



## ORIGINAL ARTICLES

## 2020년 국내 비래 벼멸구와 흰등멸구의 약제 저항성 점 돌연변이 조사

신은경 · 강열규 · 정수연 · 나진호 · 구현나 · 김길하\*

충북대학교 농업생명환경대학 식물외학과

**Monitoring of Resistant-associated Point Mutations in the Migratory Planthoppers *Nilaparvata lugens* and *Sogatella furcifera* (Hemiptera: Delphacidae) in Korea, 2020**

Eungyeong Shin, Yeol-Gyu Kang, Su-Yeon Jeong, Jin-Ho Na, Hyun-Na Koo, Gil-Hah Kim\*

Department of Plant Medicine, Chungbuk National University, Cheongju 28644, Korea

(Received on November 8, 2021. Revised on December 1, 2021. Accepted on December 5, 2021)

**Abstract** *Nilaparvata lugens* and *Sogatella furcifera* are insect pests that cannot overwinter in Korea, so they migrate from China and Southeast Asian countries every summer, causing damage to rice. Since it is impossible to care foreign control treatment, their resistance levels and even the flight of the planthoppers, diagnosis of resistance to insecticide is important for successful control. Therefore, this study evaluated the frequencies of mutations that is known to confer resistance to insecticides through the analysis of point mutations in AChEs, *nAChR* and *GABA* channel genes using collected the planthoppers from the west and southern coasts of Korea, 2020. As a result, F/Y330S, which is an AChE point mutation, occurred the most frequently in two planthopper species, and A301N, which is a GABA point mutation, was the most common in *Sogatella furcifera*.

**Key words** *Nilaparvata lugens*, *Sogatella furcifera*, resistance, point mutation

## 서 론

쌀은 세계 주요 식량 작물 중 하나로 세계 식량 안보에 필수적이다(Long-ping, 2014). 이러한 쌀 생산에 문제가 되는 해충인 벼멸구(*Nilaparvata lugens*)와 흰등멸구(*Sogatella furcifera*)는 아시아에서 발생하며, 국내에서는 월동이 불가하여 매년 초여름부터 중국 남부나 베트남을 비롯한 월동 지역에서 장거리로 이동 후 한국과 일본 등 동아시아 온대 지역에서 증식하여 피해를 준다(Kisimoto, 1991; Kisimoto and Sogawa, 1995; Otuka et al., 2005; Lao et al., 2015). 국내에서는 월동이 불가하기 때문에 두 해충 모두 장시형의 형태로 국내에 비래한다. 장시형의 경우 육지와 바다를 가로질러 수 천 km의 이동이 가능하고, 산란 전 기간(pre-oviposition period)도 약 한 달 정도 길어진다고 보고되

었다(Denno et al., 1989; Denno and Roderick, 1990; Riley et al., 1991). 비래 후 정착한 멸구류에서는 단시형이 발생하는데, 이 경우 빠른 발달과 강한 번식능력을 가지므로 개체군 확장에 강하다고 알려져 있다(Denno and Roderick, 1990). 멸구류의 지속적인 체관부 수액의 흡즙으로 벼가 노랗게 변하고 빠르게 말라 넓은 범위의 벼가 갈색으로 변하는 집중고사현상(hopper burn)이 나타나, 심각한 피해를 주며(Zhao et al., 1991; Reddy et al., 2016), 직접적으로 벼를 흡즙하는 것 외에도 바이러스성 질병을 전파하여 피해를 주기도 한다(Chen et al., 1978; Ling et al., 1978). 벼멸구가 매개체로 전파하는 바이러스병은 rice grassy stunt virus (RGSV)와 rice ragged stunt virus (RRSV)가 있는데, Phenuiviridae 과 Tenuivirus 속에 속하는 RGSV는 베트남 남부, 대만, 중국, 일본 등 동남아시아에서 보고되었고, Reoviridae 과 Oryzavirus 속에 속하는 RRSV는 베트남 남부와 말레이시아에서 보고되었다(Palmer and Rao, 1981; Cabauatan et al., 2009; Jegadeeswaran et al., 2014). 흰등멸구의 경우에

\*Corresponding author  
E-mail: khkim@cbnu.ac.kr

도 southern rice black-streaked dwarf virus (SRBSDV)를 매개한다고 알려져 있다(Zhou et al., 2008). Reoviridae 과 Fijivirus 속의 SRBSDV는 벼에 큰 손실을 주며 중국과 일본, 베트남에서의 발생이 보고되었다(Zhou et al., 2008; Matsukura et al., 2013). 이렇게 멸구류의 피해를 받은 벼는 정상적인 발육과 성장이 방해되며, 곡물의 수확량이 감소하여 연간 수십억 달러의 경제적 손실을 초래할 수 있다(Heinrichs, 1994; Cheng, 2009; Lamba and Dono, 2021).

일반적으로 벼 재배지에서는 벼멸구와 흰등멸구를 제어하기 위해 화학적 방제법에 의존하고 있다(Fahad et al., 2015; Garrood et al., 2016). 두 비래 해충은 장거리 비행이라는 특성과 함께 환경 변화에 빠르게 적응할 수 있어, 이는 살충제 저항성이 퍼지는 커다란 요인이 된다(Denholm et al., 2002; Liu et al., 2017). 현재 멸구류는 다양한 화학적 방제제의 남용으로 인해 유기인계, 카바메이트계, 페닐피라졸계, 네오니코티노이드계 살충제와 곤충성장조절제에 대한 다양한 저항성 발달이 보고되었다(Endo et al., 1988; Yoo et al., 1997; Tang et al., 2010; Matsumura et al., 2014; Mu et al., 2016; Zhang et al., 2016a). 일반적으로 곤충의 살충제 저항성은 무독화 효소 유전자와 작용점 유전자에 돌연변이를 일으켜 나타난다고 보고되었다(Heckel, 2012; Sparks and Nauen, 2015), 벼멸구의 경우 *nicotinic acetylcholine receptor* (*nAChR*)에 작용하는 네오니코티노이드계의 imidacloprid와 clothianidin의 저항성 점 돌연변이 Y151S가 보고되었으며

(Liu et al., 2005), 아세틸콜린에스터라제(AChEs)를 저해하는 카바메이트계 carbofuran과 유기인계 chlorpyrifos의 저항성 점 돌연변이 G119A/S, F/Y330S, F331C/H 그리고 H/I332L가 보고되었다(Kwon et al., 2012a; Zhang et al., 2017). 또한 *GABA-gated chloride channel*을 막는 페닐피라졸계 fipronil의 저항성 점 돌연변이 A301S가 확인되었다(Zhang et al., 2016b). 흰등멸구의 경우에도 fipronil의 저항성 점 돌연변이 A301N과 R340Q가 보고되었으며(Nakao et al., 2012; Nakao and Hirase, 2013), chlorpyrifos의 저항성 점 돌연변이 S298P가 보고되었다(He et al., 2015). 비래 해충은 발생하는 국가마다 사용하는 살충제의 선택 및 적용 방식과 빈도의 차이가 있으므로 비래한 후의 해충을 효율적으로 관리하기 위해서는 다양한 살충제에 대한 저항성 수준을 모니터링 해야 하며, 이를 통해 대체 방제 전략을 세우면서 저항성 발달을 늦출 수 있다(Prabhaker et al., 1992; Min et al., 2014). 그러나 생물검정을 통한 모니터링은 비래 해충의 특성상 살아있는 적절한 수의 개체를 초기에 확보하기 어려우므로 소수의 개체로 초기에 저항성 발달을 진단할 수 있는 저항성 분자진단이 필요하다(Min et al., 2014).

따라서 본 연구에서는 우리나라 서해안 및 남해안 지역을 중심으로 벼멸구와 흰등멸구를 채집하여 약제작용점 (AChEs, *nAChR*, *GABA*)의 점 돌연변이 분석을 통한 저항성 발달 수준을 평가하였다.

**Table 1.** Information of planthopper populations which collected in Korea

Species	Populations	Date collected	Region
<i>N. lugens</i>	1_SC	2020. 08. 03	Gyeongsangnam-do, Sacheon-si
	2_GS	2020. 09. 18.	Gyeongsangnam-do, Goseong-gun
	3_NH	2020. 09. 18.	Gyeongsangnam-do, Namhae-gun
<i>S. furcifera</i>	RDA		
	4_JD	2020. 07. 12.	Jeollanam-do, Jindo-gun
	5_JD	2020. 07. 17.	Jeollanam-do, Jindo-gun
	6_JD	2020. 07. 18.	Jeollanam-do, Jindo-gun
	7_JD	2020. 07. 21.	Jeollanam-do, Jindo-gun
	8_JD	2020. 07. 21.	Jeollanam-do, Jindo-gun
	9_JD	2020. 07. 22.	Jeollanam-do, Jindo-gun
	10_JD	2020. 07. 26.	Jeollanam-do, Jindo-gun
	11_SC	2020. 08. 03.	Gyeongsangnam-do, Sacheon-si
	12_SC	2020. 08. 03.	Gyeongsangnam-do, Sacheon-si
	13_TA	2020. 08. 05.	Chungcheongnam-do, Taean-gun
	14_MY	2020. 08. 07	Gyeongsangnam-do, Miryang-si,
	15_GC	2020. 08. 10.	Jeollabuk-do, Gochang-gun
	16_TA	2020. 08. 14.	Chungcheongnam-do, Taean-gun
	17_BR	2020. 08. 15.	Chungcheongnam-do, Boryeong-si
	18_JJ	2020. 08. 18.	Jeju-do, Jeju-si

## 재료 및 방법

### 벼멸구 및 흰등멸구 채집

실험에 사용된 흰등멸구 RDA 집단은 농촌진흥청에서 분양 받아 2020년부터 약제 처리 없이 누대 사육한 것을 사용하였다. 야외 집단 채집은 2020년 07월 ~ 09월까지 경남 고성, 남해, 밀양, 사천, 전남 진도, 전북 고창, 충남 보령, 사천, 태안 그리고 제주특별자치도의 제주에서 직접 포충망을 이용하거나, 협력 기관의 도움을 받아 스마트 공중 포집기인 smart sky net trap (SSNT) (섬진이앤아이티, 서울)을 통해 채집하였다(Table 1). 실내 사육 조건은 온도 25~30°C, 광주기 16L:8D, 상대습도 60~70%의 조건으로 벼 유묘(*Oryza sativa*)를 먹이로 사육하였다.

### 저항성 점 돌연변이 조사

벼멸구와 흰등멸구는 각 집단별로 10-20마리를 분석에 이용하였으며, genomic DNA는 G-spin™ Total DNA Extraction Mini Kit (Intron, Seongnam, Korea) 를 이용하여 추출하였다. Total RNA는 easy-spin™ Total RNA Extraction Kit (Intron, Seongnam, Korea)을 이용하여 추출하였으며 cDNA는 ReverTra Ace™ qPCR RT Master Mix with gDNA Remover (TOYOBO, Osaka, Japan)를 이용하여 합성한 후

PCR에 이용하였다. 저항성 관련 점 돌연변이는 *AChE*, *nAChR*, *GABA* gene을 Table 2와 3의 primer를 이용하여 각각의 조건에 맞게 반응시킨 후, Bioneer (Daejeon, Korea)와 Macrogen (Seoul, Korea)에 sequence 분석을 의뢰하여 진행하였다.

### Pyrosequencing 및 빈도분석

Pyrosequencing의 경우 사용된 각 유전자의 primer 및 증폭된 단편의 크기는 Table 4와 같다. Forward primer와 reverse primer 0.5 μL를 20 μL의 1X Taq enzyme reaction mix를 포함한 reaction mixtures에 넣어 45 cycles 합성했다. PCR 조건은 95°C에서 15 min 1 cycle; 94°C 30 sec, 60°C 30 sec, 72°C 30 sec 45 cycles; 72°C 10 min으로 진행하였다 (Enzynomics, Daejeon, Korea). PCR은 PyroMark Q48 Advanced Reagents (Qiagen)와 PyroMark Q48 Autoprep System (Qiagen, Hilden, Germany)을 이용하였다.

## 결 과

### 지역별 채집 개체의 저항성 점 돌연변이 발생여부 확인

총 3개 지역에서 채집된 벼멸구 3개 집단과 7개 지역에서 채집된 흰등멸구 15개 집단 그리고 흰등멸구 사육 집단인

**Table 2.** Primers used for PCR amplification for *N. lugens*

Pesticide	Target gene	Mutation	Primer name	Primer sequence (5'-3')	References
Imidacloprid Clothianidin	<i>nAChR</i>	Y151S	Y151S_P_F	ACACGTCCCCAGTGAGCA	Liu et al., 2005
			Y151S_B_R	CATGATTGCCGTCGT	
			Y151S_F	GACAAAGGCGATCCTGCATCAC	Puinean et al., 2010
			Y151S_R	CGCCCTTACGGTGTAGAAGA	
Carbofuran		G119A	5_NLace1_Scr_3_F	GCTGTGTGCAGATCATAGACA	
Chlorpyrifos	<i>AChE</i>	G119S	3_NLace1_GS_QS_N_R	ACCCTATACTGCATGCTGACA	Kwon et al., 2012a
		F331C, I332L			
Carbofuran		F/Y330S, F331H, H332L	5_NLace1_FYS_QS_F 3'NLACHe1(N)_R	ATCTCTGTTTCTGGGTGTAG CTCTCGAACCGCTTGTAGAAA	
Fipronil	<i>GABA</i>	A301S	A301S_F	GTTCATTCGGATACACCACTCTGG	Zhang et al., 2016b
			A301S_R	CCTTAGGATCGTGAACCTTGAAG	

**Table 3.** Primers used for PCR amplification for *S. furcifera*

Pesticide	Target gene	Mutation	Primer name	Primer sequence (5'-3')	References
Fipronil	<i>GABA</i>	A301N	SF-5'-2_F	AACTACAGCCGACTGGCGTGCGAGATCCA	Nakao and Hirase, 2013
			SF-3'-2_R	GAGCAACGACGCGAAGACCATGACGAAAC	
		R340Q	5'Sf-Sal_F	ACACTGATGTGTCGACGAAC	Nakao et al., 2012
			Sf-flag11_R	ATCGTCATCCTTGTAGTCTTTGTCTTCTTCGAGCAG	
Chlorpyrifos	<i>AChE</i>	S298P	S298P_Sense_2_F	AATCCGAACACACCGGTGTC	He et al., 2015
			S298P_Anti-sense_1_R	CTGAGCAGATGCAAACCTGACC	

**Table 4.** Primers used for pyrosequencing

Gene/Assay		Primer (5`-3`)	PCR size (bp)
AChE (F/Y330S, F331H/C, H/I332L)	F	GGGTAGTAACACGGAGGAAGGATA	91
	R	GTCCCGGTTGACGTAGACAT	
	seqF	CACGGAGGAAGGATACT	
AChE (G119A/S)	F	CAATGTGGAATCCGAACACG	154
	R	CGATGGTCATAGACGTCGAGTG	
	seqF	GTGGATATTCGGCGG	
AChE (S298P)	F	TCCCGGCACGTCTACTCTGG	198
	R	CCGAACGCGGCTATATTGTC	
	seqF	TTTCTCTACTTCGACACC	
GABA (A301S)	F	CTGGCTGAACCGGAATGC	113
	R	CGTAGCTGATCTTGGGCAGAG	
	seqF	GACACCGGCACGAGT	
GABA (A301N)	F	CTCGATGGGTTATACCTGATTCA	155
	R	TCGACGACATCAGTGTGGTCAT	
	seqF	GGCTGAACAGAAACG	
GABA (R340Q)	F	GTACGCAACAGTCGGCTACAT	92
	R	CTTTCTGCTTCTGTTCGGCTATT	
	seqR	TTTGCGCATCTGTATT	
<i>nAChR</i> (Y151S)	F	AGAGCTTTTGTGAGATCGACGTAC	125
	R	GTCTGGTGACTGCGACATGTG	
	seqF	TTTGGATCCTGGACA	

**Table 5.** Genotypes by general PCR and frequency (%) by pyrosequencing of point mutations in *N. lugens*

Population	Target site and point mutation					
	<i>nAChR</i>	AChE				<i>GABA</i>
	Y151S	G119A/S	F/Y330S	F331H/C	H/I332L	A301S
1_SC	Y	G	F	F	I	A
	100:0	100:0	97:3	96:4	83:17	100:0
2_GS	Y	G	F/S	F	I	A
	100:0	100:0	32:68	96:4	100:0	100:0
3_NH	Y	G	S	F	I	A
	100:0	100:0	11:89	97:3	100:0	100:0

RDA 집단에 대한 sequencing을 통한 저항성 점 돌연변이 발생여부를 확인하였다(Table 5, 6). 벼멸구의 경우 *nAChR* 작용점 돌연변이인 Y151S와 *GABA* 작용점 돌연변이인 A301S는 확인되지 않았다. *AChE* 작용점 돌연변이 중 G119A/S와 F331H/C, I332L는 발생하지 않았으나, F/Y330S는 고성(2\_GS)와 남해(3\_NH) 집단에서 확인되었다. 흰등멸구의 경우 총 16개 집단 중 *AChE* 작용점 돌연변이인 S298P는 사천(11\_SC) 집단에서만 확인되었다. *GABA* 작용점 돌연변이인 A301N 돌연변이는 사육 집단 RDA와 12개의 채집 집단(진도(6\_JD, 7\_JD, 8\_JD, 9\_JD, 10\_JD), 사천(11\_SC, 12\_SC), 태안(13\_TA, 16\_TA), 고창(15\_GC), 보령(17\_BR) 그리고 진도(18\_JJ)에서 확인되었다. 또 다른

*GABA* 작용점 돌연변이인 R340Q는 진도(6\_JD)와 태안(16\_TA) 두 집단에서 확인되었다.

#### Pyrosequencing을 통한 점 돌연변이 빈도 확인

Pyrosequencing을 통해 모든 채집 집단에 대한 점 돌연변이 빈도를 확인해보았다(Table 5, 6). 벼멸구에 대한 저항성 점 돌연변이의 경우, Y151S (TAC → TCC)와 G119A/S (GGT → GCT/AGT) 그리고 A301S (GCC → TCC)는 모든 집단에서 변이되는 각 염기 C, C/A, T의 빈도가 0%로 확인되었다. F/Y330S (TTT/TAT → TCT)의 경우 변이되는 염기 C의 비율이 사천(1\_SC) 집단에서 3%, 고성(2\_GS) 집단에서 68%, 남해(3\_NH) 집단에서 89%의 빈도가 확인되

**Table 6.** Genotypes by general PCR and frequency (%) by pyrosequencing of point mutations in *S. furcifera*

Population	Target site and point mutation		
	AChE	GABA	
	S298P	A301N	R340Q
RDA	S 97:3	A/N 44:56	R 83:17
4_JD	S 100:0	A 100:0	R 100:0
5_JD	S 80:20	A 71:29	R 84:16
6_JD	S 91:9	A/N 41:59	R/Q 55:45
7_JD	S 100:0	N 6:94	R 83:17
8_JD	S 78:22	N 13:87	R 89:11
9_JD	S 100:0	A/N 55:45	R 90:10
10_JD	S 91:9	A/N 51:49	R 88:12
11_SC	P 17:83	A/N 37:63	R 84:16
12_SC	S 100:0	A/N 67:33	R 87:13
13_TA	S 87:13	N 30:70	R 84:16
14_MY	S 78:22	A 95:5	R 87:13
15_GC	S 100:0	A/N 56:44	R 70:30
16_TA	S 83:17	A/N 52:48	R/Q 48:52
17_BR	S 100:0	A/N 54:46	R 89:11
18_JJ	S 95:5	A/N 39:61	R 84:16

었다. F331H/C (TTC → CTC/TGC)의 경우 변이되는 염기 C 또는 G의 비율이 모든 집단에서 5% 미만으로 확인되었다. I332L (ATC → CTC)의 경우 변이되는 염기 C의 비율이 사천(1\_SC) 집단에서 17%, 나머지 두 집단에서 0%로 확인되었다.

흰등멸구에 대한 저항성 점 돌연변이의 경우 S298P (TCT → CCT)에서 변이되는 염기 C의 빈도가 사천(11\_SC) 집단에서만 83%로 나타났으며 이외의 14개 집단에서는 22% 이하인 것으로 확인되었다. A301N (GCC → AAC)의

경우 염기 두 개가 AA로 변하는 빈도가 진도(4\_JD)와 밀양(14\_MY) 집단에서 5% 이하, 사육 집단인 RDA와 9개의 채집 집단(5\_JD, 6\_JD, 9\_JD, 10\_JD, 11\_SC, 12\_SC, 15\_GC, 16\_TA, 17\_BR 그리고 18\_JJ)에서 29 ~ 63%로 확인되었다. 또한 진도 7\_JD와 8\_JD 집단에서는 각각 비교적 높은 수준인 94%와 87%로 확인되었다. R340Q (CGA → CAA)의 경우 변이되는 염기 A의 빈도가 진도 6\_JD와 태안 16\_TA 집단에서 45~52%으로 확인되었으며, 이외의 모든 흰등멸구 집단에서는 30% 미만의 결과를 보였다.

## 고 찰

본 연구에서는 국내 서해안을 비롯한 남해안 지역에서 채집한 벼멸구와 흰등멸구 야외 집단에 대해 기존에 보고된 약제저항성 작용점에서의 점 돌연변이 발생 유무 및 빈도를 조사하였다. 절지동물문에서 약제 저항성은 두 가지 주요 기작으로 이루어지며, 무독화 효소의 양적 또는 질적 변화를 통한 약제 노출의 감소와 작용점의 돌연변이를 통한 표적 부위의 민감도 변화가 있다(Li et al., 2007; Ffrench-Constant, 2013; Feyereisen, et al., 2015;). 벼멸구의 경우 *nAChR*의 Y151S가 확인되지 않았으며, 이는 이전에 보고된 연구와 비슷한 결과로 해당 연구에서는 중국 및 인도의 야외 집단 벼멸구에서는 Y151S가 발견되지 않았으며 이는 실내집단에서만 발생하는 것으로 판단된다고 보고되었다(Puinean et al., 2010; Wu et al., 2018). 최근 연구들에 따르면 *nAChR* 작용점을 가지는 다수의 약제에 대해 무독화 효소 P<sub>450</sub> monooxygenase, 특히 *CYP6AY1*과 *CYP6ER1*의 과발현이 저항성의 주기작으로 고려된다고 보고되었다(Bao et al., 2016; Mao et al., 2019; Liao et al., 2021). AChE의 G119A/S, F/Y330S, F331H/C, I332L의 경우 고성 2\_GS와 남해 3\_NH 집단에서 F/Y330S만 발생한 것을 확인하였으며, 그 빈도는 각각 68%와 89%이었다. AChEs 중 *AChE1*에서 발생하는 살충제 저항성 점 돌연변이는 멸구와 진딧물, 가루이 등 노린재목에서 발견되며(Li and Han, 2004; Alon et al., 2008; Kwon et al., 2012a), carbofuran 저항성 점 돌연변이에 해당하는 G119A, F/Y330S, F331H, I332L의 경우, 국내 야외 집단에 대해 F331H와 I332L만이 생물검정과 상관관계를 갖는 빈도를 보였다고 보고되었다(Kwon et al., 2012b). 또한 chlorpyrifos 저항성 점 돌연변이에 해당하는 G119S, F331C, I332L의 경우, 같은 집단으로부터 단순 누대사육과 chlorpyrifos 처리 누대 사육 집단을 비교한 결과 G119S와 F331C가 저항성에 직접 관여하며 I332L은 앞선 두 점 돌연변이 발현에 의해 생기는 촉매 효율의 위험성을 감소시키고 정상 기능을 유지하는 역할을 한다고 보고되었다(Zhang et al., 2017). 결과적으로 본 연구에서 확보한 야외 집단이 높은 저항성 수준을 갖고 있다고 보기 어렵다고

판단되었다. *GABA*의 *fipronil* 저항성 점 돌연변이인 A301S를 확인한 결과 변이되는 염기의 빈도가 모든 집단에서 0%로 저항성이 전혀 나타나지 않았음을 확인하였다. 흰등멸구의 경우 벼멸구에 비해 *fipronil* 저항성의 빈도가 비교적 높게 나타났다. *Fipronil*은 벼멸구와 흰등멸구 방제약제로 국내 등록되지 않았으나, 애멸구를 비롯한 몇몇 벼 해충에 등록되어 있으므로 간접적으로 살포 될 가능성이 있고 (KCPA, 2020), 현재 잔류로 인한 환경오염 및 생태계 문제를 일으켜 전 세계적으로 사용이 중단되고 있다고 보고되었다 (Bonmatin et al., 2015). 그러나 2017년 영국에서 진행된 연구에 따르면 A301S 점 돌연변이가 *fipronil*이 아닌 *ethiprole* 저항성의 주 기작이며 효소가 관여하지 않는다는 것이 밝혀졌으며, *ethiprole*은 *fipronil*에 대한 대체 약제로 국외에서 사용되는 추세이므로 저항성 발달에 유의해야 한다고 판단된다 (Garrood et al., 2017; Li et al., 2018). 흰등멸구의 A301N의 경우 진도 4\_JD과 밀양 14\_MY 집단을 제외한 모든 집단에서 변이되는 염기의 빈도가 29-63%이었으며, 흰등멸구의 R340Q의 경우 진도 6\_JD, 태안 16\_TA 집단에서만 변이되는 염기의 빈도가 45-56%로 나타났다. 흰등멸구의 *fipronil* 저항성은 R340Q와 A301N의 이중 돌연변이가 A301N 단일 돌연변이보다 더 강한 영향을 끼친다고 보고되었다 (Nakao et al., 2012). 따라서 채집된 야외 집단 중 진도 6\_JD와 태안 16\_TA이 *fipronil*에 대해 가장 높은 저항성을 보임을 시사하였다. 또한 AChEs의 S298P는 사천 11\_SC 집단에서만 변이되는 염기의 빈도가 83%로 나타났다. 해당 점 돌연변이는 2015년 *AChE*에서의 발견이 보고되었으나, 이는 감수성 계통과 저항성 계통의 비교를 통한 결과로 *chlorpyrifos*의 주 기작이라고 보기는 어려우며 추가적인 연구가 필요하다 (He et al., 2015). 따라서 채집된 야외 집단의 점 돌연변이를 확인한 결과, 벼멸구에서는 고성과 남해 집단이 *carbofuran*에 대한 점 돌연변이 F/Y330S만이 발생하였으며, 흰등멸구에서는 *chlorpyrifos*에 대한 점 돌연변이 S298P는 사천 지역에서만 발생하였다. *Fipronil*에 대한 점 돌연변이 A301N이 가장 높은 빈도로 밀양을 제외한 대부분의 지역에서 발생하였고, R340Q는 진도와 태안에서 발생하였다.

벼멸구 및 흰등멸구의 저항성 기작은 점 돌연변이 발생과  $P_{450}$ 의 활성 증가 이외에도 *carboxylesterases* (COEs), *esterase* (ESTs), *glutathione S-transferases* (GSTs), *mixed-function oxidases* (MFOs) 등의 다양한 무독화 효소의 활성 및 유전자 발현의 증가가 보고되고 있다 (Malathi et al., 2017; Zhou et al., 2018; Tang et al., 2021). 따라서 저항성의 주기작을 알기 위해서는 추가적인 연구가 필요하다. 또한 해당 유전자 변이와 GBS (Genotyping-by-sequencing)을 이용한 집단 분석을 통해 지역간의 유연관계 분석이 추가적으로 수행되어야 할 것이다.

## 사 사

본 결과물은 농촌진흥청 기후적응기술연구단(PJ01488704) 지원을 받아 연구되었습니다.

## 이해상충관계

저자는 이해상충관계가 없음을 선언합니다.

## Author Information and Contributions

Eungyeong Shin, Department of Plant Medicine, Chungbuk National University, Master student, <https://orcid.org/0000-0003-4324-5422>

Yeol-Gyu Kang, Department of Plant Medicine, Chungbuk National University, Master student

Su-Yeon Jeong, Department of Plant Medicine, Chungbuk National University, Master student

Jin-Ho Na, Department of Plant Medicine, Chungbuk National University, Bachelor student

Hyun-Na Koo, Department of Plant Medicine, Chungbuk National University, Visiting professor

Gil-Hah Kim, Department of Plant Medicine, Chungbuk National University, Professor, <https://orcid.org/0000-0001-6256-8759>

Research design; Kim G-H, Koo H-N, Investigation; Shin E, Kang Y-G, Data analysis; Shin E, Jeong S-Y, Na J-H, Writing – original draft preparation; Shin E, Writing – review & editing; Koo H-N, Kim G-H.

## Literature Cited

- Alon M, Alon F, Nauen R, Morin S, 2008. Organophosphates' resistance in the B-biotype of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) is associated with a point mutation in an ace1-type acetylcholinesterase and overexpression of carboxylesterase. *Insect. Biochem. Mol. Biol.* 38(10):940-949.
- Bao HB, Gao HL, Zhang YX, Fan DZ, Fang JC, et al., 2016. The roles of CYP6AY1 and CYP6ER1 in imidacloprid resistance in the brown planthopper: Expression levels and detoxification efficiency. *Pestic. Biochem. Physiol.* 129:70-74.
- Bonmatin JM, Giorio C, Girolami V, Goulson D, Kreutzweiser DP, et al., 2015. Environmental fate and exposure;

- neonicotinoids and fipronil. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 22: 35-67.
- Cabauatan PQ, Cabunagan RC, Choi IR, 2009. Rice viruses transmitted by the brown planthopper *Nilaparvata lugens* Stål. *Planthoppers: New threats to the sustainability of intensive rice production systems in Asia*. Los Baños: International Rice Research Institute. 357-368.
- Chen C, Ku W, Chiu R, 1978. Rice wilted stunt and its transmission by the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål), *Plant Prot. Bull(Taiwan)*. 20:976.
- Cheng JA, 2009. Rice planthopper problems and relevant causes in China. In: Heong KL, Hardy B, editors. *Planthoppers: new threats to the sustainability of intensive rice production systems in Asia*. Los Baños: Int. Rice. Res. Notes. 157-178.
- Denholm I, Devine GJ, Williamson MS, 2002. Insecticide resistance on the move. *Science*. 297(5590):2222-2223.
- Denno RF, Olmstead KL, McCLOUD ES, 1989. Reproductive cost of flight capability: A comparison of life history traits in wing dimorphic planthoppers. *Ecol. Entomol.* 14(1):31-44.
- Denno RF, Roderick GK, 1990. Population biology of planthoppers. *Annu. Rev. Entomol.* 35:489-520.
- Endo S, Nagata T, Kawabe S, Kazano H, 1988. Changes of insecticide susceptibility of the white backed planthopper *Sogatella furcifera* Horváth (Homoptera: Delphacidae) and the brown planthopper *Nilaparvata lugens* Stål (Homoptera: Delphacidae). *Appl. Entomol. Zool.* 23:417-421.
- Fahad S, Nie L, Hussain S, Khan F, Khan AF, et al., 2015. Rice pest management and biological control. In: *Sustainable Agriculture Reviews*. Springer. 85-106.
- Feyereisen R, Dermauw W, Van Leeuwen T, 2015. Genotype to phenotype, the molecular and physiological dimensions of resistance in arthropods. *Pestic. Biochem. Physiol.* 121:61-77.
- Ffrench-Constant RH, 2013. The molecular genetics of insecticide resistance, *Genetics*, 194(4):807-815.
- Garrod WT, Zimmer CT, Gorman KJ, Nauen R, Bass C, et al. 2016. Field-evolved resistance to imidacloprid and ethiprole in populations of brown planthopper *Nilaparvata lugens* collected from across South and East Asia. *Pest. Manag. Sci.* 72(1):140-149.
- Garrod WT, Zimmer CT, Gutbrod O, Lüke B, Williamson MS, et al., 2017. Influence of the RDL A301S mutation in the brown planthopper *Nilaparvata lugens* on the activity of phenylpyrazole insecticides. *Pestic. Biochem. Physiol.* 142:1-8.
- He M, Ai ZX, Jiang ZQ, Long YN, Zhang YL, et al., 2015. Biochemistry and molecular characterisation of chlorpyrifos resistance in field strains of the white-backed planthopper *Sogatella furcifera* (Hemiptera: Delphacidae). *Aust. Entomol.* 54(4):376-384.
- Heckel DG, 2012. Insecticide resistance after silent spring. *Science*. 337(6102):1612-1614.
- Heinrichs EA, 1994. Impact of insecticides on the resistance and resurgence of rice planthoppers. In: Denno RF, Perfect TJ, editors. *Planthopper: their ecology and management*. New York: Chapman & Hall. 571-598.
- Jegadeeswaran M, Anandakumar C, Maheswaran M, 2014. Principal component analysis of morphological traits related to brown planthopper (BPH)(*Nilaparvata lugens* Stål.) resistance in 442 accessions of rice (*Oryza sativa* L.). *Trends. Biosci.* 7(16):2253-2256.
- KCPA (Korea crop protection association), 2020. 작물보호제 (농약)지침서. 한국작물보호협회. 910.
- Kisimoto R, 1991. Long-distance migration of rice insects. In: Heinrichs EA, Miller TA, editors. *Rice insects: management strategies*. New York: Springer-Verlag. 167-195.
- Kisimoto R, Sogawa K, 1995. Migration of the brown planthopper *Nilaparvata lugens* and the white-backed planthopper *Sogatella furcifera* in East Asia: the role of weather and climate. 67-91. in Drake VA, Gatehouse AG (Eds), *Insect migration: tracking resources through space and time*. Cambridge, Cambridge University Press.
- Kwon DH, Cha DJ, Kim YH, Lee SW, Lee SH, 2012a. Cloning of the acetylcholinesterase 1 gene and identification of point mutations putatively associated with carbofuran resistance in *Nilaparvata lugen*. *Pestic. Biochem. Physiol.* 103(2):94-100.
- Kwon DH, Min S, Lee SW, Park JH, Lee SH, 2012b. Monitoring of carbamate and organophosphate resistance levels in *Nilaparvata lugens* based on bioassay and quantitative sequencing. *J. Asia. Pac. Entomol.* 15(4):635-639.
- Lamba K, Dono D, 2021. A review on brown planthopper (*Nilaparvata lugens* Stål), a major pest of rice in asia and pacific. *Asian. J. Res. Crop. Sci.* 6(4):7-19.
- Lao SH, Huang XH, Huang HJ, Liu CW, Zhang CX, et al., 2015. Genomic and transcriptomic insights into the cytochrome P450 monooxygenase gene repertoire in the rice pest brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. *Genomics.* 106(5):301-309.
- Li F, Han Z, 2004. Mutations in acetylcholinesterase associated with insecticide resistance in the cotton aphid, *Aphis gossypii* Glover. *Insect. Biochem. Mol. Biol.* 34(4):397-405.
- Li X, Schuler MA, Berenbaum MR, 2007. Molecular mechanisms of metabolic resistance to synthetic and natural xenobiotics. *Annu. Rev. Entomol.* 52:231-253.
- Li S, Wang P, Liu W, Wu X, Dong F, et al., 2018. Polyoxymethylene passive samplers to assess the effectiveness of biochar by reducing the content of freely dissolved fipronil and ethiprole. *Sci. Total. Environ.* 630: 960-966.
- Liao X, Xu PF, Gong PP, Wan H, Li JH, 2021. Current susceptibilities of brown planthopper *Nilaparvata lugens* to triflumezopyrim and other frequently used insecticides in

- China. *Insect. Sci.* 28(1):115-126.
- Ling K, Tiongco E, Aguiro V, 1978. Rice ragged stunt, a new virus disease. *Plant Disease Reporter.* 62:701-705.
- Liu MG, Jiang CX, Mao M, Liu C, Li Q, et al., 2017. Effect of the insecticide dinotefuran on the ultrastructure of the flight muscle of female *Sogatella furcifera* (Hemiptera: Delphacidae). *J. Econ. Entomol.* 110(2):632-640.
- Liu Z, Williamson MS, Lansdell SJ, Denholm I, Han Z, et al., 2005. A nicotinic acetylcholine receptor mutation conferring target-site resistance to imidacloprid in *Nilaparvata lugens* (brown planthopper). *PNAS.* 102(24):8420-8425.
- Long-ping Y, 2014. Development of hybrid rice to ensure food security. *Rice Science,* 21(1):1-2.
- Nakao T, Hama M, Kawahara N, Hirase K, 2012. Fipronil resistance in *Sogatella furcifera*: Molecular cloning and functional expression of wild-type and mutant RDL GABA receptor subunits. *J. Pestic. Sci.* 37(1):0-8.
- Nakao T, Hirase K, 2013. Detection of the A2'N mutation in the RDL GABA receptor subunits of fipronil-resistant pests *Sogatella furcifera* and *Laodelphax striatellus* using a PCR-RFLP assay. *J. Pestic. Sci.* 38(3):157-160.
- Malathi VM, Jalali SK, Gowda DKS, Mohan M, Venkatesan M, 2017. Establishing the role of detoxifying enzymes in field-evolved resistance to various insecticides in the brown planthopper (*Nilaparvata lugens*) in South India. *Insect. Sci.* 24(1):35-46.
- Mao KK, Zhang XL, Ali E, Liao X, Jin RH, et al., 2019. Characterization of nitenpyram resistance in *Nilaparvata lugens* (Stål). *Pestic. Biochem. Physiol.* 157:26-32.
- Matsukura K, Towata T, Sakai J, Onuki M, Okuda M, et al., 2013. Dynamics of Southern rice black-streaked dwarf virus in rice and implication for virus acquisition. *Phytopathology.* 103(5):509-512.
- Matsumura M, Sanada-Morimura S, Otuka A, Ohtsu R, Sakumoto S, et al., 2014. Insecticide susceptibilities in populations of two rice planthoppers, *Nilaparvata lugens* and *Sogatella furcifera*, immigrating into Japan in the period 2005-2012. *Pest. Manag. Sci.* 70(4):615-622.
- Min S, Lee SW, Choi BR, Lee SH, Kwon DH, 2014. Insecticide resistance monitoring and correlation analysis to select appropriate insecticides against *Nilaparvata lugens* (Stål), a migratory pest in Korea. *J. Asia Pac. Entomol.* 17(4):711-716.
- Mu XC, Zhang W, Wang LX, Zhang S, Zhang K, et al., 2016. Resistance monitoring and cross-resistance patterns of three rice planthoppers, *Nilaparvata lugens*, *Sogatella furcifera* and *Laodelphax striatellus* to dinotefuran in China. *Pestic. Biochem. Physiol.* 134:8-13.
- Otuka A, Dudhia J, Watanabe T, Furuno A, 2005. A new trajectory analysis method for migratory planthoppers, *Sogatella furcifera* (Horváth) and *Nilaparvata lugens* (Stål) (Homoptera: Delphacidae). *Agric. For. Entomol.* 7:1-9.
- Palmer L, Rao P, 1981. Grassy stunt, ragged stunt and tungro diseases of rice in Indonesia. *Int. J. Pest. Manag.* 27:212-217.
- Prabhaker N, Toscano NC, Perring TM, Nuessley G, Kido K, et al., 1992. Resistance monitoring of the sweetpotato whitefly (Homoptera: Aleyrodidae) in the Imperial Valley of California. *J. Econ. Entomol.* 18(2):1063-1068.
- Puinean AM, Denholm I, Millar NS, Nauen R, Williamson MS, 2010. Characterisation of imidacloprid resistance mechanisms in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* Stål (Hemiptera: Delphacidae). *Pestic. Biochem. Physiol.* 97(2):129-132.
- Reddy BN, Lakshmi VJ, Maheswari TU, Ramulamma A, Katti GR, 2016. Studies on antibiosis and tolerance mechanism of resistance to brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål)(Hemiptera: Delphacidae) in the selected rice entries. *The Ecoscan.* 10:269-275.
- Riley JR, Xia-Nian C, Xiao-XI Z, Reynolds DR, Guo-Min X, et al., 1991. The long-distance migration of *Nilaparvata lugens* (Stål)(Delphacidae) in China: Radar observations of mass return flight in the autumn. *Ecol. Entomol.* 16(4):471-489.
- Sparks TC, Nauen R, 2015. IRAC: Mode of action classification and insecticide resistance management. *Pestic. Biochem. Physiol.* 121:122-128.
- Tang J, Li j, Shao Y, Yang B, Liu Z, 2010. Fipronil resistance in the whitebacked planthopper (*Sogatella furcifera*): possible resistance mechanisms and cross-resistance. *Pest Management Science.* 66(2):121-125.
- Tang T, Zhang Y, Cai T, Deng X, Liu C, et al., 2021. Antibiotics increased host insecticide susceptibility via collapsed bacterial symbionts reducing detoxification metabolism in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. *J. Pest. Sci.* 94:757-767.
- Wu SF, Zeng B, Zheng C, Mu XC, Zhang Y, et al., 2018. The evolution of insecticide resistance in the brown planthopper (*Nilaparvata lugens* Stål) of China in the period 2012-2016. *Sci. Rep.* 8:4586.
- Yoo JK, Park HM, Choi BR, Lee SG, Ahn YJ, 1997. Resistance monitoring and cross-resistance of brown planthopper (Homoptera : Delphacidae), *Nilaparvata lugens* Stål in Korea. *Korean. J. Pestic. Sci.* 10:41-47.
- Zhang XL, Liao X, Mao K, Zhang K, Wan H, et al., 2016a. Insecticide resistance monitoring and correlation analysis of insecticides in field populations of the brown planthopper *Nilaparvata lugens* (stål) in China 2012-2014. *Pestic. Biochem. Physiol.* 132:13-20.
- Zhang Y, Meng X, Yang Y, Li H, Wang X, et al., 2016b. Synergistic and compensatory effects of two point mutations conferring target-site resistance to fipronil in the insect GABA receptor RDL. *Sci. Rep.* 6:32335.
- Zhang Y, Yang B, Li J, Liu M, Liu Z, 2017. Point mutations in acetylcholinesterase 1 associated with chlorpyrifos resistance in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* Stål. *Insect. Mol. Biol.* 26(4):453-460.



Zhao SX, Wu ZF, Yang ZH, 1991. Study on the niche of three species of rice planthoppers. J. Fujian Agric. Univ. 20:385-390.

Zhou GH, Wen JJ, Cai DJ, Li P, Xu DL, et al., 2008. Southern rice black-streaked dwarf virus: a new proposed Fijivirus

species in the family Reoviridae. Chin. Sci. Bull. 53:3677-3685.

Zhou C, Yang H, Wang Z, Long G, Jin D, 2018. Comparative transcriptome analysis of *Sogatella furcifera* (Horváth) exposed to different insecticides. Sci. Rep. 8:8773.

## 2020년 국내 비래 벼멸구와 흰등멸구의 약제 저항성 점 돌연변이 조사

신은경 · 강열규 · 정수연 · 나진호 · 구현나 · 김길하\*

충북대학교 농업생명환경대학 식물외과학과

**요약** 벼멸구(*Nilaparvata lugens*)와 흰등멸구(*Sogatella furcifera*)는 국내에서 월동이 불가능한 병해충이며, 매년 여름 중국 및 동남아 국가에서 비래하여 벼에 피해를 주고 있다. 국외의 방제 약제 처리 및 저항성 개체 출현의 여부와 비래를 막을 수는 없으므로 국내에서의 성공적인 방제를 위해서는 주 방제 방법인 화학적 방제에 대한 저항성 진단이 중요하다. 따라서 본 연구는 2020년 서해안과 남해안 지역을 중심으로 채집된 벼멸구와 흰등멸구를 AChEs, nAChR, GABA channel 유전자의 작용점 돌연변이 분석을 통한 저항성 발달 수준과 빈도를 평가하였다. 그 결과 벼멸구는 AChE 점 돌연변이인 F/Y330S가, 흰등멸구에서는 GABA 점 돌연변이인 A301N이 가장 많이 발생되었다.

**색인어** 벼멸구, 흰등멸구, 저항성, 점 돌연변이