

Latex 응집반응법을 이용한 백합바이러스의 간이검정기술 개발

나용준 · 정효원
(서울대학교 농업생명과학대학 농생물학과)

Development of a Simple Latex Agglutination Test for Detecting Viruses in Lily Plants

Yong-Joon La · Hyo-Won Jung

Department of Agricultural Biology, College of Agriculture & Life
Sciences, Seoul National University, Suwon 441-744, Korea

적 요

백합잎으로부터 lily symptomless virus (LSV), tulip breaking virus (TBV), cucumber mosaic virus (CMV)를 효율적으로 검출하기 위한 latex 응집반응법의 최적 검정조건들을 구명하고, 이들 바이러스를 간편한 방법으로 신속, 정확하게 검출할 수 있는 실용적인 진단시약 일습을 개발하였다. latex 응집반응법의 感度는 백합에서 LSV, TBV 및 CMV를 정확하게 검출하는데 충분하였고 特異度도 매우 높았다. 슬라이드 점적법을 이용한 latex 응집반응법으로 백합잎으로부터 LSV, TBV 및 CMV를 30분 이내에 검출할 수 있었고, 이들 바이러스를 검출하는데 가장 적합한 백합잎즙액의 희석범위는 1/10~1/50 이었다. 검출감도는 슬라이드 점적법이 도말법보다 16배 이상 높았으며, 반응결과를 판정하는데도 도말법보다 점적법이 편리하였다. latex 응집반응법에 의한 백합에서의 LSV, TBV 및 CMV 검출효율은 ELISA와 동일하였으며, 본 시험을 통해 개발된 백합바이러스 진단시약은 4℃에서 6개월 이상 보존이 가능하였다.

I. 서 론

백합재배에서 그 품질을 좌우하는 가장 중요한 요소는 바이러스병이다. 특히 백합은 바이러스에 의한 품질저하가 급격히 일어나기 때문에 고품질의 백합을 생산하기 위해서는 매년 바이러스에 감염되어 있지 않은 무병종구를 사용하는 것이 필수적이다. 현재 우리나라에서 절화용으로 재배되고 있는 백합의 종구는 대부분 수입에 의존하고 있는데, 절화 생산비중에서 수입종구 값이 매우 큰 비중을 차지하고 있어 매년 수입종구를 사용할 경우 별로 수익을 기대할 수 없다. 따라서, 재배농가들이 종구를 1~2년간 자가생산해서 사용하거나, 또는 값싼 저질의 수입종구가 무분별하게 도입되는 경우가 있어 고품질의 백

합생산은 기대하기가 어렵다. 그러므로 수출경쟁력을 가진 고품질의 백합을 생산하기 위해서는 합리적인 가격으로 재배농가에게 공급할 수 있는 무병 백합종구의 국내생산이 절실히 요청된다.

백합에는 많은 종류의 바이러스병이 발생하지만 특히 무병종구 생산에서 가장 문제가 되는 것은 lily symptomless virus(LSV), tulip breaking virus(TBV), cucumber mosaic virus(CMV)로 알려져 있다. 무병 백합종구의 생산을 위해서는 이들 바이러스를 신속하게 효율적으로 검출할 수 있는 간편하고 경제적인 방법이 요구된다. 식물바이러스의 혈청학적 검정방법들 중에서 ELISA 방법은 검출감도가 매우 높고 대량검정에 편리하다는 장점이 있지만, 사용방법이 복잡하고, 비싼 기기와 시약을 필요로 하며, 무엇보다도 반응에 긴 시간(1~2일)을 요하고, 소량검정에 부적합하다는

단점이 있다. 한편, latex 응집반응법은 바이러스의 검출감도가 높으면서 사용방법이 간편하고, 비싼기기와 시약을 필요로 하지 않으며, 반응이 신속하여 (30분 내) 소량 및 대량검정에 적합하다는 장점을 가지고 있어 최근에 그 이용이 크게 늘어나고 있다.

본 연구는 백합에서의 LSV, TBV, CMV 검출을 위한 latex 응집반응법의 효용성을 검토하고, 이들 바이러스의 검출에 사용할 수 있는 실용적인 진단시약을 개발할 목적으로 수행하였다.

II. 재료 및 방법

1. 공시식물

농촌진흥청 원예시험장과 충남 태안 백합시험장에서 수집된 백합시료중에서 ELISA 법으로 LSV, TBV, CMV에 감염된 개체들을 선발하여 본 시험에 사용하였다. LSV, TBV, CMV에 감염된 백합 시료의 선발 위해 사용된 ELISA용 시약은 화란의 화훼구근검사소에서 기증 받았다.

2. 항원액의 조제

백합잎 1 g에 0.02% PVP 가 함유된 0.05 M Tris 완충액 (pH 7.4) 2ml을 가하여 착즙기로 짜낸 즙액을 원액으로 하여 소정희석액을 만들어 latex 응집반응시험에 사용하였다.

3. 공시 항혈청

본 시험에 사용한 LSV, TBV, CMV의 각 항혈청은 American Type Culture Collection (Rockville, Maryland, U. S. A.)으로 부터 구입하였다.

4. 특이항체의 정제

각 항혈청의 특이항체 (IgG)는 Protein-A Sepharose CL-4B (Pharmacia, Uppsala, Sweden)를 이용한 affinity chromatography 방법으로 정제하였다(7, 8). 정제된 IgG는 spectrophotometer를 사용해서 농도를 1 mg/ml ($A_{280}=1.4$)로 정량하여 -20°C 에서 보존하고 latex 입자의 감작에 사용하였다.

5. Latex 입자의 感作

latex는 Seradyn사(Seradyn Inc., Indianapolis, Indiana, U. S. A.)에서 구입한 직경 0.8 μm 의 백색 polystyrene latex 입자(10% solid)를 사용하였고, 다음과 같은 방법으로 IgG를 latex 입자에 감작 시켰다. latex 입자의 원액(10%, w/v)을 일정량 덜어내어 생리식염수(0.85% NaCl 수용액)로 10배 희석하여 1%액으로 만들고, 정제된 각 바이러스의 IgG를 0.05 M Tris 완충액 (pH 7.4)으로 소정의 농도(50-200 $\mu\text{g}/\text{ml}$)로 희석한다. 일정량의 latex 입자 희석액(1%액)과 同量的 IgG 희석액을 잘 섞은 다음, mixing wheel을 이용하여 실온에서 2시간 동안 부드럽게 흔들어 준다. 이때 IgG가 latex입자 표면에 흡착한다. latex 입자에 흡착되지 않은 IgG를 제거하기 위해 latex액과 IgG액의 혼합액을 3,000 rpm에서 20분간 원심분리해서 감작 latex를 침전시키고 상청액은 버린다. 침전된 감작 latex를 0.02% (w/v)의 polyvinylpyrrolidone(PVP, MW : 40,000)과 1%의 bovine serum albumin(BSA, Fraction V, Sigma)이 함유된 0.05 M Tris 완충액 (pH 7.4)으로 현탁시켜, mixing wheel을 이용하여 실온에서 1시간 동안 부드럽게 흔들어 준다. 다음 3,000 rpm에서 20분간 원심분리한다. 침전된 감작 latex를 0.02%의 PVP가 함유된 0.05 M Tris 완충액 (pH 7.4)으로 2회 원심세척(3,000 rpm, 20분간)한 다음, 침전을 0.05% NaN_3 가 함유된 0.05 M Tris 완충액 (pH 7.4)으로 IgG액과 혼합하기 전의 latex 희석액과 동량이 되도록 현탁시킨다. 이상과 같이 만든 감작 latex는 4°C 에 보존하면서 시험에 사용하였다.

6. Latex 응집반응시험

latex 응집반응시험은 여러개의 원형 또는 타원형 테두리가 들어 있는 latex 응집반응용 흑색 유리판을 사용해서 슬라이드 點滴法(drop method)과 슬라이드 塗抹法(smear method)으로 수행하였다. 슬라이드 점적법에서는 반응판의 疏水性이 필수적이기 때문에 먼저, 반응판 표면을 silicone액 또는 자동차 코팅액으로 처리하여 소수성으로 만들었다. 반응판 위의 반응원 내에 먼저 20 μl 의 항원희석액(백합잎의 착즙액)을 떨어뜨리고, 그 위에 20 μl 의 감작 latex액을 가볍게 더한 다음, 반응액이 흐트러지지 않도록 주의하면서 마이크로 피펫을 사용해서 잘 섞은 후, 반응액이 증발되지 않도록 반응판에 뚜껑을 덮어 rotary shaker

위에 올려놓고 실온하에서 100~120rpm으로 30분간 흔들어 준 다음 반응결과를 판독하였다.

슬라이드 도말법에서는 점적법과는 반대로 반응판면이 親水性이어야 하기 때문에 소수 처리하지 않은 반응판을 비눗물로 닦아 친수성으로 만들었다. 반응판 위의 타원형 테두리 안에 먼저 15ul의 항원희석액을 떨어뜨리고, 여기에 30ul의 감작 latex액을 더한 다음 이쑤시게 또는 마이크로피펫용 팁으로 두액의 혼합액이 타원내에 가득 차도록 잘 섞어 준 다음, 반응판을 손으로 잡고 부드럽게 원형방향으로 돌려주거나, 또는 점적법과 같은 방법으로 rotary shaker를 이용하여 흔들어 주었다.

7. 반응결과의 판독

슬라이드 점적법의 경우, 투명한 점적내의 한가운데에 뚜렷한 응집물이 보이면 양성반응, 점적내에 응집물이 보이지 않고 점적 전체가 균일한 우유빛을 띠면 음성반응으로 판정하였다.

슬라이드 도말법의 경우는 반응원내 검은 바탕에 전체적으로 백색의 알갱이 같은 응집물이 보이면 양성반응, 응집물이 보이지 않고 도말액 전체가 매끈한 우유빛을 띠면 음성반응으로 판정하였다.

III. 결과 및 고찰

1. Latex 감작 항체의 농도결정

latex 입자의 감작에 요구되는 IgG의 최적농도를 결

정하기 위해 IgG의 농도를 달리하여 감작한 latex액으로 각 항원액(각 바이러스에 감염된 백합의 잎즙액)의 반응한계희석범위를 조사하였다.

표 1을 보면, LSV-IgG의 경우 1ml의 latex액을 감작시키는데 사용된 IgG의 농도가 50ug/ml 일때 LSV에 감염된 백합잎즙액의 반응한계희석배수가 200인데 비해, IgG의 농도가 100ug/ml과 200ug/ml 일때는 반응한계희석배수가 모두 1,600으로서 50ug의 IgG와 100-200ug의 IgG를 감작시킨 latex 간에는 검출감도에서 큰 차이를 보였다. 그러나 100ug과 200ug의 IgG를 감작시킨 latex간에는 검출감도에 차이가 없었다.

TBV-IgG의 경우(표 2), 50ug과 100-200ug의 IgG를 감작시켰을때, 항원액의 반응한계희석배수는 각각 100과 1,600으로 역시 두 IgG 농도간에 TBV의 검출감도에서 큰 차이를 보였으나, 100ug과 200ug의 IgG를 감작시킨 latex간에는 TBV 검출감도에 차이가 없었다.

CMV-IgG 경우도(표 3), 50ug과 100-200ug의 IgG를 감작시켰을때 항원액의 반응한계희석배수는 각각 50과 800으로 두 IgG 농도간에 큰 차이를 보였으나, IgG 100ug과 200ug을 감작시킨 latex 간에는 CMV의 검출감도에 차이가 없었다. 이처럼 50ug/ml의 IgG를 감작시킨 latex는 100ug 또는 200ug을 감작시킨 latex에 비해 검출감도가 크게 낮았고, 양성반응시 관찰되는 凝集塊도 작았다. 한편, 1ml의 latex에 각 IgG를 100ug 또는 200ug 감작시켰을때 동일하게 가장 높은 바이러스 검출감도를 보였기 때문에 1ml의 latex를 감작시키는데 필요한 각 IgG의 최적농도를 100ug/ml으로 결정하고, 다음 시험에 사용할 감작 latex를 만들었다.

Table 1. Determination of optimum concentration of anti-LSV^a IgG for sensitization of latex particles

Conc. of IgG ^b (ug/ml)	Reciprocal of leaf sap dilution ^c							
	10	50	100	200	400	800	1600	3200
50	+ ^d	+	+	+	-	-	-	-
100	++	+++	++	++	+	+	+	-
200	++	+++	++	++	+	+	+	-

^a LSV : lily symptomless virus

^a Concentration of IgG used to sensitize 1 ml of 1% latex suspension. IgG was diluted in 0.05 M Tris buffer, pH 7.4.

^b 1 g of LSV infected leaf tissue from *Lilium speciosum* "Casa Blanca" was triturated in 2 ml of 0.05 M Tris buffer, pH 7.4 containing 0.02% PVP and centrifuged at 3,000 rpm for 10 min. and the supernatant was diluted accordingly in the same buffer.

^a + : positive reaction, - : negative reaction.

Table 2. Determination of optimum concentration of anti-TBV^a IgG for sensitization of latex particles

Conc. of IgG ^b (ug/ml)	Reciprocal of leaf sap dilution ^c							
	10	50	100	200	400	800	1600	3200
50	+ ^d	+	+	-	-	-	-	-
100	++	+++	++	++	+	+	+	-
200	++	+++	++	++	+	+	+	-

^a TBV : tulip breaking virus

^b Concentration of IgG used to sensitize 1 ml of 1% latex suspension. IgG was diluted in 0.05 M Tris buffer, pH 7.4.

^c 1 g of TBV infected leaf tissue from *Lilium X elegance* "Connecticut King" was triturated in 2 ml of 0.05 M Tris buffer, pH 7.4 containing 0.02% PVP and centrifuged at 3,000 rpm for 10 min. and the supernatant was diluted accordingly in the same buffer.

^d + : positive reaction, - : negative reaction.

Table 3. Determination of optimum concentration of anti-CMV^a IgG for sensitization of latex particles

Conc. of IgG ^b (ug/ml)	Reciprocal of leaf sap dilution ^c							
	10	50	100	200	400	800	1600	3200
50	+ ^d	+	-	-	-	-	-	-
100	+++	++	++	++	+	+	-	-
200	+++	++	++	++	+	+	-	-

^a CMV : Cucumber mosaic virus

^b Concentration of IgG used to sensitize 1 ml of 1% latex suspension. IgG was diluted in 0.05 M Tris buffer, pH 7.4.

^c 1 g of CMV infected leaf tissue from *Lilium longiflorum* "Georgia" was triturated in 2 ml of 0.05 M Tris buffer, pH 7.4 containing 0.02% PVP and centrifuged at 3,000 rpm for 10 min. and the supernatant was diluted accordingly in the same buffer.

^d + : positive reaction, - : negative reaction.

2. Latex 응집반응법의 感度

Latex 응집반응법으로 LSV, TBV 및 CMV를 효율적으로 검출하는데 요구되는 항원액의 최적희석배수를 결정하기 위해, ELISA법으로 미리 선별한 각 바이러스에 감염된 백합시료 30개씩을 공시하여 슬라이드 점적법으로 잎즙액의 반응희석범위를 조사하였다.

그 결과, LSV의 경우(표 4) 공시한 30개체 모두가 잎즙액의 10배 및 50배 희석액에서 양성반응을 보였고, 최고 3,200배의 희석액에서도 3개체(10%)가 양성반응을 보였다.

TBV의 경우(표 5)도 LSV와 마찬가지로 공시한 30개체 모두가 잎즙액의 10배 및 50배 희석액에서 양성반응을 보였고, 4개체(13%)는 3,200배의 희석액에서도 양성반응을 보였다.

CMV의 경우(표 6)는 공시한 30개체중 감염 잎즙액의 10배 및 50배 희석액에서 각각 100%와 86%의 양성반응을 보였고, 최고 1,600배 희석액에서 10%의 양성 반응을 보였다.

이상과 같이 latex 응집반응법으로 LSV, TBV 및 CMV를 검출하는데 가장 적합한 백합잎즙액의 희석범위는 1:10-1:50 으로 나타났다. latex 응집반응법은 감도가 높기 때문에 백합시료내의 바이러스 농도가 너무 높을 경우, 抗原過多로 인한 prozone 현상이 일어나 반응결과를 판정하기가 어려우며, 반대로 피검 식물 즙액내의 바이러스 농도가 너무 낮으면 50배 희석액에서는 검출되지 않고 10배 희석액에서만 검출될 수도 있다. 따라서 latex 응집반응법으로 백합에서 LSV, TBV, 및 CMV를 정확하게 검출하기 위해서는 잎즙액의 10배 및 50배 희석액을 함께 포함시키는

Table 4. Determination of optimum leaf sap dilution for detection of lily symptomless virus(LSV) in lily plants by latex agglutination test^a

Reciprocal of leaf sap dilution ^b	No. and percent of samples with positive reaction(n=30 ^c)	
	No.	%
10	30	100
50	30	100
100	29	97
200	25	83
400	22	73
800	19	63
1600	13	43
3200	3	10
6400	0	0

^a Latex reagent was prepared by sensitizing 1ml of latex particle suspension with 100 ug/ml of LSV-IgG.

^b Initial leaf sap extract was prepared by triturating 1 g of LSV infected leaf tissue in 2ml of 0.05 M Tris buffer, pH 7.4 containing 0.02% PVP. The extract was centrifuged at 3,000 rpm for 10 min. and the supernatant was diluted accordingly using the same dilution buffer.

^c No. of LSV infected lily plants tested. LSV infected lily plants were preselected by ELISA.

Table 5. Determination of optimum leaf sap dilution for detection of tulip breaking virus(TBV) in lily plants by latex agglutination test^a

Reciprocal of leaf sap dilution ^b	No. and percent of samples with positive reaction(n=30 ^c)	
	No.	%
10	30	100
50	30	100
100	25	83
200	20	67
400	16	53
800	15	50
1600	8	27
3200	4	13
6400	0	0

^a Latex reagent was prepared by sensitizing 1ml of latex particle suspension with 100 ug/ml of TBV-IgG.

^b Initial leaf sap extract was prepared by triturating 1g of TBV infected leaf tissue in 2ml of 0.05 M Tris buffer, pH 7.4 containing 0.02% PVP. The extract was centrifuged at 3,000 rpm for 10 min. and the supernatant was diluted accordingly using the same dilution buffer.

^c No. of TBV infected lily plants tested. TBV infected lily plants were preselected by ELISA.

Table 6. Determination of optimum leaf sap dilution for detection of cucumber mosaic virus(CMV) in lily plants by latex agglutination test^a

Reciprocal of leaf sap dilution ^b	No. and percent of samples with positive reaction(n=30 ^c)	
	No.	%
10	30	100
50	26	86
100	24	80
200	15	50
400	9	30
800	8	27
1600	3	10
3200	3	0

^a Latex reagent was prepared by sensitizing 1ml of latex particle suspension with 100 ug/ml of CMV-IgG.

^b Initial leaf sap extract was prepared by triturating 1g of CMV infected leaf tissue in 2ml of 0.05 M Tris buffer, pH 7.4 containing 0.02% PVP. The extract was centrifuged at 3,000 rpm for 10 min. and the supernatant was diluted accordingly using the same dilution buffer.

^c No. of CMV infected lily plants tested. CMV infected lily plants were preselected by ELISA.

Table 7. Comparison of drop method and smear method of latex agglutination test for detection of LSV, TBV and CMV in lily plants

Virus tested	Test method	Reciprocal of leaf sap dilution ^a								
		1	10	50	100	200	400	800	1600	3200
LSV	Drop	- ^b	++ ^c	+++	++	++	+	+	+	-
	Smear	+++	++	+	+	-	-	-	-	-
TBV	Drop	- ^b	++	+++	++	++	+	+	+	-
	Smear	+++	++	+	+	-	-	-	-	-
CMV	Drop	- ^b	++	++	++	+	+	+	-	-
	Smear	++	+	+	-	-	-	-	-	-

^a Initial leaf sap extract was prepared from individual lily plants infected with respective viruses tested by triturating 1 g of leaf tissue in 2 ml of 0.05 M Tris buffer, pH 7.4 containing 0.02% PVP. The extract was centrifuged at 3,000 rpm for 10 min. and the supernatant was diluted accordingly using the same buffer.

^b Prozone effect due to antigen excess.

^c + : positive reaction, - : negative reaction.

것이 필수적이다. 또한 ELISA 법으로 LSV, TBV 및 CMV에 양성반응을 보인 백합시료 모두가 latex 응집 반응시험에서도 양성반응을 보여 latex 응집반응법은 백합의 LSV, TBV 및 CMV를 검출하는데 충분한 감도를 지닌 것으로 확인되었고, 비특이 반응은 관찰되지 않았다.

3. 슬라이드 점적법과 도말법의 감도비교

LSV, TBV 및 CMV에 각각 감염된 백합의 잎즙액을 공시하여, 슬라이드 점적법과 도말법의 감도를 비교하였다. 슬라이드 점적법과 도말법은 재료 및 방법에 기술한대로 수행하였다.

표 7에서 보는 바와 같이 슬라이드 점적법의 경우, 각 바이러스 모두 잎즙액의 원액(약 1 g/ 완충액 2 ml)에서는 抗原過多로 인한 prozone 현상이 나타났고, 10배부터 800배 (CMV)-1,600배 (LSV, TBV) 희석까지는 뚜렷한 양성반응을 보였다. 그러나 슬라이드 도말법에서는 각 바이러스 모두 원액에서 잎즙액의 prozone 현상이 나타나지 않았고, 원액부터 50배 (CMV)내지 100배 (LSV, TBV) 희석까지만 양성반응을 보임으로서 두 방법간에 백합바이러스의 검출감도에서 큰 차이를 보였다. 따라서, 백합에서 latex 응집반응법으로 LSV, TBV 및 CMV를 검출할때는 검출감도가 높고 반응결과의 판독이 쉬운 슬라이드 점적법을 사용하는 것이 보다 효과적이라고 할 수 있다.

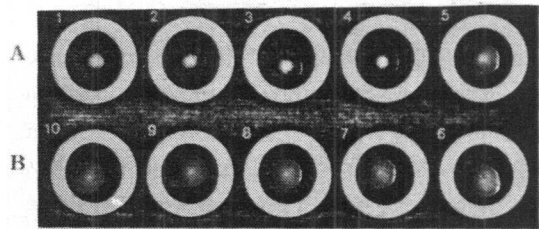


그림 1. latex 凝集反應法(슬라이드 點滴法)에 의한 백합의 LSV 검출. A : LSV 감염잎즙액, 1-4 : 양성반응, 5 : 음성반응, B : 건전잎 즙액, 6-10 : 음성반응, 1,10번 : 10배, 2,9번 : 50배, 3,8번 : 100배, 4,7번 : 200배, 5,6번 400배 희석액.

4. 백합 바이러스 검출용 시약 kit의 제작

이상의 시험결과들을 기초로해서 백합의 LSV, TBV 및 CMV 검출에 실용화할 수 있는 간편한 latex 응집 반응 진단시약 일습을 제조하였다. 진단시약은 LSV, TBV 및 CMV의 각 항체를 흡착시켜 만든 감작 latex 액과 이들 바이러스에 각각 감염된 백합잎의 즙액 및 건전한 백합잎즙액의 동결건조 분말, 항원희석액 (0.02% PVP 및 0.05% NaN₃를 함유한 0.05 M Tris 완충 용액, pH 7.4) 그리고 응집반응용 흑색 유리판 등으로 구성되어 있고 진단시약은 4℃에서 6개월 이상 보존이 가능하였다.

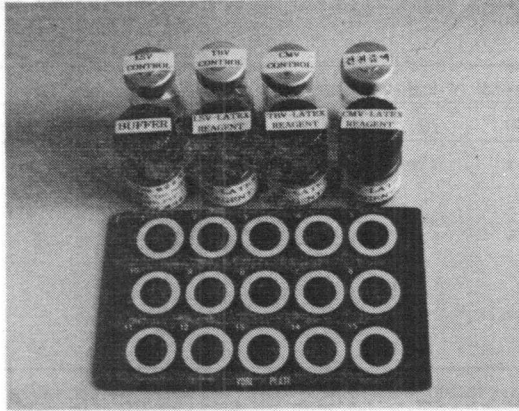


그림 2. Latex 응집반응법에 의한 백합바이러스 검출용 시약 및 반응판(설명은 본문참조).

IV. 결 론

Latex 응집반응법으로 백합의 lily symptomless virus (LSV), tulip breaking virus(TBV) 및 cucumber mosaic virus(CMV)를 효율적으로 검출하기 위한 최적 검정조건들을 구명하고, 이들 바이러스의 실용적인 진단시약을 개발할 목적으로 시험을 수행하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. Latex 응집반응법으로 백합의 LSV, TBV 및 CMV를 30분 이내에 정확하게 검출할 수 있었다.
2. Latex 입자(1%액)의 감자에 요구되는 각 IgG의 최적농도는 100 ug/ml 이었다.
3. 슬라이드 점적법을 이용한 latex 응집반응법으로 LSV, TBV 및 CMV를 검출하는데 가장 적합한 백합잎즙액의 희석범위는 1/10~1/50 이었고, 검정가능한 희석한계는 1/1,600~1/ 3,200 이었다.
4. 슬라이드 도말법에 의한 LSV, TBV 및 CMV 검출에 가장 적합한 백합잎즙액의 희석범위는 1/1(원액)~1/10, 반응희석한계는 1/50~1/100 이었다.
5. Latex 응집반응법으로 백합의 LSV, TBV 및 CMV를 검출할 때는 슬라이드 도말법보다 검출감도가 약 32배 더 높고 반응결과의 판정이 쉬운 슬라이드 점

적법이 효과적이었다.

6. Latex 응집반응법은 백합잎즙액을 사용했을때 ELISA와 동일한 LSV, TBV 및 CMV의 검출효율을 보였으며, 비특이반응(僞陽性)은 관찰되지 않았다.

7. 본 시험을 통해 백합의 LSV, TBV 및 CMV를 30분 이내에 정확하게 검출할 수 있는 간편하고 실용적인 진단시약이 개발되었으며, 이 시약들은 4℃에서 6개월 이상 보존이 가능하였다.

결론적으로 latex 응집반응법은 感度와 特異도가 높을 뿐만 아니라, 사용방법이 간편하고 반응이 신속하며 비싼기기와 시약을 필요로 하지 않는 등 매우 경제적이고 효율적인 바이러스 검출방법으로서 백합의 무병종구 생산을 비롯한 많은 다른 원예작물의 무병종묘 생산, 바이러스 저항성 식물의 육종 및 식물 검역 등에 매우 유용하게 활용될 수 있을것으로 생각된다.

감사의 말씀

본 연구를 위해 연구비를 지원해 준 大山農村文化財團에 감사드리며, 본 시험에 사용한 ELISA 시약을 기증해준 화란 화훼구근검사소의 Van Schadewijk 박사과 공식식물 수집에 협조해준 태안 백합시험장의 이지용 연구사에게도 감사드립니다.

참고문헌

1. Bercks, R., and Querfurth, G. 1971. The use of the latex test for the detection of distant serological relationships among plant viruses. J. Gen. Virol. **12** : 25-32.
2. Demski, J. W., Bays, D. C., and Khan, M. A. 1986. Simple latex agglutination test for detecting flexuous rod-shaped viruses in forage legumes. Plant Dis. **70** : 777-779.
3. Diana H. S., and Bruce G. C. 1979. Detection of lily symptomless virus by immunodiffusion. Phytopathology **69** : 1212-1215.

4. Fletcher, J., and Slack, S. A. 1986. Latex agglutination as a rapid detection assay for *Spiroplasma citri*. *Plant Dis.* **70** : 754-756.
5. Fribourg, C. E., and Nakashima, J. 1984. An improved latex agglutination test for routine detection of potato viruses. *Potato Res.* **27** : 237-249.
6. Fusikawa, H., and Igarashio, H. 1988. Rapid latex agglutination test for detection of staphylococcal enterotoxins A to E that uses high-density latex particle. *Appl. Environ. Microbiol.* **54**(10) : 2345-2348.
7. Hampton, R., Ball, E., and De Boer, S. 1990. *Serological Methods for Detection and Identification of Viral and Bacterial Plant Pathogens. A Laboratory Manual.* APS Press. 389 pp.
8. Harlow, E., and Lane, D. 1988. *Antibodies. A Laboratory Manual.* Cold Spring Harbor Laboratory. Cold Spring Harbor, N. Y. 726 pp.
9. Khan, M. A., and Slack, S. A. 1978. Studies on the sensitivity of a latex agglutination test for the serological detection of potato virus S and potato virus X in Wisconsin. *Am. Potato J.* **55** : 627-637.
10. Omura, T., Hibino, H., Usugi, T., Inoue, H., Morinka, T., Tsurumachi, S., Ong, C. A., Putta, M., Tsuchizaki, T., and Saito, Y. 1984. Detection of rice viruses in plants and individual insect vectors by latex flocculation test. *Plant Dis.* **68** : 374-378.
11. Polak, J. 1980. A leaf dip method for routine identification of plant viruses using the latex agglutination test. *Biol. Plant.* **22** : 237-238.
12. Querfurth, G., and Paul, H. L. 1979. Protein-A coated latex-linked antisera(PALLAS) : New reagents for a sensitive test permitting the use of antisera unsuitable for the latex test. *Phytopath. Z.* **94** : 282-286.