đó ma trận khoảng cách được thiết lập dựa trên hệ số tương tự khớp đơn giản (Sokal & Michener, 1958).

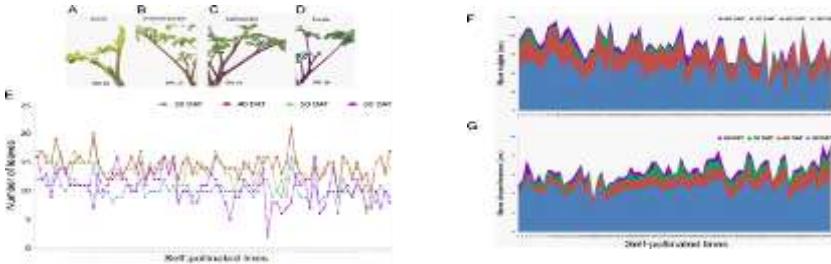
Thời gian sinh trưởng (ngày) từ khi gieo đến khi thu hoạch. Các thông số sinh trưởng: chiều cao cây (cm), đường kính tán (cm), số lượng lá và chỉ số diện tích lá (diện tích lá/điện tích mặt đất) được xác định cho 5 cây ở mỗi nghiệm thức. Các thành phần năng suất bao gồm (i) khối lượng tươi/cây (g/cây) (tổng trọng lượng của thân, lá và rễ); (ii) năng suất ước tính (tấn/ha) (khối lượng tươi trung bình/cây × mật độ cây); (iii) năng suất thực tế (tấn/ha). Phân tích thống kê được thực hiện bằng phân tích phương phân tích phương sai một chiều (ANOVA) theo dõi bởi Turkey's test in IBM SPSS Statistics 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Dữ liệu thể hiện sự khác biệt đáng kể khi $p < 0,05$.

CHƯƠNG 4. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

4.1. Tuyển chọn các dòng *M. oleifera* có triển vọng cho sản xuất sinh khối ở Thừa Thiên Huế

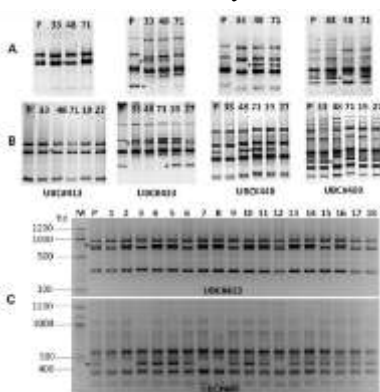
4.1.1. Hình thái và khả năng chịu úng

Màu sắc chồi non đa dạng từ xanh lục, tím lục, tím nhạt đến tím. Số lá dao động từ 9 lá (SPL 65) đến 21 lá (SPL 55). Chiều cao cây thay đổi từ 36 cm (SPL 61) đến 132 cm (SPL 10). Chu vi thân thay đổi từ 3,4 cm (SPL 61) đến 8,0 cm (SPL 23). Việc xử lý ngập úng được thực hiện trong 20 ngày. Nhìn chung, sự tăng lá chỉ được quan sát thấy ở ba SPL sau khi xử lý ngập úng: 7, 18 và 65.



Hình 1. Khả năng chịu úng của 76 dòng tự thụ phấn *M. oleifera* (SPL) ở thời điểm 40 ngày sau khi cấy.

4.1.2. Đa hình di truyền



Sau đó, các môi này được sử dụng để tạo kiểu gen cho 76 dòng chòm hoa tự thụ phấn và cây chòm ngập bố mẹ.

Hình 2. Tính đa hình của các cây chòm ngập (P) và các dòng tự thụ phấn thể hiện bằng chỉ thị RAPD.

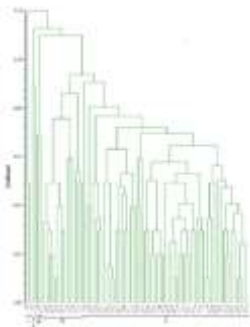
4.1.3. Kết quả PCR với môi RAPD và SRAP

Các phân tích đa hình thu được từ các phản ứng PCR sử dụng bảy môi RAPD và ba cặp môi SRAP là Trên toàn bộ SPL, tổng số dải khuếch đại từ mười cặp

môi/môi dao động từ 75 đến 83, trong đó SPL 71 mang lại số dải khuếch đại cao nhất.

4.1.4. Phân tích đa dạng di truyền

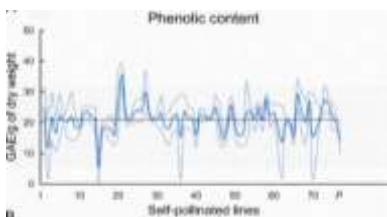
Về mặt di truyền, dòng bố mẹ và 76 dòng tự thụ phân thuộc 5 nhóm chính: nhóm I gồm SPL 5 và SPL 43, có hệ số tương đồng là 0,80. Nhóm II bao gồm SPL 3 và SPL 13 trong khi nhóm III bao gồm SPL 12 và SPL 48. Tiếp theo, nhóm IV bao gồm 14 SPL (7, 8, 23, 25, 34, 39, 67, 68, 69, 70, 72, 73, 74 và 75) trong khi phần còn lại, bao gồm cả bố mẹ và 56 SPL, thuộc về nhóm lớn nhất - nhóm V. SPL 76 và P gần gũi về mặt di truyền. Độ tương tự thấp nhất được quan sát thấy giữa SPL 43 và SPL 48.



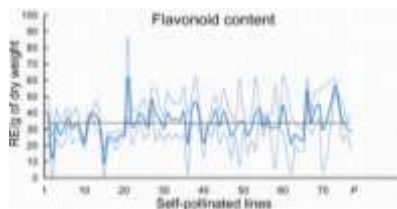
Hình 3. Sơ đồ dendro thể hiện mối quan hệ di truyền giữa cây chùm ngây bố mẹ (P) và 76 dòng tự thụ phân (SPLs).

4.1.5. Phenolic and flavonoid contents

Các dòng có hàm lượng phenolic cao nhất là SPL 21, 27 và 66 và các dòng có hàm lượng flavonoid cao nhất là SPL 21, 73 và 66. Công việc trong tương lai sẽ tập trung vào việc tạo ra các giống thuần chủng từ các giống có khả năng chịu ngập úng cao (SPL 7, 18 và 65).



(A)



(B)

Hình 4. Hàm lượng phenolic và flavonoid tổng số đo được ở cây chùm ngây bố mẹ (P) và 76 dòng tự thụ phân.

4.2. Ảnh hưởng của phân bón lá cây chùm ngây đến sinh trưởng, năng suất và chất lượng rau

4.2.1. Ảnh hưởng của thời gian ủ phân đến chất lượng phân bón lá cây chùm ngây (MFB)

Các thông số này đạt đỉnh điểm sau khi ủ phân trong bốn tháng (hàm lượng nitơ là 11,9% và độ pH là 5,04).

Bàn 2. Ảnh hưởng của thời gian ủ phân đến tính chất lý hóa của phân bón lá chùn ngây (MFB)

Thời gian ủ phân	N (%)	P (%)	P ₂ O ₅ (%)	K (%)	K ₂ O (%)	OM (%)	pH
3 Tháng	4.20 ^c	2.21 ^b	5.06 ^b	7.20 ^a	8.68 ^a	37.73 ^a	3.37 ^b
3.5 Tháng	8.52 ^b	3.04 ^a	6.97 ^a	5.39 ^b	6.49 ^b	29.13 ^a	4.82 ^a
4 Tháng	11.90 ^a	2.63 ^{ab}	5.89 ^{ab}	5.07 ^b	6.11 ^b	32.77 ^a	5.04 ^a

4.2.2. Bước đầu sàng lọc phân bón lá cây chùn ngây đến sinh trưởng và năng suất loại rau

Tóm lại, việc bón MFB ở mức 100 mL và 30 mL/L đã giúp rút ngắn thời gian sinh trưởng và phát triển của rau diếp và cải. Đối với xalách, năng suất thực tế đạt cao nhất ở nghiệm thức 6 sử dụng phân bón lá hữu cơ rong seaweed với liều lượng 2,45 kg/m². Xử lý bằng 100 mL của MFB trên mỗi L nước và phân bón lá hóa học NPK đối chứng (cách xử lý 7) cho năng suất tương tự (lần lượt là 2,38 và 2,35 kg/m²). Rau cải, năng suất thực tế cao nhất (2,82 kg/m²) được ghi nhận khi phun 100 mL của MFB/L nước (nghiệm thức 8), tiếp theo là bón phân hóa học NPK đối chứng (2,59 kg/m², nghiệm thức 14). Kết quả tương tự cũng đạt được với cải xanh (3,14 kg/m² - xử lý 15 và 2,33 kg/m² - xử lý 21).

4.2.3. Liều lượng MFB ảnh hưởng đến sinh trưởng, năng suất và chất lượng rau

Rau xà lách được trồng từ 35 ngày đến 37 ngày ở lứa đầu tiên và từ 32 ngày đến 34 ngày ở lứa thứ hai. Việc phun MFB lên lá ở mức 100 ml/lít làm tăng đáng kể khối lượng tươi và năng suất ước tính so với liều lượng thấp hơn. Năng suất thực tế tương đương giữa các phương pháp điều trị 100 và 50 mL mỗi lít và cao hơn đáng kể so với các phương pháp điều trị khác. (Bàn 3).

Rau cải cũng có thời gian sinh trưởng tương tự rau diếp, được ghi nhận là từ 33 đến 36 ngày ở lứa đầu tiên và từ 28 đến 32 ngày ở lứa trồng thứ hai. Liều MFB cao nhất (100 ml/Lít) tương quan với trọng lượng tươi nhất và năng suất rau cải cao nhất ở cả hai thời điểm trồng. Hàm lượng axit ascorbic vẫn tương đối ổn định trong một loạt liều MFB. Mặt khác, dữ liệu về Brix không thể tái tạo và nó giảm từ 8,07 (100 mL/L) xuống 5,26 (20 mL/L) trong lần trồng đầu tiên nhưng không thay đổi đáng kể ở lần trồng thứ hai. (Bàn 4)

Bảng 3. Ảnh hưởng của liều lượng phân bón lá chùm ngây (MFB) khác nhau đến năng suất và chất lượng rau xà lách

Liều lượng (ml mỗi lít)	Khối lượng tươi trung bình/cây (g)	Khối lượng tươi phần ăn được/cây	Năng suất thực thu (tấn/ha)	Ascorbic acid (%)	Brix (%)
Trồng lần đầu					
100	127.3 ^a ±9.02	33.7 ^a ±2.40	21.3 ^a ±0.60	2.67 ^a ±0.12	5.53 ^a ±0.25
50	108.6 ^b ±6.43	29.0 ^b ±1.07	19.7 ^{ab} ±0.95	2.57 ^{ab} ±0.15	5.10 ^a ±0.15
33.3	106.0 ^{bc} ±4.01	28.0 ^{bc} ±1.71	18.3 ^{bc} ±1.03	2.34 ^{bc} ±0.21	4.53 ^b ±0.11
25	96.0 ^c ±6.24	26.7 ^{bc} ±0.53	18.2 ^{bc} ±0.67	2.19 ^c ±0.07	4.47 ^b ±0.18
20	100.0 ^{bc} ±2.18	25.6 ^c ±1.66	17.7 ^c ±0.43	2.16 ^c ±0.16	4.43 ^b ±0.24
LSD _{0.05}	10.88	2.95	1.68	0.28	0.43
Trồng lần thứ hai					
100	140.2 ^a ±8.26	34.4 ^a ±1.83	21.7 ^a ±1.26	3.45 ^a ±0.38	5.45 ^a ±0.15
50	117.0 ^b ±6.15	28.7 ^b ±1.91	20.0 ^{ab} ±0.95	2.94 ^a ±0.27	4.94 ^a ±0.26
33.3	107.3 ^{bc} ±5.23	27.0 ^{bc} ±1.34	19.0 ^{bc} ±0.78	3.01 ^a ±0.41	5.01 ^a ±0.68
25	101.6 ^c ±2.55	26.3 ^{bc} ±0.95	18.0 ^{bc} ±1.14	3.07 ^a ±0.06	5.07 ^a ±0.22
20	99.3 ^c ±4.79	25.8 ^c ±1.06	17.3 ^c ±0.87	3.04 ^a ±0.09	5.04 ^a ±0.17
LSD _{0.05}	10.85	2.54	2.36	0.72	0.71

Bảng 4. Ảnh hưởng của liều lượng phân bón lá chùm ngây (MFB) khác nhau đến năng suất và chất lượng rau cải

Liều lượng (ml mỗi lít)	Khối lượng tươi trung bình/cây (g)	Khối lượng tươi phần ăn được/cây	Năng suất thực thu (tấn/ha)	Ascorbic acid (%)	Brix (%)
Trồng lần đầu					
100	133.0 ^a ±8.47	35.3 ^a ±1.47	28.0 ^a ±1.17	5.76 ^a ±0.12	8.07 ^a ±0.09
50	115.7 ^b ±5.32	30.7 ^b ±2.21	24.3 ^b ±1.35	5.54 ^a ±0.07	7.13 ^b ±0.11
33.3	113.0 ^{bc} ±2.19	30.3 ^{bc} ±1.05	24.6 ^b ±0.98	5.69 ^a ±0.05	7.01 ^b ±0.10
25	112.0 ^{bc} ±6.20	29.6 ^{bc} ±2.14	23.7 ^b ±1.61	5.68 ^a ±0.10	6.77 ^b ±0.07
20	101.7 ^c ±7.56	27.0 ^c ±3.02	22.3 ^b ±2.21	5.62 ^a ±0.09	5.26 ^c ±0.13
LSD _{0.05}	11.67	3.41	3.14	0.23	0.48
Trồng lần thứ hai					
100	137.7 ^a ±4.41	37.0 ^a ±1.92	29.7 ^a ±0.66	5.52 ^a ±0.21	4.80 ^a ±0.24
50	126.0 ^b ±6.92	33.7 ^b ±2.04	27.3 ^b ±1.05	5.02 ^a ±0.34	4.20 ^a ±0.19
33.3	119.3 ^{bc} ±4.65	31.6 ^{bc} ±1.99	25.3 ^c ±1.24	4.73 ^a ±0.08	4.53 ^a ±0.20
25	114.7 ^c ±8.07	30.7 ^c ±2.31	24.0 ^c ±0.68	5.28 ^a ±0.17	4.43 ^a ±0.16
20	102.3 ^d ±5.42	27.3 ^c ±2.11	21.7 ^d ±0.41	5.20 ^a ±0.09	4.40 ^a ±0.32
LSD _{0.05}	9.53	2.50	1.91	0.86	0.62

4.2.4. Ảnh hưởng của các loại phân bón lá đến sinh trưởng, năng suất và chất lượng rau

Kết quả cho thấy việc áp dụng MFB đã thúc đẩy sự phát triển của cây xà lách. Hơn nữa, thời gian sinh trưởng, số lượng lá, đường

kính tán và chỉ số diện tích lá của cây xà lách được bón MFB tương đương với cây được phun phân bón sinh học thương mại. Chiều cao cây xà lách có sự thay đổi nhẹ ở các nghiệm thức bón lá ở lứa trồng thứ 2 và đạt đỉnh 24,3 cm ở những cây được xử lý bằng MFB. Năng suất cây xà lách được nâng cao bằng cách phun phân bón lá cho cả hai vụ trồng. Việc xử lý MFB làm tăng trọng lượng tươi của xach. Năng suất ước tính dao động từ 33,8 tấn/ha đến 37,5 tấn/ha và năng suất thực tế dao động từ 21,3 tấn/ha đến 23,9 tấn/ha ở các phương pháp xử lý trên lá. (Bảng 5).

Sự phát triển của rau cải cũng bị ảnh hưởng bởi phương pháp xử lý qua lá. Trong lần trồng đầu tiên, chiều cao cây và chỉ số diện tích lá không khác nhau giữa các nghiệm thức. Ở lứa thứ 2, chiều cao cây, số lá, diện tích lá ở các nghiệm thức bón lá tương đương nhau và cao hơn đối chứng. Đường kính tán dao động từ 27,2 cm (phân chitosan) đến 31,7 cm (bón phân seaweed), so với 25,4 cm của đối chứng. Trọng lượng tươi cao nhất và năng suất ước tính của rau muống trồng trong lần trồng đầu tiên được tìm thấy ở những cây được xử lý bằng MFB nhưng những kết quả này không thể lặp lại ở lần trồng thứ hai (Bảng 6).

Hàm lượng axit ascorbic của cây trồng ở lứa đầu tiên thay đổi từ 3,31% (đối chứng) đến 5,21% (bón phân seaweed).

Bảng 5. Ảnh hưởng của các loại phân bón lá đến năng suất và chất lượng rau xà lách

Công thức	Khối lượng tươi trung bình/cây (g)	Khối lượng tươi phần ăn được/cây	Năng suất thực thu (tấn/ha)	Ascorbic acid (%)	Brix (%)
Trồng lần đầu					
MFB	146.7 ^a ± 12.12	37.5 ^a ± 3.23	23.9 ^a ± 1.07	4.59 ^a ± 0.37	5.13 ^a ± 0.27
phân bón Chitosan	132.3 ^{ab} ± 11.46	35.3 ^a ± 2.39	21.9 ^{ab} ± 1.92	4.77 ^a ± 0.29	5.10 ^a ± 0.13
phân bón Seaweed	127.3 ^b ± 4.16	33.9 ^a ± 2.67	21.4 ^b ± 1.06	4.87 ^a ± 0.55	4.53 ^b ± 0.15
Điều khiển	105.3 ^c ± 5.04	28.0 ^b ± 1.81	17.7 ^c ± 0.84	3.96 ^a ± 0.77	4.27 ^b ± 0.19
LSD _{0.05}	15.17	3.66	2.10	1.92	0.33
Trồng lần thứ hai					
MFB	137.7 ^a ± 3.05	34.7 ^a ± 1.55	23.5 ^a ± 1.42	4.77 ^a ± 0.27	5.34 ^a ± 0.34
phân bón Chitosan	129.6 ^b ± 4.14	34.6 ^a ± 2.01	21.8 ^{ab} ± 1.15	4.68 ^a ± 0.13	4.93 ^a ± 0.15
phân bón Seaweed	123.0 ^c ± 2.39	33.8 ^a ± 1.79	21.3 ^b ± 1.08	4.72 ^a ± 0.56	5.00 ^a ± 0.09
Điều khiển	101.7 ^d ± 1.81	27.1 ^b ± 1.43	17.8 ^c ± 1.41	3.63 ^b ± 0.48	4.96 ^a ± 0.47

LSD _{0.05}	4.92	2.29	1.87	0.88	0.72
---------------------	------	------	------	------	------

Bảng 6. Ảnh hưởng của các loại phân bón lá đến năng suất và chất lượng rau cải

Công thức	Khối lượng tươi trung bình/cây (g)	Khối lượng tươi phần ăn được/cây	Năng suất thực thu (tấn/ha)	Ascorbic acid (%)	Brix (%)
Trồng lần đầu					
MFB	158.0 ^a ±5.55	37.1 ^a ±1.06	26.7 ^a ±1.29	3.92 ^b ±0.61	6.47 ^a ±0.49
phân bón Chitosan	140.2 ^b ±3.60	32.9 ^b ±1.60	24.4 ^b ±0.76	4.06 ^b ±0.78	6.60 ^a ±0.08
phân bón Seaweed	136.7 ^b ±6.01	32.1 ^b ±1.42	25.6 ^{ab} ±1.22	5.21 ^a ±0.30	6.67 ^a ±0.34
Điều khiển	116.0 ^c ±5.78	27.3 ^c ±0.95	19.2 ^c ±0.87	3.31 ^b ±0.54	6.33 ^a ±0.44
LSD _{0.05}	7.89	1.85	1.75	0.88	1.73
Trồng lần thứ hai					
MFB	157.3 ^a ±10.78	37.1 ^a ±2.05	25.4 ^a ±1.75	5.22 ^a ±0.06	6.73 ^a ±0.49
phân bón Chitosan	146.7 ^a ±12.24	32.9 ^b ±3.32	23.0 ^b ±0.99	5.12 ^a ±0.14	6.82 ^a ±0.35
phân bón Seaweed	155.6 ^a ±13.42	36.6 ^a ±2.69	25.2 ^{ab} ±1.42	5.73 ^a ±0.45	6.98 ^a ±0.10
Điều khiển	117.3 ^b ±9.97	27.5 ^c ±3.02	18.6 ^c ±1.86	5.08 ^a ±0.58	6.07 ^a ±0.38
LSD _{0.05}	17.07	3.61	2.33	0.87	1.05

4.3. Ảnh hưởng của phân hữu cơ chùn ngậy đến khả năng sinh trưởng của rau

4.3.1. Hàm lượng dinh dưỡng của phân hữu cơ chùn ngậy ở các thời kỳ ủ khác nhau

Phân hữu cơ chùn ngậy (MOF) được chuẩn bị trong 7 tuần là chất lượng tốt nhất.

Bảng 7. Ảnh hưởng của thời gian ủ bệnh đến chất lượng MOF

Công thức	N (%)	P (%)	P ₂ O ₅ (%)	K ₂ O (%)	Organic matter (%)	pH
I1	0.82 ^c ±0.01	2.02 ^a ±0.19	4.62 ^a ±2.05	25.58 ^a ±4.41	6.58 ^a ±1.42	6.27 ^a ±0.03
I2	3.57 ^a ±0.11	3.50 ^a ±0.64	8.00 ^a ±1.90	20.63 ^a ±5.84	11.49 ^a ±4.12	6.13 ^a ±0.02
I3	2.29 ^b ±0.17	3.76 ^a ±1.39	8.61 ^a ±2.42	26.24 ^a ±4.63	8.12 ^a ±0.75	5.88 ^b ±0.17
LSD _{0.05}	0.21	1.75	4.05	8.30	5.09	0.22

Các phương tiện có chữ cái viết thường tương tự trong các cột không khác biệt đáng kể ở xác suất 5%. I1: 5 tuần, I2: 7 tuần, I3: 9 tuần. LSD: Sự khác biệt ít đáng kể nhất.

4.3.2. Ảnh hưởng của MOF đến sinh trưởng, năng suất và chất lượng loại rau

Trong lần trồng đầu tiên, 15 đến 25 tấn MOF mỗi ha dường như thúc đẩy các thông số sinh trưởng khác nhau của cây rau diếp, bao gồm chiều cao cây (19,2–20,4 cm), số lá (10,7–11,6), đường kính tán (26,7–28,7 cm) và chỉ số diện tích lá (47,6–48,3). Ở vụ trồng thứ 2, các thông số sinh trưởng của cây tương tự nhau khi bón MOF thay đổi từ 20 đến 30 tấn/ha. Ở cả hai thời điểm trồng, khối lượng tươi, năng suất lý thuyết và năng suất thực tế của rau diếp trồng ở mức 25 tấn MOF/ha đều cao hơn đáng kể so với rau diếp trồng ở mức 15 và 20 tấn MOF/ha (Bảng 8).

Rau cải được xử lý với 20 đến 30 tấn MOF/ha cho thấy chiều cao cây tăng đáng kể so với những cây được xử lý với 15 tấn MOF/ha. Rau cải trồng với 25 tấn MOF/ha cho năng suất cao hơn (7 tấn/ha) so với cây mù tạt trồng với 15 tấn MOF/ha (Bảng 9).

Bảng 8. Ảnh hưởng của hàm lượng MOF đến năng suất và chất lượng rau xá lách

Công thức	Khối lượng tươi /cây (g)	Năng suất sinh học (tấn/ha)	Năng suất thực thu (tấn/ha)	Ascorbic acid (%)	Brix (%)
Trồng lần đầu					
R1	100.3 ^b ±6.66	26.7 ^b ±0.63	19.0 ^c ±1.67	2.767 ^a ±0.11	4.93 ^a ±0.31
R2	101.7 ^b ±4.23	27.0 ^b ±1.78	20.3 ^{bc} ±2.01	2.730 ^a ±0.14	4.76 ^{ab} ±0.46
R3	123.3 ^a ±5.04	32.7 ^a ±0.53	23.7 ^a ±1.30	2.741 ^a ±0.30	5.17 ^a ±0.25
R4	125.4 ^a ±6.50	33.0 ^a ±1.34	22.7 ^{ab} ±1.71	2.693 ^a ±0.15	4.90 ^a ±0.32
LSD _{0.05}	7.89	3.12	2.56	0.41	0.39
Trồng lần thứ hai					
R1	99.9 ^c ±2.01	25.7 ^c ±0.54	20.8 ^c ±0.42	2.607 ^b ±0.11	4.40 ^b ±0.26
R2	110.0 ^{bc} ±5.29	29.3 ^b ±1.42	22.9 ^{bc} ±1.10	2.770 ^{ab} ±0.23	4.76 ^a ±0.33
R3	122.7 ^a ±4.73	31.7 ^a ±0.67	25.6 ^a ±0.98	2.863 ^a ±0.05	5.10 ^a ±0.36
R4	117.8 ^b ±9.62	30.0 ^{ab} ±0.85	24.5 ^{ab} ±2.00	2.874 ^a ±0.07	4.86 ^a ±0.29
LSD _{0.05}	12.0	2.1	2.5	0.2	0.4

Bảng 9. Ảnh hưởng của hàm lượng MOF đến năng suất và chất lượng rau cải

Công thức	Khối lượng tươi /cây (g)	Năng suất sinh học (tấn/ha)	Năng suất thực thu (tấn/ha)	Ascorbic acid (%)	Brix (%)
Trồng lần đầu					
R1	111.0 ^b ±4.17	29.7 ^b ±1.21	19.3 ^b ±0.54	4.1 ^b ±0.66	3.5 ^a ±0.32
R2	121.3 ^b ±5.42	32.0 ^b ±2.12	21.0 ^b ±0.67	5.4 ^a ±0.35	3.4 ^a ±0.17
R3	149.3 ^a ±8.15	39.3 ^a ±0.69	25.7 ^a ±0.47	5.7 ^a ±0.44	4.5 ^a ±0.51
R4	146.0 ^a ±3.67	38.7 ^a ±0.47	25.3 ^a ±0.36	5.3 ^a ±0.51	4.4 ^a ±0.46
LSD _{0.05}	13.68	2.92	2.49	1.18	1.16
Trồng lần thứ hai					
R1	108.7 ^b ±2.89	28.7 ^d ±0.96	18.7 ^c ±0.50	4.5 ^b ±0.36	3.9 ^b ±0.33
R2	115.3 ^b ±9.18	32.1 ^c ±0.70	19.6 ^c ±1.51	5.4 ^a ±0.51	4.3 ^b ±0.58
R3	146.1 ^a ±4.78	38.0 ^a ±0.81	25.7 ^a ±0.94	5.7 ^a ±0.57	5.4 ^a ±0.16
R4	136.7 ^a ±2.35	35.3 ^b ±1.05	23.0 ^b ±0.58	5.4 ^{ab} ±0.39	5.2 ^a ±0.29
LSD _{0.05}	11.7	1.9	2.2	0.9	0.6

4.3.3. Ảnh hưởng của các loại phân hữu cơ khác nhau đến sinh trưởng, năng suất và chất lượng loại rau

Bón 25 tấn MOF/ha đã nâng cao năng suất và chất lượng rau ăn lá.

- Đối với khối lượng rau xà lách tươi, năng suất lý thuyết và năng suất thực tế từ 25,6 đến 25,5 T/ha ở nghiệm thức MOF cao hơn so với các nghiệm thức khác (Bảng 10).

MOF rau cải có khối lượng tươi cao hơn các loại phân hữu cơ khác ở cả hai thời điểm trồng. Phương pháp xử lý bằng MOF cũng tạo ra nhiều hơn 25,9 đến 26,8 T/ha (năng suất thực tế) so với phương pháp xử lý bằng phân bò (Bảng 11).

Bảng 10. Ảnh hưởng của các loại phân hữu cơ khác nhau đến năng suất và chất lượng rau xà lách

Công thức	Khối lượng tươi /cây (g)	Năng suất sinh học (tấn/ha)	Năng suất thực thu (tấn/ha)	Ascorbic acid (%)	Brix (%)
Trồng lần đầu					
F1	150.0 ^a ±3.05	38.7 ^a ±0.81	25.6 ^a ±1.22	5.2 ^a ±0.22	5.0 ^a ±0.43
F2	133.7 ^b ±2.57	35.6 ^b ±0.39	23.1 ^b ±0.76	5.2 ^a ±0.31	4.7 ^a ±0.49
F3	128.3 ^b ±6.02	33.5 ^b ±2.11	22.1 ^b ±1.18	5.3 ^a ±0.16	5.0 ^a ±0.47
Điều khiển	105.0 ^c ±3.78	28.0 ^c ±1.18	18.0 ^c ±1.34	4.3 ^b ±0.56	3.6 ^b ±0.26
LSD _{0.05}	12.31	2.30	1.40	0.6	0.6

Trồng lần thứ hai					
F1	145.7 ^a ±3.52	37.4 ^a ±0.53	25.5 ^a ±0.34	5.6 ^a ±0.30	5.1 ^a ±0.10
F2	129.6 ^b ±4.04	34.0 ^b ±0.59	22.8 ^b ±0.73	5.7 ^a ±0.23	5.0 ^a ±0.26
F3	123.5 ^c ±4.92	33.5 ^b ±1.67	21.7 ^b ±1.42	5.7 ^a ±0.29	5.1 ^a ±0.15
Điều khiển	101.7 ^d ±5.44	26.2 ^c ±1.26	18.1 ^c ±0.95	4.7 ^b ±0.27	3.9 ^b ±0.49
LSD _{0.05}	5.99	2.12	1.55	0.3	0.2

Bảng 11. Ảnh hưởng của các loại phân hữu cơ khác nhau đến năng suất và chất lượng rau cải

Công thức	Khối lượng tươi /cây (g)	Năng suất sinh học (tấn/ha)	Năng suất thực thu (tấn/ha)	Ascorbic acid (%)	Brix (%)
Trồng lần đầu					
F1	158.0 ^a ±8.93	38.7 ^a ±0.38	25.9 ^a ±0.51	5.7 ^a ±0.38	4.5 ^a ±1.01
F2	140.3 ^b ±9.14	37.3 ^a ±1.55	23.3 ^b ±11.35	5.6 ^a ±0.56	4.4 ^a ±0.76
F3	136.7 ^b ±7.70	37.0 ^a ±1.97	24.3 ^{ab} ±1.42	5.7 ^a ±0.63	4.5 ^a ±0.95
Điều khiển	111.3 ^c ±7.26	28.2 ^b ±1.70	18.4 ^c ±0.98	4.2 ^b ±0.74	3.6 ^a ±2.14
LSD _{0.05}	14.4	2.4	1.8	1.2	1.2
Trồng lần thứ hai					
F1	155.0 ^a ±6.39	37.4 ^a ±0.66	26.8 ^a ±0.66	5.5 ^a ±0.19	5.9 ^a ±0.28
F2	138.1 ^b ±4.55	35.3 ^b ±1.87	23.9 ^b ±1.24	5.2 ^a ±0.84	4.7 ^b ±0.74
F3	130.3 ^b ±8.95	34.8 ^b ±1.16	24.1 ^b ±1.28	5.3 ^a ±0.58	5.5 ^a ±0.32
Điều khiển	110.4 ^c ±8.04	27.3 ^c ±1.81	19.9 ^c ±0.93	4.4 ^b ±0.60	4.0 ^b ±1.01
LSD _{0.05}	9.4	1.9	1.1	0.7	0.7

4.4. Trình diễn bón phân sinh học từ cây chùm ngây trên rau xà lách và cải

4.4.1. Trình diễn bón phân lá cây chùm ngây rau xà lách

Năng suất ở mô hình 1 sử dụng phân bón sinh học qua lá chùm ngây đạt 21,32 tấn ha-1, cao hơn đáng kể so với thực tế của nông dân (19,45 tấn ha-1). Điều này có nghĩa là phân bón lá cây chùm ngây có ảnh hưởng rất lớn đến đặc điểm sinh trưởng, năng suất và chất lượng rau xà lách trong sản xuất quy mô lớn.

4.4.2. Trình diễn bón phân lá cây chùm ngây rau cải

Những điều này giải thích tại sao năng suất thực tế của rau muống cao hơn đáng kể trong mô hình trình diễn sử dụng phân bón sinh học lá chùm ngây. Có thể kết luận rằng bón MFB theo tỷ lệ 1:10 có thể cải thiện đặc tính sinh trưởng của rau xà lách và cải.

4.5. Trình diễn bón phân hữu cơ cây chùm ngây cho rau

4.5.1. Trình diễn bón phân hữu cơ cây chùm ngây trên rau xà lách

Năng suất ở mô hình 1 sử dụng MOF đạt 23,62 tấn ha-1, cao hơn đáng kể so với mô hình 2 (21,22 tấn ha-1). Bên cạnh năng suất cao hơn, chất lượng rau bắp ở mô hình 1 có xu hướng cao hơn mô

hình 2. Hàm lượng Brix là 6,77% và 5,50% trong hai mô hình. Ngoài ra, giá trị vitamin C của mô hình 1 cao hơn mô hình 2.

4.5.2. Trình diễn bón phân hữu cơ cây chùm ngây trên rau cải

Năng suất và chất lượng rau muống tại Bảng 4.33 cho thấy hàm lượng brix và vitamin C trong mô hình sử dụng MOF lần lượt là 6,60% và 8,70%. Những giá trị này cao hơn đáng kể so với giá trị trong cuộc trình diễn thực hành của nông dân. Năng suất thực tế của rau muống lần lượt là 22,54 tấn ha⁻¹ và 19,12 tấn ha⁻¹ ở Mô hình 1 và Mô hình 2. Sự khác biệt về năng suất thực tế có thể là do sự khác biệt về trọng lượng tươi.

CHƯƠNG 5. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

5.1. Kết luận

Các dòng chống chịu úng là SPL 7, 18 và 65. Các dòng có hàm lượng phenolic cao nhất là SPL 21 (35,6 mg GAE/g trọng lượng khô), SPL 27 (29,7 mg GAE/g trọng lượng khô) và SPL 66 (29,2 mg GAE/g trọng lượng khô) và các dòng có hàm lượng phenolic thấp nhất là SPL 15 (5,5 mg GAE/g trọng lượng khô). Các dòng có hàm lượng flavonoid cao nhất là SPL 21 (61,6 mg RE/g trọng lượng khô), SPL 73 (56,7 mg RE/g trọng lượng khô) và SPL 66 (53,9 mg RE/g trọng lượng khô), và các dòng có hàm lượng flavonoid thấp nhất là SPL 15 (9,1 mg/RE/g trọng lượng khô).

- Tàn dư chùm ngây được lên men bằng sản phẩm EM và mật đường để sản xuất phân bón sinh học lá chùm ngây trong thời gian ủ phân là 4 tháng.
- Phân bón hữu cơ chùm ngây tối ưu thu được sau thời gian ủ 7 tuần.
- Việc áp dụng MFB với 100 mL/lít phun MFB đã cải thiện năng suất rau ăn lá, đạt đỉnh 23,5-23,9 tấn/ha đối với rau diếp và 25,4-26,7 tấn/ha đối với rau muống và cho hiệu quả tương tự so với chitosan và phân bón rong biển. Tuy nhiên, MFB đã thúc đẩy sự sinh trưởng và năng suất của rau muống hơn các loại phân bón khác ở cả hai vụ trồng.
- Bón 25 tấn MOF/ha đã nâng cao năng suất và chất lượng rau ăn lá, đạt đỉnh 25,5-25,6 tấn/ha đối với rau diếp và 25,9-26,8 tấn/ha đối với rau muống. MOF là giải pháp thay thế đầy hứa hẹn cho phân bò và các loại phân hữu cơ sinh học thương mại khác để trồng rau an toàn và bền vững.

- Cả phân bón sinh học lá Moringa (MFB) và phân hữu cơ Moringa (MOF) đều cải thiện năng suất rau ăn lá nhiều hơn phân hóa học.

5.2. khuyến nghị

- Nhân giống chùm ngây trong tương lai nên tập trung vào việc tạo ra các giống thuần chủng từ các giống có khả năng chịu ngập úng cao (SPLs 7, 18 và 65), hàm lượng phenolic và flavonoid cao (SPLs 21, 27, 66 và 73).

- Các bộ phận không ăn được của chùm ngây có thể làm phân hữu cơ và phân bón sinh học qua lá để tăng cường sinh trưởng, năng suất và chất lượng rau.

- Cả Phân bón sinh học lá chùm ngây (MFB) và Phân hữu cơ Moringa (MOF) đều có thể được sử dụng trong sản xuất rau.

- Xem xét trồng cây chùm ngây quy mô lớn để sản xuất sinh khối nhằm cung cấp nguyên liệu cho sản xuất MFB và MOF ở Thừa Thiên Huế.

BÀI VIẾT ĐÃ XUẤT BẢN

1. Chanthanousone, H., Truong, H. T. H., Nguyen, T. T. D., Dang, L. T., Nguyen C. T. K, Tran. T. T. B. (2020). Influence of Moringa organic foliar fertilizer on leafy vegetables in spring crop 2019. *Tạp chí Khoa học Đại học Huế: Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn*, 129 (3B): 81-91. DOI:10.26459/hueuni-jard. v129i3B.5468.

2. Chanthanousone, H., Phan, T. T., Nguyen, C. Q., Nguyen, T. D. T., Dang, L. T., Hoang Ho, N. T., Le Nguyen, B. Q., & Truong, H. T. H. (2022). Influence of foliar application with Moringa oleifera residue fertilizer on growth, and yield quality of leafy vegetables. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*, 10(6): 1453-1461. [https://doi.org/10.18006/2022.10\(6\).1453.1461](https://doi.org/10.18006/2022.10(6).1453.1461).

3. Chanthanousone, H., Phan, T. T., Nguyen, C. Q., Nguyen, T. D. T., Pham, H. T. T., & Truong, H. T. H. (2023). Influence of biofertilizer produced using drumstick (*Moringa oleifera* L.) unused parts on the growth performance of two leafy vegetables. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*, 11(2): 280-289. [https://doi.org/10.18006/2023.11\(2\).280.289](https://doi.org/10.18006/2023.11(2).280.289).

4. Nguyen, B.L.Q, Chanthanousone, H., Ho, H.N., Ho, N.T.H., Le, M.H.D., Rasphone, S., Nguyen, C.Q., Truong, H.T.H. (2023). Waterlogging tolerance, phenolic and flavonoid contents, and genetic diversity among *Moringa oleifera* self-pollinated lines. *South African Journal of Botany* 157(2023): 287-296. <https://doi:10.1016/j.sajb.2023.04.012>.

**HUE UNIVERSITY
INSTITUTE OF BIOTECHNOLOGY**

HATSADONG CHANTHANOUSONE

**STUDY ON THE EFFICIENCY
OF BIOFERTILIZER FROM MORINGA RESIDUES
FOR SOME LEAFY VEGETABLES**

SUMMARY PhD DISSERTATION

Major: Biology

Code: 9420101

Supervisors:

- 1. Assoc. Prof. TRUONG THI HONG HAI**
- 2. Dr. NGUYEN QUANG CO**

HUE, 2023

The dissertation was completed at the Institute of Biotechnology Hue University.

Supervisor (s): Associate Professor Ph.D Truong Thi Hong Hai

Dr. Nguyen Quang Co

Reviewer 1:

.....
.....
.....

Reviewer 2:

.....
.....
.....

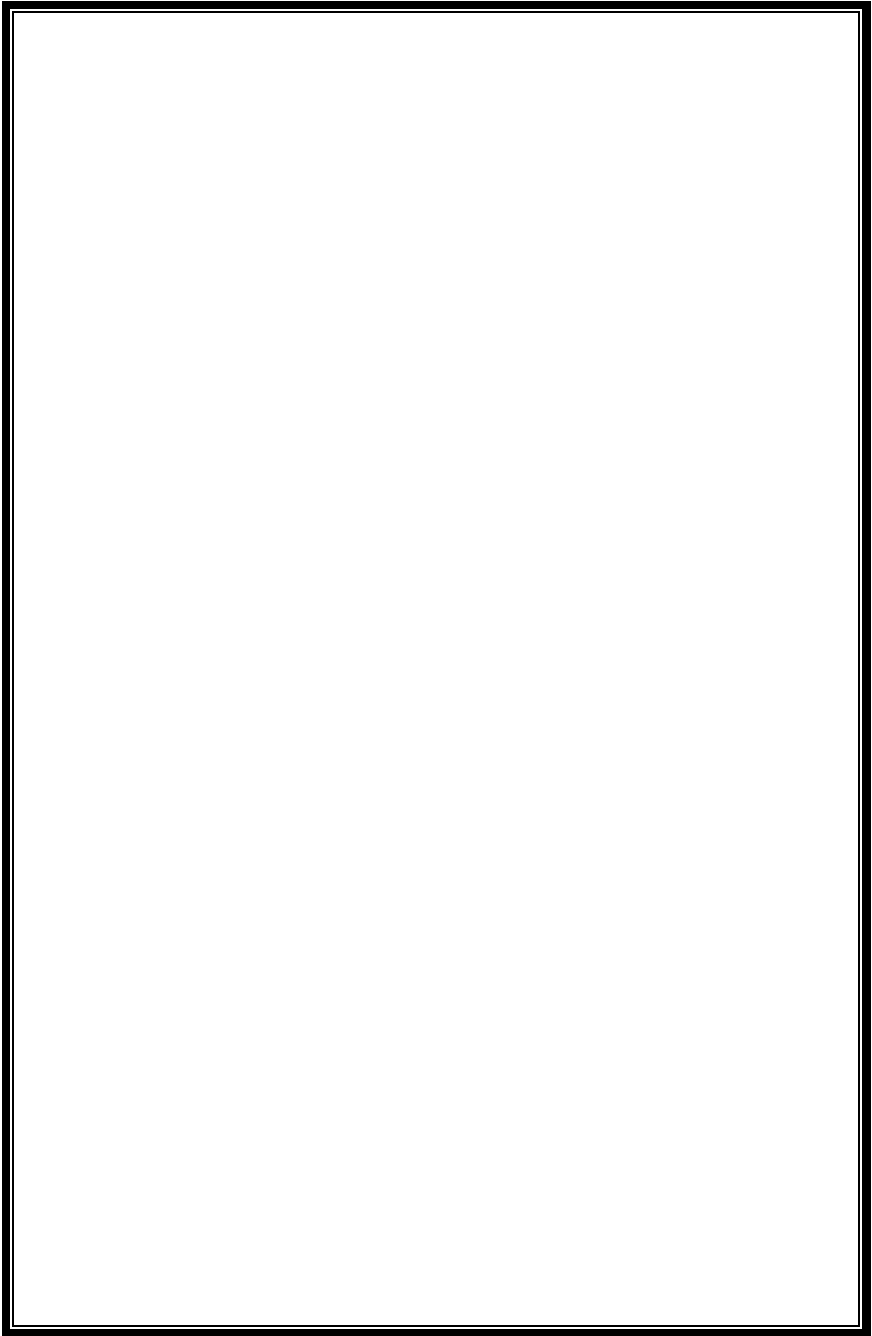
Reviewer 3:

.....
.....
.....

The dissertation is defended at the Hue University Thesis Education Committee Meeting at o'clock Day..... Month Year.....

The dissertation can be accessed in the Library:

1. The National Library of Vietnam.
2. Learning Recourse Center, Hue University.
3. Library of Institute of Biotechnology, Hue University



CHAPTER 1. INTRODUCTION

1.1. Background

Moringa oleifera Lam. (commonly known as drumstick) is a multipurpose tree species, nutritional rich and is distributed throughout South India, Southeast Asia, South America and Africa (Alavilli et al., 2022). Additionally, *M. oleifera* parts are also rich in minerals, protein, vitamins, phenolic and flavonoid compounds (Hassan et al., 2021). In Vietnam, *M. oleifera* leaf is used for vegetable, tea and veggie powder, and the seed is for propagation. Hence, stem, root and bark of *M. oleifera* are garbage. Thus, the use of residues of *M. oleifera* to produce biofertilizer is necessary. Thus, it is critical to develop cultivars with high tolerance to waterlogged conditions, to expand drumstick cultivation areas to provide materials for Moringa biofertilizer productions. Therefore, it is necessary to conduct “Study on the efficiency of Biofertilizer from Moringa residues for some leafy vegetables”.

1.2. Research objectives

1.2.1. Overall objective

Products of biofertilizers from Moringa residues (stem, old petiole, and other unused parts) to serve organic agricultural production and contribute solving environmental pollution and soil structure degradation that improving plant growth and yield, and having safety foods.

1.2.2. Details objective

- Selecting waterlogging and good characteristics of *M. oleifera* lines for biomass production in Thua Thien Hue.
- Evaluating influence of Moringa foliar biofertilizer on growth, yield and quality of leafy vegetables.
- Evaluating influence of Moringa organic fertilizer on the growth performance of lettuce and mustard spinach.
- Evaluating efficiency of Moringa foliar biofertilizer (MFB) on leafy vegetables.
- Evaluating efficiency of Moringa organic fertilizer (MOF) on leafy vegetables.

1.3. New findings

- Selection of three lines (SPLs 7, 18 and 65) for waterlogging tolerance and three lines (SPLs 21, 27, 66 and 73) for high phenolic

and flavonoid contents for future Moringa breeding programs in Vietnam as well as in Thua Thien Hue.

- Identification of the right time and ingredients to process the best quality of MFB and MOF fertilizers.

- Determination of the appropriate amount of MFB and MOF fertilizers for some leafy vegetables in Thua Thien Hue province.

CHAPTER 2. LITERATUR REVIEW

2.1. Theoretical basics of the research

2.1.1. Introduction a bout Moringa

2.1.1.1. Biodiversity and botany of Moringa

2.1.1.1.1. Biodiversity of Moringa

The genus Moringa includes 13 species that are found in the sub-Himalayan ranges of India, Sri Lanka, North Eastern and South Western Africa, Madagascar, and Arabia. *Moringa pterygosperma* Gaerthn (syn. *Moringa oleifera* Lam) is the most well-known and widespread species. The followings are white or pink flowered *Moringa peregrina*. Forsk, *Moringa optera* Gaerthn, *Moringa zeylanica* sieb., *Moringa arabica* (Boopathi & Raveendran, 2021).

2.1.1.1.2. Botany of Moringa

Moringa is a softwood tree, native to India that grows wild in the sub-Himalayan regions of Northern India and is now planted all over the world in the tropics and sub-tropics. It is grown throughout India for its sensitive pods, as well as its leaves and flowers. Moringa pods are a common vegetable in South Indian cuisine and are prized for their peculiar flavor. *Moringa oleifera* is found in all tropical countries.

Botanical classification of Moringa:

Kingdom - Plantae

Division - Magnoliophyta

Class - Magnoliopsida

Order - Brassicales

Family - Moringaceae

Genus - Moringa

Species – oleifera

2.1.1.2. Genetic diversity assessment of M. oleifera

The genetic variation of plant species is the primary source of distinction in characters, which improves their adaptability and distribution (Carvalho et al., 2019).

2.1.1.2.1. Morphological marker

Conventionally, various quantitative and qualitative morphological characters have been used to identify species, and distinguish cultivars or accessions (Adhikari et al., 2017).

2.1.1.2.2. Phytochemical components

Antioxidants (vitamins A, C, and E, β -carotene), biochemicals (amino acids, glucosinolates, chlorophyll, sugars, seed protein, and total protein), macronutrients micronutrients, anti-nutritional factors and polyphenols have been used to assess genetic variability among *M. oleifera* accessions and advanced breeding lines from India, Thailand, Laos, the Philippines, China, Taiwan, Saudi Arabia, Tanzania, and the United States (Zhu et al., 2020).

2.1.1.3. Molecular markers

Molecular markers are classified based on the method of analysis as hybridization-based (e.g., restriction fragment length polymorphism (RFLP)), polymerase chain reaction (PCR)-based (e.g., random amplified polymorphic DNA (RAPD)), or sequencing-based (e.g., single nucleotide polymorphisms (SNPs)) (Adhikari et al., 2017).

2.1.1.3.1. Random amplified polymorphic DNA (RAPD)

RAPD is a PCR-based technique that uses short (decamer) and random oligonucleotide primers and does not require sequence information or radioactive probes; DNA fragments separated by agarose gel electrophoresis and then visualized by staining with ethidium bromide.

2.1.1.3.2. Sequence-Related Amplified Polymorphism (SRAP)

SRAP marker technique is a simple and efficient method for amplifying open reading frames (ORFs) by using a 17-18-mer oligonucleotide with core sequences at the 5' end that included 13-14-mer oligonucleotide with different filler sequences containing no specific sequences such as CCGG and AATT in the forward and reverse primers, respectively and three selective nucleotides at the 3' end (Li & Quiros, 2001).

2.1.2. Introduction about Biofertilizer

2.1.2.1. Biofertilizer

Biofertilizers are substances of biological origin (microorganisms), which are added to the soil and building to enhance the fertility and ability of plant growth, biofertilizers has includes fungi, blue-green algae, and bacteria or their combinations of organisms, biofertilizers are nutrients and are economical, practical, and renewable sources chemical fertilizer for the plant. (Baboo, 2009).

2.1.2.2. Foliar Biofertilizer

The use of foliar fertilization is an efficient approach for improving crop nutritional characteristics (Otalora et al., 2018). It is improved physiological properties of plants, particularly in drought and light stress environment (Ruiz-Navarro et al., 2019).

2.1.3. Leafy vegetable

2.1.3.1. Definition of leafy vegetable

Leafy vegetables are important in human nutrition, particularly as sources of vitamins, minerals, dietary fiber, and phytochemicals (Yahia et al., 2019), as well as for food security (Rani, 2020).

2.1.3.2. Leafy vegetable production

Vegetable production is carried out by smallholder farmers/company using various production strategies. Vegetables are acknowledged as a profitable venture for improving farmers' livelihoods and solving concerns of self-sufficiency, food security, and remote economic development (Chagomoka et al., 2015).

2.1.4. Role of nutrient of leafy vegetables

2.1.4.1. Nitrogen (N)

Nitrogen is a principal element of nutrient that plants need for the growth of leaves, trees are able to get Nitrogen from fertilizer, compost, air, and soils, nitrogen, Gaseous chemical element (Yousaf et al., 2021).

2.1.4.2. Phosphorus (P)

Phosphorus is one of the most abundant macronutrients in plant tissues and is required for several key plant functions such as energy transfer, photosynthesis, sugar and starch transformation, nutrient movement within the plant, and genetic trait transfer from generation to the next ones (Baroowa et al., 2022).

2.1.4.3. Potassium (K)

Potassium (K⁺), along with nitrogen (N) and phosphorus (P), is one of the essential plant nutrients required for development and physiology (Perelman et al., 2022).

2.1.4.4. Calcium

Calcium is an essential inorganic nutrient for higher plants; It is necessary for structural roles in the cell wall and membranes as the divalent cation (Ca^{2+}), as a counteraction for inorganic and organic anions in the vacuole, and as an intracellular messenger in the cytosol (Marschner, 1995)

2.1.4.5. Magnesium (Mg)

Magnesium is known to be an essential nutrient for many living organisms, including plant species, animals, and humans. result in decreased productivity and quality in forestry (Mitchell et al., 1999).

2.1.4.6. Sulphur (S)

Sulfur is one of the basic elements required by plants. It is a component of proteinaceous amino acids like methionine and cysteine, vitamins (biotin and thiamine), glutathione, phytochelatins, coenzyme A, chlorophyll, and S-adenosyl-methionine (Nakai & Maruyama-Nakashita, 2020).

2.1.4.7. Biostimulant to supplement synthetic fertilizers from Moringa

Fertilizers are elements used to increase growth and yield of plant (Bulgari et al., 2019). As a result, chemical fertilizers have become an essential aspect of modern agriculture, delivering essential plant nutrients such as nitrogen, phosphorus, and potassium (Savci, 2012).

2.2. Practical basics of the research

2.2.1. Production of Moringa in the world and Vietnam

2.2.1.1. Production of Moringa in the world

Moringa oleifera Lam. (commonly known as drumstick) is a multi-purpose tree species, nutritional rich and is distributed throughout South India, Southeast Asia, South America and Africa (Alavilli et al., 2022). *M. oleifera* parts are also rich in minerals, protein, vitamins, phenolic and flavonoid compounds (Hassan et al., 2021).

2.2.1.2. Production of Moringa in Vietnam

In Vietnam, Moringa grows natively in provinces Ninh Thuan, Binh Thuan, Dong Nai, and Kien Giang. Because of its high nutritional value and medicinal materials, as well as wide adaptability, in recent years, the Moringa cultivation has appeared in many provinces and cities across the country. Demand for Moringa leaves for making vegetables, producing tea bags, nutritional powders is

increasing, while there is no supplier in large-scale having stable quantities and quality assurance according to food hygiene and safety standards, and GMP standards of the Ministry of Health (Chau, 2016).

2.2.1.3. *Production of Moringa in Thua Thien Hue*

Since *M. oleifera* is poorly tolerant to waterlogged conditions. Currently, the requirement for well-drained soil makes it unsuitable for drumstick to be cultivated in areas with frequent rain fall and floods (Dania et al., 2014). In addition, Thua Thien Hue province is located in the center of Vietnam, where is experienced adverse downpours and floods because of low pressure affection. Nguyen et al., (2023) selected a parental line and three self-pollinated lines with high level of water logging resistance in Thua Thien Hue that were used for biomass production in an area of 500 m² to provide materials for making biofertilizers. Thus, production area is necessary to be enlarged to produce biomass for fertilizer production in future.

2.2.2. *M. oleifera breeding in the world and in Vietnam*

2.2.2.1. *M. oleifera breeding in the world*

M. oleifera is a cross-pollinated species and is also naturalized in many areas; they exhibit variations in morphologies, yields and photochemical contents (Lakshmiddevamma et al., 2021). Gandji and co-workers (2019) also observed diversity in morphological traits of *M. oleifera* with changing climate and cultivation practice. (Drisy et al., 2021).

Moringa Oleifera can adapt and grows well in a wide range of altitudes, from 600 to 1200 m in the tropics, with annual rainfall ranging from 250 to 1500 mm, and temperatures ranging from 25 to 35°C. In addition, it can be tolerated to light frost, higher temperature that about 48°C in the shade and well-drained sandy loam to clay loam, but susceptible to waterlogged soil and poor drainage (Alavilli et al. 2022). In China, a *Moringa* breeding program is focused on identification of association of functionally diverse genes and important agronomical traits (Deng et al. 2016).

2.2.2.2. *Moringa Oleifera breeding in Vietnam*

Moringa (Moringa oleifera Lam.) is grown commercially and used widely in pharmaceutical technology, cosmetics, beverage, nutrition and functional foods in more than 80 countries around the world. Truong and co-workers (2017) found that *Moringa* accession VI08718, which is originated from Thai Lan, is the most adapted

variety for growing in Thua Thien Hue province, whereas, PKM–1, which is originated from Philippines, showed a good adaptation in Quang Tri province (Nguyen et al. 2017).

2.2.3. Production and use of biofertilizer

2.2.3.1. Production and use of biofertilizer in the world

Total of 11.3% of the value of the global fertilizer market in 2021 was attributable to the foliar technique of fertilizer application. Field crops made up 83.65% of the market for fertigation fertilizers in 2021, followed by horticultural crops (11.2%), turfs and decorative crops (7.1%), and field crops (11.2). For foliar fertilizers in field crops, the Asia-Pacific and European regions held market shares of 40.2% and 33.8%,

2.2.3.2. Production and use of biofertilizer in Vietnam

Vietnam's organic market generates \$132.15 million annually. The majority of Vietnamese organic products are exported to other countries. The Vietnamese government supports the development of organic fertilizer in Vietnam and encourages its application and manufacturing (Van Toan et al., 2019).

2.2.4. The use of *Moringa oleifera* as fertilizer

2.2.4.1. The use of *Moringa oleifera* as fertilizer in the world

Biofertilizers (organic fertilizers) are essential for the production of safe leafy vegetables. Furthermore, the use of biofertilizers helps to protect the environment from soil degradation and groundwater pollution. One of the biofertilizers which are widely investigated for their potential of improving plant yield and growth is moringa leaf extract, produced from *Moringa oleifera* (Zulfiqar et al., 2020; Karthiga et al., 2022).

2.2.4.2. The use of *Moringa oleifera* as fertilizer in Vietnam

All most *M. oleifera* parts are still unused and have been discarded as waste. These materials can be utilized to generate Moringa organic fertilizer. Previous studies indicated that applying Moringa foliar biofertilizer produced from nonedible parts promotes the growth, yield, ascorbic acid content and Brix of lettuce, Mustard spinach (Chanthanousone et al. 2020; Chanthanousone et al. 2022) and Mustard green (Truong et al. 2023).

CHAPTER 3. MATERIALS AND METHODS

3.1. Research contents

- Selection of promising *M. oleifera* lines for biomass production in Thua Thien Hue.
- Influence of Moringa foliar biofertilizer (MFB) on growth, yield and quality of leafy vegetables.
- Influence of Moringa organic fertilizer (MOF) on the growth performance of leafy vegetables.
- Demonstration of Moringa foliar biofertilizer (MFB) on leafy vegetables
- Demonstration Moringa organic fertilizer (MOF) on leafy vegetables

3.2. Research materials

- A hundred self-pollinated seeds were randomly harvested from a single parental plant of accession VI048718.
- Lettuce (*Lactuca sativa* L.) variety obtained from Phu Nong Seeds company and a mustard spinach (*Brassica juncea*) variety obtained from Ha Noi Xanh company, Ceylon spinach obtained from Trang Nong seed company.
- Total of 200 OUBC (University of British Columbia) RAPD primers (synthesized by Bioneer, Korea).
- Moringa residues (including stems, branches, and leaf petioles).
- Ground moringa residues.
- Seaweed organic foliar fertilizer that originated from Canada, and NPK foliar fertilizer that produced by Southern Fertilizer Joint Stock Company.

Table 1. Sequence of primers used for characterize polymorphism in 76 *M. oleifera* self-pollinated lines

No.	Primer name	Sequence (5'-3')
1	UBC#350	TGACGCGCTC
2	UBC#368	ACTTGTGCGG
3	UBC#413	GAGGCGGCGA
4	UBC#433	TCACGTGCCT

5	UBC#437	AGTCCGCTGC
6	UBC#448	GTTGTGCCTG
7	UBC#489	CGCACGCACA
8	me_1F	TGAGTCCAAACCCGATA
	em_4R	GACTGCGTACGAATTTGA
9	me_2F	TGAGTCCAAACCGGAGC
	em_1R	GACTGCGTACGAATTAAT
10	me_2F	TGAGTCCAAACCGGAGC
	em_4R	GACTGCGTACGAATTTGA

3.3. Research methods

3.3.1. Selection of promising *M. oleifera* lines for biomass production in Thua Thien Hue

3.3.1.1. Morphology and waterlogging tolerance

After transplanting for forty days, the waterlogging tolerance of the 76 SPLs was assayed by watering with 10 L of water every day for twenty days. Colours were determined using the Methuen Handbook of Colours.

3.3.1.2. Genetic diversity analysis

- DNA extraction: Genomic DNAs of the parental plant and 76 SPLs were extracted from fresh leaves following the CTAB (cetyltrimethyl ammonium bromide) procedure of Doyle and Doyle (1986).

- *RAPD-PCR amplification*: A total of 200 UBC RAPD primers (Bioneer, Korea). The polymorphic UBC RAPD primers were used to genotype 76 SPLs. PCR reactions were carried out as described previously (Truong et al. 2013).

- Sequence-related amplified polymorphism (SRAP)-PCR amplification: Sequence-related amplified polymorphism was examined using fifteen primer combinations (three forward and five reverse primers) (Ridwan et al., 2020).

3.3.1.3. Total phenolic content assay

The total phenolic content of *M. oleifera* leaves was determined using the Folin–Ciocalteu assay as previously described (Siddhuraju & Becker, 2003). The absorbance was measured at 758 nm (Hitachi U-2910, Japan).

3.3.1.4. Total flavonoid content assay

- The ethanol extract was prepared as above, and a ten-fold dilution was carried out in 70% ethanol. The total flavonoid content was determined as described by Siddhuraju and Becker (2003).

3.3.2. Influence of Moringa foliar biofertilizer (MFB) on growth, yield and quality of leafy vegetables

3.3.2.1. Moringa foliar biofertilizer (MFB) preparation

Moringa foliar biofertilizer was prepared following the non-aerated process. Briefly, 70 kg of moringa residues (including stems, branches, and leaf petioles) were washed with water to remove dust particles before being chopped into small parts. In a 100-liter container, the chopped moringa residues were spread to form a 20-cm layer. Second, molasses (5 L) and effective microorganism (EM) products (0.2 kg) were subsequently added to the top of the layer. The container was filled with chopped materials and water was added to 2/3 of the container. The container was then tightly covered. The mixture in the container was stirred once every month until the end of the composting period (three to four months).

3.3.2.2. Effect of composting time on the quality of MFB

To evaluate the effect of composting time on the quality of MFB, the residue was incubated for either 3, 3.5, or 4 months. Nutrition properties of the extract including the percentages of nitrogen (N), phosphorus (P), phosphorus pentoxide (P_2O_5), potassium (K), potassium oxide (K_2O), and organic matter (OM) were determined.

3.3.2.3. Primarily screening of Moringa foliar biofertilizer on growth and yield of leafy vegetables

Three-to-four-leaf lettuce, mustard spinach and ceylon spinach grown in 10-m² plots were sprayed with either 20, 25, 33.3, 50 or 100 ml of MFB diluted in water (to a total volume of 1 L) (Nwokeji et al. 2022). Seaweed organic foliar fertilizer and NPK foliar fertilizer were used as controls. Foliar fertilizers were sprayed every five days until five days prior to harvest. The experiment was designed in a Randomized Completely Block Design (RCBD) with five fertilizer doses and three replicates per treatment.

3.3.2.4. Effect of different doses of MFB on growth, yield, and quality of lettuce and mustard spinach

Three to four leaf plants in a 10 m² plot were sprayed with either 100 ml, 50 ml, 33.3 ml, 25 ml, or 20 ml of MFB diluted in 1 L of water

(Nwokeji et al. 2022). The experiment was designed in a Completely Randomized Design (CRD) with five fertilizer doses and three replicates per treatment.

3.3.2.5. Effect of different foliar fertilizers on growth, yield, and quality of lettuce and mustard spinach

Three-to-four leaf lettuce and mustard spinach plants in a 10 m² plot were sprayed with MFB (100 ml per Litre), commercial chitosan fertilizer, seaweed fertilizer, and water (control). Commercial fertilizers were diluted with water at a ratio of 1.25:1 (volume: volume). The experiment was designed in a Completely Randomized Design (CRD) with five fertilizer doses and three replicates per treatment.

3.3.3. Influence of Moringa organic fertilizer (MOF) on the growth performance of leafy vegetables

3.3.3.1. Moringa organic fertilizer (MOF) preparation

MOF was prepared from Moringa non-edible parts, including stems, branches and leaf petioles. The fertilizer was prepared with the following materials in the predetermined quantities, including 70 kilograms of ground moringa residues, 50 kilograms of manure, 0.2 kilograms of Tricho–compost (Trichoderma–based product) and 2.0 kilograms of superphosphate (Lam Thao Fertilizers and Chemicals JSC). First, Moringa residues were chopped into small parts and mixed with water and Tricho–compost until the mixture humidity reached 70%. After three weeks, water was supplemented, and the mixture was stirred and incubated for another 5, 7 or 9 weeks.

3.3.3.2. Nutrient contents of MOF following different incubation periods

In this experiment, MOF was incubated for 5 weeks (I1), 7 weeks (I2) and 9 weeks (I3). Physicochemical properties of the MOF included the percentages of N, P, available P, available K, organic matter, and pH were investigated. For each incubation period, three samples were taken for physicochemical analyses.

3.3.3.3. Effect of MOF amounts on the growth, yield and quality of lettuce and mustard spinach

The field experiment was conducted from January to March 2021 with two planting times. The investigation was conducted in a completely randomized design (CRD) following four treatments with different amounts of MOF applied (15 (R1), 20 (R2), 25 (R3) and 30

(R4) tons per ha). The plot size of each treatment was 10 m². Before planting, the soil was ploughed, and MOF was applied as basal dressing. The seedlings at the 3–4 leaf stage was planted with a density of 33 plants per m².

3.3.3.4. Effect of various organic fertilizers on growth, yield and quality of lettuce and mustard spinach

The field experiment was carried out from March to May 2021 with two planting times to compare the effects of MOF and other organic fertilizers on the growth, yield and quality of leafy vegetables (lettuce and mustard spinach). The experiment was conducted in a completely randomized design (CRD) with four treatments: F1 (25 tons of MOF per ha), F2 (Cow manure), F3 (Bio-organic fertilizer) and control (without fertilization). The plot size of each treatment was 10 m². The seedlings at 3-4 leaf stage were planted with a density of 33 plants/m², and all fertilizers were applied as basal dressing before planting.

3.3.4. Demonstration of Moringa foliar biofertilizer (MFB) on leafy vegetables

Lettuce and mustard spinach were planted with a density of 33 plants per m² on 100-m² plots. Three-to-four-leaf lettuce and mustard spinach plants were sprayed with MFB (100 ml diluted with water to a total volume of 1 L) (Model 1). For control (Model 2), Nitrate Magness fertilizer was sprayed following manufacturer's recommendation (3.125 g in 1 L of water). Foliar fertilizers were applied every five days until five days prior to harvest. The experiment was designed in a completely randomized design (CRD), and three replicates per treatment.

3.3.5. Demonstration moringa organic fertilizer (MOF) on leafy vegetables

The field experiment was carried to compare the effects of MOF (T1; 2.5 kg/m²) (Model 1) and chemical fertilizer (T2; 7 g N, 7 g P₂O₅ and 4 g K₂O per m²) (Model 2) on the growth, yield and quality of lettuce and mustard spinach. Fertilizers were applied as basal dressing before planting. Lettuce and mustard spinach were planted with a density of 33 plants per m² on 100-m² plots. The experiment was conducted in a completely randomized design (CRD) and three replicates per treatment.

3.4. Data collection and analysis

Clear and undistorted DNA bands were scored as “1”, and absent (or faint) bands were scored as “0”. This logical matrix data was used to determine the genetic diversity using POPGENE version 1.32 (Yeh et al., 1999). The phylogenetic tree was constructed using the UPGMA algorithm in NTSYSpc (version 2.1), in which the distance matrix was established based on simple matching similarity coefficient (Sokal & Michener, 1958).

Growth time (day) from sowing to harvest. Growth parameters: plant height (cm), canopy diameter (cm), the number of leaves, and leaf area index (leaf area/ground area) were determined for five plants in each treatment. The yield components included (i) fresh mass/plant (g/plant) (combined weight of stem, leaves, and roots); (ii) estimated yield (ton/ha) (average fresh mass/plant × plant density); (iii) actual yield (ton/ha). Statistical analysis was performed using one ways analysis of variance (ANOVA) followed by Turkey’s test in IBM SPSS Statistics 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Data represented significant differences as $p < 0.05$.

CHAPTER 4. MATERIAL AND METHODOLOGY

4.1. Selection of promising *M. oleifera* lines for biomass production in Thua Thien Hue

4.1.1. Morphology and waterlogging tolerance

Young shoot colour varied from green, greenish purple, light purple to purple. Leaf number ranged from nine leaves (SPL 65) to 21 leaves (SPL 55). Plant heights varied between 36 cm (SPL 61) and 132 cm (SPL 10). Stem circumferences varied between 3.4 cm (SPL 61) and 8.0 cm (SPL 23). Waterlogging treatment was carried out for 20 days. Overall, leaf gain was observed in only three SPLs following the waterlogging treatment: 7, 18 and 65.

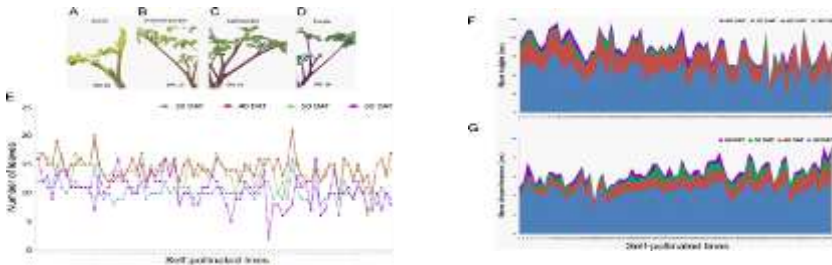
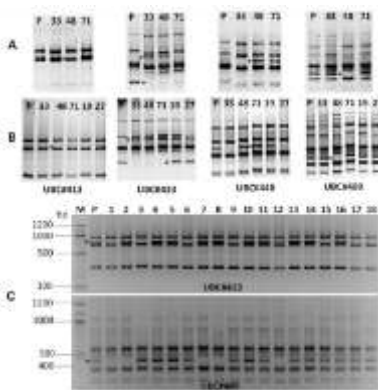


Figure 1. Waterlogging tolerance of 76 *M. oleifera* self-pollinated lines (SPLs) at 40 days after transplanting.

4.1.2. Genetic polymorphism



These primers were then used to genotype the 76 *M. oleifera* self-pollinated lines and the parental plant (Fig. 5C).

Figure 2. Polymorphism within the *M. oleifera* parental (P) and self-pollinated lines shown by RAPD markers.

4.1.3. PCR result with RAPD and SRAP primers

The polymorphic analyses obtained from PCR reactions using seven RADP primers and three SRAP primer pairs were Across SPLs, the combined number of amplification bands from ten primers/primer pairs ranged from 75 to 83, with SPL 71 yielding the highest number of amplification bands.

4.1.4. Genetic diversity analysis

Genetically, the parental and 76 self-pollinated lines five major groups: group I included SPL 5 and SPL 43, having a similarity coefficient of 0.80. Group II consisted of SPL 3 and SPL 13 whereas group III involved SPL 12 and SPL48. Next, group IV included 14 SPLs (7, 8, 23, 25, 34, 39, 67, 68, 69, 70, 72, 73, 74 and 75) whereas the rest, which included the parental and 56 SPLs, belonged to the largest group - group V. SPL 76 and *P* were genetically close. The lowest similarity was observed between SPL 43 and SPL 48.

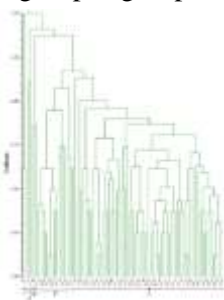


Figure 3. Dendrogram showing the genetic relationship between the *Moringa oleifera* parental (*P*) and 76 self-pollinated lines (SPLs).

4.1.5. Phenolic and flavonoid contents

The lines with the highest phenolic contents were SPLs 21, 27 and 66 and the lines with the highest flavonoid contents were SPLs 21, 73 and 66. Future work will focus on creating pure breeds from accessions with high waterlogging tolerance (SPLs 7, 18 and 65), and high phenolic and flavonoid contents (SPLs 21, 27, 66 and 73), before outcrossing can be carried out to create elite *M. oleifera* cultivars.

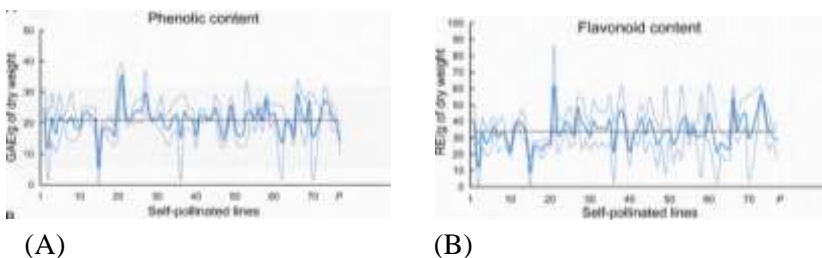


Figure 4. Total phenolic and flavonoid contents measured in *M. oleifera* parental (*P*) and 76 self-pollinated lines.

4.2. Influence of Moringa foliar biofertilizer on growth, yield and quality of leafy vegetables

4.2.1. Effect of composting time on the quality of Moringa foliar biofertilizer (MFB)

These parameters peaked after composting for four months (nitrogen content of 11.9% and pH of 5.04).

Table 2. Effect of composting time on the physicochemical properties of moringa foliar biofertilizer (MFB)

Composting time	N (%)	P (%)	P ₂ O ₅ (%)	K (%)	K ₂ O (%)	OM (%)	pH
3 months	4.20 ^c	2.21 ^b	5.06 ^b	7.20 ^a	8.68 ^a	37.73 ^a	3.37 ^b
3.5 months	8.52 ^b	3.04 ^a	6.97 ^a	5.39 ^b	6.49 ^b	29.13 ^a	4.82 ^a
4 months	11.90 ^a	2.63 ^{ab}	5.89 ^{ab}	5.07 ^b	6.11 ^b	32.77 ^a	5.04 ^a

4.2.2. Primarily screening of Moringa foliar biofertilizer on growth and yield of leafy vegetables

In summary, the application of MFB at 100 ml and 30 ml per Liter helped to shorten the growth and development time of lettuce and mustard spinach. For lettuce, the actual yield was the highest in treatment 6 using Seaweed organic foliar fertilizer with 2.45kg/m². Treatment with 100 ml of MFB per L of water and NPK chemical foliar fertilizer control (treatment 7) produced similar yields (2.38 and 2.35kg/m² respectively). For mustard spinach, the highest actual yield (2.82 kg/m²) was recorded when 100 ml of MFB per L of water was sprayed (treatment 8), followed by the NPK chemical foliar fertilizer control (2.59 kg/m², treatment 14). Similar results were obtained with Ceylon spinach (3.14 kg/m² - treatment 15 and 2.33 kg/m² - treatment 21).

4.2.3. MFB doses influence on growth, yield and quality of leafy vegetables

Lettuce was grown from 35 days to 37 days in the first planting, and from 32 days to 34 days in the second planting. Foliar application of MFB at 100 ml per liter significantly increased the fresh mass and estimated yield compared to the lower doses. The actual yields were comparable between 100 and 50 ml per litre treatments and were significantly higher than those of other treatments. (Table 3).

Mustard spinach also has a similar grown period to lettuce and it was recorded from 33 to 36 days in the first planting, and from 28 to 32 days in the second planting. The highest dose of MFB (100 ml per Litre) correlated with the freshest weight and highest yield of

mustard spinach at both times of planting. The ascorbic acid content remained relatively constant across a range of MFB doses. On the other hand, the data for Brix were not reproducible and it decreased from 8.07 (100 ml/L) to 5.26 (20 ml/L) in the first planting but it did not significantly change in the second planting. (Table 4)

Table 3. Effect of different doses of MFB on the yield and quality of lettuce

Dose (ml per Litre)	Fresh weight (g per plant)	Estimated yield (ton per ha)	Actual yield (ton per ha)	Ascorbic acid (%)	Brix (%)
First planting					
100	127.3 ^a ±9.02	33.7 ^a ±2.40	21.3 ^a ±0.60	2.67 ^a ±0.12	5.53 ^a ±0.25
50	108.6 ^b ±6.43	29.0 ^b ±1.07	19.7 ^{ab} ±0.95	2.57 ^{ab} ±0.15	5.10 ^a ±0.15
33.3	106.0 ^{bc} ±4.01	28.0 ^{bc} ±1.71	18.3 ^{bc} ±1.03	2.34 ^{bc} ±0.21	4.53 ^b ±0.11
25	96.0 ^c ±6.24	26.7 ^{bc} ±0.53	18.2 ^{bc} ±0.67	2.19 ^c ±0.07	4.47 ^b ±0.18
20	100.0 ^{bc} ±2.18	25.6 ^c ±1.66	17.7 ^c ±0.43	2.16 ^c ±0.16	4.43 ^b ±0.24
LSD _{0.05}	10.88	2.95	1.68	0.28	0.43
Second planting					
100	140.2 ^a ±8.26	34.4 ^a ±1.83	21.7 ^a ±1.26	3.45 ^a ±0.38	5.45 ^a ±0.15
50	117.0 ^b ±6.15	28.7 ^b ±1.91	20.0 ^{ab} ±0.95	2.94 ^a ±0.27	4.94 ^a ±0.26
33.3	107.3 ^{bc} ±5.23	27.0 ^{bc} ±1.34	19.0 ^{bc} ±0.78	3.01 ^a ±0.41	5.01 ^a ±0.68
25	101.6 ^c ±2.55	26.3 ^{bc} ±0.95	18.0 ^{bc} ±1.14	3.07 ^a ±0.06	5.07 ^a ±0.22
20	99.3 ^c ±4.79	25.8 ^c ±1.06	17.3 ^c ±0.87	3.04 ^a ±0.09	5.04 ^a ±0.17
LSD _{0.05}	10.85	2.54	2.36	0.72	0.71

Table 4. Effect of different doses of moringa foliar fertilizer (MFB) on the yield and quality of mustard spinach

Dose (ml per Litre)	Fresh weight (g per plant)	Estimated yield (ton per ha)	Actual yield (ton per ha)	Ascorbic acid (%)	Brix (%)
First planting					
100	133.0 ^a ±8.47	35.3 ^a ±1.47	28.0 ^a ±1.17	5.76 ^a ±0.12	8.07 ^a ±0.09
50	115.7 ^b ±5.32	30.7 ^b ±2.21	24.3 ^b ±1.35	5.54 ^a ±0.07	7.13 ^b ±0.11
33.3	113.0 ^{bc} ±2.19	30.3 ^{bc} ±1.05	24.6 ^b ±0.98	5.69 ^a ±0.05	7.01 ^b ±0.10
25	112.0 ^{bc} ±6.20	29.6 ^{bc} ±2.14	23.7 ^b ±1.61	5.68 ^a ±0.10	6.77 ^b ±0.07
20	101.7 ^c ±7.56	27.0 ^c ±3.02	22.3 ^b ±2.21	5.62 ^a ±0.09	5.26 ^c ±0.13
LSD _{0.05}	11.67	3.41	3.14	0.23	0.48
Second planting					
100	137.7 ^a ±4.41	37.0 ^a ±1.92	29.7 ^a ±0.66	5.52 ^a ±0.21	4.80 ^a ±0.24
50	126.0 ^b ±6.92	33.7 ^b ±2.04	27.3 ^b ±1.05	5.02 ^a ±0.34	4.20 ^a ±0.19
33.3	119.3 ^{bc} ±4.65	31.6 ^{bc} ±1.99	25.3 ^c ±1.24	4.73 ^a ±0.08	4.53 ^a ±0.20
25	114.7 ^c ±8.07	30.7 ^c ±2.31	24.0 ^c ±0.68	5.28 ^a ±0.17	4.43 ^a ±0.16
20	102.3 ^d ±5.42	27.3 ^c ±2.11	21.7 ^d ±0.41	5.20 ^a ±0.09	4.40 ^a ±0.32
LSD _{0.05}	9.53	2.50	1.91	0.86	0.62

4.2.4. Effect of various foliar fertilizers on growth, yield, and quality of leafy vegetables

The results suggested that the application of MFB promoted the growth of lettuce. Furthermore, the growth time, the number of leaves, canopy diameter, and leaf area index of lettuce plants applied with MFB was comparable to those sprayed with commercial biofertilizers. The plant height of lettuce slightly changed among foliar treatments in the second planting and peaked at 24.3 cm in plants treated with MFB. The yield of lettuce was enhanced by spraying foliar fertilizers at both plantings. The treatment of MFB increased the fresh weight of lettuce. Estimated yields ranged from 33.8 tons per ha to 37.5 tons per ha and actual yields ranged from 21.3 tons per ha to 23.9 tons per ha across foliar treatments. (Table 5).

Mustard spinach growth was also affected by foliar treatments. In the first planting, plant height and leaf area index did not vary between different treatments. In the second planting, plant height, the number of leaves, and leaf area index were similar among foliar treatments and higher than those of the control. Canopy diameter ranged from 27.2 cm (chitosan fertilizer) to 31.7 cm (seaweed fertilizer), compared to 25.4 cm of the control. The highest fresh weight and estimated yield of mustard spinach grown in the first planting were found in those treated with MFB but these results were not reproducible in the second planting (Table 6).

The ascorbic acid of plants grown in the first planting varied from 3.31% (control) to 5.21% (seaweed fertilizer treated).

Table 5. Effect of various foliar fertilizers on the yield and quality of lettuce

Treatment	Fresh weight (g/plant)	Estimated yield (ton/ha)	Actual yield (ton/ha)	Ascorbic acid (%)	Brix (%)
First planting					
MFB	146.7 ^a ± 12.12	37.5 ^a ± 3.23	23.9 ^a ± 1.07	4.59 ^a ± 0.37	5.13 ^a ± 0.27
Chitosan fertilizer	132.3 ^{ab} ± 11.46	35.3 ^a ± 2.39	21.9 ^{ab} ± 1.92	4.77 ^a ± 0.29	5.10 ^a ± 0.13
Seaweed fertilizer	127.3 ^b ± 4.16	33.9 ^a ± 2.67	21.4 ^b ± 1.06	4.87 ^a ± 0.55	4.53 ^b ± 0.15
Control	105.3 ^c ± 5.04	28.0 ^b ± 1.81	17.7 ^c ± 0.84	3.96 ^a ± 0.77	4.27 ^b ± 0.19
LSD _{0.05}	15.17	3.66	2.10	1.92	0.33
Second planting					
MFB	137.7 ^a ± 3.05	34.7 ^a ± 1.55	23.5 ^a ± 1.42	4.77 ^a ± 0.27	5.34 ^a ± 0.34

Chitosan fertilizer	129.6 ^b ± 4.14	34.6 ^a ± 2.01	21.8 ^{ab} ± 1.15	4.68 ^a ± 0.13	4.93 ^a ± 0.15
Seaweed fertilizer	123.0 ^c ± 2.39	33.8 ^a ± 1.79	21.3 ^b ± 1.08	4.72 ^a ± 0.56	5.00 ^a ± 0.09
Control	101.7 ^d ± 1.81	27.1 ^b ± 1.43	17.8 ^c ± 1.41	3.63 ^b ± 0.48	4.96 ^a ± 0.47
LSD _{0.05}	4.92	2.29	1.87	0.88	0.72

Table 6. Effect of various foliar fertilizers on the yield and quality of mustard spinach

Treatment	Fresh weight (g per plant)	Estimated yield (ton per ha)	Actual yield (ton per ha)	Ascorbic acid (%)	Brix (%)
First planting					
MFB	158.0 ^a ±5.55	37.1 ^a ±1.06	26.7 ^a ±1.29	3.92 ^b ±0.61	6.47 ^a ±0.49
Chitosan fertilizer	140.2 ^b ±3.60	32.9 ^b ±1.60	24.4 ^b ±0.76	4.06 ^b ±0.78	6.60 ^a ±0.08
Seaweed fertilizer	136.7 ^b ±6.01	32.1 ^b ±1.42	25.6 ^{ab} ±1.22	5.21 ^a ±0.30	6.67 ^a ±0.34
Control	116.0 ^c ±5.78	27.3 ^c ±0.95	19.2 ^c ±0.87	3.31 ^b ±0.54	6.33 ^a ±0.44
LSD _{0.05}	7.89	1.85	1.75	0.88	1.73
Second planting					
MFB	157.3 ^a ±10.78	37.1 ^a ±2.05	25.4 ^a ±1.75	5.22 ^a ±0.06	6.73 ^a ±0.49
Chitosan fertilizer	146.7 ^a ±12.24	32.9 ^b ±3.32	23.0 ^b ±0.99	5.12 ^a ±0.14	6.82 ^a ±0.35
Seaweed fertilizer	155.6 ^a ±13.42	36.6 ^a ±2.69	25.2 ^{ab} ±1.42	5.73 ^a ±0.45	6.98 ^a ±0.10
Control	117.3 ^b ±9.97	27.5 ^c ±3.02	18.6 ^c ±1.86	5.08 ^a ±0.58	6.07 ^a ±0.38
LSD _{0.05}	17.07	3.61	2.33	0.87	1.05

4.3. Influence of Moringa organic fertilizer on the growth performance of leafy vegetables

4.3.1. Nutrient contents of Moringa organic fertilizer at different incubation periods

Moringa organic fertilizer (MOF) prepared with seven-week was quality best.

Table 7. Effect of incubation periods on the quality of MOF

Treatment	N (%)	P (%)	P ₂ O ₅ (%)	K ₂ O (%)	Organic matter (%)	pH
I1	0.82 ^c ±0.01	2.02 ^a ±0.19	4.62 ^a ±2.05	25.58 ^a ±4.41	6.58 ^a ±1.42	6.27 ^a ±0.03
I2	3.57 ^a ±0.11	3.50 ^a ±0.64	8.00 ^a ±1.90	20.63 ^a ±5.84	11.49 ^a ±4.12	6.13 ^a ±0.02
I3	2.29 ^b ±0.17	3.76 ^a ±1.39	8.61 ^a ±2.42	26.24 ^a ±4.63	8.12 ^a ±0.75	5.88 ^b ±0.17
LSD _{0.05}	0.21	1.75	4.05	8.30	5.09	0.22

The means with similar lower-case letters within columns did not differ significantly at 5% probability. I1: 5 weeks, I2: 7 weeks, I3: 9 weeks. LSD: Least significant difference.

4.3.2. Effect of MOF on the growth, yield and quality of leafy vegetables

In the first planting, 15 to 25 tons of MOF per ha seemed to promote various plant growth parameters of lettuce, including plant height (19.2–20.4 cm), number of leaves (10.7–11.6), canopy diameter (26.7–28.7 cm) and leaf area index (47.6–48.3). In the second planting, the plant growth parameters were similar when MOF application varied from 20 to 30 tons per ha. At both planting times, the fresh mass, theoretical yield, and actual yield of lettuce grown 25 tons of MOF per ha were significantly higher than those grown at 15 and 20 tons of MOF per ha (Table 8).

The mustard spinach plants treated with 20 to 30 tons of MOF per ha showed a significant increase in plant height compared to those treated with 15 tons of MOF per ha (Table 4.20). Mustard spinach grown with 25 tons of MOF per ha produced a higher yield (7 tons/ha) than those grown with 15 tons of MOF per ha (Table 9).

Table 8. Effect of MOF amounts on the yield and quality of lettuce

Treatment	Fresh mass (g per plant)	Theoretical yield (ton per ha)	Actual yield (ton per ha)	Ascorbic acid (%)	Brix (%)
First planting					
R1	100.3 ^b ±6.66	26.7 ^b ±0.63	19.0 ^c ±1.67	2.767 ^a ±0.11	4.93 ^a ±0.31
R2	101.7 ^b ±4.23	27.0 ^b ±1.78	20.3 ^{bc} ±2.01	2.730 ^a ±0.14	4.76 ^{ab} ±0.46
R3	123.3 ^a ±5.04	32.7 ^a ±0.53	23.7 ^a ±1.30	2.741 ^a ±0.30	5.17 ^a ±0.25
R4	125.4 ^a ±6.50	33.0 ^a ±1.34	22.7 ^{ab} ±1.71	2.693 ^a ±0.15	4.90 ^a ±0.32
LSD _{0.05}	7.89	3.12	2.56	0.41	0.39
Second planting					
R1	99.9 ^c ±2.01	25.7 ^c ±0.54	20.8 ^c ±0.42	2.607 ^b ±0.11	4.40 ^b ±0.26
R2	110.0 ^{bc} ±5.29	29.3 ^b ±1.42	22.9 ^{bc} ±1.10	2.770 ^{ab} ±0.23	4.76 ^a ±0.33
R3	122.7 ^a ±4.73	31.7 ^a ±0.67	25.6 ^a ±0.98	2.863 ^a ±0.05	5.10 ^a ±0.36
R4	117.8 ^b ±9.62	30.0 ^{ab} ±0.85	24.5 ^{ab} ±2.00	2.874 ^a ±0.07	4.86 ^a ±0.29
LSD _{0.05}	12.0	2.1	2.5	0.2	0.4

Table 9. *Effect of MOF amounts on the yield and quality of mustard spinach*

Treatment	Fresh mass (g/plant)	Theoretical yield (ton/ha)	Actual yield (ton/ha)	Ascorbic acid (%)	Brix (%)
First planting					
R1	111.0 ^b ±4.17	29.7 ^b ±1.21	19.3 ^b ±0.54	4.1 ^b ±0.66	3.5 ^a ±0.32
R2	121.3 ^b ±5.42	32.0 ^b ±2.12	21.0 ^b ±0.67	5.4 ^a ±0.35	3.4 ^a ±0.17
R3	149.3 ^a ±8.15	39.3 ^a ±0.69	25.7 ^a ±0.47	5.7 ^a ±0.44	4.5 ^a ±0.51
R4	146.0 ^a ±3.67	38.7 ^a ±0.47	25.3 ^a ±0.36	5.3 ^a ±0.51	4.4 ^a ±0.46
LSD _{0.05}	13.68	2.92	2.49	1.18	1.16
Second planting					
R1	108.7 ^b ±2.89	28.7 ^d ±0.96	18.7 ^c ±0.50	4.5 ^b ±0.36	3.9 ^b ±0.33
R2	115.3 ^b ±9.18	32.1 ^c ±0.70	19.6 ^c ±1.51	5.4 ^a ±0.51	4.3 ^b ±0.58
R3	146.1 ^a ±4.78	38.0 ^a ±0.81	25.7 ^a ±0.94	5.7 ^a ±0.57	5.4 ^a ±0.16
R4	136.7 ^a ±2.35	35.3 ^b ±1.05	23.0 ^b ±0.58	5.4 ^{ab} ±0.39	5.2 ^a ±0.29
LSD _{0.05}	11.7	1.9	2.2	0.9	0.6

4.3.3. *Effect of various organic fertilizers on the growth, yield and quality of leafy vegetables*

Furthermore, applying 25 tons of MOF per hectare enhanced the yield and quality of leafy vegetables

- For lettuce fresh mass, theoretical yield and actual yield 25.6 to 25.5 T/ha were higher in MOF treatment than in other treatments (Table 10).

- For mustard spinach MOF had more fresh mass than other organic fertilizers during both planting times. The MOF treatment also produced 25.9 to 26.8 T/ha (actual yield) more than the cow manure treatment (Table 11).

Table 10. *Effect of various organic fertilizers on the yield and quality of lettuce*

Treatment	Fresh mass (g plant ⁻¹)	Theoretical yield (ton ha ⁻¹)	Actual yield (ton ha ⁻¹)	Ascorbic acid (%)	Brix (%)
First planting					
F1	150.0 ^a ±3.05	38.7 ^a ±0.81	25.6 ^a ±1.22	5.2 ^a ±0.22	5.0 ^a ±0.43
F2	133.7 ^b ±2.57	35.6 ^b ±0.39	23.1 ^b ±0.76	5.2 ^a ±0.31	4.7 ^a ±0.49
F3	128.3 ^b ±6.02	33.5 ^b ±2.11	22.1 ^b ±1.18	5.3 ^a ±0.16	5.0 ^a ±0.47
Control	105.0 ^c ±3.78	28.0 ^c ±1.18	18.0 ^c ±1.34	4.3 ^b ±0.56	3.6 ^b ±0.26
LSD _{0.05}	12.31	2.30	1.40	0.6	0.6

Second planting					
F1	145.7 ^a ±3.52	37.4 ^a ±0.53	25.5 ^a ±0.34	5.6 ^a ±0.30	5.1 ^a ±0.10
F2	129.6 ^b ±4.04	34.0 ^b ±0.59	22.8 ^b ±0.73	5.7 ^a ±0.23	5.0 ^a ±0.26
F3	123.5 ^c ±4.92	33.5 ^b ±1.67	21.7 ^b ±1.42	5.7 ^a ±0.29	5.1 ^a ±0.15
Control	101.7 ^d ±5.44	26.2 ^c ±1.26	18.1 ^c ±0.95	4.7 ^b ±0.27	3.9 ^b ±0.49
LSD _{0.05}	5.99	2.12	1.55	0.3	0.2

Table 11. Effect of various organic fertilizers on the yield and quality of mustard spinach

Treatment	Fresh mass (g plant ⁻¹)	Theoretical yield (ton ha ⁻¹)	Actual yield (ton ha ⁻¹)	Ascorbic acid (%)	Brix (%)
First planting					
F1	158.0 ^a ±8.93	38.7 ^a ±0.38	25.9 ^a ±0.51	5.7 ^a ±0.38	4.5 ^a ±1.01
F2	140.3 ^b ±9.14	37.3 ^a ±1.55	23.3 ^b ±11.35	5.6 ^a ±0.56	4.4 ^a ±0.76
F3	136.7 ^b ±7.70	37.0 ^a ±1.97	24.3 ^{ab} ±1.42	5.7 ^a ±0.63	4.5 ^a ±0.95
Control	111.3 ^c ±7.26	28.2 ^b ±1.70	18.4 ^c ±0.98	4.2 ^b ±0.74	3.6 ^b ±2.14
LSD _{0.05}	14.4	2.4	1.8	1.2	1.2
Second planting					
F1	155.0 ^a ±6.39	37.4 ^a ±0.66	26.8 ^a ±0.66	5.5 ^a ±0.19	5.9 ^a ±0.28
F2	138.1 ^b ±4.55	35.3 ^b ±1.87	23.9 ^b ±1.24	5.2 ^a ±0.84	4.7 ^b ±0.74
F3	130.3 ^b ±8.95	34.8 ^b ±1.16	24.1 ^b ±1.28	5.3 ^a ±0.58	5.5 ^a ±0.32
Control	110.4 ^c ±8.04	27.3 ^c ±1.81	19.9 ^c ±0.93	4.4 ^b ±0.60	4.0 ^b ±1.01
LSD _{0.05}	9.4	1.9	1.1	0.7	0.7

4.4. Demonstration of biofertilizer from Moringa residue on lettuce and mustard

4.4.1. Demonstration of Moringa foliar fertilizer on lettuce

The yield in Model 1 using moringa foliar biofertilizer reached 21.32 tons ha⁻¹, which is significantly higher than the farmer's practice (19.45 tons ha⁻¹). This means that Moringa foliar fertilizer has a great influence on the growth characteristics, yield, and quality of lettuce in large-scale production.

4.4.2. Demonstration of Moringa foliar fertilizer on mustard spinach

These explained why the actual yield of mustard spinach was significantly higher in the demonstration model using moringa foliar biofertilizer. We can conclude that MFB applied at a ratio 1: 10 could improve the growth characteristics of lettuce and mustard spinach.

4.5. Demonstration of Moringa organic fertilizer (MOF) on leafy vegetables

4.5.1. Demonstration of Moringa organic fertilizer on lettuce

The yield in model 1 using MOF reached 23.62 tons ha⁻¹, significantly higher than in model 2 (21.22 tons ha⁻¹). Besides higher yield, the quality of lettuce tended to be higher in model 1 than in

model 2. The Brix content were 6.77% and 5.50% the in the two models. Additionally, the vitamin C value model 1 was higher than those in Model 2.

4.5.2. Demonstration of Moringa organic fertilizer on mustard spinach

The yield and quality of mustard spinach in Table 4.33 showed the brix and vitamin C contents in the model using MOF were 6.60% and 8.70%, respectively. These values were significantly higher than those in the farmer practice demonstration. The actual yield of mustard spinach was found 22.54 tons ha⁻¹ and 19.12 tons ha⁻¹ in Model 1 and Model 2, respectively. The differences in actual yield might be due to the differences in fresh weight.

CHAPTER 5. CONCLUSIONS AND RECOMMENDATIONS

5.1. Conclusions

The waterlogged tolerant lines were found to be SPLs 7, 18 and 65. The lines with the highest phenolic contents were SPL 21 (35.6 mg of GAE/g of dry weight), SPL 27 (29.7 mg of GAE/g of dry weight), and SPL 66 (29.2 mg of GAE/g of dry weight), and the lines with the lowest phenolic contents were SPL 15 (5.5 mg of GAE/g of dry weight). The lines with the highest flavonoid contents were SPL 21 (61.6 mg of RE/g of dry weight), SPL 73 (56.7 mg of RE/g of dry weight), and SPL 66 (53.9 mg of RE/g of dry weight), and the lines with the lowest flavonoid contents were SPL 15 (9.1 mg/RE/g of dry weight).

- Moringa residues were fermented using EM product and molasses to produce Moringa foliar biofertilizer (MFB) in four months of composting time.
- Optimal Moringa organic fertilizer (MOF) was obtained after a seven-week incubation period.
- The application of MFB with 100 mL per liter of MFB spray improved the yield of leafy vegetables, which peaked at 23.5-23.9 tons/ha for lettuce and 25.4-26.7 tons/ha for mustard spinach, and produced similar effects compared to the chitosan and seaweed fertilizers. However, MFB promoted the growth and yield of mustard spinach more than the other fertilizer at both plantings.

- Applying 25 tons of MOF per hectare enhanced the yield and quality of leafy vegetables, which peaked at 25.5-25.6 tons/ha for lettuce and 25.9–26.8 tons/ha for mustard spinach. MOF is a promising alternative to cow manure and other commercial bio-organic fertilizers for safe and sustainable vegetable farming.
- Both Moringa foliar biofertilizer (MFB) and Moringa organic fertilizer (MOF) improved yields of leafy vegetables more than chemical fertilizers.

5.2. Recommendations

- Future Moringa breeding should be focused on creating pure breeds from accessions with high waterlogging tolerance (SPLs 7, 18 and 65), and high phenolic and flavonoid contents (SPLs 21, 27, 66 and 73).
- Moringa non-edible parts can make organic fertilizer and foliar biofertilizer to enhance growth, yield, and quality of leafy vegetables.
- Both Moringa foliar Biofertilizer (MFB) and Moringa organic fertilizer (MOF) can be used in organic production of leafy vegetables.
- Large-scale Moringa plantation for biomass production should be considered to provide materials for MFB and MOF production in Thua Thien Hue.

PUBLISHED ARTICLES

1. Chanthanousone, H., Truong, H. T. H., Nguyen, T. T. D., Dang, L. T., Nguyen C. T. K, Tran. T. T. B. (2020). Influence of Moringa organic foliar fertilizer on leafy vegetables in spring crop 2019. *Tạp chí Khoa học Đại học Huế: Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn*, 129 (3B): 81-91. DOI:10.26459/hueuni-jard. v129i3B.5468.

2. Chanthanousone, H., Phan, T. T., Nguyen, C. Q., Nguyen, T. D. T., Dang, L. T., Hoang Ho, N. T., Le Nguyen, B. Q., & Truong, H. T. H. (2022). Influence of foliar application with Moringa oleifera residue fertilizer on growth, and yield quality of leafy vegetables. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*, 10(6): 1453-1461. [https://doi.org/10.18006/2022.10\(6\).1453.1461](https://doi.org/10.18006/2022.10(6).1453.1461).

3. Chanthanousone, H., Phan, T. T., Nguyen, C. Q., Nguyen, T. D. T., Pham, H. T. T., & Truong, H. T. H. (2023). Influence of biofertilizer produced using drumstick (Moringa oleifera L.) unused parts on the growth performance of two leafy vegetables. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*, 11(2): 280-289. [https://doi.org/10.18006/2023.11\(2\).280.289](https://doi.org/10.18006/2023.11(2).280.289).

4. Nguyen, B.L.Q, Chanthanousone, H., Ho, H.N., Ho, N.T.H., Le, M.H.D., Rasphone, S., Nguyen, C.Q., Truong, H.T.H. (2023). Waterlogging tolerance, phenolic and flavonoid contents, and genetic diversity among Moringa oleifera self-pollinated lines. *South African Journal of Botany* 157(2023): 287-296. <https://doi:10.1016/j.sajb.2023.04.012>.