

RAPID DETECTION OF THE SRI LANKAN CASSAVA MOSAIC VIRUS CAUSING DISEASE FROM CASSAVA STEM IN THE SOUTHEAST PROVINCES OF VIETNAM BY REAL-TIME PCR METHOD

Nguyen Thanh Luan*, Nguyen Thi Ngoc Cham, Pham Van Loc, Trinh Thi Huong

Ho Chi Minh City University of Industry and Trade

ARTICLE INFO		ABSTRACT
Received:	14/4/2025	The Sri Lanka cassava mosaic virus is a harmful pathogen that significantly impacts the yield and quality of cassava. This virus is characterized by rapid spread and currently there is no specific treatment. In this study, cassava cuttings showing symptoms of virus infection were collected at four locations in the Southeast provinces. The study employed the CTAB - SDS method to extract and collect the ssDNA content of the Sri Lankan cassava mosaic virus. At the same time, the Real-Time PCR method with specific primers (5F/5R) was used to identify the expression of the protein AV1 and quickly determine the viral load in infected samples. The results indicated that the virus was detected after 22.6 cycles (Ct) with a viral concentration of 4.3×10^3 IU/ml. This result opens up the prospect of assessing the risk of virus disease from early stages to minimize risks in Vietnam's agricultural production in the future.
Revised:	25/8/2025	
Published:	25/8/2025	
KEYWORDS		
Sri lankan cassava mosaic		
Cassava stem		
Real-Time PCR		
Protein AV1		
Viral loading		

XÁC ĐỊNH NHANH TẢI LƯỢNG GÂY BỆNH CỦA SRI LANKAN CASSAVA MOSAIC VIRUS TỪ HOM MÌ BỆNH TẠI MỘT SỐ KHU VỰC TRÊN ĐỊA BÀN CÁC TỈNH MIỀN ĐÔNG NAM BỘ, VIỆT NAM BẰNG PHƯƠNG PHÁP REAL-TIME PCR

Nguyễn Thành Luân*, Nguyễn Thị Ngọc Châu, Phạm Văn Lộc, Trịnh Thị Hương

Trường Đại học Công Thương Thành phố Hồ Chí Minh

THÔNG TIN BÀI BÁO		TÓM TẮT
Ngày nhận bài:	14/4/2025	Chủng virus khảm lá sắn Sri Lanka là một chủng virus nguy hiểm, gây ra những ảnh hưởng nghiêm trọng đến năng suất và chất lượng cây sắn, đây là loại virus có đặc điểm lây lan rất nhanh và hiện nay chưa có thuốc đặc trị. Trong nghiên cứu này, các mẫu hom sắn có biểu hiện triệu chứng bị nhiễm virus được thu thập tại 04 địa điểm thuộc khu vực các tỉnh miền Đông Nam Bộ. Nghiên cứu đã sử dụng phương pháp CTAB – SDS để tách chiết thu hàm lượng ssDNA của virus. Đồng thời, phương pháp Real-Time PCR với cặp mồi đặc hiệu (5F/5R) được sử dụng để nhận diện sự biểu hiện của vùng protein AV1 và xác định nhanh tải lượng virus gây bệnh trên các mẫu nhiễm bệnh. Kết quả cho thấy, virus được phát hiện sau 22,6 chu kỳ (Ct) với nồng độ virus gây bệnh là $4,3 \times 10^3$ IU/ml. Kết quả này mở ra triển vọng có thể đánh giá được nguy cơ gây bệnh của virus từ những giai đoạn sớm nhằm giảm thiểu rủi ro trong nền sản xuất nông nghiệp Việt Nam trong tương lai.
Ngày hoàn thiện:	25/8/2025	
Ngày đăng:	25/8/2025	
TỪ KHÓA		
Sri Lankan cassava mosaic virus		
Hom sắn		
Real-Time PCR		
Protein AV1		
Tải lượng virus		

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.12577>

* Corresponding author. Email: luannt@huit.edu.vn

1. Giới thiệu

Sắn (*Manihot esculenta* Crantz) là loại cây trồng nhiệt đới có nguồn gốc từ Nam Mỹ, là cây lương thực chính ở nhiều quốc gia với tổng diện tích canh tác trên toàn cầu là 18,6 triệu ha. Trong đó, châu Á và châu Phi chiếm 70% tổng diện tích trồng sắn trên thế giới [1], tại Việt Nam sắn đã dần chuyển đổi vai trò từ cây lương thực thành cây công nghiệp, là nguồn nguyên liệu thô phục vụ các ngành công nghiệp, đặc biệt là công nghiệp chế biến như: sản xuất tinh bột, bánh kẹo và một số chế phẩm sinh học khác, sản xuất sắn là nguồn thu nhập quan trọng tại các vùng nông nghiệp trồng sắn [2]. Sắn thường được nhân giống bằng phương pháp giâm hom, việc sử dụng các đoạn hom này giúp duy trì các đặc tính di truyền tốt của cây mẹ, đảm bảo năng suất và chất lượng của vụ mùa sau. Tuy nhiên phương pháp này sẽ có ảnh hưởng đến chất lượng của cây trồng, có thể mang mầm bệnh tích tụ trong quá trình sinh trưởng và phát triển của cây mẹ và lây truyền sang cây con [3]. Từ năm 2017 đến nay, ngành trồng sắn đang phải đối mặt với thách thức lớn từ sự xuất hiện của các loại sâu bệnh hại, đáng lo ngại nhất là bệnh khảm lá (CMD) do Sri Lanka cassava mosaic virus (SLCMV) gây ra [4]. SLCMV không chỉ truyền bệnh qua vật trung gian là bọ phấn trắng (*Bemisia tabaci*), mà còn được phát tán qua các phương tiện cơ học như ghép cành và giâm cành để nhân giống, thời gian chu kỳ canh tác cũng tạo điều kiện thuận lợi cho sự lây lan của virus, điều này dẫn đến sự tích tụ trong cây trước khi biểu hiện triệu chứng bệnh ra bên ngoài. Ngoài ra mức độ biểu hiện của bệnh còn phụ thuộc vào nhiều yếu tố như: chủng virus, mức độ tấn công của virus, tuổi của cây, điều kiện môi trường. Điều đáng lo ngại là loại virus này có đặc điểm lây nhiễm nhanh trên diện rộng, rất khó kiểm soát và không có thuốc đặc trị, gây ra thách thức lớn trong việc phát hiện và kiểm soát bệnh [5].

Sri Lankan cassava mosaic virus thuộc chi *Begomovirus*, họ *Geminiviridae* [5]. SLCMV có vật liệu di truyền là 2 phân tử DNA mạch đơn (single strand DNA-ssDNA) dạng vòng (DNA-A và DNA-B) có kích thước khoảng 2,7kb. Trong đó, DNA-B mã hóa cho 2 protein BC1 và BV1 liên quan đến quá trình vận chuyển bên trong và ngoại bào và tăng khả năng xâm nhiễm của virus, DNA-A mã hóa cho vùng protein vỏ AV1 có chức năng quan trọng trong quá trình xâm nhiễm và lây truyền [6]. Vùng protein này có liên quan đến việc lây truyền virus qua vật trung gian, giúp virus bám dính và xâm nhập vào cơ thể bọ phấn trắng, sau đó lây truyền qua vật trung gian. Ngoài ra, với tính đặc hiệu và bảo tồn tương đối cao, trong các phương pháp sinh học phân tử thường sử dụng protein này thiết kế các đoạn primer mục tiêu giúp tăng độ tin cậy và chính xác hơn phát hiện virus SLCMV [7].

Nghiên cứu này đã sử dụng phương pháp Real-Time PCR nhằm xác định tải lượng gây bệnh của SLCMV. Real-Time PCR được đánh giá có nhiều ưu điểm vượt trội với độ nhạy cao có khả năng phát hiện virus SLCMV ngay từ những giai đoạn đầu nhiễm bệnh lượng virus có trong vật liệu còn thấp. Không chỉ phát hiện sự hiện diện của virus, phản ứng Real-Time PCR còn cho phép định lượng chính xác tải lượng virus có trong mẫu dựa trên sự khuếch đại của vùng gene mục tiêu tại mỗi chu kỳ (chu kỳ ngưỡng Ct) [8]. Kết quả phản ứng với chu kỳ Ct càng thấp được biểu thị nồng độ virus càng cao và ngược lại Ct càng cao được đánh giá nồng độ virus càng thấp [9]. Việc xác định nhanh và chính xác tải lượng virus SLCMV giúp kiểm soát được mầm bệnh ngay từ những giai đoạn sớm giảm thiểu rủi ro trong sản xuất nông nghiệp, mở ra nhiều triển vọng tích cực cho nền nông nghiệp Việt Nam, góp phần bảo vệ sản xuất nông nghiệp, nâng cao hiệu quả sản xuất và nâng cao giá trị nông sản [10].

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu

Mẫu hom sắn được thu nhận tại ruộng sắn ở Bình Chánh (BC), Hóc Môn (HM), Củ Chi (CC) (Thành phố Hồ Chí Minh) và Tân Châu, tỉnh Tây Ninh (TN). Mẫu hom sắn nhiễm bệnh sau khi chọn lọc được thu nhận lớp vỏ bên ngoài, sau đó xử lý bằng nitor lỏng và được bảo quản ở nhiệt độ -20°C đến khi được sử dụng.

2.2. Phương pháp tách chiết DNA

Mẫu vỏ hom sản với khối lượng 2 g được nghiền mịn và trộn đều với 1200μL buffer CTAB [Tris – HCl 100 mM, pH 8,0, EDTA 20 mM pH 8, NaCl 1,4M, PVP 1% (w/v), CTAB 2% (w/v)] và 60μL SDS, ủ ở 65 °C trong 30 – 60 phút. Dịch hỗn hợp được ly tâm ở 13000 vòng/phút trong 15 phút và thu dịch nổi với một thể tích tương ứng (1:1) phenol - chloroform - isoamyl alcohol (25:24:1) được bổ sung và trộn đều. Dịch nổi được thu nhận phía trên và trộn đều với isopropanol tỷ lệ 1:1 và ly tâm 13000 vòng/phút trong 15 phút. Phần tủa được giữ và rửa lại bằng dung dịch ethanol 70%. Sản phẩm DNA sau khi tủa được hòa tan và trữ trong đệm TE 1X (Tris – HCl 10mM pH 8, EDTA 1mM, pH 8) ở -20 °C cho đến khi sử dụng [9].

2.3. Phương pháp PCR và giải trình tự gen mang chủng virus SLCMV

Phản ứng PCR được thực hiện trên tổng thể tích 25μL, bao gồm: 1μL DNA mẫu, 1μL cặp mồi được trình bày trong Bảng 1, 12,5 μL Master Mix 2X (Meridian Bioscience – Bioline), 0,5 μL Rnase, 0,5 μL dNTP, 4,5 μL nước cất vô trùng. Chu kỳ phản ứng được thực hiện như sau: 95°C trong 5 phút, 30 chu kỳ (95 °C 30 giây, 55 °C 30 giây, 72 °C 30 giây), 72 °C trong 5 phút [10]. Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 0,8% (w/v) trong đệm Tris – acetate – EDTA (TAE) 1X [11]. Sản phẩm PCR được bổ sung GelRed Loading Buffer with TriColor 6X và điện di ở 100 V trong 30 phút, quan sát kết quả dưới ánh sáng UV.

Bảng 1. Các trình tự primer đặc hiệu được dùng trong phản ứng PCR và Real-Time PCR

Tên trình tự	Trình tự (3'→5')	Nhiệt độ bắt cặp	Kích thước dự kiến
mtCOI – 4F	ACG CCA GGT CTG AGG CTG TA	55°C	200bp
mtCOI – 4R	GTT CAA CAG GCC GTG GGA CA		
AV1 – 5F	TGGTCAGTATGCGAGCAAGG		
AV1 – 5R	GAGGCATGAGTACACGCCAT		

(Nguồn: Các trình tự mồi sử dụng được thiết kế bởi nhóm tác giả bằng Primer3plus) tính đặc hiệu của mồi được xác nhận bằng Primer-BLAST

2.4. Xác định nhanh tải lượng gây bệnh của virus SLCMV bằng phương pháp Real-Time PCR

Phản ứng Real-time PCR nhằm phát hiện nhanh SLCMV dựa trên hỗn hợp chất phát huỳnh quang SYBR Green Lo ROX qPCR Master Mix (2X) K0221 Bioline, mẫu đối chứng âm là mẫu hom không có biểu hiện bệnh, đối chứng dương là mẫu sản mang bệnh đã được giải trình tự bằng phương pháp Sanger và so sánh độ tương đồng với các chủng đã được phân lập trên cơ sở dữ liệu của công cụ BLAST từ National Center for Biotechnology Information (NCBI là 100% (accession number LC312131.1). Phản ứng này được thực hiện trong thể tích 25 μL hỗn hợp bao gồm 2 μL DNA mẫu; 1 μL cặp mồi (2 μM mỗi mồi); 12,5 μL Master Mix (2X); 9,5 μL nước cất vô trùng. Điều kiện phản ứng: 95°C trong 5 phút, tiếp theo là 40 chu kỳ 95°C 30 giây, 55°C 30 giây, đọc tín hiệu huỳnh quang ở 60°C [7] Phản ứng Real-time PCR được xuất kết quả thô và phân tích chất lượng cũng như hiệu chuẩn dữ liệu bằng phần mềm QuantStudio 3/5 Real-Time PCR Software (QuantStudio 3/5 Real-Time PCR Software | Thermo Fisher Scientific - VN). Từ kết quả nhận được tiến hành xây dựng đường chuẩn nồng độ với phương trình đường thẳng $C_t = a \log_{10}(\text{nồng độ}) + b$ (Hình 4). Từ đó thay vào công thức (1) xác định được nồng độ gây bệnh của SLCMV ở các địa chỉ thu nhận mẫu (Bảng 2).

$$\text{Nồng độ (IU/mL)} = \frac{KQ \times V_{DNA}}{V_{mẫu}} \quad (1)$$

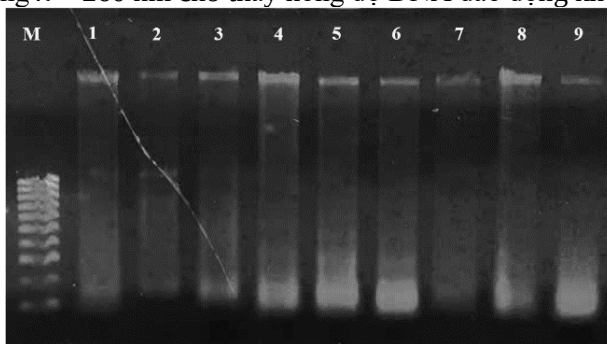
Trong đó:

- Nồng độ (UI/mL): nồng độ DNA virus gây bệnh trong 1 mL mẫu
- KQ: kết quả xuất ra từ máy
- V_{DNA} : thể tích DNA thu được sau tách chiết (μL)
- $V_{mẫu}$: thể tích mẫu sử dụng cho tách chiết (μL).

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Kết quả tách chiết DNA từ mẫu hom sẵn

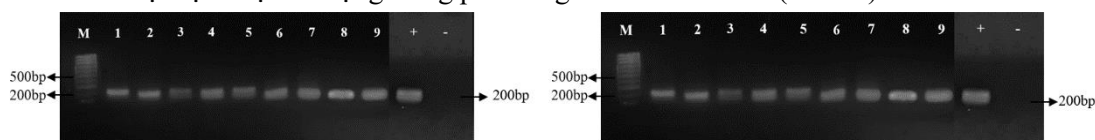
Kết quả tách chiết DNA được kiểm tra bằng phương pháp điện di trên gel agarose 0,8%. Dựa trên hình điện di, kết quả cho thấy tách chiết được DNA tổng số của 9 mẫu, các giếng DNA có băng vạch sáng và rõ ràng. Tuy nhiên, DNA còn chứa nhiều RNA và có dấu hiệu bị đứt gãy (Hình 1). Bên cạnh đó, hàm lượng DNA được xác định bằng máy Nanorop one (Thermo scientific) với bước sóng $\lambda = 260$ nm cho thấy nồng độ DNA dao động khoảng 600 – 800 ng/ μ L.



Hình 1. Kết quả điện di kiểm tra sản phẩm DNA tổng số từ mẫu hom sẵn
Trong đó: M: thang DNA 1kb; 1-3: Bình Chánh (1: BC1, 2: BC2, 3: BC3),
4-5: Hóc Môn (4: HM1, 5: HM2); 6-8: Củ Chi (6: CC1, 7: CC2, 8: CC3), 9 Tây Ninh

3.2. Kết quả phản ứng PCR nhận diện sự có mặt của SLCMV trên mẫu hom sẵn

Kiểm tra kết quả sản phẩm PCR trên gel agarose 0,8% cho thấy, 2 cặp primer mtCOI /4F4R và AV1/5F5R đều khuếch đại được DNA mục tiêu với hầu hết tất cả các mẫu đúng với kích thước dự kiến là 200bp, điều này chứng minh rằng trong mẫu có chứa ssDNA của virus. Tuy nhiên, cặp primer AV1/5F5R có bands vạch điện di sáng và rõ hơn. Do đó, cặp primer AV1/5F5R được lựa chọn sử dụng trong phản ứng Real-Time PCR (Hình 2).

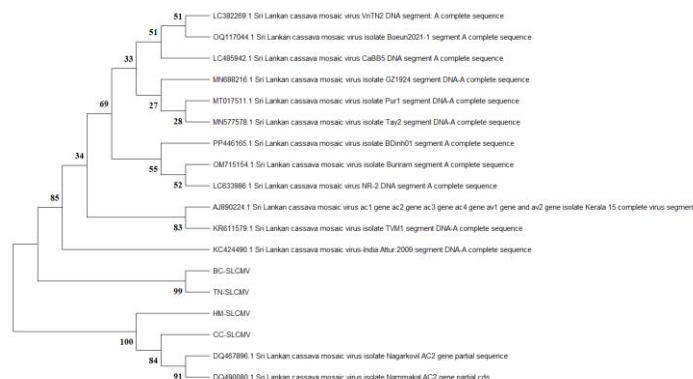


Hình 2. Phản ứng PCR nhận diện virus SLCMV trên mẫu hom sẵn
Trong đó: (A): Kết quả khuếch đại DNA mục tiêu với cặp mồi mtCOI/4F4R;
(B): Kết quả khuếch đại DNA mục tiêu với cặp mồi AV1/5F5R

M: thang DNA 100bp; 1-3: Bình Chánh (1: BC1, 2: BC2, 3: BC3), 4-5: Hóc Môn (4: HM1, 5: HM2);
6-8: Củ Chi (6: CC1, 7: CC2, 8: CC3), 9: Tây Ninh, (+): Đối chứng dương, (-): Đối chứng âm

3.3. Giải trình tự xác định nguồn gốc của SLCMV

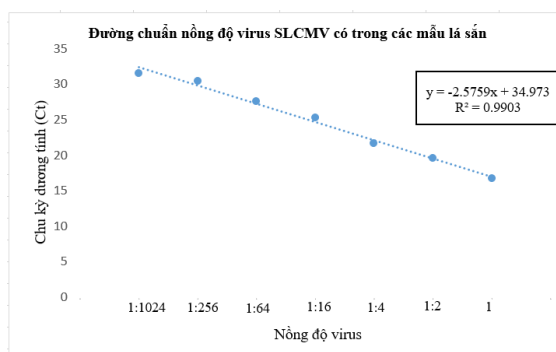
Để xác định tính đặc hiệu của các cặp mồi, sản phẩm PCR được làm sạch và giải trình tự. Kết quả so sánh bằng phần mềm BLAST trực tuyến trên cơ sở dữ liệu NCBI cho thấy sản phẩm khuếch đại có độ tương đồng 100% với trình tự vùng gene AV1 của SLCMV (Genbank LC312131.1). Cây phát sinh loài được xây dựng từ các trình tự mục tiêu so sánh với các chủng SLCMV đã được công bố gây bệnh khảm trên sắn, kết quả cho thấy các chủng SLCMV ở Việt Nam có quan hệ di truyền gần gũi với nhau và có quan hệ với chủng SLCMV KC424480 có nguồn gốc từ Ấn Độ (Hình 3). Sự phân hóa di truyền giữa các chủng SLCMV từ các khu vực địa lý khác nhau cho thấy sự tiến hóa và lan truyền phức tạp của virus này.



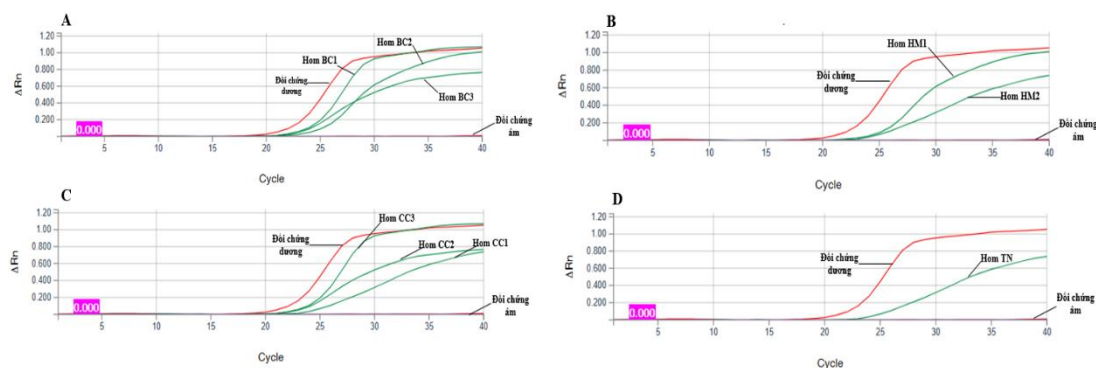
Hình 3. Cây phát sinh loài của virus SLCMV với các loài có liên quan đã được công bố được phân tích bằng phương pháp Maximum Likelihood với giá trị bootstrap 1000 lần. Giá trị tại các nốt là giá trị % bootstrap

3.4. Kết quả Real-time PCR xác định nhanh tải lượng gây bệnh của virus SLCMV

Nghiên cứu áp dụng thực hiện kỹ thuật Real-Time PCR nhằm xác định nhanh tải lượng gây bệnh của virus SLCMV trên các mẫu hom sản. Kết quả cho thấy, phương pháp Real-Time PCR phát hiện các mẫu lá sản được thu nhận tại các địa chỉ đều dương tính với virus SLCMV (Hình 5).



Hình 4. Đường chuẩn nồng độ gây bệnh của virus trên các mẫu lá sản thu nhận



Hình 5. Phương pháp Real-Time PCR xác định nhanh tải lượng gây bệnh của SLCMV

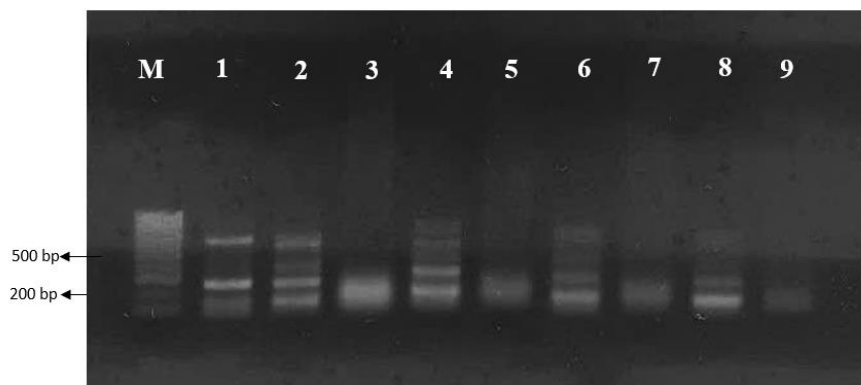
Trong đó: (A) Kết quả phát hiện SLCMV trên mẫu lá thu nhận tại Bình Chánh; (B) Kết quả phát hiện SLCMV trên mẫu lá thu nhận tại Hóc Môn; (C) Kết quả phát hiện SLCMV trên mẫu lá thu nhận tại Củ Chi, (D) Kết quả phát hiện SLCMV trên mẫu lá thu nhận tại Tây Ninh

Kết quả tại Bảng 2 cho thấy, xác định được tải lượng virus gây bệnh ở tất cả 9 mẫu hom sản, tải lượng virus gây bệnh cao nhất và thấp nhất lần lượt ở vị trí HM1 với ngưỡng giá trị Ct là 23,4, tải lượng virus xác định là $4,3 \times 10^3$ IU/ml và CC1 có giá trị Ct là 25,2 và tải lượng virus là $4,2 \times 10^2$. Tuy nhiên, so với mẫu đối chứng dương thì không có mẫu nào vượt ngưỡng gây bệnh, cho

thấy trong hom sản mang tải lượng virus gây bệnh thấp. Bên cạnh đó, kết quả kiểm tra khả năng nhận diện SLCMV trên mẫu hom sản từ những mẫu PCR từ phản ứng đều cho biểu hiện xuất hiện băng vạch phù hợp với sản phẩm đối chứng dương ở độ dài 200 bp (Hình 6).

Bảng 2. *Nồng độ gây bệnh của virus khảm (SLCMV) trên giống sản tại các địa điểm thu nhận mẫu thông qua giá trị chu kỳ ngưỡng (Ct)*

Vị trí thu mẫu	Ký hiệu mẫu phân tích	Bioline SYBR Green		Mẫu vượt ngưỡng đối chứng	Mẫu đối chứng	
		Ct mẫu	Nồng độ virus gây bệnh (IU/ml)		Ct mẫu	Nồng độ virus (IU/ml)
Bình Chánh (BC)	BC1	22,8	$3,5 \times 10^3$	Không	18,511	$1,67 \times 10^5$
	BC2	24,0	$1,3 \times 10^3$	Không		
	BC3	23,4	$2,1 \times 10^3$	Không		
Hóc Môn (HM)	HM1	22,6	$4,3 \times 10^3$	Không		
	HM2	24,9	$5,2 \times 10^2$	Không		
Củ Chi (CC)	CC1	25,2	$4,2 \times 10^2$	Không		
	CC2	23,4	$2,1 \times 10^3$	Không		
	CC3	23,2	$2,7 \times 10^3$	Không		
Tây Ninh (TN)	TN	25,0	$5,3 \times 10^2$	Không		



Hình 6. *Kết quả điện di kiểm tra khả năng nhận diện SLCMV trên mẫu hom sản bằng kỹ thuật Real-Time PCR*

M: thang DNA 100bp; 1-3: Bình Chánh (1: BC1, 2: BC2, 3: BC3), 4-5: Hóc Môn (4: HM1, 5: HM2); 6-8: Củ Chi (6: CC1, 7: CC2, 8: CC3), 9: Tây Ninh.

4. Kết luận

Nghiên cứu đã sử dụng kỹ thuật Real-Time PCR với cặp primer đặc hiệu AV1/5F5R để xác định nhanh được tải lượng gây bệnh của SLCMV trên mẫu hom sản. Kết quả cho thấy, kỹ thuật Real-Time PCR cho kết quả nhanh chóng và có thể định lượng tải lượng của virus gây bệnh ngay trong phản ứng. Bên cạnh đó, các kỹ thuật này có thể được ứng dụng vào việc chẩn đoán sớm mầm bệnh để dễ dàng kiểm soát SLCMV trong giai đoạn sớm, có tiềm năng giảm thiểu rủi ro cho nền nông nghiệp cũng như cây trồng bị ảnh hưởng do virus này gây ra [11].

Lời cảm ơn

Nhóm nghiên cứu xin chân thành cảm ơn khoa Sinh học và Môi trường, Trường Đại học Công Thương TP. Hồ Chí Minh đã hỗ trợ hoàn thành đề tài nghiên cứu này. Nghiên cứu được thực hiện với sự hỗ trợ của đề tài nghiên cứu khoa học dành cho giảng viên cấp trường năm học 2023 – 2024 theo Quyết định số 3999/QĐ-DCT ngày 29/12/2023.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] H. N. Truong, N. M. Huynh, H. K. Le, T. C. Tran, T. N. Pham, K. Le, Q. A. Pham, and H. H. Nguyen, "Initial research on the presence of ssDNA Sri Lankan Cassava Mosaic Virus (SLCMV) on cassava (*Manihot esculenta* Crantz 1766)," *HCMCOUJS- Engineering and Technology*, vol. 17, no. 2, pp. 5-20, 2022.
- [2] T. H. Pham, T. N. Q. Do, and A. V. Nguyen, "Initial success on protoplast production from friable embryonic callus of Vietnamese cassava varieties," *Journal of Vietnam Agricultural Science and Technology*, vol. 1, no. 122, pp. 26-35, 2021.
- [3] T. T. Duong, T. P. N. Phan, T. T. H. Tran, T. T. H. La, T. H. D. Tran, and K. P. Le, "Study on in vitro micropropagation of cassava (*manihot esculenta*) to produce the free-disease cassava plants," *HUAF Journal of Agricultural Science and Technology*, vol. 7, no. 2, pp. 3588-3597, 2023.
- [4] X. H. Trinh, Q. H. Ngo, M. H. Nguyen, and T. H. Le, "Some Studies on Using Cuttings for Management of Cassava Mosaic Virus Disease in Viet Nam," *Plant Protection*, vol. 3, pp. 44-52, 2021.
- [5] D. O. Igwe, C. B. Anyanwu, C. A. Afiukwa, C. V. Nnamani, F. N. Nweke, G. N. Ude, and B. E. Ubi, "Phenotypic and molecular screenings for determination of cassava mosaic disease (CMD) status in farmers' fields in Ebonyi State, Nigeria," *Springer Nature*, vol. 41, no. 1, pp. 227-240, 2020.
- [6] S. Chaowongdee, N. Vannatim, S. Malichan, N. Kuncharoen, P. Tongyoo, and W. Siriwan, "Comparative transcriptomics analysis reveals defense mechanisms of *Manihot esculenta* Crantz against Sri Lanka Cassava Mosaic Virus," *BMC Genomics*, vol. 25, no. 436, pp. 1-17, 2024.
- [7] L. Hanley-Bowdoin, E. R. Bejarano, D. Robertson, and S. Mansoor, "Geminiviruses: masters at redirecting and reprogramming plant processes," *Nat. Rev. Microbiol.*, vol. 11, no. 11, pp. 777-788, 2013.
- [8] A. Celik, E. Orkun, M. Z. Yeken, V. Ciftici, G. Ozer, Y. Kim, F. S. Baloch, and Y. S. Chung, "A novel study on bean common mosaic virus accumulation shows disease resistance at the initial stage of infection in *Phaseolus vulgaris*," *Front. Genet.*, vol. 14, 2023, Art. no. 1136794.
- [9] Q. Ali, I. B. Salisu, A. Raza, A. Shahid, A. Q. Rao, and T. Husnain, "A modified protocol for rapid DNA isolation from cotton (*Gossypium* spp.)," *MethodsX*, vol. 6, no. 2019, pp. 259-264, 2019.
- [10] N. Minato, S. Sok, S. Chen, E. Delaquis, *et al.*, "Surveillance for Sri Lankan cassava mosaic virus (SLCMV) in Cambodia and Vietnam one year after its initial detection in a single plantation in 2015," *PLoS One*, vol. 14, no. 2, pp. 1-16, 2019, doi: 10.1371/journal.pone.0212780.
- [11] A. Uke *et al.*, "Detection of Sri Lankan cassava mosaic virus by loop-mediated isothermal amplification using dried reagents," *J. Virol Methods*, vol. 299, no. 114336, pp. 1-23, 2022.