Original article KOREAN JOURNAL OF APPLIED ENTOMOLOGY

한국응용곤충학회지
Korean J. Appl. Entomol. 57(4): 393-399 (2018)
DOI: https://doi.org/10.5656/KSAE.2018.11.0.054

ⓒ The Korean Society of Applied Entomology
pISSN 1225-0171, eISSN 2287-545X

고리매개등온증폭법(LAMP)을 이용한 흰등멸구 특이 판별법

서보윤* · 박창규[1] · 정진교[2] · 조점래 · 이관석 · 김광호
국립농업과학원 작물보호과, [1]국립한국농수산대학 산업곤충과, [2]국립식량과학원 재배환경과

A Loop-mediated Isothermal Amplification Method for White-backed Planthopper-specific Detection

Bo Yoon Seo*, Chang Gyu Park[1], Jin Kyo Jung[2], Jumrae Cho, Gwan-Seok Lee and Kwang-Ho Kim
Crop Protection Division, National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration, Wanju 55365, Korea
[1]Department of Industrial Entomology, Korea National College of Agriculture and Fisheries, Jeonju 54874, Korea
[2]Crop Cultivation and Environment Research Division, National Institute of Crop Science, Rural Development Administration, Suwon 16429, Korea

ABSTRACT: A loop-mediated isothermal amplification (LAMP) primer set (WBPH-65) was designed for the species-specific detection of white-backed planthopper (WBPH) *Sogatella furcifera* based on the full-length sequence of the internal transcribed spacer 2 (ITS2) (KC417469.1). The WBPH-65 primer set consists of six primers (total 165 bp), F3 (18 bp), B3 (18 bp), FIP (43 bp), BIP (40 bp), LF (21 bp), and LB (25 bp). After the LAMP reaction of three rice planthoppers, *S. furcifera*, *Nilaparvata lugens*, and *Laodelphax striatellus*, with the WBPH-65 primer set for 60 min at 65℃, the LAMP products were observed in the genomic DNA of *S. furcifera* only. According to the DNA amount of *S. furcifera* and incubation duration at 65℃, the difference of fluorescence relative to the negative control (0 ng) was clearly observed in a 40-min incubation with 10 and 100 ng or in case of 60-min incubation with 0.01, 0.1, 1, 10, and 100 ng. There was little difference in fluorescence between the negative control and all the other DNAs tested in 20- and 30-min incubations. On the other hand, the WBPH-65 primer set without LF and LB primers showed little amplification in the genomic DNAs of the three rice planthoppers, *S. furcifera*, *N. lugens*, and *L. striatellus* in a 60-min incubation. These results suggest that all six primers (F3, B3, FIP, BIP, LF, and BF) are necessary for the WBPH-65 primer set to detect *S. furcifera* within a 60-min incubation, and is able to discriminate *S. furcifera* from at least *N. lugens* and *L. striatellus*.

Key words: *Sogatella furcifera*, ITS2, Primer, LAMP, Species-specific detection

초 록: 고리매개등온증폭법(LAMP)으로 흰등멸구를 특이적으로 구별해낼 수 있는 프라이머 세트(WBPH-65)가 핵내 ITS2영역의 전체염기서열(KC417469.1)을 바탕으로 설계 제작되었다. WBPH-65는 총 6개의 프라이머, F3 (18 bp), B3 (18 bp), FIP (43 bp), BIP (40 bp), LF (21 bp), LB (25 bp)로 구성되는데, 전체 합한 길이가 165 bp이다. WBPH-65를 흰등멸구, 벼멸구 및 애멸구의 게놈 DNA와 65℃에서 60분간 고리매개등온증폭 반응시켰을 때, 흰등멸구 시료에서만 증폭 산물들이 관찰되었다. 65℃에서 WBPH-65와 흰등멸구 게놈 DNA의 양과 반응시간을 달리하여 형광반응을 관찰하였을 때 40분 반응에서는 10과 100 ng DNA에서, 60분 반응에서는 0.01, 0.1, 1, 10, 100 ng DNA에서 발광여부가 명확히 구별되었다. 그러나 20분과 30분 반응에서는 준비된 모든 DNA 양에서 발광여부 구별이 어려웠다. 한편, WBPH-65에서 LF와 BF 프라이머를 뺀 경우 60분 반응에서는 벼멸구, 애멸구 뿐만 아니라 흰등멸구의 게놈 DNA에서도 발광되지 않았다. 본 연구 결과로부터 WBPH-65가 60분 이내 반응에서 흰등멸구를 특이적으로 구별하기 위해서는 6개의 프라이머가 모두 필요하며 최소한 벼멸구와 애멸구를 구별해낼 수 있음을 확인하였다.

검색어: 흰등멸구, ITS2, 프라이머, 고리매개등온증폭, 종 판별

***Corresponding author:** seoby@korea.kr
Received November 5 2018; **Revised** November 22 2018
Accepted November 26 2018

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

흰등멸구[*Sogatella furcifera* (Horváth)]는 노린재목 멸구과(Hemiptera: Delphacidae)에 속하는 몸 길이 4 mm 이하의 소형 곤충으로 주로 벼(*Oryza sativa*)와 벼과식물을 가해하며 아시아와 오세아니아 지역에 분포한다(Wilson and Claridge, 1991). 흰등멸구는 우리나라에서는 월동을 못하고 벼멸구와 같이 6~7월에 중국 남동부 지역에서 우리나라로 비래하는 것으로 알려져 있다(Uhm et al., 1988; Kisimoto and Sogawa, 1995; Otuka, 2013). 흰등멸구는 벼의 체관부 수액을 직접 빨아먹고 대발생할 경우 벼를 집중고사(hopperburn) 시키는 큰 피해를 주는 벼의 주요해충이다(Kisimoto and Sogawa, 1995). 더욱이, 중국 남부지역에서는 2000년대 초반부터 흰등멸구가 SRBSDV (Southern rice black-streaked dwarf virus) 바이러스 병을 매개하여 큰 피해를 주고 있으며 2010년에는 베트남 29개 성과 중국 13개 성으로 확산되어 총면적 1,360,000 ha에서 피해를 준 바 있다(Zhou et al., 2013).

우리나라에서는 벼 예찰포 및 관찰포에서 주기적으로 유인등, 공중포충망, 육안조사 방법 등을 통해 매년 비래시기와 비래량 및 포장 발생밀도를 예찰하여 방제시기를 결정하게 된다(RDA, 2014). 7월 하순~8월 초순에 중만생종 벼에서 흰등멸구의 요방제수준은 20주당 100마리 이상이며, 8월 하순에는 20주당 400마리 이상으로 시기마다 다르다(RDA, 2009). 그런데 논과 주변 잡초류에 서식하는 다양한 멸구류 약 30여종이 혼재되어 있어 멸구류 어린 약충들은 전문가들도 육안으로 형태적 구분이 어려운 실정이며(Kim et al., 2002), 유인등과 공중포충망을 통해 채집되는 벼 멸구류 성충의 경우도 기타 멸구들과 상당히 유사한 형태를 가지고 있고 시료가 손상된 경우가 많기 때문에 육안 또는 현미경으로 정확하게 구분하기가 쉽지 않다. 더욱이 흰등멸구가 속한 *Sogatella* 속(genus)의 경우 주로 수컷 생식기의 형태적 특징에 의존해서 동속의 매우 유사한 종(species)들 사이에 종동정이 가능하다(Wilson and Claridge, 1991). 따라서 암컷 성충과 약충 발육단계에서 형태적 특징으로 종을 동정하는 것은 고도로 숙련된 전문성이 요구될 뿐만 아니라 알 단계에서는 종 동정이 매우 어렵다. 분류전문가가 아닌 예찰담당자가 많은 양의 멸구류 샘플을 다루면서 고가의 장비를 활용하지 않고 흰등멸구를 신속하고 정확하게 구별할 수 있는 하나의 분자진단 기술로 고리매개등온증폭 기법(Loop-mediated isothermal amplification, LAMP) (Notomi et al., 2000) (이하 LAMP)이 제안된다. LAMP는 타겟 DNA영역을 DNA polymerase와 특이 프라이머 조합 세트를 이용하여 단일 온도조건(예, 65℃)에서 짧은 시간(예, 1시간 이내) 안에 증폭시킬 수 있다. 특이 프라이머 조합 세트는 타겟 DNA영역의 6개 또는 8개 특정 부위를 참조한 각각 프라이머 4개(F3, B3, FIP, BIP) 또는 6개(F3, B3, FIP, BIP, LF, LB)로 구성된다. 이때 LF와 LB 프라이머는 LAMP반응의 효율을 높여주어 증폭시간을 약 1/2 단축시킬 수 있어 더 빠르게 증폭 결과를 확인할 수 있게 해준다(Nagamine et al., 2002).

따라서 본 연구에서는 LAMP를 활용한 벼멸구(brown planthopper, *Nilaparvata lugens*) 특이 판별법(Seo et al., 2017)을 응용하여 흰등멸구(*S. furcifera*)의 ITS2 (internal transcribed spacer 2) 영역을 참조해 얻어진 특이 프라이머 조합 세트를 통해 실험실과 현장에서 신속·정확하게 흰등멸구를 판별할 수 있는 종 구별 방법을 소개하고자 한다.

재료 및 방법

실험곤충

본 연구에 사용된 3종(species)의 벼 멸구류, 벼멸구(*N. lugens*), 애멸구(small brown planthopper, *Laodelphax striatellus*) 및 흰등멸구(*S. furcifera*)는 논에서 채집하여 국립농업과학원 곤충사육실에서 벼(품종: 추청벼)의 어린 모를 먹이로 공급하면서 누대사육(24 ± 2℃, 60 ± 5% RH, L:D = 14:10) 중인 것을 사용하였다.

게놈 DNA 추출

LAMP 반응에 사용하는 벼멸구, 애멸구 및 흰등멸구의 게놈 DNA 추출을 위해 Seo et al. (2017)의 방법으로 다음과 같이 수행하였다. CTAB extraction solution (iNtRON biotechnology, Inc., Korea) 10 ml에 2-mercaptoethanol (BioPure, U.S.A.) 73 µl을 섞어 CTAB 추출 용액을 만들어 1.5 ml tube에 200 µl를 넣고 한 개체씩 마쇄하였다. 65℃ 에서 1시간 동안 가열 시킨 후 chloroform/IAA (iNtRON biotechnology, Inc., Korea) 200 µl을 넣고 vortex하고 13,000 rpm에서 5분간 원심분리하였다. 상층액을 새 1.5 ml tube로 옮기고 침전반응을 위해 isopropyl alcohol (BioPure, U.S.A.) 100 µl와 잘 섞어 상온에서 20분간 보관 후 4℃ 조건에서 13,000 rpm으로 20분간 원심분리를 하였다. 이후 70% EtOH을 이용하여 wahsing 후 멸균된 3차증류수 20 µl에 녹인 후 NanoDrop 2000 (Thermo Fisher Scientific, U.S.A.)을 이용하여 추출된 각 종(species)의 개체별 게놈 DNA 양을 측정하였다.

LAMP 증폭 효과 검정

흰등멸구(*S. furcifera*)의 ITS2 유전자(NCBI GenBank ID: KC417469.1)를 바탕으로 Seo et al. (2017)에서 분석된 유사 곤충들의 ITS2 영역 DNA정보와 비교하여 흰등멸구 특이적인 LAMP 프라이머 후보를 PrimerExplorer V5 소프트웨어(http://primerexplorer.jp)를 통해 설계하고 BIONEER (Daejeon, Korea)에 의뢰하여 WBPH-65 프라이머 세트를 합성하였다(Table 1).

LAMP 반응은 Seo et al. (2017)에서 사용한 방법을 다음과 같이 적용하였다. DNA Amplification Kit (Eiken Chemical Co., LTD., Japan)를 이용하여 제조사의 사용방법에 따라 PCR tube (200 µl)를 준비하고 2 x Reaction Mix 12.5 µl, LAMP 프라이머 WBPH-65 혼합액(FIP 40 pmol + BIP 40 pmol + LF 20 pmol + BF 20 pmol + F3 5 pmol + B3 5 pmol) 2.5 µl, *Bst* DNA 중합효소 1 µl, 멸균된 3차증류수 7 µl, fluorescent detection reagent (calcein, Eiken Chemical Co., LTD., Japan) 1 µl를 넣고 잘 섞은 다음 1 µl의 게놈 DNA를 마지막으로 추가하여 최종 반응액이 25 µl가 되도록 하였다. 음성대조군 또는 fluorescent detection reagent가 없는 처리의 LAMP 반응용액에는 그 대신 동일한 양의 멸균된 3차 증류수로 채워 넣어 25 µl의 최종 반응액으로 만들었다. 최종 반응액의 양을 12.5 µl로 할 경우, 모두 앞서 언급한 사용양의 1/2로 줄여서 적용하였다. 그리고 65℃ 항온조건(SimpliAmp™ Thermal Cycler, Thermo Fisher SCIENTIFIC, Korea)에서 반응시간별 20, 30, 40, 60분간 각각 증폭시킨 후 다시 80℃ 항온조건에서 5분간 두어 중합효소의 기능을 불활성화 시키고 LAMP 결과를 확인하였다. LAMP 결과는 1% 아가로스 겔(핵산 염색: RedSafe™ Nucleic Acid Staining Solution (20,000x), iNtRON biotechnology, Inc., Korea)에 로딩한 후 전기영동을 통해 확인하였다. 형광을 통해 반응 결과를 확인하는 경우에는 자연광 또는 청색광(blue light illuminator, 470 nm) 조건에서 사진촬영을 하였다.

결과 및 고찰

LAMP 프라이머 세트 WBPH-65가 흰등멸구 게놈 DNA를 특이적으로 증폭시키는 지를 확인하기 위해 흰등멸구, 벼멸구 및 애멸구, 3 종의 게놈 DNA 100 ng을 각각 LAMP 프라이머 세트 WBPH-65와 65℃ 온도 조건에서 60분간 반응시킨 후 아가로스 겔에 전기영동을 하였다. 그 결과 흰등멸구 샘플에서만 양성 대조구와 같이 사다리형 밴드들이 관찰되었고 벼멸구와 애멸구 샘플에서는 음성 대조구와 같았다(Fig. 1, left). 흰등멸구, 벼멸구, 애멸구 각각의 게놈 DNA 100 ng을 calcein 발색시약을 함께 섞어 반응시킨 결과에서도 양성 대조구와 흰등멸구 게놈 DNA tube에서만 특이적으로 연두색의 색깔이 관찰되었으며 청색광(470 nm) 조건에서도 강한 형광을 만들었다(Fig. 1, right). 그리고 흰등멸구 게놈 DNA 10, 1, 0.1 및 0.01 ng tube에서도 연두색 색깔이 관찰되었으며 청색광(470 nm) 조건에서는 모두 강한 형광 빛을 내었다(Fig. 1, right). 그러나 벼멸구와 애멸구 샘플에서는 음성 대조구와 마찬가지로 연한 살구색을 보여 반응 전후 색깔이 변하지 않았고 청색광(470 nm) 조건에서도 강한 형광 빛을 발산하지 않았다(Fig. 1, right). 이러한 결과는 본 연구에서 ITS2 DNA 영역을 이용하여 설계된 LAMP 프라이머 세트 WBPH-65가 벼멸구와 애멸구로부터 흰등멸구를 특이적으로 구별해낼 수 있음을 제시하였다. 더욱이 Seo et al. (2017)의 벼멸구 특이 LAMP 프라이머 세트 BPH-92의 경우 벼멸구 게놈 DNA 0.01 ng에서는 65℃ 60분 반응시킨 결과, 증폭이 거의 관찰되지 않았으나 흰등멸구 특이 LAMP 프라이머 세트 WBPH-65의 경우에는 흰등멸구 게놈 DNA 0.01 ng에서도 65℃ 60분 반응시킨 결과, 증폭이 관찰되는 차이를 보였다.

흰등멸구 게놈 DNA양에 따라 65℃ 동일한 온도 조건에서 LAMP 반응 시간별 증폭 정도를 비교한 결과에서는 게놈 DNA 10, 100 ng을 40분간 반응시킬 때 연한 살구색에서 연두색으로 색깔 변화가 확인 되었으며, 20과 30분 반응에서는 게놈 DNA 100 ng에서도 반응 전후 연한 살구색으로 음성 대조구와 함께

Table 1. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) primer sets designed in this study to discriminate *Sogatella furcifera* from other planthopper species

LAMP primer set	Primer	Nucleotide sequence (5′ - 3′)	Size
WBPH-65	F3	ATGGCTCGTCCTAGGTAG	18
	B3	CACACACTGGCAGTTCAA	18
	FIP	AGCATCAGCAATATGCTCACAATA-AGCAACAGTCAAGTTGTTC	43
	BIP	AAGATGAGTTGTGCATGCACT-TCAGTGAATGCAGCCTTAC	40
	LF	ACAAAGCTCCCTCTTCCTTGG	21
	LB	ACACTTAGCAGTGTGT(A/G)GTGTATGT	25

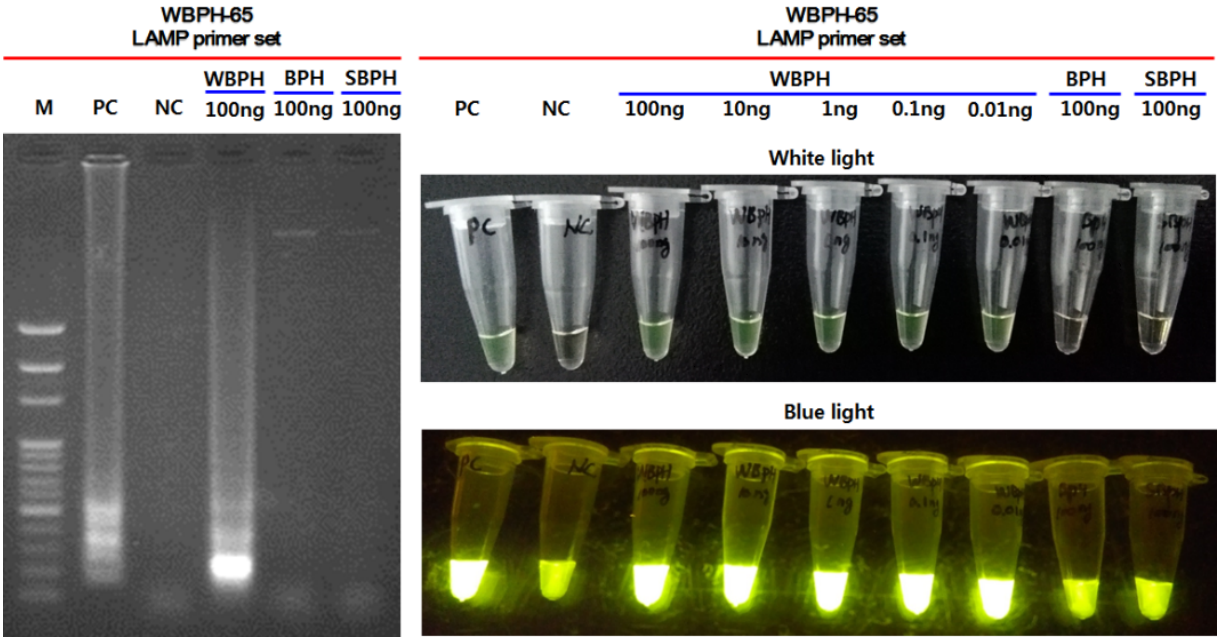

Fig. 1. Agarose gel electrophoresis (left) and visual detections (right) after loop-mediated isothermal amplification (LAMP) reaction of DNA samples with the LAMP primer set (WBPH-65). In the agarose gel electrophoresis, various size of bands, such as ladder, were observed in the PC and 100 ng of WBPH DNA only, but no band in the NC and single bands in 100 ng of BPH DNA and 100 ng of SBPH DNA were observed. This indicates that the WBPH-65 LAMP primer set designed in this study can amplify the target region in the genomic DNA of WBPH specifically, but not in the genomic DNA of BPH and SBPH. Visual detections showed that the WBPH-65 LAMP primer set was also able to specifically amplify WBPH genomic DNA with a sensitivity of 0.01 ng in minimum, but not in the two rice planthoppers, BPH and SBPH. For LAMP reaction, all samples were incubated at 65°C for 60 min and enzyme was inactivated at 80°C for 5 min.
†M, 100 bp ladder marker; PC, positive control (LAMP primer set and DNA, both were provided by manufacturer); NC, negative control (WBPH-65 LAMP primer set without DNA); WBPH, white-backed planthopper *Sogatella furcifera*; BPH, brown planthopper *Nilaparvata lugens*; SBPH, small brown planthopper *Laodelphax striatellus*.

색깔 변화가 관찰되지 않았다(Fig. 2). LAMP 프라이머 세트 WBPH-65 (Table 1)에서 Loop primer LF와 LB를 뺀 4개 프라이머 조합(F3 + B3 + FIP + BIP)에서는 흰등멸구, 벼멸구 및 애멸구 게놈 DNA 100 ng 이상과 각각 65℃에서 60분간 반응시켰지만 모두 연한 살구색으로 색깔 변화가 관찰되지 않았다(Fig. 3, right). 이는 LAMP 프라이머 세트 WBPH-65를 이용하여 1시간 반응으로 흰등멸구를 특이적으로 구별하기 위해서는 6개 프라이머(F3 + B3 + FIP + BIP + LF + LB)가 모두 포함되어야 함을 확인할 수 있었다(Fig. 3, left). Nagamine et al. (2002)은 Loop primer (LF와 BF)를 사용하여 증폭시간을 1/2 단축할 수 있는 효과가 있다고 하였으며 본 실험에서 Loop primer LF와 LB를 뺀 4개 프라이머 조합(F3 + B3 + FIP + BIP)을 이용한 1시간 반응에서는 증폭 차이가 나지 않았던 것으로 볼 때 그 보다 더 긴 기간동안 반응 시켜야 흰등멸구 게놈 DNA에서 증폭 효과가 나올 것으로 보인다. 그리고 LAMP 프라이머 세트 WBPH-65는 흰등멸구 5개체 모두에서 증폭하여 연두색으로 색깔 변화가 관찰되었으며 벼멸구와 애멸구 각각의 5개체 모두에서는 증폭되지 않고 연한 살구색을 보여, 본 연구에서 설계된 LAMP 프라이머 세트 WBPH-65가 흰등멸구를 벼멸구와 애멸구로부터 재현성 있게 구별해낼 수 있음이 재확인되었다(Fig. 3, left). 또한 본 연구에서 전체 반응 부피를 기존의 25 µl (Figs. 1, 2)에서 12.5 µl (Fig. 3)로 1/2 줄여도 LAMP 프라이머 세트 WBPH-65를 이용하여 흰등멸구 게놈 DNA에서 특이적으로 증폭시킬 수 있었다.

지금까지의 결과를 정리하면 다음과 같다. 1) ITS2 염기서열을 토대로 벼 포장의 유인등에 잡히는 다른 멸구류들과 차이가 나는 부분을 고려하여 흰등멸구 특이 LAMP 프라이머 세트 WBPH-65를 설계하였다. 2) LAMP 프라이머 세트 WBPH-65는 흰등멸구, 벼멸구 및 애멸구의 게놈 DNA와 반응 시 흰등멸구 게놈 DNA에서만 특이 증폭을 보였다. 3) LAMP 프라이머 세트 WBPH-65의 성공적인 증폭 효과 확인을 위해서는 65℃에서 최소한 흰등멸구 게놈 DNA 10 ng 이상 40분간 또는 0.01 ng 이상 60분간 LAMP 반응이 요구되었다. 마지막으로 4) 1시간 이내에 흰등멸구를 특이적으로 구별하기 위해서는 LAMP 프라이머 세트 WBPH-65의 6개 프라이머(F3 + B3 + FIP + BIP + LF + LB)가 모두 반응에 포함되어야 했다.

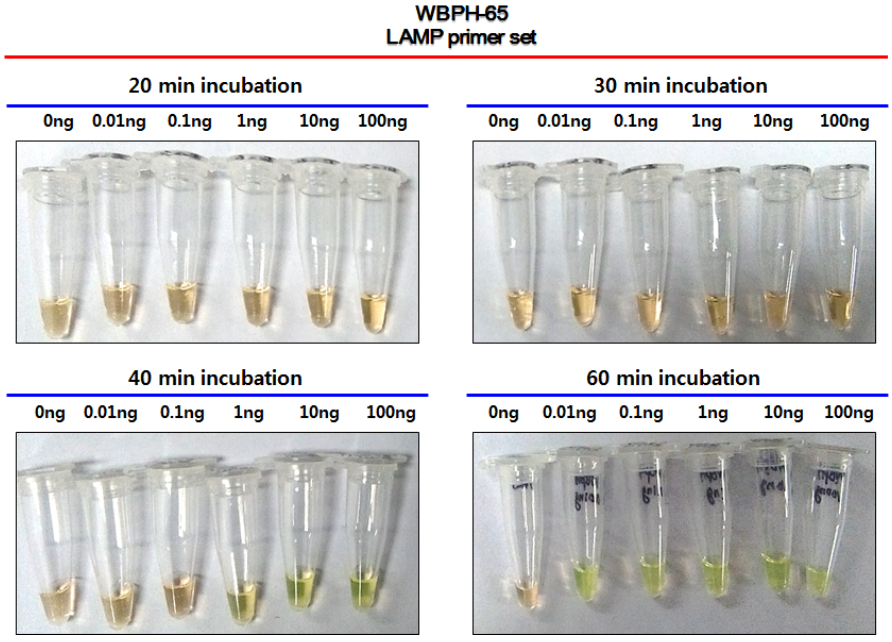

Fig. 2. Visual detections after loop-mediated isothermal amplification (LAMP) reaction with the LAMP primer set (WBPH-65) according to the incubation time (20, 30, 40, and 60 min) and the amount of genomic DNA (0, 0.01, 0.1, 1, 10, and 100 ng) of white-backed planthopper (WBPH) *Sogatella furcifera*. After the LAMP reaction, enzyme within the tube was inactivated at 80°C for 5 min.

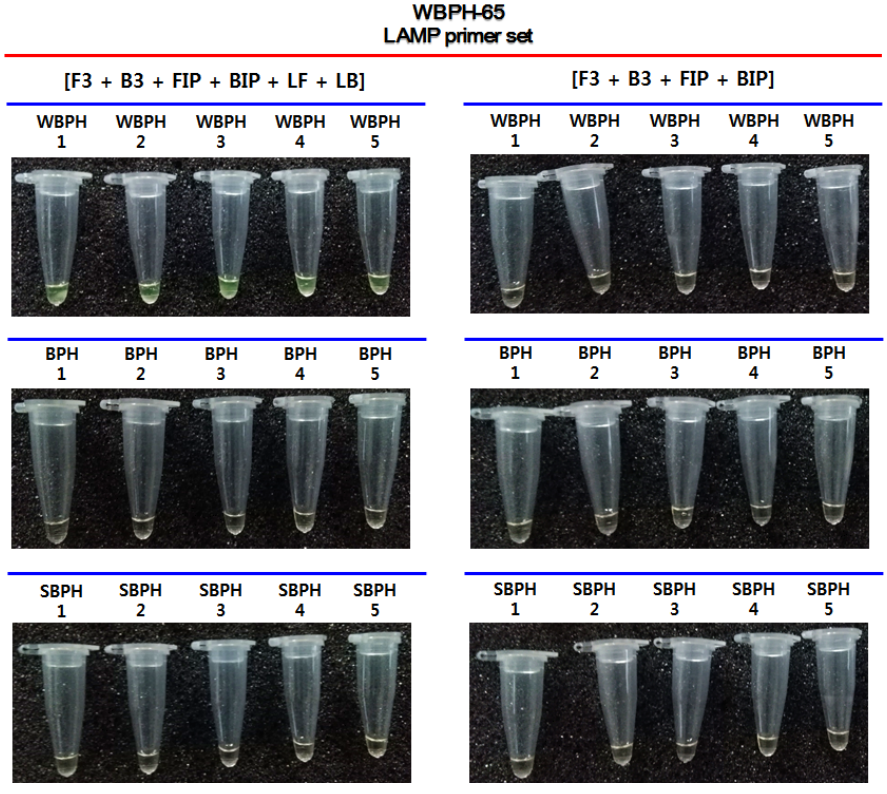

Fig. 3. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) reaction results on five individuals of three rice planthoppers, white-backed planthopper (WBPH; *Sogatella furcifera*), brown planthopper (BPH; *Nilaparvata lugens*), and small brown planthopper (SBPH; *Laodelphax striatellus*) with two LAMP primer sets of WBPH-65, [F3 + B3 + FIP + BIP + LF + LB] and [F3 + B3 + FIP + BIP], respectively. The incubation time was 60 min at 65°C and the amount of genomic DNA of each planthopper was > 100 ng. After the LAMP reaction, a *Bst* polymerase was inactivated at 80°C for 5 min.

아시아지역에는 *Sogatella* 속(genus)의 3종(species) [*S. furcifera* (흰등멸구), *S. vibix* (피멸구), 그리고 *S. kolophon* (흰등멸구붙이)]이 분포하는 것으로 조사되었으며 이들은 공통적으로 벼(*O. sativa*)에서 발견된다(Asche and Wilson, 1990). 2000년에 우리나라 39개 지역 예찰소의 논에 설치된 유인등에서 채집된 멸구류를 종(species) 수준으로 동정한 결과, 총 27종이었으며 그 중 흰등멸구가 48.5%로 가장 많았으며 피멸구와 흰등멸구붙이는 0.1% 미만이었다(Kim et al., 2002). 그러나 본 연구에서는 흰등멸구와 동 속(genus)에 속하는 피멸구와 흰등멸구붙이의 ITS2 정보는 비교되지 못하여 LAMP 프라이머 세트 WBPH-65가 흰등멸구를 피멸구와 흰등멸구붙이로부터 구별할 수 있을 지는 추가 검토가 필요한 상황이다. 앞으로 피멸구와 흰등멸구붙이 샘플을 확보하여 ITS2 뉴클레오티드 정보를 얻은 다음, 흰등멸구 등 다른 멸구류의 ITS2 정보와 1차적으로 비교하고 본 연구의 LAMP 프라이머 세트 WBPH-65의 프라이머 시퀀스 정보가 피멸구와 흰등멸구붙이로부터 흰등멸구를 LAMP 반응을 통해 구별할 수 있을지 검토하고 보완할 예정이다.

LAMP는 저렴한 비용으로 신속하고 정확하게 병원성 미생물을 진단하는데 다양하게 활용되고 있으며(Mori and Notomi, 2009), 곤충에서는 벗초파리(*Drosophila suzukii*) (Kim et al., 2016), 파총채벌레(*Thrips tabaci*) (Fekrat et al., 2015), 지중해과실파리(*Ceratitis capitata*) (Huang et al., 2009) 등 각 국가별 농업과 검역(Blaser et al., 2018)에 중요한 해충의 종을 동정하는데 LAMP 방법이 활용되고 있다. 최근에는 LAMP를 이용하여 왕담배나방(*Helicoverpa armigera*)의 피레스로이드 저항성 유전자를 특이적으로 검출하여 야외에서 저항성 개체들의 발생 양상을 모니터링하고 방제에 활용할 수 있는 기술이 개발되었다(Choi et al., 2018). LAMP는 소량의 DNA로도 검출이 가능하고(Kim et al., 2016), 전기영동, 침전물, 혼탁도(turbidity), 발색시약, 형광시약 등을 활용한 색깔변화 등 여러 가지 방법으로 증폭결과를 확인할 수 있는 장점이 있다(Zhang et al., 2014). 앞으로, 차세대염기서열분석(NGS)의 발달과 더불어 다양한 곤충의 유전정보가 대량으로 확보되고 있어 LAMP는 다양한 곤충 연구 분야에서 활용될 수 있을 것으로 예상된다.

사 사

본 논문은 농촌진흥청 시험연구사업(과제번호: PJ011977)의 지원에 의해 이루어진 것입니다.

Literature Cited

Asche, M., Wilson, M.R., 1990. The delphacid genus Sogatella and related groups: a revision with special reference to rice-associated species (Homoptera: Fulgoroidea). Syst. Entomol. 15, 1-42.

Blaser, S., Diem, H., von Felten, A., Gueuning, M., Andreou, M., Boonham, N., Tomlinson, J., Müller, P., Utzinger, J., Freya, J.E., Bühlmanni, A., 2018. From laboratory to point of entry: development and implementation of a loop-mediated isothermal amplification (LAMP)-based genetic identification system to prevent introduction of quarantine insect species. Pest Manag. Sci. 74, 1504-1512.

Choi, B.H., Hur, J.H., Heckel, D.G., Kim, J., Koh, Y.H., 2018. Development of a highly accurate and sensitive diagnostic tool for pyrethroid-resistant chimeric P450 CYP337B3 of *Helicoverpa armigera* using loop-mediated isothermal amplification. Arch. Insect Biochem. Physiol. 99, e21504.

Fekrat, L., Zaki Aghl, M., Tahan, V., 2015. Application of the LAMP assay as a diagnostic technique for rapid identification of *Thrips tabaci* (Thysanoptera: Thripidae). J. Econ. Entomol. 108, 1337-1343.

Huang, C-.G., Hsu, J-.C., Haymer, D.S., Lin, G-.C., Wu, W-.J., 2009. Rapid identification of the mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) by loop-mediated isothermal amplification. J. Econ. Entomol. 102, 1239-1246.

Kim, H.Y., Park, C.G., Han, M.W., Uhm, K.B., Woo, K.S., 2002. Development of a hypertext-based polychotomous key for the identification of planthoppers caught by light trap in paddy fields. Korean J. Appl. Entomol. 41, 75-83.

Kim, Y.H., Hur, J.H., Lee, G.S., Choi, M-.Y., Koh, Y.H., 2016. Rapid and highly accurate detection of *Drosophila suzukii*, spotted wing Drosophila (Diptera: *Drosophilidae*) by loop-mediated isothermal amplification assays. J. Asia-Pac. Entomol. 19, 1211-1216.

Kisimoto, R., Sogawa, K., 1995. Migration of the brown planthopper *Nilaparvata lugens* and the wihte-backed planthopper *Sogatella furcifera* in East Asia: the role of weather and climate, in: Drake, V.A., Gatehouse, A.G. (Eds.), Insect migration. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 67-91.

Mori, Y., Notomi, T., 2009. Loop-mediated isothermal amplifi cation (LAMP): a rapid, accurate, and cost-effective diagnostic method for infectious diseases. J. Infect. Chemother. 15, 62-69.

Nagamine, K., Hase, T., Notomi, T., 2002. Accelerated reaction by loop-mediated isothermal amplification using loop primers. Mol. Cell. Probes 16, 223-229.

Notomi, T., Okayama, H., Masubuchi, H., Yonekawa, T., Watanabe, K., Amino, N., Hase, T., 2000. Loop-mediated isothermal amplification of DNA. Nucleic Acids Res., 28, e63.

Otuka, A., 2013. Migration of rice planthoppers and their vectored re-emerging and novel rice viruses in East Asia. Front. Microbiol.

4, 309. Doi:10.3389/fmicb.2013.00309.

RDA, 2009. Guidebook for the pest management of major agricultural crops (in Korean), Rural Development Administration, Suwon.

RDA, 2014. Guidebook for monitoring and control of agricultural crop pests in 2013 (in Korean), Rural Development Administration, Suwon.

Seo, B.Y., Park, C.G., Koh, Y-.H., Jung, J.K., Cho, J., Kang, C., 2017. ITS2 DNA sequence analysis for eight species of delphacid planthoppers and a loop-mediated isothermal amplification method for the brown planthopper-specific detection. Korean J. Appl. Entomol. 56, 377-385.

Uhm, K.B., Park, J.S., Lee, Y.I., Choi, K.M., Lee, M.H., Lee, J.O., 1988. Relationship between some weather conditions and immigration of the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* Stål. Korean J. Appl. Entomol. 27, 200-210.

Wilson, M.R., Claridge, M.F., 1991. Handbook for the identification of leafhoppers and planthoppers of rice. CAB International, Wallingford, UK.

Zhang, X., Lowe, S.B., Gooding, J.J., 2014. Brief review of monitoring methods for loop-mediated isothermal amplification (LAMP). Biosens. Bioelectron. 61, 491-499.

Zhou, G., Xu, D., Xu, D., Zhang, M., 2013. Southern rice black-streaked dwarf virus: a white-backed planthopper-transmitted fijivirus threatening rice production in Asia. Front. Microbiol. 9, 270. Doi:10.3389/fmicb.2013.00270.