

NGHIÊN CỨU ỨNG DỤNG PHƯƠNG PHÁP NESTED PCR TRONG CHẨN ĐOÁN VIRUT GÂY HỘI CHỨNG ĐỐM TRẮNG Ở TÔM THẺ CHÂN TRẮNG (*Litopenaeus vannamei*) TẠI QUẢNG NINH

Trương Thị Mỹ Hạnh¹, Lê Thị Mây¹, Nguyễn Minh Quân¹,
Phạm Thế Việt², Trương Thị Thành Vinh³, Nguyễn Thị Hương Giang³

TÓM TẮT

Vi rút gây hội chứng đốm trắng (WSSV) là một trong những tác nhân nguy hiểm gây bệnh trên tôm nuôi nước lợ, làm ảnh hưởng lớn đến nghề nuôi tôm công nghiệp trên toàn thế giới. Mặc dù bệnh được phát hiện từ năm 1992 nhưng đến nay vẫn là bệnh gây thiệt hại lớn cho người nuôi. Việc xác định sớm và chính xác sự có mặt tác nhân gây bệnh có ý nghĩa lớn trong việc dập dịch cũng như phòng bệnh cho tôm nuôi. Sử dụng mẫu mô tôm nhiễm vi rút đốm trắng (WSSV), tách chiết bằng 3 bộ kit tách chiết khác nhau và đánh giá chất lượng tách chiết của 3 phương pháp. Tối ưu quy trình PCR bằng cách thay đổi nhiệt độ bắt cặp mỗi theo dải nhiệt độ xác định nhiệt độ bắt cặp mỗi tối ưu. Lựa chọn quy trình PCR được tối ưu nhằm chẩn đoán bệnh WSSV trên tôm thu được tại Quảng Ninh. Kết quả nghiên cứu xác định phương pháp tách chiết theo bộ kit IQ2000-CTAB cho hiệu quả tốt nhất. Phương pháp chuẩn đoán Nested PCR sử dụng cặp mồi 146 với nhiệt độ bắt cặp mỗi 60°C là tối ưu nhất, nồng độ DNA $\geq 0,3 \mu\text{g/ml}$. Xác định được 45/140 mẫu tôm nhiễm đốm trắng.

Từ khóa: Chẩn đoán, tối ưu, WSSV.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Vi rút gây bệnh đốm trắng (White Spot Syndrome Virus, WSSV) trên tôm là một trong những tác nhân gây bệnh nguy hiểm chủ yếu nhất cho tôm nuôi [1]. Bệnh gây ra bởi WSSV được phát hiện từ năm 1992 [2] và nhanh chóng lan rộng ra các nước có nghề nuôi tôm trên thế giới [3]. Dù phát hiện từ năm 1992 tuy nhiên đến nay vẫn chưa khống chế và chủ động kiểm soát được dịch bệnh [4], do bởi sự lây nhiễm bệnh đa dạng bao gồm cả chiều ngang (thông qua môi trường nước, thức ăn...) và chiều dọc từ bố mẹ truyền sang con [5], hơn nữa, vi rút có phổ ký chủ rộng từ các loài thuộc giáp xác (cua, artemia, copepod...), chân chèo đến các động vật chân đốt khác [6].

Đến nay, các công tác phòng ngừa như: tẩy trùng ao nuôi tôm, ngăn cản sự xâm nhập của các sinh vật mang mầm bệnh vào ao nuôi, kiểm soát chất lượng con giống và khuyến cáo như một biện pháp an toàn sinh học [7]. Việc phát hiện sớm và chính xác sự có mặt của tác nhân gây bệnh có vai trò quan trọng trong việc phòng và giảm thiểu rủi ro do bệnh gây ra. Các phương pháp chẩn đoán truyền thống như: Quan sát dấu hiệu bệnh hoặc phương pháp mô bệnh học không thể phát hiện sớm tác nhân gây bệnh. Trong

đó phương pháp PCR được cho là phương pháp tối ưu nhất trong việc phát hiện sớm và chính xác sự có mặt tác nhân gây bệnh trên động vật nuôi thủy sản [8]. Đến năm 2008, hầu hết nông dân ở Ấn Độ đều kiểm tra vi rút WSSV trước khi thả tôm và đạt được hiệu quả cao [9]. Trong chương trình xác định và đánh giá năng lực xét nghiệm tại các phòng thí nghiệm Ấn Độ năm 2017, chỉ 17/24 phòng thí nghiệm vượt qua bài kiểm tra chẩn đoán bệnh WSSV trên tôm [10]. Việc tối ưu hóa quy trình phân tích giúp xác định chính xác tác nhân gây bệnh từ đó làm giảm thiệt hại, nâng cao chất lượng và sản lượng tôm nuôi.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thời gian, địa điểm và vật liệu nghiên cứu

- Địa điểm thu mẫu tại vùng nuôi tôm tập trung thuộc tỉnh Quảng Ninh.

- Thí nghiệm, phân tích mẫu tại Trung tâm Quan trắc Môi trường và Bệnh thủy sản miền Bắc (CEDMA) - Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản 1.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp tách chiết DNA

Ba phương pháp tách chiết DNA khác nhau bao gồm: kit tách chiết DNA do công ty trong nước phân phối, Kit tách chiết DNA do Đài Loan (Trung Quốc) phân phối và Kit tách chiết sử dụng cột Silica do Phòng Bệnh Thủy sản nghiên cứu và tối ưu (CEDMA). Mẫu sau khi tách chiết được kiểm tra nồng độ và độ tinh sạch bằng máy BioSpectrometer của Eppendorf.

¹ Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản 1

² Công ty Cổ phần Đầu tư liên doanh Việt Anh

³ Viện Nông nghiệp và Tài nguyên – Trường Đại học Vinh

Tôm thẻ chân trắng dương tính với vi rút WSSV được đồng nhất và chia 1 g/mẫu, sau đó tách chiết bằng kit của 3 dòng trên.

2.2.2. Nhân gen

Sử dụng các cặp mồi khác nhau để nhân gen, nhằm so sánh đánh giá hiệu quả của các cặp mồi khác nhau cũng như hiệu quả của phương pháp

PCR thường và Nested PCR bao gồm: Đối cặp mồi 336 của Khadijah và cs.(2003) sử dụng phương pháp PCR thông thường; đối cặp mồi 146 (theo TCVN 2019) chi tiết bảng 1 sử dụng phương pháp Nested PCR. Trung tâm CEDMA đã được công nhận chứng chỉ ISO/IEC 17025 với cả hai phương pháp này.

Bảng 1. Thông tin cặp mồi sử dụng

Mồi	Trình tự	Sản phẩm
366-F	5'-GAG ACG TCG CTC ATC AAA GAT GGG GAA G-3'	161 bp
366-R	5'-GAA ACC TGG ACC ATA TTG AAT ACG GCC AG-3'	
WSE/1 (146F1)	5'-ACT-ACT-AAC-TTC-AGC-CTA-TCTAG-3'	1447 bp
WSE/2 (146R1)	5'-TAA-TGC-GGG-TGT-AAT-GTT-CTT-ACG-A-3'	
WSI/3 (146F2)	5'-GTA-ACT-GCC-CCT-TCC-ATC-TCC-A-3'	941 bp
WSI/4 (146R2)	5'-TAC-GGC-AGC-TGC-TGC-ACC-TTG-T-3'	

Thành phần phản ứng được thiết kế chung với thể tích phản ứng 25µl bao gồm 12,5µl mastermix 2X; 9,5 µl H₂O, 0,5 µl primer F và 0,5 µl primer R, 2 µl dịch tách chiết. Sử dụng dải nhiệt độ bất cập dựa

trên hướng dẫn tài liệu tham khảo cũng như phần mềm primer 3, Enzyme được sử dụng là hostataq và chu trình nhiệt sau.

Bảng 2. Chu trình nhiệt cho phản ứng PCR

Số chu kỳ	Cặp mồi sử dụng 336		Nested - PCR	
	Nhiệt độ (°C)	Thời gian	Nhiệt độ (°C)	Thời gian
1	94	15 min	94	15 min
35	94	30 s	94	30 s
	50/55/60	30 s	50/55/60	30 s
	72	40 s	72	1 min

2.2.3. Kiểm tra độ nhạy của quy trình

Dịch đồng nhất mẫu nhiễm WSSV được xác định nồng độ vi rút ban đầu là 10⁶ copies/ml và dùng chiết tách DNA tổng số, pha loãng để có các mẫu có nồng độ DNA tương ứng là 0,6 µg/ml; 0,3 µg/ml; 0,15 µg/ml; 0,075 µg/ml.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Xác định phương pháp tách chiết DNA tổng số

Kết quả kiểm tra định lượng DNA tổng số bằng máy quang phổ Biospectrometer Basic cho thấy nồng độ DNA tách chiết ở 3 phương pháp là khác nhau dựa trên kết quả nồng độ đo trung bình. Kết quả được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Kết quả định lượng và kiểm tra độ tinh sạch DNA

Phương pháp	Tên mẫu	Nồng độ (µg/ml)	OD _{260/280}	OD _{260/230}
Kit trong nước phân phối	1	8,2	1,92	2,04
	2	16,1	1,98	1,98
	3	13,1	1,86	2,15
	4	20,2	1,96	1,89
	5	11,8	1,93	2,08
	6	23,4	1,88	1,73
	7	22,5	1,80	1,33
	8	15,7	1,92	2,16
	9	30,2	1,94	1,98
	10	9,8	2,06	1,56
CEDMA	1	7,4	2,08	0,99

Phương pháp	Tên mẫu	Nồng độ ($\mu\text{g/ml}$)	OD _{260/280}	OD _{260/230}
	2	1,1	2,03	1,08
	3	5,8	2,34	0,77
	4	2,4	1,92	1,06
	5	19,2	2,15	2,17
	6	1,8	1,89	1,09
	7	2,0	2,10	2,16
	8	1,7	1,82	1,13
	9	2,2	1,97	1,16
	10	2,6	2,01	1,12
	Kit Đài Loan	1	69,5	1,97
2		52,5	1,95	2,17
3		69,5	1,97	1,89
4		100,8	1,96	2,18
5		23,3	2,11	2,28
6		9,2	2,02	1,81
7		63,6	1,95	1,83
8		36,8	1,92	1,86
9		18,2	1,92	2,03
10		92	1,95	2,02

Kết quả cho thấy phương pháp tách chiết DNA sử dụng kit Đài Loan (Trung Quốc) có hiệu suất cao nhất.

2. Xác định nhiệt độ bất cặp tối ưu sử dụng cặp mồi

Để có thể xác định nhiệt độ gắn mồi thích hợp cho phản ứng PCR, phản ứng được thực hiện ở các nhiệt độ gắn mồi khác nhau. Phương pháp này khảo sát với mẫu được xác định nhiệt

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14



Hình 1. Kết quả kiểm tra sản phẩm PCR dùng cặp mồi 336

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11



Hình 2. Kết quả kiểm tra sản phẩm Nested PCR lần 2 trên gel agarose 1,5%

Giếng 1 - 4: Nhiệt độ gắn mồi 60°C. 1 - 2 mẫu dương tính, 3 - 4 mẫu âm tính; giếng 6 - 9: Nhiệt độ gắn mồi 55°C, 6 - 7 mẫu dương tính, 8 - 9 mẫu âm

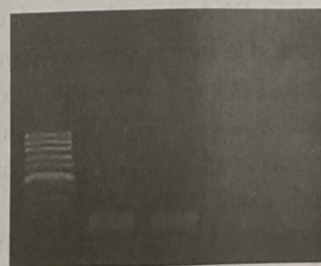
tính; giếng 11 - 14: Nhiệt độ gắn mồi 50°C, 11 - 12 mẫu dương tính, 13 - 14 mẫu âm tính; giếng 5, 10: 100 bp ladder

Giếng 1 - 3: Nhiệt độ gắn mồi 50°C, 1 mẫu dương tính, 2 - 3 mẫu âm tính; giếng 5 - 7: Nhiệt độ gắn mồi 55°C, 5 mẫu dương tính, 6 - 7 mẫu âm tính; giếng 9 - 11: Nhiệt độ gắn mồi 60°C, 9 mẫu dương tính, 10 - 11 mẫu âm tính; giếng 4, 8: 100 bp ladder.

3.3. Đánh giá độ nhạy của hai phương pháp

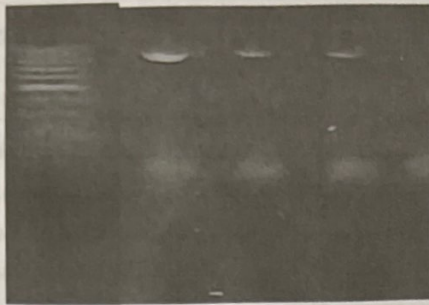
Để có thể xác định độ nhạy của phản ứng, quy trình thử nghiệm với mẫu được pha với hàm lượng DNA khác nhau. Kết quả được thể hiện hình 3, 4.

1 2 3 4 5



Hình 3. Độ nhạy của quy trình PCR đơn dùng cặp mồi 336

Giếng 1: 100 bp ladder; giếng 2: Mẫu nồng độ DNA 0,6 $\mu\text{g/ml}$; giếng 3: Mẫu nồng độ DNA 0,3 $\mu\text{g/ml}$; giếng 4: Mẫu nồng độ DNA 0,15 $\mu\text{g/ml}$; giếng 5: Mẫu nồng độ DNA 0,075 $\mu\text{g/ml}$



Hình 4. Độ nhạy của quy trình Nested PCR sử dụng cặp mồi 146

Giếng 1: 100 bp ladder; giếng 2: Mẫu nồng độ DNA 0,6 µg/ml; giếng 3: Mẫu nồng độ DNA 0,3 µg/ml; giếng 4: Mẫu nồng độ DNA 0,15 µg/ml; giếng 5: Mẫu nồng độ DNA 0,075 µg/ml.

Kết quả cho thấy phương pháp Nested PCR sử

dụng cặp mồi 146 có khả năng xác định vi rút WSSV với nồng độ DNA ở mức 0,15 µl /ml trong khi phương pháp PCR cơ bản sử dụng cặp mồi 336 có nhạy thấp hơn tương ứng 0,3 µl /ml.

3.4. Ứng dụng quy trình trong chẩn đoán mẫu tôm nuôi và vật chủ trung gian thu được tại Quảng Ninh

Từ kết quả tối ưu hóa quy trình chẩn đoán vi rút WSSV trong mẫu bệnh, đã đề xuất phương pháp tách chiết DNA sử dụng kit Đài Loan (Trung Quốc), nồng độ DNA dùng cho phản ứng từ 0,15 µg /ml sử dụng phương pháp Nested PCR với cặp mồi 146 cho chẩn đoán bệnh, chu trình nhiệt như sau: 94°C (15 min), 94°C (30 s), 60°C (30 s), 72°C (40 s), 72°C (5 min), 4°C (∞). Kết quả phân tích sản phẩm PCR của các mẫu tôm được thể hiện tại bảng 4.

Bảng 4. Kết quả phân tích các mẫu tôm

Thời gian	Tổng (mẫu)	Kết quả PCR (mẫu)		Tỷ lệ nhiễm (%)
		(-)	(+)	
Tháng 5/2019	22	6	16	72,73
Tháng 6/2019	24	2	22	91,67
Tháng 8/2019	28	25	3	10,71
Tháng 10/2019	34	34	0	00,00
Tháng 11/2019	32	28	4	12,50

Ghi chú: +: Mẫu dương tính; - Mẫu âm tính

Kết quả phân tích xác định 45/140 mẫu dương tính với vi rút WSSV. Quy trình nested PCR có thể phát hiện WSSV trên tôm thẻ chân trắng, đoạn mồi phù hợp có thể khuếch đại đoạn gen đặc trưng của WSSV.

3.5. Thảo luận

Phương pháp PCR được ứng dụng từ lâu trong chẩn đoán bệnh trên các đối tượng khác nhau do tính ưu việt so với các phương pháp truyền thống. Tuy nhiên, không nhiều nghiên cứu so sánh các phương pháp tách chiết DNA khác nhau sử dụng trên cùng một nền mẫu, đặc biệt là trên đối tượng thủy sản. Mỗi mô bệnh khác nhau có đặc trưng riêng, trong đó cơ quan đích của vi rút WSSV trên tôm thẻ chân trắng là mang, chân bơi. Mang, chân bơi tôm với cấu tạo chủ yếu là chitin [10] vì vậy việc xác định phương pháp tối ưu tách chiết DNA từ tôm nhằm chẩn đoán WSSV là thực sự cần thiết. 3 phương pháp sử dụng trong nghiên cứu được hướng dẫn tách chiết DNA tổng số phù hợp cho đối tượng thủy sản, tuy nhiên chỉ 1 phương pháp đạt hiệu suất cao nhất.

Đề xuất cho các phương pháp chẩn đoán bệnh đốm trắng trên tôm do WSSV cũng như nghiên cứu

sau này tại Việt Nam sử dụng nhiệt độ bắt cặp mồi cho đoạn mồi là 60°C.

Kết quả chẩn đoán bệnh WSSV trên tôm thẻ chân trắng tại Quảng Ninh cho thấy thời điểm tháng 5 đến tháng 8 là thời gian phát hiện mẫu dương tính với tỷ lệ nhiễm cao, kết quả này tương đồng với báo cáo quan trắc giám sát của CEDMA. Do thời gian này là cuối của vụ 1 trong năm với mật độ tôm dày, thời tiết nắng nóng và thường xuyên xảy ra mưa giông làm dịch bệnh dễ bùng phát hơn. Vì vậy khuyến cáo các đợt giám sát dịch bệnh tôm nên diễn ra sớm hơn và thường là từ khi bắt đầu vụ nuôi.

4. KẾT LUẬN

Quy trình Nested PCR phát triển phù hợp với điều kiện thực tế phòng thí nghiệm, các thành phần hóa chất thực hiện tại Phòng thí nghiệm Trung tâm Quan trắc Môi trường và Bệnh thủy sản miền Bắc. Quy trình phát hiện WSSV từ đối tượng tôm thẻ chân trắng sử dụng bộ kit tách chiết của Đài Loan, sử dụng phương pháp Nested PCR với cặp mồi 146, nồng độ DNA từ 0,15 µg/ml với nhiệt độ bắt cặp mồi tối ưu 60°C. Quy trình tối ưu này sử dụng cho mẫu tôm thẻ chân trắng thu được tại Việt Nam.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Chou, H. V., C. Y. Huang, C. F. Lo and G.H. Kou (1998). Studies on transmission of white spot syndrome associated baculovirus (WSBV) in *Penaeus monodon* and *P. japonicus* via water borne contact and oral ingestion. *Aquaculture* 164: 263-276.
2. Chou HY, Huang CY, Wang C-H, H.C. C, Lo CF (1995). Pathogenicity of a baculovirus infection. *Diseases of Aquatic Organisms* 23(3): 165-173.
3. Rajan PR, Ramasamy P, Purushothaman V, Brennan GP (2000). White spot baculovirus syndrome in the Indian shrimp *Penaeus monodon* and *P. indicus*. *Aquaculture* 184: 31-44.
4. Kou GH, Peng SE, Chiu YL, Lo CF (1998). Tissue distribution of white spot syndrome virus (WSSV) in shrimp and crabs. In: Flegel TW (ed) *Advances in shrimp biotechnology*. National center for genetic engineering and biotechnology, Bangkok, p 267-271.
5. Durand SV, Lightner DV (2002). Quantitative real time PCR for the measurement of white spot syndrome virus in shrimp. *J Fish Diseases* 25:381-389.
6. Ramirez-Douriet C, De Silva-Davila R, Mendez-Lozana J, Escobedo-Urias D, Leyva- Arana I, Lopez-Meyer M (2005). White spot syndrome virus detection in zooplankton of coastal lagoons and shrimp commercial ponds in Sinaloa, Mexico 135th Annual Meeting of the merican Fisheries Society, Anchorage, Alaska.
7. Rajendran, K. V., K. K. Vijayan, T. C. Santiago and R. M. Krol (1999). Experimental host range and histopathology of hite spot syndrome virus (WSSV) infection in shrimp, prawns, crabs and lobsters from India. *J. Fish Dis.* 22:183-191.
8. Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 8377: 2010 tôm và sản phẩm tôm - phát hiện virus gây bệnh đốm trắng (WSSV) bằng kỹ thuật phản ứng chuỗi trùng hợp (PCR).
9. S V Alavandi, R Ananda Bharathi, S Satheesh Kumar, N Dineshkumar, C Saravanakumar, J Joseph Sahaya Rajan (2015). Tangential Flow Ultrafiltration for Detection of White Spot Syndrome Virus (WSSV) in Shrimp Pond Water.
10. Bruce e. felgenhauer (1992) *Internal Anatomy of the Decapoda: An Overview*. *Microscopic Anatomy of Invertebrates Volume 10*: 45-75.

MICROBIAL AGENTS IN TILAPIA (*OREOCHROMIS SP.*) IN SOME NORTHERN PROVINCE 2017-2021

Truong Thi My Hanh¹, Nguyen Thi Hanh¹, Nguyen Minh Quan¹, Le Thi May¹, Nguyen Thi Nguyen¹,

Phan Trong Binh¹, Truong Thi Thanh Vinh², Phan Thị Van¹

¹Research Institute for Aquaculture 1

² School of Agriculture and natural Resource, Vinh University

Summary

The white spot syndrome virus (WSSV) is one of the dangerous pathogens in brackish water shrimp farming, which has a major impact on industrial shrimp farming worldwide. Although the disease was discovered in 1992, it is still a disease-causing great damage to farmers. The early and accurate identification of the presence of a pathogen is of great importance in the elimination and prevention of shrimp diseases. Using samples of white shrimp infected with white spot virus (WSSV), extracting by 03 different extraction kits and assessing the extraction quality of 03 methods. Optimize the PCR process by changing the priming temperature according to the temperature range to determine the optimal priming temperature. The selection of an optimal PCR procedure for the diagnosis of WSSV in shrimp was obtained in Quang Ninh. The research results determine the extraction method according to the IQ2000-CTAB kit for the best effect. The Nested PCR diagnostic method uses primer 146 with 60°C primer temperature as the best, DNA concentration $\geq 0.3 \mu\text{g/ml}$. 45/140 samples of white spot shrimp were identified.

Keywords: *Tilapia, bacteria, Northern Vietnam.*

Người phản biện: PGS. TS. Cù Hữu Phú

Ngày nhận bài: 5/8/2022

Ngày thông qua phản biện: 22/8/2022

Ngày duyệt đăng: 29/8/2022

ISSN 1859-4581

Tap chí

NÔNG NGHIỆP & PHÁT TRIỂN NÔNG THÔN

*Science and Technology Journal
of Agriculture & Rural Development*

MINISTRY OF AGRICULTURE AND RURAL DEVELOPMENT, VIETNAM

Chuyên đề

**NÔNG NGHIỆP VÀ TÀI NGUYÊN
TRONG XU THẾ CHUYỂN ĐỔI SỐ**
BỘ NÔNG NGHIỆP VÀ PHÁT TRIỂN NÔNG THÔN

Tháng 10

2022

- TẠ THỊ BÌNH, NGUYỄN ĐÌNH VINH, TRẦN THỊ KIM NGÂN. Xác định khẩu phần ăn cá măng (*Chanos chanos* Forsskal, 1775) trong nuôi ghép với tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei* Boone, 1931) 120-126
- LÂM THỊ HUYỀN TRÂN, ĐÌNH MINH QUANG. Tổng quan về cá bống lưng cao (*Butis koilomatodon* (Bleeker 1849)) ở vùng cửa sông ven biển đồng bằng sông Cửu Long 127-133
- PHAN HOÀNG GIỀM, ĐÌNH MINH QUANG. Đặc điểm di truyền, sinh học và sinh thái học của các loài cá bống cá thuộc giống *Glossogobius* ở đồng bằng sông Cửu Long 134-144
- LÊ MINH HẢI, TRƯƠNG THỊ THÀNH VINH, HOÀNG THỊ MAI, TRẦN ANH TUẤN. Một số dẫn liệu về cá biển và động vật thân mềm ở vùng biển xung quanh đảo ngư và đảo mắt Nghệ An 142-150
- TRƯƠNG THỊ MỸ HẠNH, LÊ THỊ MÂY, NGUYỄN MINH QUÂN, PHẠM THẾ VIỆT, TRƯƠNG THỊ THÀNH VINH, NGUYỄN THỊ HƯƠNG GIANG. Nghiên cứu ứng dụng phương pháp Nested PCR trong chẩn đoán virus gây hội chứng đốm trắng ở tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) tại Quảng Ninh 153-160
- TRƯƠNG THỊ MỸ HẠNH, NGUYỄN THỊ HẠNH, NGUYỄN MINH QUÂN, LÊ THỊ MÂY, NGUYỄN THỊ NGUYỄN, PHAN TRỌNG BÌNH, TRƯƠNG THỊ THÀNH VINH, PHAN THỊ VÂN. Tác nhân vi sinh vật ở cá phi (*Oreochromis* sp.) tại một số tỉnh phía Bắc từ 2017 - 2021 158-165
- ĐẶNG HỒNG QUYÊN, TÔ HỮU DƯƠNG, ĐỖ THỊ THU HƯỜNG, NGUYỄN THỊ THANH HẢI. Ảnh hưởng của việc bổ sung chế phẩm nano thảo dược đến sức sản xuất thịt và khả năng kháng bệnh của gà F1 (Mía x Luro Phụng) 164-171
- NGUYỄN THỊ THANH, PHẠM MỸ DUNG, VI THỊ TRANG. Tình hình mắc bệnh viêm tử cung trên heo nái huyện Buôn Đôn, tỉnh Đắk Lắk và các biện pháp phòng trị 171-178
- VŨ THỊ HẠNH NGUYỄN, LÊ PHƯƠNG CHI, PHẠM QUỲNH ANH, QUÁCH NGỌC TÙNG, NGUYỄN VĂN THẾ, NGUYỄN THỊ THANH LỢI, PHÍ QUYẾT TIẾN. Tuyển chọn chủng *Bacillus* sp. có khả năng phân giải Cyanua nhằm sản xuất thức ăn chăn nuôi từ bã sắn 176-183
- HOÀNG THỊ MAI, LÊ MINH HẢI, TẠ THỊ BÌNH, HỒ THỊ DUNG, TRẦN THỊ CÚC. Xác định mức năng lượng trao đổi và protein thô thích hợp trong khẩu phần cho lợn nái xao và chửa kỳ 2 và nuôi con 184-191
- NGUYỄN TÂN THÀNH, ĐÀO THỊ THANH XUÂN, LÊ THỊ MỸ CHÂU, NGUYỄN VĂN HÙNG, ĐÌNH THỊ KIM HẢO. Tối ưu hóa quá trình trích ly siêu âm Polysaccharide từ tảo xoắn *Spirulina* 191-198
- TRẦN VIỆT CƯỜNG, PHẠM QUANG HÀ, TRẦN THỊ TUYẾN. Chuyển đổi số và nhu cầu nguồn nhân lực trong nông nghiệp và phát triển nông thôn 196-203
- HOÀNG ANH THẾ, NGUYỄN QUANG KHÁNH. Khảo sát độ chính xác của công nghệ UAV trong việc thu thập bản đồ địa hình vùng đồi núi 201-208
- HOÀNG THỊ THÚY, VÕ THỊ THU HÀ, TRẦN THỊ TUYẾN, NGUYỄN THỊ THÚY HÀ, TRẦN ĐÌNH DU, TRẦN VĂN LƯƠNG, ĐẬU KHẮC TÀI. Xác định giá trị dịch vụ một số hệ sinh thái tại lưu vực sông Lam 208-215
- PHAN THỊ QUỲNH NGA, PHAN HỒNG NGHĨA. Nghiên cứu ảnh hưởng của mức nạp tải thủy lực đến năng suất xử lý BOD₅, NH₄⁺, PO₄³⁻ của hệ thống đất ngập nước nhân tạo chảy ngầm theo phương ngang sử dụng cây lác Hén 214-221
- BUI THỊ PHƯƠNG LOAN, PHẠM QUANG HÀ. Nghiên cứu sự biến đổi các bon hữu cơ trong đất cát biển ven Bắc Trung bộ ở một số cơ cấu canh tác theo kịch bản biến đổi khí hậu 218-225
- NGUYỄN THỊ THÚY, TRẦN NGỌC LÂN. Sự phát triển Synnemata của nấm *Isaria tenuipes* (Peck.) Sams trên nhộng tằm dâu *Bombyx mori* Linnaeus 224-231
- PHẠM DUY TRÌNH, ĐÀO THỊ MINH HIỀN, CAO ĐỖ MƯỜI, LÊ THỊ QUYÊN, TRẦN THỊ DUYÊN VÀ CỘNG SỰ. Sử dụng chế phẩm sinh học tăng khả năng ra hoa đậu quả cho cây hồng Nam Đàn 231-238
- PHẠM THỊ TÂM, LÊ MINH HẢI, NGUYỄN THỊ THU HIỀN. Phân lập *Tilapia lake virus* (Tilv) và xác định một số đặc điểm bệnh lý ở cá rô phi cảm nhiễm 238-245
- ĐỖ THỊ TÀI THU, VÕ THỊ THU HÀ. Ứng dụng GIS thành lập bản đồ đơn vị đất đai khu vực 3 huyện ngoại thành phía Tây Nam Hà Nội 245-252
- VÕ THỊ THU HÀ, TRẦN ĐÌNH DU. Thực trạng sử dụng đất tập trung, quy mô lớn, ứng dụng công nghệ cao trong sản xuất nông nghiệp tại huyện Nghi Lộc, tỉnh Nghệ An 253-260
- PHAN VĂN DŨNG, TRẦN HẬU THÌN, TRẦN VĂN ĐÔNG, NGUYỄN THỊ ÁNH VÂN. Đa dạng thực vật tại Khu Bảo tồn loài và sinh cảnh Vọoc mũi hếch Khu Ca thuộc Vườn quốc gia Du Già - Cao nguyên đá Đong Vài tỉnh Hà Giang 261-268