유전체재해석(resequencing)에 의한 가야벼의 벼멸구 저항성 유전자 탐색 및 선발마커 개발

지현소^{1*} · 안억근² · 서보윤¹ · 강현주¹ · 이상복² · 현웅조² · 최인찬¹ · 김경환¹ · 김송림¹ · 이승범¹ · 서석철¹ · 이강섭¹

¹농촌진흥청 국립농업과학원

²농촌진흥청 국립식량과학원

Detection of Genes Conferring Resistance to the Brown Planthopper (BPH) in Gayabyeo Through Genome Resequencing and Development of Their Selection Markers

Hyeonso Ji^{1*}, Eokkeun Ahn², Bo Yoon Seo¹, Hyun-Ju Kang¹, Sang Bok Lee², Ung-Jo Hyun², Inchan Choi¹, Kyung-Hwan Kim¹, Song Lim Kim¹, Seung-Bum Lee¹, Seok-Chul Suh¹, and Gang-Seob Lee¹

¹National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration (RDA), Jeonju 54874, Republic of Korea

²National Institute of Crop Science, Rural Development Administration (RDA), Suwon 16429, Republic of Korea

Abstract Gayabyeo, a Tongil-type rice variety, has been known to be resistant to the brown planthopper (BPH) in Korea. For genetic analysis of BPH resistance of Gayabyeo, we developed an F2 and F3 population derived from a cross between Gayabyeo and Taebaegbyeo which is a Tongil-type BPH susceptible rice variety. Based on the previously detected 284,501 putative SNPs between Gayabyeo and Taebaegbyeo, 99 cleaved amplified polymorphic sequences (CAPS) markers were developed, and they have been used for genotyping 180 F2 plants. By comparison of resequencing data of Gayabyeo and the sequences of already reported BPH resistance genes (*Bph3*, *BPH9*, *Bph14*, *BPH18*, *BPH26*), it was revealed that Gayabyeo has *Bph3* and *BPH26* resistance genes. Two InDel markers, *Bph3IND* and *BPH26IND*, were developed, which can be used as selection markers in breeding program aiming at introducing BPH resistance genes of Gayabyeo into Korean high quality japonica rice varieties. In addition, BPH bioassay was performed with 180 F3 lines for BPH resistance QTL analysis. Two major QTLs were found on chromosome 4 and 12. The regions of these two QTLs included *Bph3* and *BPH26*, which also supported that Gayabyeo has *Bph3* and *BPH26* resistance genes. These results would be useful in accelerating development of various BPH-resistant high quality japonica rice varieties in Korea.

Keywords Rice, brown planthopper (BPH), resistance, selection marker

Received on January 1, 2018. Accepted on January 16, 2018.

* Corresponding Author (E-mail: jhs77@korea.kr, Tel: +82-63-238-4657, Fax: +82-63-238-4654)

서 언

벼멸구(rice brown planthopper, *Nilaparvata lugens* Stål)는 주둥이의 구침(stylets)을 이용해 주로 벼(*Oryza sativa* L.)의 체관부 양액을 빨아먹는 노린재목(Hemiptera) 멸구과(Delphacidae)에 속하는 벼의 주요 해충이다(Seo et al. 2009, Sogawa 1982). 벼멸구는 우리나라에서 월동을 하지 못하고 매년 장시형 성충이 주로 6월 중순과 7월 하순 사이에 중국 남부로부터 기류를 타고 약 1,000 km 이상의 장거리 비행을 통해 날아와 벼에 피해를

주고 있다(Otuka 2009, Uhm et al. 1988). 벼의 아랫부분에 밀집 서식하면서 직접 섭식을 통해 심할 경우 벼 식물체를 고사시키는 “집중고사현상(hopperburn)”을 유발하기도 하며 rice ragged stunt virus (RRSV)와 rice grassy stunt virus (RGSV) 등의 바이러스 병을 매개하여 큰 피해가 발생한다(Hibino 1996, Wilson & Claridge 1991). 최근 20년동안 우리나라의 벼멸구 발생면적(ha)은 1998년(164,577), 2013년(104,599), 2005년(90,500), 그리고 2006년(62,279) 순으로 가장 넓었으며 2005년에는 집중고사 피해가 발생한 바 있다(<http://ncpms.rda.go.kr>). 벼멸구는 우리나

라뿐만 아니라 아시아 지역 대부분의 나라들에서 심각한 피해를 끼치고 있다. 중국과 베트남에서는 1990년대 이후 벼멸구 피해가 줄다가 2006년과 2007년에 다시 큰 피해가 발생한 바 있다 (Cantindig et al. 2009). 중국에서는 2005년에서 2007년에 걸쳐 약 25백만 ha의 지역에서 발생했으며, 베트남에서는 2002년에서 2009년 사이 매년 약 400,000 ton의 수확량 손실이 있었고, 태국에서는 2009년과 2011년 사이에 3백만 ha 이상에서 발생하여 1,100,000 ton의 수확량 손실이 발생했다(Fujita et al. 2013).

벼멸구의 종합적 방제에 있어서 저항성 품종의 재배는 중요한 한 축이다. 살충제의 지나친 사용은 벼멸구 천적까지 사멸시켜서 오히려 벼멸구의 2차 대발생을 초래하기도 한다. 벼멸구에 대한 저항성 품종 육성 및 유전연구는 초기에 국제벼연구소(IRRI)를 중심으로 수행되었는데 1967년 벼멸구저항성 인디카 재래종인 Mudgo가 발견되고 1973년 저항성 품종인 IR26이 육성 보급된 이후 다수의 저항성 품종들이 개발되었다(Kim et al. 1991). 우리나라에서는 1975년 이후 밀양30호를 시작으로 다수의 통일형 저항성 품종들이 육성되었으나(Kim et al. 1991), 자포니카형 저항성 품종은 화청벼, 친농벼, 친들벼, 안미벼 등으로 매우 부족한 실정이다.

현재까지 벼멸구 저항성 인디카 재래종 품종인 Mudgo, Swamalata, Babawee, Rathu Heenati 등과 야생벼(*Oryza officinalis*, *Oryza nivara*, *Oryza minuta*, *Oryza australiensis* 등)으로부터 약 29개의 저항성 유전자좌들이 벼 3, 4, 6, 7, 11, 12번 염색체들에서 보고되었다(Hu et al. 2016). 이들 중 *Bph14*, *Bph3*, *BPH26*, *BPH18*, *BPH9* 유전자들이 유전지도기반 유전자분리(map-based gene cloning) 연구를 통해 분리되었다. *Bph14*는 3번 염색체 장완에 위치하는 야생벼 *Oryza officinalis* 유래 유전자로 NBS-LRR 단백질을 코딩하고 있다(Du et al. 2009). *Bph3*는 인디카 재래종 Rathu Heenati로부터 유래한 광범위 내구저항성(broad-spectrum and durable resistance)을 보이는 유전자로 4번 염색체 단완에 위치하는 세 개의 lectin receptor kinase 유전자들(*OsLecRK1*, *OsLecRK2*, *OsLecRK3*)로 이루어져 있다(Liu et al. 2014). *BPH26* 유전자는 인디카 품종인 ADR52에서 분리되었으며 12번 염색체 장완에 위치하고 NBS-LRR 단백질을 코딩하고 있는데 *BPH2*와 동일한 유전자로 밝혀졌다(Tamura et al. 2014). *BPH18* 유전자는 야생벼 *Oryza australiensis*의 introgression line인 인디카 계통 IR65482-7-216-1-2에서 분리되었으며 12번 염색체 장완에 위치하고 NBS-LRR 단백질을 코딩하고 있다(Ji et al. 2016). *BPH9*는 인디카 저항성 재래종인 Pokkali로부터 분리되었으며 12번 염색체 장완에 위치하고 NBS-LRR 단백질

을 코딩하고 있다(Zhao et al. 2016). 또한 12번 염색체 장완에 위치한 것으로 보고된 8개의 저항성 유전자좌들이 *BPH9* 유전자의 allele들인 것으로 밝혀졌으며 4종의 저항성 유전자 allele type(*BPH1/9-1*, *BPH1/9-2*, *BPH1/9-7*, *BPH1/9-9*)으로 분류되었는데, *BPH1/9-1* allele 그룹에는 *BPH1*, *BPH10*, *BPH18*, *BPH21* 유전자들이 속하고, *BPH1/9-2* allele 그룹에는 *BPH2*와 *BPH26* 유전자들이 속하고, *BPH1/9-7* allele 그룹에는 *BPH7* 유전자가 속하고, *BPH1/9-9* allele 그룹에는 *BPH9* 유전자가 속하였다(Zhao et al. 2016).

기존에 육성된 벼멸구 저항성 품종들 가운데 한 개의 저항성 유전자가 도입된 품종들은 보급 후 일정기간이 지난 후 저항성이 무너지는 경향을 보였다(Hu et al. 2016). 그러나, 두 개 이상의 저항성 유전자를 집적한 계통들은 향상된 광범위 저항성을 보였다는 연구결과들이 있다(Hu et al. 2013, Myint et al. 2012, Qiu et al. 2012). 그러므로, 기존에 국내 자포니카 벼 품종에 도입되지 않았던 저항성 유전자들을 도입하여 저항성 자원을 다양화하고, 몇 개의 저항성 유전자들을 집적하여 벼멸구에 대한 내구저항성을 가진 벼 품종을 육성하는 것이 필요하다.

1982년 육성된 통일형 품종인 가야벼는 벼멸구 생태형(BPH biotype) 1, 2, 3에 대하여 모두 안정적인 저항성을 보였다(Kim et al. 1989, Lee et al. 1986, Lee et al. 1985, Park & Song 1988). 그리고, 우리나라에서 1980년대 수집한 벼멸구 집단과 2005~2007년도에 수집한 국내 벼멸구 집단들을 대상으로 실험한 결과, 2005~2007년도에 수집된 벼멸구 집단이 *Bph1* 유전자를 가진 청청벼의 저항성을 어느 정도 극복하였던 반면, 가야벼는 실험된 모든 벼멸구 집단들에 대하여 광범위 저항성을 보였다(Seo et al. 2009). 그러나, 가야벼의 저항성 유전자가 무엇인지는 아직 밝혀지지 않았다.

가야벼의 벼멸구 저항성 유전자를 탐색하기 위한 선행연구로서 가야벼와 벼멸구 감수성 통일형 품종인 태백벼를 resequencing 하여 두 품종간의 잠재적 SNP 약 28만개를 탐색한 바 있다(Ji et al. 2016). 이 연구에서는 발굴된 SNP들 가운데 제한효소인식부위에 위치한 SNP들을 대상으로 새로운 CAPS(Cleaved Amplified Polymorphic Sequences) 마커 99종을 개발하였으며, 태백벼/가야벼 F2/F3 집단을 이용하여 이들 마커들의 유전지도를 작성하고, 벼멸구 저항성 QTL 분석을 수행하였다. 그리고, 가야벼의 resequencing 데이터와 기존에 밝혀진 벼멸구 저항성 유전자들의 염기서열을 비교하여, 가야벼가 *Bph3*와 *BPH26* 유전자들을 가지고 있음을 발견하였다. 또한, 가야벼를 이용한 벼멸구저항성 자포니카형 고품질벼 육종프로그램에 활용될 수 있는 가야벼의

*Bph3*와 *BPH26* 유전자 선발마커로 삽입/결실(InDel) 마커인 *Bph3IND*와 *BPH26IND*를 개발하였다.

재료 및 방법

가야벼 벼멸구 저항성 유전분석 집단의 육성

2014년 하계에 벼멸구 저항성 품종인 가야벼를 부분으로 하고 감수성 품종인 태백벼를 모본으로하여 인공교배를 수행하였고, 2014년~2015년 동계에 F1 식물체들을 온실에서 1/5000 와그너 포트를 이용해서 재배하였다. F2 집단은 2015년 하계에 국립농업과학원 농업생명자원부 포장에서 30 cm × 15 cm 재식밀도로 1주 1본식으로 심어 재배하였다. 생육성기의 잎을 채취하여 Inclone plant genomic DNA prep kit를 이용하여 DNA를 추출하였다.

모본간 다형성 마커 개발과 유전지도 작성

선행연구에서 가야벼와 태백벼 유전체 서열 데이터를 이용하여 두 품종간 잠재적 SNP 약 28만개를 탐색한 바 있다(Ji et al. 2016). CAPS 마커를 디자인하기 위해서 자체 작성한 Python 프로그램을 이용하여 이들 SNP 가운데, 비교적 흔히 사용되는 제한효소 17종(BamHI, BglII, EcoRI, EcoRV, HindIII, KpnI, Mlu I, NruI, PshBI, PvuII, SacI, SacII, SalI, ScaI, StuI, XbaI, XhoI)의 인식부위에 위치한 SNP들을 추출하였다. 그리고, 이들 SNP의 인접서열 왼쪽 500bp와 오른쪽 500bp를 추출하여 SNP를 포함한 1,001 bp의 서열에서 PCR 프라이머를 디자인하였다. 프라이머 디자인은 BatchPrimer3 1.0(<http://probes.pw.usda.gov/batchprimer3/>) 프로그램을 이용해서 수행하였다. 마커와 마커 사이에 약 2 Mbp 간격을 두고 디자인하였으며, 디자인된 마커로 가야벼와 태백벼의 DNA로 모본간 다형성 검정을 수행하여 실제로 다형성을 보이는 마커들을 선발하였다. 선발된 CAPS 마커들로 F2 집단의

개체별 유전자형 분석을 실시하였다. CAPS 마커 분석의 PCR 조건은 94℃ 3분 후 94℃ 40초, 60℃ 40초, 72℃ 1분40초의 35 사이클, 그리고 72℃ 7분이었다. PCR 산물을 제한효소로 37℃에서 8시간 이상 절단한 후 1.2% 아가로스젤에서 전기영동하였다. 이렇게 생산된 F2 집단의 개체별 유전자형 데이터를 가지고 MapDisto 1.7 프로그램(Lorieux 2012)을 이용하여 마커들의 유전지도를 작성하였다.

기존에 보고된 벼멸구저항성 유전자 염기서열과 가야벼의 유전체 염기서열 비교

기존에 밝혀진 벼멸구저항성 유전자인 *Bph14*, *Bph3*, *BPH26*, *BPH18*, *BPH9*들의 염기서열을 reference 염기서열로 하고, 선행연구(Ji et al. 2016)에서 Illumina Hiseq2000 장비를 이용하여 얻어진 가야벼의 유전체 염기서열들을 reference 염기서열에 read mapping하였다. read mapping은 CLC Assembly Cell 프로그램(ver. 3.2.2, <http://www.clcbio.com>)의 clc_mapper 명령어를 사용하여 수행하였는데, 이 때 옵션 값을 similarity 98%, matched length fraction 1.0, repeat ignore로 설정하여 각 read의 전체 영역이 match되면서 염기서열 유사도가 98% 이상인 서열만이 reference 염기서열에 mapping 되도록 하고 반복서열들은 제외되도록 하였다. read mapping 결과를 clc_mapping_viewer 명령어를 사용하여 검토함으로써 가야벼의 유전체 염기서열이 비교대상인 각각의 벼멸구저항성 유전자 염기서열과 일치하는지를 판정하였다. 이 결과, 가야벼는 *Bph3* 유전자와 *BPH26* 유전자를 가지고 있는 것으로 나타났다. 이를 더 검증하기 위해 가야벼의 *Bph3* 유전자와 *BPH26* 영역을 PCR로 증폭하여 Sanger sequencing 방법으로 sequencing 하였다. 이 때 사용한 PCR 프라이머 목록은 Table 1과 같다. *Bph3* 유전자는 세 개의 lectin receptor kinase 유전자들인 OsLecRK1, OsLecRK2, OsLecRK3로 이루어져 있는데, 이들 각각의 유전자 코딩 시퀀스

Table 1. The list of primers for amplification of *Bph3* and *BPH26* genes of Gayabyeo

Gene	forward primer	reverse primer	gene size (bp)
OsLecRK1	CCCACTCAATTATAGCTACACA	TCGACGACAGCAAATCCT	2442
OsLecRK2	ACAAATGCCGTCTCTCAAG	AGGATCATGTGGTTGTAGAGG	2436
OsLecRK3	ACGCGGTAGGAAAGACCA	AAGCATCAGTGCCCGAACA	2436
BPH26 exon1	TAGCATCAGTCCCTTGCTTGTTC	ATTGATTAAATTAGCAGACAAGTTG	1089
BPH26 exon2	AACTCTCGTCTCGTCTTAAATATA	AGTAGTAATGTGCGTAGCAATGGAG	624
BPH26 exon3	CTAGTGCCAGTTACTCCGATAAATAT	TATGCACTAGCATCACTACA	1944

* *Bph3* is composed of three genes that are OsLecRK1, OsLecRK2, and OsLecRK3.

** Sequencing of *BPH26* is done on its three exons according to Tamura et al. (2014).

영역이 포함되도록 PCR 증폭하여 PCR 산물을 Sanger sequencing 방법으로 sequencing 하였다. 시퀀싱 프라이머는 약 500 bp 간격으로 디자인하여 제작하였다. *BPH26* 유전자는 크기가 10.6 kbp로 세 개의 엑손(exon)과 두 개의 인트론(intron)으로 이루어져 있는데 Tamura et al. (2014)의 방법으로 엑손 영역만을 PCR 증폭하여 PCR 산물을 Sanger sequencing 방법으로 sequencing 하였다.

가야벼 저항성 유전자 선발마커 개발

가야벼의 *Bph3* 유전자와 *BPH26* 유전자 선발마커를 다음과 같은 방법으로 개발하였다. 가야벼의 유전체 염기서열 데이터를 가지고 CLC Assembly Cell 프로그램의 *clc_assembler* 명령어를 사용하여 de novo assembly를 수행하였다. 그 결과 생산된 contig 염기서열들을 CLC Genomics Workbench 프로그램(ver. 6.01, <http://www.clcbio.com>)을 이용하여 BLAST 데이터베이스로 만들고, *Bph3*와 *BPH26* 유전자 염기서열로 BLAST를 수행하여 이들 유전자를 포함하는 가야벼 contig들을 추출하였다. 이렇게 추출한 가야벼 contig 염기서열과 자포니카 벼 표준유전체 염기서열인 니폰바레 염기서열(Nipponbare IRGSP-1.0 sequence, <http://rapdb.dna.affrc.go.jp/download/irgsp1.html>)을 비교하여 삽입/결실(InDel)부위를 찾아내었다. 이들 InDel 부위 양측 인접 염기서열을 이용하여 프라이머를 디자인해서 InDel 마커를 개발하였다.

가야벼 벼멸구 저항성 유전분석 집단의 벼멸구 검정 및 QTL 분석

태백벼/가야벼 F2 집단에서 채종한 F3 종자를 이용해서 F3 집단 180 계통에 대한 벼멸구저항성유묘검정을 수행하였다. F3 한 계통당 15립을 파종하여 유묘가 3엽기에 이르렀을 때 2-3령의 벼멸구 유충을 식물체 개체당 10~15마리 되도록 접종하였다. 감수성 대비 품종인 태백벼가 거의 완전히 고사하였을 때 식물체 개체의 저항성지수를 Huang 등에 의해 보고된 기준에 따라 0-9 등급으로 판정하였다(Huang et al. 2001). 개발된 CAPS 마커들 및 *Bph3*와 *BPH26* 유전자 선발마커들의 유전지도와 F3 계통별 저항성지수의 평균값을 QTL 분석에 사용하였다. QTL 분석은 Windows QTL Cartographer version 2.5 program(Basten et al. 1996)을 이용하여 composite interval mapping 방법으로 수행하였다. LOD threshold는 확률 수준 0.05에서 1,000번의 permutation을 함으로써 산정되었다.

결과 및 고찰

가야벼와 태백벼간 다형성 SNP 마커 개발

선행연구에서 탐지된 가야벼와 태백벼간 SNP들 가운데 이 연구에서 사용한 제한효소들의 인식부위에 있는 SNP들을 이용하여 CAPS 마커들을 디자인하고 가야벼와 태백벼간 다형성 검정을 하였다. 약 2 Mbp 간격으로 마커들을 디자인 하였으며, 가야벼와 태백벼간 SNP가 드물어서 마커 디자인이 불가능한 영역들도 있었다. 디자인된 마커들로 가야벼와 태백벼 DNA를 이용하여 모본 다형성 검정을 수행하였으며, 모본 품종간 다형성이 확인된 마커들로 태백벼/가야벼 후대 F2 집단 180 개체의 유전자형을 분석하였다. 99 개의 CAPS 마커들이 개발되어, 이들을 이용한 태백벼/가야벼 후대 F2 집단 유전자형 데이터들이 생산되었으며, 이 데이터에 기반하여 개발된 마커들의 유전지도를 작성하였다(Fig. 1). 작성된 유전지도의 총 거리는 1165.5 cM이었고, 마커간 평균 거리는 13.4 cM이었다. 개발된 마커들의 프라이머 염기서열, 제한효소, 물리적 위치를 Table 2에 나타내었다.

유전체 염기서열 데이터 분석에 의한 가야벼 벼멸구 저항성 유전자 규명

기존에 밝혀진 벼멸구저항성 유전자인 *Bph14*, *Bph3*, *BPH26*, *BPH18*, *BPH9*들의 염기서열을 reference 염기서열로 하여, 가야벼의 유전체 염기서열을 read mapping하여 비교한 결과, 가야벼의 유전체 염기서열이 *Bph3*와 *BPH26* 유전자 염기서열과 일치하였다(Fig. 2). Fig. 2에서 reference 염기서열과 일치하는 유전체 염기서열은 흰색으로 나타나고, 일치하지 않는 염기서열은 적색으로 나타나는데, *Bph3*와 *BPH26* 유전자에서는 전 영역에 걸쳐 염기서열이 일치한 반면 *Bph14*, *BPH18*, *BPH9* 유전자에서는 일치하지 않는 염기서열이 다수 존재하였고, read mapping이 되지 않는 영역이 존재하였다. 따라서, 가야벼가 *Bph3*와 *BPH26* 저항성 유전자를 가지고 있다고 판단되었다.

이 결과를 검증하기 위해 가야벼의 *Bph3*와 *BPH26* 유전자 영역을 Table 1의 프라이머로 PCR 증폭하여 Sanger sequencing 방법으로 sequencing하여 *Bph3*와 *BPH26* 유전자 염기서열과 비교하였다. *Bph3* 유전자를 구성하는 세 개의 lectin receptor kinase 유전자들인 OsLecRK1, OsLecRK2, OsLecRK3 각각의 가야벼 PCR 산물의 염기서열이 *Bph3* 유전자 염기서열과 완전히 일치하였다. 그리고, 가야벼의 *BPH26* 유전자 세 개 엑손 영역 PCR 산물의 염기서열도 *BPH26* 유전자 영역 염기서열과 완전히

Table 2. List of developed CAPS markers

no.	marker name	forward primer	reverse primer	restriction enzyme	chromosome	position (bp)
1	GT01002	GCTGATGATCGTTTGCCACA	TGCGATGTATTTTCGCGTTTT	EcoRV	1	1,065,395
2	GT01003	AAATTGGCTGGGGCACTTCT	TGCAGGATCAGGAAGAGCTG	EcoRI	1	1,600,379
3	GT01007	CAGGGCCGCGAGTGTTAATTC	AGCGAGACGTTCTGTATGGT	EcoRI	1	5,522,341
4	GT01008	AATAAGCGCTTGACGCGAAA	CGCTCAACCACCTCGTCATT	EcoRV	1	6,037,347
5	GT01011	TCCTGAGCATCCTTGATGA	AAAACGAGAGGGCGCATGT	EcoRV	1	9,187,583
6	GT01018	ACTTGGAGGCGCATAACGAA	GCATAATGACATGTCGCATTGAA	EcoRI	1	23,956,461
7	GTS01007	AAGGGTTGTATGAACCGTCAAC	TCCATGGGACACTAAAGAGAGG	SalI	1	25,601,011
8	GTS01008	CGTCGAAGAAAGTGACTCAAGA	CCTCTTTTGTGGTATCATTGG	NruI	1	26,694,741
9	GTS01009	ACTCCCAAAACCAGCGTAAATA	CGTCAGGAATGAATTCGAAACT	SacI	1	27,335,280
10	GTS01010	AGAACCCGTGTAGAGCACATTA	CAATTGATCTGCTTGCTCTCTG	PshBI	1	32,523,034
11	GT02001	GCATATGTTTGACCGTTCGTCTT	CGGCGCTACACCATACCAAT	EcoRI	2	198,216
12	GTS02001	AACTAGCACGCTTCGTTTTAGC	CGGATTGGTGGAATTGAAAA	StuI	2	1,330,779
13	GTS02002	CCATTGGCAATGTTCTCATAC	CACCCTTCTATGTCTCATCCT	BamHI	2	4,001,036
14	GTS02003	TGTGTGGTAGAAAATGGACCTG	CCATGATTGCCAGTGTTACATC	EcoRI	2	5,066,630
15	GTS02004	TACCGATCAGCTGAAAACACAC	TCTTGTTCCCTTCCCTTTAACA	BamHI	2	6,854,129
16	GTS02006	GTGACCTCCGATCAAATCAACT	CTACTGTGGGCAGTGAAGAGGT	BamHI	2	8,587,683
17	GTS02007	ATTTCCCTCCTGTTCTCATTT	GGTTGGGTTTTGGTATAGCTGA	HindIII	2	9,657,613
18	GTS02008	AGCTGGAAAATGTTGTATGCAG	GGGATGAATCAGTAGTTCAGCA	HindIII	2	10,645,645
19	GT02014	GTGTTGGCTAGGGCCTTTGA	TTCTCTGGTTGGCCTTCAGC	EcoRI	2	21,056,727
20	GT02021	CGCCTCTTGAAGACCCAGAG	CTGACCGGCATGGGAGTTTA	SacI	2	33,887,583
21	GT03001	GCTGTTGCCGCAATATCACA	AGGCATTGGCATTGTTAGGC	EcoRI	3	855,210
22	GT03003	TGGGGATTGCCAGATGTGAT	GCATGGCATTTGAAAGAGTGA	PvuII	3	2,538,138
23	GT03004	CAGTGCTGGGCACAGCAAG	GCGTTCCACACTTCCACTCC	HindIII	3	3,811,855
24	GT03005	GGAAATACCTGCCCCGTTTT	CAGACGATCGGGAATTTCTACG	EcoRV	3	4,753,112
25	GT03006	CTCCTCTCGCACGCAGAAGT	CCAGCTTCTCCACGGAACAA	EcoRV	3	5,592,985
26	GT03009	TCTACCTGCCAGGAAGCAA	TTTCAGGCAAAGCAAAGCAG	EcoRV	3	9,205,476
27	GTS03002	AGCATCACGATGATTCTTTTGC	TTATTGTGCCCTAGACGAATGA	SacI	3	11,547,474
28	GTS03004	TAGGGTTGGCTCTCAATCTCTC	ACACCTACAAGGTTGTGACTGC	EcoRI	3	13,593,894
29	GTS03008	ATCGCACGGAAGGATAACTG	GTGTCTCTAGAACCTCGCAATC	SacII	3	19,416,808
30	GTS03009	ATTATCTCACGACCTGGGACTG	AGCTAGCTAGGGTTTGTGTTC	EcoRI	3	20,345,341
31	GTS03010	TGAGGAAGAGGAGGAGATTGAG	CTGCTTCATTGTGTCTGAGGAC	SacI	3	21,733,967
32	GT03021	GAATCTGATTGCCCCCTAGC	GGACCCAAATTGAAAGGCAAT	EcoRV	3	25,459,877
33	GT03024	TTGGAAGCTTGAAACGATGG	TCGCAAGTTCGAAACCCACT	EcoRI	3	28,056,489
34	GT03025	TGCGAATACAATTCGGACTGC	CGTGCAGTACCCTCCAAACC	EcoRV	3	29,184,626
35	GT03030	AATTAACTCCGCGCCTGGT	AAACCATGCATCCGATAGGG	HindIII	3	36,245,706
36	GT04004	TGGCGACAAACAGAGCACAC	CCTTCTTGCGCAGGACCTC	EcoRI	4	4,875,618
37	GT04005	CCAGCCAACTCAGTTGTCCA	CAGACCATACTCCTTCAGAGCA	EcoRI	4	5,924,429
38	GTS041424	ACTGGGAAGAAGGCAAGACA	GTGAGCATCCCACTCTCCAT	EcoRI	4	6,623,655
39	GTS041472	CCTGAAAGGGCTCAAAAACA	TCTTGCAGGTGACAAATCCA	PshBI	4	6,914,922
40	GTS041749	TGAAGTATTGCGGTTGACCA	TGCGGATTGTGTAAGACAGG	EcoRV	4	8,481,173
41	GT04014	TGGATCGCTTGATGTGGTTG	ATGCCTCAAATACCGCAGCA	EcoRI	4	14,685,347
42	GTS043975	TTCGAGGGTTGGTGACTGAT	AGAGGGTCCATGGTTTTGTG	EcoRV	4	16,607,468

no.	marker name	forward primer	reverse primer	restriction enzyme	chromosome	position (bp)
43	GT04020	TCCTTGCAAACGCAAAGTCA	GCAACAAAACATTGCGAAGG	EcoRI	4	21,083,274
44	GT05001	TTGCAGCTGAAGAAAATGTG	TTTGGCACATGAAAATGATG	EcoRI	5	602,152
45	GT05003	TGTTGCAGAGTAGCAAACCA	TATAAGCTGCAGCCTGGAAT	EcoRV	5	2,107,453
46	GTC05003	CCGAAGAGCGACTCCTAGTG	AGAGATGCACAGAGGGAGGA	PshBI	5	6,043,943
47	GT05013	GAGCATAAGGGGTTTCCTA	TAATGCTGGTGTGGACTCAA	EcoRI	5	15,946,504
48	GTC05008	TAATTGCCTCCCAAACAACC	TGTCATGCAAAGCAAAAAGG	PshBI	5	18,530,587
49	GT05015	CGACGACTATATGGCGGATA	AACTCCAATCGGTCATACCA	EcoRI	5	20,548,891
50	GT05016	CCGTTTTGTCAGAAACCTGT	TAAATCGCGAGACGAATCTT	EcoRV	5	22,331,098
51	GTC05010	AGGTGGTGGTGGTTCCATT	TCACTGCCGATTTCTCACTG	PvuII	5	25,145,098
52	GT05024	TGATCCCCAATGAAAGCTAC	TCTTGTACTCCCTTCGTTTCA	EcoRI	5	29,110,069
53	GT06013	TCCAACAGCAACAATCTTCA	TCTCAAGCTCAATCCGAGT	EcoRI	6	24,403,695
54	GT06015	AGAGCAGAGCTCGTGTAGTG	TGGTGATTTTTGGATGGATT	EcoRI	6	26,356,825
55	GT06016	GCGAAGATGCTAGTGGA AAA	GTTGCAAAAGGATCTGGA AAA	EcoRV	6	27,324,979
56	GT06017	GATTCGACGTCTGAAAAGGA	ATATGCATGGTTCAC TGCAA	EcoRI	6	29,168,500
57	GT06019	TGCTCAGCAGAGTCTTGCTAT	GCTTGAGACTGGTTCGTGTT	SacII	6	31,015,468
58	GT07002	CAAAAGTAACCAATGGCAAGA	GCACATTTGAACTGCATCTG	EcoRV	7	5,619,862
59	GT07008	TGGAATCAAAGTGAAGGTCAG	TGGCAATCTAAAGAGGAGGA	EcoRI	7	17,797,502
60	GT07010	TATGGGGACTCCAATAAGCA	TACGGTCTCGTCGGTATCAT	EcoRV	7	19,489,327
61	GTS07491	AAGGCCAAATGGAGGTTAGC	CTGGGAGTCCAGTCATCACA	BglII	7	21,220,123
62	GT07013	ATTACAGCCCTTCTGGATAC	ACCTAGGGCAGTCCTTGATT	EcoRI	7	22,517,510
63	GTS07984	GCCGCTTTCTAAAAGGATTT	GACCGAAATTTGGCTCAAT	EcoRV	7	23,387,924
64	GTS07117	AGCCTGCCACTCTTCCTGTA	CGAGGACATGGCATCCTATT	EcoRV	7	27,812,959
65	GT07018	TTCAACCTTAGGCACTCGTC	TGAGATTCTCCTTGCGTGTT	EcoRV	7	28,923,650
66	GTS08007	GATCAGTCGTCCTCGTCCTC	GCATTGAGCACATCCATGAC	HindIII	8	1,150,395
67	GTS08142	ATGCTCCAATTGAGCTGACC	TACTCATGCAGGAACGCATC	EcoRI	8	6,123,634
68	GTS08218	AAATGGTGTTTTTCCCGTTG	AGGTCGTGGCATGATTTAGC	PshBI	8	8,787,812
69	GTS08298	CGATCGGCTCTTACATGACA	AGTGGATTTGCAGGCAGCTA	EcoRI	8	27,252,203
70	GTS08328	GAGTTACAAACCGCCTTTGC	TTGCTAGGGGTCAAGGAAAA	BglII	8	28,243,051
71	GTS09004	AGCACCCAGAGCAACAGTTT	CCCCTAATTAGCCCATTGC	EcoRV	9	620,373
72	GTS09063	GCTTGGATGACAAGCGTTCT	AGATCGGCTTCCGAAAGAGT	BglII	9	9,835,918
73	GTS09106	ACGCGACTGCTAAGGTTTCAT	CTCGATCGGTCCCTTTTCAT	EcoRV	9	11,310,635
74	GTS09188	AGTGGTAGATCCCGTTGAGC	AACCGGAGACCTTCAGTGTG	EcoRV	9	13,099,244
75	GTS09302	GCATGCATCCGTTGAATAAA	GAGATGCTCGTCAGGGACAC	HindIII	9	16,712,838
76	GTS09305	ATGGCTTTCGGGCATAGTAA	GGATGGCCTATTCAGCAAAA	EcoRV	9	21,161,450
77	GTS10005	TCTCAGCCACTCGTTGAATG	TCTGGATGGGCTAAATGAGG	EcoRV	10	721,349
78	GTS10029	CCTCCCTTCAGTTTGTGAGC	CATTGGATCCCCAAAGAAAA	EcoRI	10	3,044,726
79	GTS10116	CCCCCTAAGATGGTTTTTGC	TGAGAAAGTGAAGTGTGAGTGTG	EcoRV	10	4,577,975
80	GTS10199	AGCCTGAGAAGCAGATTGGA	TGCAATGACGTGATGGTACA	EcoRI	10	6,149,421
81	GTS10204	TTTACACGGGACATTCAAA	TCGACCTTGGACTTCTAGGC	StuI	10	9,961,760
82	GTS10214	TAGGATCTCGCCGAACATCT	ATGCACCTCCCCAACATATC	EcoRV	10	11,290,285
83	GTS10276	TGGTCTTTGAAGCATTCTGG	TTCAATATTGGCCGTAAACC	EcoRV	10	13,637,268
84	GTS11014	CTTCGCTTCATTTGAGTTTG	CATTTCTGCAGTCGCATTTG	EcoRV	11	353,397
85	GTS11016	CGCACGAGATGCTGTCTAAC	GAAAAACCTCTGCCCTCTT	NruI	11	1,389,204

no.	marker name	forward primer	reverse primer	restriction enzyme	chromosome	position (bp)
86	GTS11086	TGCTGGTGTGCTATTTGAGC	CGTGGCCATCCAAAAGTAAT	EcoRI	11	17,330,622
87	GTS11088	CGCCTAGGTGCAGAAAAGAG	ACACCATGAGCCTCCTCACT	BamHI	11	20,838,960
88	GTS11330	TGTCATTGGTTGCCCTGTAA	AGCATGGAGGTGGTGCTAAC	EcoRV	11	26,534,991
89	GTS11350	AGGAATATGAATCGCGTGTG	TTTGGGAGCTATGGCCTATG	EcoRI	11	27,197,820
90	GTS120003	GCGTTTTCCTCCAATTCAA	ACCGACAACCTTTTGCCCTTT	PvuII	12	3,007,338
91	GTS120032	AACGAAGAGGCCAATGGATA	GTTGACCATGGGTGCTCACT	PvuII	12	3,807,192
92	GTS120139	TGCTTTCAGGAGAGCAGGAT	CCACCAGCATCACTCTGCTA	EcoRI	12	9,263,934
93	GTS120457	GCATGAGAGACAGCGGAGTT	GTGATTTGCCATGCCTTTTT	EcoRV	12	13,674,598
94	GTS120652	TGGGCACAACACAAAGGTG	CATTCCCATGTTCCACATCA	EcoRI	12	17,438,893
95	GTS120760	CCCAGCCACAAGAAATGAAT	TTTTCTTTTCCCTGCTGTG	EcoRI	12	19,070,762
96	GTS120842	AAGCCATCATGTTCCATTCC	TTTTGGTACGTCATCCGTGT	EcoRI	12	21,522,146
97	GTS120941	CAGGTGGTCCTTTTCAGCAT	TAGTGTCATGTGCCCTGAGC	EcoRI	12	22,565,939
98	GTS120989	CCTTTGAGGGCTTGACATA	TACCCACTGGAAACGGAAGA	EcoRV	12	23,622,982
99	GTS121030	CGTTGCTCCGTTTCATCTCT	GCTAGCCCCTTTTCATCTCC	EcoRV	12	26,276,873

Fig. 1. Genetic map of developed CAPS markers.

Fig. 2. Read mapping of Gayabyeo genome sequences onto BPH resistance genes. Reference BPH resistance gene sequences were shown at the top row of each panel, and mapped read sequences were shown below the reference sequences. White letters indicate identical nucleotides while red letters indicate different nucleotides. a: *Bph3*, b: *BPH14*, c: *BPH18*, d: *BPH26*, e: *BPH9*.

일치하였다. 이로써, 가야벼가 *Bph3*과 *BPH26* 저항성 유전자를 가지고 있음을 확인할 수 있었다.

가야벼 저항성 유전자 선발 마커 개발

가야벼가 벼멸구 저항성 유전자 *Bph3*과 *BPH26*을 가지고

있으므로, 이들 유전자들을 국내 자포니카형 벼 품종들에 도입하는 육종프로그램에 사용할 수 있는 선발마커를 개발하였다. 특히, 일반적인 실험실에서 아가로스 겔을 이용하여 쉽게 분석할 수 있는 삽입/결실(InDel) 마커를 개발하고자 하였다. 가야벼의 유전체 염기서열과 자포니카형 벼 품종들의 유전체 염기서열간

Table 3. Primer sequences of *Bph3IND* and *BPH26IND* markers.

marker name	forward primer	reverse primer
<i>Bph3IND</i>	GCTTCACCTGTGTCCTGTT	GTGTATGAGGGTTGTTCTGGAT
<i>BPH26IND</i>	GGGCAGCTAAGCGCATGGTT	GGGTGATAAATCGAACAGCAGAGG

Fig. 3. Detection of InDels between Gayabyeo and Nipponbare reference sequences for development of InDel marks in *Bph3* and *BPH26* region. a: *Bph3* region, b: *BPH26* region.

Fig. 4. Genotyping of Gayabyeo and other Korean rice varieties with *Bph3IND* and *BPH26IND* markers. a: genotyping Gayabyeo and 34 Korean japonica rice varieties, b: genotyping Gayabyeo and 15 Korean Tongil-type rice varieties.

InDel 부위를 찾기 위해서, 먼저 가야벼의 유전체 염기서열 데이터로 de novo assembly를 수행하여 contig 들을 만들었다. de novo assembly 결과 200~95,218 bp 범위의 크기를 가진 contig 들이 64,373개 생성되었으며, BLAST를 통해서 *Bph3* 유전자와 *BPH26* 유전자 영역에 있는 가야벼 contig들을 추출하였다. 추출된 가야벼 contig들의 sequence와 자포니카 벼 표준유전체 염기서열인 니폰바레 염기서열과의 비교를 통해서 InDel 부위를 발굴하였다. *Bph3* 유전자를 구성하고 있는 OsLecRK1, OsLecRK2, OsLecRK3 유전자 영역에서 OsLecRK1 유전자의 3' 말단 인접 부위에서 가야벼 contig 14558과 니폰바레 유전체 염기서열간 72 bp InDel 부위를 발굴하고(Fig. 3a) InDel 마커 *Bph3IND*를 개발하였다(Table 3). *BPH26* 유전자는 세개의 exon과 두 개의 intron으로 구성되어 있는데 두번째 intron에서 가야벼 contig 36193과 니폰바레 유전체 염기서열간 587 bp InDel 부위를 발굴하고(Fig. 3b) InDel 마커 *Bph26IND*를 개발하였다(Table 3). 이들 마커들로 가야벼와 34개의 국내육성 자포니카 벼 품종들의 유전자형을 분석한 결과, *Bph3IND* 마커와 *Bph26IND* 마커들 다 가야벼와 국내 자포니카 품종들간에 뚜렷한 차이를 보였다(Fig. 4a). 그러므로 이 마커들은 가야벼의 벼멸구 저항성 유전자들을 국내 자포니카 벼 품종들에 도입하는 여교배 육종 프로그램에 선발마커로 유용하게 사용될 수 있을 것으로 판단된다. 한편, *Bph3IND* 마커로 가야벼와 15개의 국내육성 통일형 벼 품종들의 유전자형을 분석한 결과, *Bph3IND* 마커에서는 남영벼만이 가야벼와 동일한 밴드를 보였고, 태백벼 등 5품종에서 가야벼와 다른 밴드가 관찰되었으며, 밀양23호 등 9 품종에서는 밴드가 관찰되지 않았다(Fig. 4b). 이로써 벼멸구 저항성 품종으로 알려진 남영벼가 *Bph3* 유전자를 가지고 있을 가능성이 있다고 보여진다. 또한, *Bph26IND* 마커로 가야벼와 15개의 국내육성 통일형 벼 품종들의 유전자형을 분석한 결과, 밀양23호 등 12 품종에서는 가야벼와 다른 밴드가 관찰되었고, 삼강벼, 안다벼, 용문벼에서는 가야벼와 동일한 밴드가 관찰되었으나 밴드가 두 개인 hetero type들이어서 가야벼와 다른 양상을 보였다. 이로써, 국내육성 통일형 벼 품종들에서도 *Bph3IND* 마커와 *Bph26IND* 마커의 활용가능성이 있다고 판단된다.

Table 4. Identification of QTLs for BPH resistance

QTL name	chromosome	location (cM)	QTL interval* (cM)	LOD	additive effect	dominance effect	R ²
<i>qBPH4</i>	4	0	0-6.6	7.22	0.94	-0.20	0.138
<i>qBPH12</i>	12	51.4	40.8-54.4	6.64	0.87	0.55	0.131

* interval at 99% probability

가야벼의 벼멸구저항성 QTL mapping

태백벼/가야벼 F3 집단 180 계통에 대해서 벼멸구저항성 유묘 검정을 수행한 결과, F3 계통들의 계통별 저항성 지수 평균값은 Fig. 5와 같은 분포를 보였다. F3 계통들의 계통별 저항성 지수 평균값과 개발된 CAPS 마커 및 *Bph3IND* 마커와 *Bph26IND* 마커로 작성한 유전지도를 중첩하여 저항성 QTL을 분석하였다. 그 결과 4번 염색체 0 - 6.6 cM 영역에서 LOD 값이 7.22인 QTL인 *qBPH4*가 발견되었고, 12번 염색체 40.8 - 54.4 cM 영역에서 LOD 값이 6.64인 QTL인 *qBPH12*가 발견되었다(Table 4). 확률 수준 0.05에서 1,000번의 permutation을 함으로서 결정된 LOD threshold 값은 3.9이었다. *qBPH4* 영역은 *Bph3IND* 마커(5.7 cM)을 포함하고 있었고, *qBPH12* 영역은 *BPH26IND* 마커(48.4 cM)을 각각 포함하고 있었다. 따라서, *qBPH4*는 *Bph3* 유전자이며, *qBPH12*는 *BPH26* 유전자로 판단되며, 이 결과는 가야벼의 벼멸구 저항성 유전자가 *Bph3*와 *BPH26*임을 뒷받침해주고 있다고 판단된다.

Fig. 5. Distribution of BPH resistance scores of the 180 F3 families.

적 요

통일형 벼품종인 가야벼는 우리나라에서 수집된 다양한 벼멸

구 집단들에 대해서 저항성을 가진 것으로 알려져 있다. 가야벼 벼멸구 저항성의 유전분석을 위해서, 가야벼와 벼멸구 감수성 통일형 품종인 태백벼를 교배하여 F2 및 F3 집단을 작성하였다. 그리고, 선행연구에서 탐색된 가야벼와 태백벼간 약 28만개의 단일염기서열변이(SNPs)들 중 제한효소 인식부위에 있는 SNP 들을 대상으로 99 개의 CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequences) 마커를 개발하였다. 이들 마커들로 태백벼/가야벼 F2 집단 180 개체들의 유전자형을 분석하여 유전지도를 작성하였다. 가야벼의 유전체재해석(resequencing) 염기서열 데이터와 기존에 알려진 벼멸구 저항성 유전자들(*Bph3*, *BPH9*, *Bph14*, *BPH18*, *BPH26*)의 염기서열을 비교한 결과, 가야벼가 *Bph3*과 *BPH26* 유전자들을 가지고 있는 것으로 나타났다. 가야벼의 *Bph3*과 *BPH26* 유전자 영역을 PCR 증폭하여 Sanger sequencing 방법으로 염기서열을 분석한 결과, *Bph3* 및 *BPH26* 유전자 염기서열과 완전히 일치함을 확인하였다. 이 두 유전자 영역에서 삽입/결실(InDel) 마커인 *Bph3IND*와 *BPH26IND*를 개발하였고, 이들 마커들은 가야벼의 저항성 유전자들을 고품질 자포니카 벼 품종들에 도입하는 육종 프로그램에 선발마커로서 활용될 수 있음을 확인하였다. 태백벼/가야벼 F3 집단 180 계통들을 대상으로 벼멸구저항성 유묘검정을 수행하여 QTL 분석을 한 결과, 4번 염색체와 12번 염색체에서 주동 QTL 두 개가 발견되었다. 이 두 QTL들의 영역은 각각 *Bph3*과 *BPH26* 유전자를 포함하고 있었는데, 이는 가야벼가 *Bph3*과 *BPH26* 유전자를 가지고 있음을 뒷받침해 주었다. 이 결과는 우리나라에서 고품질 벼멸구 저항성 자포니카 벼 품종 육성을 촉진하는데 유용하게 활용될 수 있을 것이다.

사 사

본 논문은 농촌진흥청 연구사업(과제번호: PJ01104201)의 지원에 의해 이루어진 것임.

REFERENCES

1. Basten CJ, Weir BS, Zeng ZB. 1996. QTL Cartographer: A reference manual and tutorial for QTL mapping. Department of Statistics, North Carolina State University, Raleigh, NC.
2. Cantindig JLA, Arida GS, Baehaki SE, Bentur JS, Cuong LQ, Norowi M, Rattanakam W, Sriratanasak W, Xia J, Lu Z. 2009. Situation of planthoppers in Asia. In: Heong KL, Hardy B (Eds.), Planthoppers: new threats to the sustainability of intensive rice production systems in Asia. International Rice Research Institute, Los Baños, Philippines. pp. 191-220.
3. Du B, Zhang W, Liu B, Hu J, Wei Z, Shi Z, He R, Zhu L, Chen R, Han B, He G. 2009. Identification and characterization of *Bph14*, a gene conferring resistance to brown planthopper in rice. Proc Natl Acad Sci U S A 106: 22163-22168.
4. Fujita D, Kohli A, Horgan FG. 2013. Rice Resistance to Planthoppers and Leafhoppers. Critical Reviews in Plant Sciences 32: 162-191.
5. Hibino H. 1996. Biology and epidemiology of rice viruses. Annu Review of Entomology 34: 249-274.
6. Hu J, Cheng MX, Gao GJ, Zhang QL, Xiao JH, He Y. 2013. Pyramiding and evaluation of three dominant brown planthopper resistance genes in the elite indica rice 9311 and its hybrids. Pest Management Science 69: 802-808.
7. Hu J, Xiao C, He Y. 2016. Recent progress on the genetics and molecular breeding of brown planthopper resistance in rice. Rice (N Y) 9: 30.
8. Huang Z, He G, Shu L, Li X, Zhang Q. 2001. Identification and mapping of two brown planthopper resistance genes in rice. Theor Appl Genet 102: 929-934.
9. Ji H, Ahn E, Seo BY, Kang HJ, Choi I, Kim KH. 2016. Genome-wide detection of SNPs between two Korean Tongil-type rice varieties. Korean J Breed Sci 48: 460-469.
10. Ji H, Kim SR, Kim YH, Suh JP, Park HM, Sreenivasulu N, Misra G, Kim SM, Hechanova SL, Kim H, Lee GS, Yoon UH, Kim TH, Lim H, Suh SC, Yang J, An G, Jena KK. 2016. Map-based cloning and characterization of the *BPH18* gene from wild rice conferring resistance to brown planthopper (BPH) insect pest. Sci Rep 6: 34376.
11. Kim DH, Lee GH, So JD, Yuh JH, Kim JH. 1991. Resistance aspects on different growth stages and field resistance of rice varieties to brown planthopper, *Nilaparvata lugens* STAL (Homoptera : Delphacidae). Research Report of RDA 33: 33-39.
12. Kim YH, Lee JO, Choi KM, Cho SY. 1989. Varietal resistance of Korea rice cultivars to brown planthopper and whitebacked planthopper and their resistance sources. Research Report of RDA 31: 7-13.
13. Lee JO, Goh HG, Kim YH. 1985. Study on brown planthopper biotypes. 2. Resistance mechanism of different rice varieties to Korean brown planthopper biotypes. Research Report

- of RDA 27: 73-78.
14. Lee JO, Goh HG, Kim HS, Choi KM. 1986. Study on brown planthopper biotypes. 3. Plant damage of different rice cultivars to combination of biotypes. Research Report of RDA 28: 52-55.
15. Liu Y, Wu H, Chen H, Liu Y, He J, Kang H, Sun Z, Pan G, Wang Q, Hu J, Zhou F, Zhou K, Zheng X, Ren Y, Chen L, Wang Y, Zhao Z, Lin Q, Wu F, Zhang X, Guo X, Cheng X, Jiang L, Wu C, Wang H, Wan J. 2014. A gene cluster encoding lectin receptor kinases confers broad-spectrum and durable insect resistance in rice. Nat Biotechnol 33: 301-305.
16. Lorieux M. 2012. MapDisto: fast and efficient computation of genetic linkage maps. Mol Breeding 30: 1231-1235.
17. Myint KK, Fujita D, Matsumura M, Sonoda T, Yoshimura A, Yasui H. 2012. Mapping and pyramiding of two major genes for resistance to the brown planthopper (*Nilaparvata lugens* [Stål]) in the rice cultivar ADR52. Theor Appl Genet 124: 495-504.
18. Otuka A. 2009. Migration of rice planthoppers and simulation techniques, In: Heong KL, Hardy B (Eds.), Planthoppers: new threats to the sustainability of intensive rice production systems in Asia. International Rice Research Institute, Los Baños, Philippines. pp. 221-230.
19. Park YD, Song YH. 1988. Preference, development and fecundity of the brown planthopper (*Nilaparvata lugens* Stål) biotypes fed on different cultivars of rice with various resistance gene. Korean Journal of Applied Entomology 27: 87-93.
20. Qiu Y, Guo J, Jing S, Zhu L, He G. 2012. Development and characterization of japonica rice lines carrying the brown planthopper-resistance genes *BPH12* and *BPH6*. Theor Appl Genet 124: 485-494.
21. Seo BY, Jung JK, Choi BR, Park HM, Lee BH. 2009. Resistance-breaking ability and feeding behavior of the brown planthopper, *Nilaparvata lugens*, recently collected in Korea. In: Heong KL, Hardy B (Eds.), Planthoppers: new threats to the sustainability of intensive rice production systems in Asia. International Rice Research Institute, Los Baños, Philippines. pp. 303-314.
22. Seo BY, Kwon YH, Jung JK, Kim GH. 2009. Electrical penetration graphic waveforms in relation to the actual positions of the stylet tips of *Nilaparvata lugens* in rice tissue. Asia-Pacific Entomology 12: 89-95.
23. Sogawa K. 1982. The rice brown planthopper: feeding physiology and host plant interactions. Annual Review of Entomology 27: 49-73.
24. Tamura Y, Hattori M, Yoshioka H, Yoshioka M, Takahashi A, Wu J, Sentoku N, Yasui H. 2014. Map-based cloning and characterization of a brown planthopper resistance gene *BPH26* from *Oryza sativa* L. ssp. indica cultivar ADR52. Sci Rep 4: 5872.
25. Uhm KB, Park JS, Lee YI, Choi KM, Lee MH, Lee JO. 1988. Relationship between some weather conditions and immigration of the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* Stål. Korean Journal of Applied Entomology 27: 200-210.
26. Wilson MR, Claridge MF. 1991. Handbook for the identification of leafhoppers and planthoppers of rice. CAB International, Wallingford, UK.
27. Zhao Y, Huang J, Wang Z, Jing S, Wang Y, Ouyang Y, Cai B, Xin XF, Liu X, Zhang C, Pan Y, Ma R, Li Q, Jiang W, Zeng Y, Shangguan X, Wang H, Du B, Zhu L, Xu X, Feng YQ, He SY, Chen R, Zhang Q, He G. 2016. Allelic diversity in an NLR gene *BPH9* enables rice to combat planthopper variation. Proc Natl Acad Sci U S A 113: 12850-12855.