

젤라틴입자응집반응법을 이용한 국내 시판 고추종자의 Tobamovirus 검출 및 오염률 조사

한정현* · 장태호 · 이철호¹ · 김영호² · 나용준

서울대학교 농업생명과학대학 응용생물화학부, ¹서경대학교 이공대학 생물공학과,

²서울대학교 농생명공학부 식물분자유전육종센터

Detection of Tobamoviruses and Survey on Contamination Rate in Commercial Pepper Seeds Using Gelatin Particle Agglutination Test

Jung-Heon Han*, Tea-Ho Jang, Cheol-Ho Lee¹, Young Ho Kim² and Yong-Joon La

Division of Applied Biology and Chemistry, College of Agriculture and Life Sciences,

Seoul National University, Suwon 441-744, Korea

¹Department of Biological Engineering, College of Natural Sciences and Technology,

Seokyoung University, Seoul 136-704, Korea

²School of Agricultural Biotechnology & Center for Plant Molecular Genetics and Breeding Research,

Seoul National University, Suwon 441-744, Korea

(Received on October 10, 2001)

Gelatin particle agglutination test (GPAT) was optimized for detection of Tobamovirus and contamination of the virus in commercial pepper seeds was evaluated. The optimum concentration of γ -globulin G, specific to tobacco mosaic virus pepper strain, was 100 μ g/ml. The sensitivity of GPAT for the detection of Tobamovirus in pepper seeds was as high as enzyme-linked immunosorbent and dot immunoblotting assays. Optimum dilution ranges of the seed extract for GPAT was 5-25 folds. Using the optimized GPAT with above conditions, the rate of Tobamovirus contamination in seeds was turned out to be average of 79.1%.

Keywords : detection, gelatin particle agglutination test, pepper seed, Tobacco mosaic virus

고추에는 약 10 여종의 Tobamovirus가 발생하는 것으로 알려져 있다(Abdalla, 등, 1991; 김 등, 1990). 이 중에서 담배 모자이크 바이러스(Tobacco mosaic virus; TMV), 토마토 모자이크 바이러스(Tomato mosaic virus; ToMV), Pepper mild mottle virus(PMMoV)는 관수, 일비액(guttation fluid), 오염된 토양과 종자를 통하여 쉽게 전염된다(Demski, 1981; Garcia 등, 1990; 김 등, 1989; Pares와 Gunn, 1989). 특히, 이들 바이러스의 종자전반은 바이러스 병을 일으키는 1차 전염원으로서 뿐만 아니라, 접촉에 의한 2차 전염원으로 작용하여 바이러스병의 발생률을 증가시킨다(Alonso 등, 1989; 김 등, 1989), 또한 이들 바이러스는 고추의 수확량을 약 35-80%까지 감소시키는 것으로 알려져 있으며(Holmes,

1937; Igwegbe와 Ogungbade, 1985), 세계의 여러 지역에서 재배되고 있는 다양한 고추 품종에서 보고되었다(Demski, 1981; Garcia 등, 1990; 김 등, 1989; McKinney, 1952; Pares와 Gunn, 1989), 따라서 이들 바이러스에 의한 피해를 줄이기 위해서는 저항성 고추품종을 육성하거나 진단을 통한 바이러스 무감염 고추종자를 생산하여야 한다. 그러나 아직까지 국내에서는 고추에서 발생하는 Tobamovirus에 대한 연구가 부족한 실정이므로 본 연구에서는 Tobamovirus에 의한 피해를 줄이기 위한 기초자료를 제공하고자 gelatin 입자응집반응법(Natsuaki 등, 1988)으로 국내 시판 고추종자에서 Tobamovirus를 효과적으로 검출하기 위한 조건과 국내 시판 고추종자의 Tobamovirus 오염률을 조사하였다.

*Corresponding author

Phone) +82-31-290-2767, Fax) +82-31-296-2768

E-mail) jh1han@lycos.co.kr

재료 및 방법

고추종자 및 항혈청. 실험에 사용한 32종의 고추종자

는 국내 5개 종묘회사(농우종묘, 서울종묘<현 노바티스종묘>, 중앙종묘, 한농종묘, 흥농종묘)로부터 분양 받았으며 담배모자이크 바이러스 고추계통(TMV-P), 토마토계통(TMV-L), 일반계통(TMV-OM)의 항혈청은 일본식물방역 협회로부터 구입하였다.

Gelrite gel 확산법. Gelrite gel은 Ohki와 Inouye(1987)의 방법을 다소 수정하여 다음과 같이 제조하였다. 먼저 100 ml의 0.1 M Tris-HCl 완충액(pH 7.4)에 gelrite(0.2 g), sodium dodecyl sulfate(0.5 g), NaN_3 (0.2 g), NaCl(0.85 g), $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0.2 g)를 첨가하고 가열하여 용해시켰다. 이 용액을 지름이 14 cm인 플라스틱 페트리디시에 8 ml씩 분주하여 상온에서 gel을 굳힌 다음 gel punch를 이용하여 지름이 5 mm인 well을 뚫고 진공펌프로 gel 조각을 제거하였다. 중앙 well에는 공시한 항혈청을 25 μl 첨가하였고 주변 well에는 종자 1립을 넣은 다음 0.05 M Tris 완충액(pH 7.2)를 20 μl 첨가하였다. 그리고 항원과 항원이 첨가된 페트리디시를 25°C 습실상자에서 48시간 보관한 다음 결과를 판독하였다.

Gelatin 입자응집반응법. Gelatin 입자는 Fugirebio사(Fugirebio Inc., Tokoy, Japan)에서 분양받은 직경이 3 μm 인 적색과 청색 입자(10% solid)를 사용하였고, Ikeda 등(1984)의 방법에 따라 gelatin 입자(GP)에 동량의 IgG를 물리흡착시켜 GP를 감작하였다. 감작된 GP용액(GP감작액)은 0.1% BSA와 0.06% NaN_3 가 함유된 0.1 M 인산완충액, pH 7.4(GP 희석액)으로 사용직전에 0.1% 농도로 희석하여 사용하였다. 항원액의 원액은 고추종자 1립에 0.5 ml의 GP 희석액을 첨가하고 막자사발로 마쇄한 다음 7,000 rpm에서 3분간 원심분리하여 준비하였다. 소정농도로 희석한 항원액과 0.1% GP감작액을 반응판의 well에 각각 25 μl 씩 동량으로 첨가하고 PMX-01 shaker(Fugirebio Inc., Tokyo, Japan) 상에서 5분간 교반한 다음 습실상자에 넣어 30°C 항온기에서 90분 동안 정치시킨 후 Ikeda 등(1984)의 방법에 따라 결과를 판독하였다.

효소면역항체법과 dot immuno-binding assay. 효소면역항체법(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)은 Lommel 등(1982)의 방법에 따라 수행하였고 dot immuno-binding assay(DIBA)는 Hibi와 Saito(1990)의 방법에 따라 수행하였다. ELISA의 경우 0.1 M carbonate 완충액(pH 9.6)을 이용하여 소정 농도로 희석한 항원액을 microtiter plate의 well에 150 μl 씩 첨가하였고, DIBA의 경우 Tris-HCl 완충액(pH 7.4)으로 희석한 항원액을 50 μl 씩 polyvinylidene difluoride(PVDF)막에 결합시켰다. 1차 항체는 Protein-A Sepharose CL-4B(Pharmacia, Uppsala, Sweden) affinity chromatography법으로 분리한 항체(γ -globulin G; IgG)를

2 $\mu\text{g/ml}$ 농도로 사용하였으며, 2차 항체(goat anti-rabbit immunoglobulins, Sigma)는 1,000배 희석한 용액을 사용하였다. 그리고 ELISA와 DIBA의 기질용액으로는 pNPP(Sigma)와 BCIP/NBT(Sigma)를 각각 사용하였다.

생물검정. 공시한 고추품종에서 품종 당 10립의 종자를 취하고 5 ml의 마쇄용완충액(0.05 M 인산완충액, pH 7.4)을 첨가한 후 막자사발로 마쇄한 다음 3,000 rpm에서 5분간 원심분리하여 얻은 상층액을 접종액으로 사용하였다. 본엽이 3-4매 전개된 *Nicotiana glutinosa* 담배에 carborundum(400 mesh)을 뿌리고 접종액이 묻은 붓으로 잎 전면에 고르게 바른 다음 물로 즉시 씻어 주었다. 그리고 병징은 접종 5일 후부터 2주까지 관찰하였으며 생물검정법의 경우 각각의 고추종자에서 얻은 접종액을 3개체의 *Nicotiana glutinosa* 담배에 접종하였고 이와같은 실험을 3회 반복하여 실시하였다.

결 과

항혈청 유형에 따른 Tobamovirus 검출률 비교. 생물검정법을 이용하여 Tobamovirus에 오염된 것으로 확인된 6개의 고추 품종을 재료로 gelrite gel 이중확산법에서 바이러스 검출률이 가장 높은 항혈청 유형을 조사하였다. 고추품종 당 180립의 종자를 대상으로 항혈청 유형별로 바이러스 감염여부를 조사한 결과, Table 1에서처럼 TMV-OM 항혈청에 의한 Tobamovirus 검출률은 다복 고추품종에서만 8.3%로 나타났고 나머지 고추품종에서는 바이러스가 검출되지 않았다. TMV-L 항혈청의 경우 세 가지 고추품종에서 Tobamovirus가 검출되었고 이 가운데 신조광 고추품종에서의 Tobamovirus 검출률은 다른 항혈청에 의

Table 1. Reactions of pepper seeds to three different antisera against seed-borne Tobamoviruses in gelrite gel diffusion test

Cultivar ^a	Reaction to antisera ^b		
	TMV-OM	TMV-L	TMV-P
Sinjokang	0 ^c	58.3	8.3
Gumbong	0	16.7	100
Gumjang3ho	0	0	83
Dabok	8.3	0	50
Jorimkkari	0	0	58.3
NewAce	0	33	83

^aCommercial pepper cultivars

^bAntisera against ordinary mosaic strain (-OM), tomato strain (-L), and pepper strain (-P) of *Tobacco mosaic virus* (TMV).

^cOne hundred and eighty seeds per pepper cultivar were tested by gelrite gel double diffusion test. The seed contamination rate by Tobamovirus was calculated as the percentage of the number of infected seeds to total seeds tested.

Table 2. Optimum concentration of *Tobacco mosaic virus-pepper strain (TMV-P)* IgG for sensitization of gelatin particles

Conc. of IgG ($\mu\text{g/ml}$)	Buffer control	Reciprocal dilution of seed extract ^d						
		5	5 ²	5 ³	5 ⁴	5 ⁵	5 ⁶	5 ⁷
25	-	+ ^b	+	+	±	-	-	-
50	-	+	+	+	+	±	-	-
100	-	+	+	+	+	+	±	-
150	-	+	+	+	+	+	±	-

^aSupernatant after centrifugation of *Nicotiana tabacum* cv. Samsun 'nn' was inoculated with TMV-p and the leaf extract was centrifuged at 10,000 rpm for 10 min. The supernatant was diluted with 0.1 M Na-K phosphate buffer(pH 7.4), containing 0.1% bovine serum albumin.

^b+: positive, -: negative, ±: intermediate reaction.

한 것 보다 다소 높게 나타났다. 반면에 TMV-P 항혈청은 6개 고추품종과 모두 반응하였고 Tobamovirus 검출률은 신조광 고추품종을 제외한 나머지 고추 품종에서 50% 이상으로 높게 나타났다.

Gelatin 입자에 감작시킬 IgG의 최적농도. Gelatin 입자에 감작시킬 IgG의 최적농도를 결정하고자 gelrite gel 이종 확산법에서 Tobamovirus 검출률이 가장 높은 TMV-P 항혈청으로부터 IgG를 분리하였다. 0.1 M 인산완충액 (pH 7.4)을 사용하여 25, 50, 100, 150 $\mu\text{g/ml}$ 농도로 희석한 IgG 용액으로 gelatin 입자를 감작시킨 다음 *N. glutinosa*에서 작은 괴사국부병반을 일으키는 고추종자 즙액을 사용하여 IgG 농도에 따른 바이러스 검출감도를 조사하였다. 그 결과 Table 2에서처럼 100 $\mu\text{g/ml}$ 과 150 $\mu\text{g/ml}$ 농도의 IgG로 gelatin 입자를 감작시켰을때 50 $\mu\text{g/ml}$ 와 25 $\mu\text{g/ml}$ 에 비하여 검출감도가 5배에서 25배 더 높게 나타났으며, 100 $\mu\text{g/ml}$ 과 150 $\mu\text{g/ml}$ 로 감작한 gelatin 입자의 Tobamovirus 검출감도에는 차이가 없었다.

GPAT의 Tobamovirus 검출 감도 비교. 식물바이러스 진단에 보편적으로 사용되는 ELISA 및 DIBA와의 상대적인 바이러스 검출감도를 비교하였다. 먼저 gelrite gel 이종확산법에서 Tobamovirus에 심하게 오염된 것으로 확인된 NewAce 품종의 종자 5립에 2.5 ml의 0.1 M 인산완충액, pH 7.4을 첨가한 다음 유발로 마쇄하고 원심분리하여 얻은 상층액을 항원액의 원액으로 사용하였다. 100 $\mu\text{g/}$

ml 농도의 TMV-P IgG로 gelatin 입자를 감작하고 각 진단법의 바이러스 검출감도를 조사한 결과 Table 3에서처럼 GPAT의 경우 Tobamovirus 검출을 위한 종자 마쇄액의 희석한계는 2×10^{-4} 이었고 ELISA와 DIBA에서는 각각 5⁴과 2×10^{-4} 으로 나타났다.

GPAT를 위한 항원액의 최적희석범위 조사. 고추 종

Table 4. Detection of seed-borne Tobamoviruses at each dilution of infected pepper seed extract as determined by gelatin particle agglutination test

Reciprocal dilution ^a	No. and percentage of samples with positive reaction (n=39) ^b	
	No.	%
5	39	100
20	39	100
25	37	95
125	36	84
625	28	65
3,125	11	26
15,625	5	13
78,125	1	3
390,625	0	0

^aEach pepper seed was triturated in 0.5 ml of 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4) supplemented with 0.1% bovine serum albumin and centrifuged at 7,000 rpm for 3 min. and the supernatant (initial seed extract sap) was diluted accordingly in the same buffer.

^bA total of 39 seeds contaminated with a seed-borne Tobamoviruses were tested.

Table 3. Comparison of gelatin particle agglutination test (GPAT) to enzyme immunsorbent assay (ELISA) and dot immuno-binding assay (DIBA) in the sensitivity for detection of seed-borne Tobamovirus in pepper seeds

Method	Reciprocal dilution ^a					
	5	5 ²	5 ³	5 ⁴	10 ³	5 ⁵
ELISA	+ ^b	+	+	+	-	-
DIBA	+	+	+	+	+	-
GPAT	+	+	+	+	+	-

^aFive seeds from 'NewAce' were ground with 2.5 ml 0.1 M phosphate buffer (PB), pH 7.4 and then centrifuged at 7,000 rpm for 5 min. The supernatant was diluted with 0.1 M PB supplemented with 0.1% bovine serum albumin for GPAT or 0.1 M PB for ELISA and DIBA.

^b+: positive, -: negative reaction.

자로부터 Tobamovirus를 검출하기 위한 종자 마쇄액의 최적희석배수를 조사하고자 먼저 12개의 고추품종으로부터 품종 당 4립의 종자를 취하고 ELISA를 이용하여 Tobamovirus에 감염된 시료를 선별하였다. 양성반응을 보인 39개의 종자시료의 원액을 GP희석액을 사용하여 소정농도로 희석한 다음 동량의 0.1% 감작GP와 교반하고 바이러스 검출 유무를 조사한 결과, Table 4에서처럼 원액을 기준으로 5배에서 20배 희석액에서는 바이러스 검출률이 100%였고 시료의 희석배수가 증가할수록 GPAT

에 의한 바이러스 검출률은 감소하였다. 또한 Tobamovirus를 검출할 수 있는 고추종자 마쇄액의 최대희석배율은 78,125배로 나타났다.

시판 고추종자의 Tobamovirus 오염률. GPAT의 활용성을 조사하고자 생물검정법과 병행하여 국내 시판고추종자의 Tobamovirus 오염률을 조사하였다. GPAT의 경우 고추종자 1립에 2.5 ml의 GP 희석액을 첨가하고 마쇄한 다음 원심분리하여 얻은 상층액 항원액으로 사용하였으며, 32개 고추품종에서 품종 당 20립의 종자를 무작위로 취하고 고추종자 하나 하나에서의 Tobamovirus 검출여부를 확인하였다. Table 5에서처럼 공시한 모든 품종이 Tobamovirus에 오염되었으며, 품종 당 Tobamovirus 오염률은 평균 79.1%로 나타났으며, 19품종은 평균 이상의 오염률을 보였다. 또한 Tobamovirus에 오염된 품종 가운데 6개 품종은 Tobamovirus에 100% 오염된 것으로 확인되었다. 또한 생물검정법의 경우 오염된 고추에 존재하는 바이러스는 모두 감염력이 있는 것으로 확인되었다.

Table 5. Contamination of pepper seeds by seed-borne Tobamoviruses as determined by gelatin particle agglutination test

Cultivar ^a	Seed production area	Harvest year	% detection ^b	Bioassay ^c
Ha-1	Haenam	1994	75	+
Ha-2	Seocheon	1996	55	+
Ha-3	Seocheon	1995	75	+
Ha-4	Seocheon	1995	65	+
Ha-5	Dangjin	1996	95	+
Hu-1	Icheon	1995	55	+
Hu-2	Cheonwon	1995	100	+
Hu-3	Icheon	1995	90	+
Hu-4	Icheon	1995	55	+
Hu-5	Kongju	1995	10	+
Hu-6	Chungyang	1996	60	+
Hu-7	Chungyang	1994	75	+
Hu-8	Japan	1994	85	+
Ju-1	Kongju	1996	55	+
Ju-2	Seocheon	1996	100	+
Ju-3	Hadong	1995	95	+
Ju-4	Hadong	1995	90	+
Ju-5	Hadong	1996	100	+
No-1	Seocheon	1995	100	+
No-2	Dongwon	1995	100	+
No-3	Hadong	1996	45	+
No-4	Hadong	1996	85	+
No-5	Seocheon	1995	90	+
No-6	Seocheon	1996	60	+
No-7	Seocheon	1994	95	+
Se-1	Buan	1995	90	+
Se-2	Icheon	1995	70	+
Se-3	Icheon	1995	90	+
Se-4	Icheon	1995	85	+
Se-5	Buan	1995	90	+
Se-6	Seocheon	1995	95	+
Se-7	Haenam	1996	100	+

^aSeed samples were obtained from the following five seed companies: Ju; Joongang, Seed, Co. Ltd., Ha; Hannong, Seed, Co. Ltd., Hu; Hungnong, Seed, Co. Ltd., Ho; Nongwoo, Seed, Co. Ltd., and Se; Seoul, Seed, Co. Ltd.

^bTwenty seeds per cultivar were used for detection of seed-borne Tobamoviruses by gelatin particle agglutination test.

^cFive seeds per cultivar were homogenized and centrifuged at 7,000 rpm for 10 min. The supernatant was inoculated on the leaves of *Nicotiana glutinosa*. The experiment was replicated three times.

고 찰

담배 모자이크 바이러스(*Tobacco mosaic virus*, TMV)는 고추 재배시 세계적으로 심각한 피해를 주는 바이러스로 진단을 통한 바이러스 무감염 종자를 생산하는 것은 성공적인 고추재배의 가장 중요한 요소라 할 수 있다. gelrite gel 이중확산법에서 TMV-P 항혈청에 의한 Tobamovirus 검출률이 높게 나타난 것을 감안하여 국내에서 시판되고 있는 고추종자에서 Tobamovirus를 검출하기 위해서는 TMV-P 계통에 대한 항체를 사용하는 것이 효과적일 것으로 사료된다. 또한 gelrite gel 이중확산법에서 TMV-OM과 TMV-L 계통의 항혈청이 낮은 검출률을 보인 것은 우리나라에 시판되는 고추종자가 주로 Pepper mild mottle virus(PMMoV)로 불리는 TMV-P 계통에 오염되어 있기 때문에 생겨난 결과로 판단된다. 그리고 신조광의 경우는 TMV-P 계통의 항혈청보다는 토마토모자이크바이러스(ToMV)의 한 계통인 TMV-L 계통의 항혈청에서 Tobamovirus 검출률이 높게 나타났는데 이는 시판고추종자의 일부 품종이 ToMV에도 오염되어 있다는 것을 의미하며, 이와 같은 결과는 지금까지 고추에서 보고된 주요 Tobamovirus 계통이 ToMV 혹은 PMMoV인 사실과 유사한 것이다.

또한 고추종자의 Tobamovirus를 신속하고 정확하게 검출하기 위한 GPAT의 효용성 조사에서 GPAT의 Tobamovirus 검출감도와 특이도는 Natsuaki 등(1988)의 보고와 마찬가지로 ELISA 및 DIBA와 유사하였다. 그러나 GPAT는 위

두 가지 진단법에 비하여 매우 실용적이고 신속하며, 고추종자에서 바이러스 검출시 매우 정확한 방법이라고 생각한다. GPAT를 이용하여 Tobamovirus를 검정하기 위해 필요한 몇 가지 선결 실험을 수행하였는바, 고추종자에서 정확하게 Tobamovirus를 검정하기 위해서는 항원액을 20배 희석액을 사용하는 것이 바람직하였다. 또한 5배 희석액 이하의 일부 고농도시료에서 관찰되는 비특이응집반응은 종자마쇄액을 원심분리한 다음 상층에 형성되는 기름 띠를 제거했을 때 관찰되지 않았다. 그리고 최적화된 GPAT를 이용하여 시판고추종자의 Tobamovirus 오염률을 조사했을 때 고추품종 당 평균 79.1%라는 높은 오염률을 보였고 시판종자에 오염되어 있는 Tobamovirus는 모두 감염력이 있었다. 그러나 인공접종 후 채종한 고추종자에서 Tobamovirus의 유묘전반율이 평균 6.3%로 나타났다는 김등(1990)의 보고에서처럼 Tobamovirus에 100% 오염된 종자라 할지라도 유묘로 전반되는 비율은 상당히 낮을 것으로 생각한다.

이상의 결과에 기초하여 국내 시판고추는 ToMV와 PMMoV에 주로 오염되어 있을 것으로 생각하며, 차후로 이들 바이러스에 대한 정확한 특성 조사와 높은 종자오염률을 줄이기 위한 저항성 고추 계통의 육성 및 종자소독 등에 관한 연구가 필요할 것으로 생각한다.

요 약

시판고추 종자로부터 Tobamovirus를 검출하고 Tobamovirus 오염률을 조사하고자 gelatin particle agglutination test (GPAT)의 최적조건을 조사하였다. Gelatin 입자에 감작할 담배 모자이크 바이러스 고추 계통에 대한 γ -globulin G의 최적농도는 100 μ g/ml이었고, GPAT의 바이러스 검출 감도는 효소면역항체법 및 dot immuno-binding assay와 유사하였으며, Tobamovirus 검출을 위한 종자시료의 최적 희석배수는 5배에서 25배였다. 그리고 최적화된 GPAT에 의한 국내시판 고추종자의 Tobamovirus 오염률은 평균 79.1%인 것으로 판명되었다.

참고문헌

- Abdalla, O. A., Desjardins, P. R. and Dodds, J. A. 1991. Identification, disease incidence, and distribution of viruses infecting peppers in California. *Plant Dis.* 75: 1019-1023.
- Alonso, E., Garcia, L. I., Avila, R. M. J., Wicke, B., Serra, M. T. and Diaz, R. J. R. 1989. A Tobamovirus causing heavy losses in protected pepper crops in Spain. *J. Phytopathol.* 125: 67-76.
- Demski, J. W. 1981. Tobacco mosaic virus is seedborne in Pimiento pepper. *Plant Dis.* 65: 723-724.
- Garcia, L. I., Serra, M. T., Alonso, E., Wicke, M. L. and Diaz, R. J. R. 1990. The role of non-vectored soil transmission as a primary source of infection by pepper mild mottle and cucumber mosaic viruses in glasshouse-grown capsicum in Australia. *J. Phytopathol.* 126: 353-360.
- Hibi, T. and Saito, Y. 1985. A dot immunobinding assay for the detection of tobacco mosaic virus in infected tissues. *J. Gen. Virol.* 66: 1191-1194.
- Holmes, F. O. 1937. Inheritance of resistance to tobacco mosaic virus disease in the pepper. *Phytopathology* 27: 637-642.
- Ikeda, M., Fujino, R., Matsui, T., Yoshida, T., Komoda, H. and Imai, T. 1984. A new agglutination test for serum antibodies to adult T-cell leukemia virus. *Gann.* 75: 845-848.
- Igwegbe, E. C. K. and Ogungbae, O. K. 1985. Evaluation of pepper cultivars under green house conditions for resistance to a defoliation strain of tobacco mosaic virus. *Plant Dis.* 69: 899-900.
- 김정수, 김상규, 최국선, 이민웅. 1990. 고추바이러스병의 발생과 病徵 발현. *한식병지.* 6: 125-132.
- 김정수, 이순형, 이민웅. 1989. 고추 TMV의 종자傳染에 관한 연구. *농사시험연구논문집(작물보호편)* 31: 10-13.
- Lommel, S. A., McCain, A. H. and Morris, T. J. 1982. Evaluation of indirect enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *Phytopathology* 72: 1018-1022.
- McKinney, H. H. 1952. Two strains of tobacco mosaic virus, one of which is seed borne in an etch-immune pungent pepper. *Plant Dis. Rep.* 36: 184-187.
- Natsuaki, K. T., Nishimura, Y., Ikeda, M. and Tomaru, K. 1988. Use of gelatin particle agglutination test for detection of plant viruses. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 54: 548-551.
- Ohki, S. T. and Inouye, T. 1987. Use of gelrite as a gelling agent in immunodiffusion tests for identification of plant virus antigens. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 53: 557-561.
- Pares, R. D. and Gunn, L. V. 1989. The role of non-vectored soil transmission as a primary source of infection by pepper mild mottle and cucumber mosaic viruses in glasshouse-grown capsicum in Australia. *J. Phytopathol.* 126: 353-360.