

양식 참돔(*Pagrus major*)과 전복(*Haliotis discus*) 아가미의 색소 조성 분석을 통한 적조 생물 노출 평가

신성수^{1,2} · 한지도³ · 길현우³ · 강윤자² · 이민지^{1,2*}

¹국립수산과학원 남해수산연구소 기후환경자원과, ²전남대학교 환경해양학과, ³국립수산과학원 남해수산연구소 양식산업과

Gill-pigment-based Evaluation of Red Seabream *Pagrus major* and Abalone *Haliotis discus* Exposure to Harmful Algal Blooms

Seongsu Shin^{1,2}, Jido Han³, Hyun-Woo Gil³, Yoonja Kang² and Minji Lee^{1,2*}

¹Fisheries Resources and Environment Division, South Sea Fisheries Research Institute, National Institute of Fisheries Science, Yeosu 59780, Republic of Korea

²Department of Environmental Oceanography, Chonnam National University, Yeosu 59626, Republic of Korea

³Aquaculture Industry Research Division, South Sea Fisheries Research Institute, National Institute of Fisheries Science, Yeosu 59780, Republic of Korea

Harmful algal blooms (HABs) cause mortality in aquaculture; identifying the causative species is difficult after cell degradation due to microscopy limitation. Herein, we tested whether gill pigments could be analyzed using ultraperformance liquid chromatography (UPLC) to determine HAB exposure. Red seabream *Pagrus major* and abalone *Haliotis discus* were exposed to three HAB species (*Margalefidinium polykrikoides*, *Alexandrium affine*, and *Karenia mikimotoi*). The gill tissue pigments were analyzed using UPLC. *M. polykrikoides* (1,000, 2,000, 3,500 cells/mL) caused 100% *P. major* mortality in within 1 h. The cells were not microscopically visible due to their fragile structure; peridinin, a dinoflagellate marker pigment, accumulated in gill tissue. *A. affine* (500, 1,000, 2,500 cells/mL) caused no mortality but produced time-dependent increases in chlorophyll a and peridinin contents, indicating stress. *K. mikimotoi* (10,000 cells/mL) exposure increased chlorophyll a and fucoxanthin contents, with pigment levels increasing with exposure time and cell density. *H. discus* exposure to *K. mikimotoi* resulted in time and density-dependent increases in chlorophyll a and fucoxanthin contents. UPLC-based pigments were used to detect HAB exposure and pigment accumulation associated with specific taxa, even after algal cell degradation. This study provides a rapid, quantitative, and easy-to-use diagnostic tool for HAB monitoring and response strategies by laypersons.

Keywords: HABs, Gill pigments analysis, *Pagrus major*, *Haliotis discus*, UPLC

서론

매년 연안에서 발생하는 유해성 적조는 해양생태계의 수산업, 관광업뿐만 아니라 생태계 기능에도 악영향을 미치는 것으로 알려져 있다(Berdalet et al., 2015; Lee et al., 2017). 특히, 1981년 유해성 적조에 의해 약 20억의 이매패류 피해를 시작으로 1995년 한국 남해안에서 발생한 적조는 양식 어류 중심으로 약 700억 원의 경제적 손실을 초래하였으며, 이를 계기로 적

조에 대한 연구와 대응 체계가 본격적으로 강화되었다(Kim et al., 2010). 한국 남해안에서는 *Margalefidinium polykrikoides* (= *Cochlodinium polykrikoides*)에 의한 적조가 가장 빈번하게 발생하였고 피해 역시 심각하였다. 최근에는 *Alexandrium affine*와 *Karenia mikimotoi*에 의한 적조도 종종 발생하고 있으며(Eom et al., 2021), 2017년 여수-통영에서 *A. affine* 적조가 심하게 발생하였고 같은 시기 어류 폐사도 발생하였으나 그 상관성이 명확하지 않았다. 2016년에는 완도 해역 *K. mikimotoi*

*Corresponding author: Tel: +82. 61. 690. 8961 Fax: +82. 61. 686. 1588

E-mail address: minzlee@korea.kr



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.

<https://doi.org/10.5657/KFAS.2025.0296>

Korean J Fish Aquat Sci 58(4), 296-303, August 2025

Received 30 May 2025; Revised 7 July 2025; Accepted 18 August 2025

저자 직위: 신성수(연구원), 한지도(연구원), 길현우(연구사), 강윤자(교수), 이민지(연구사)

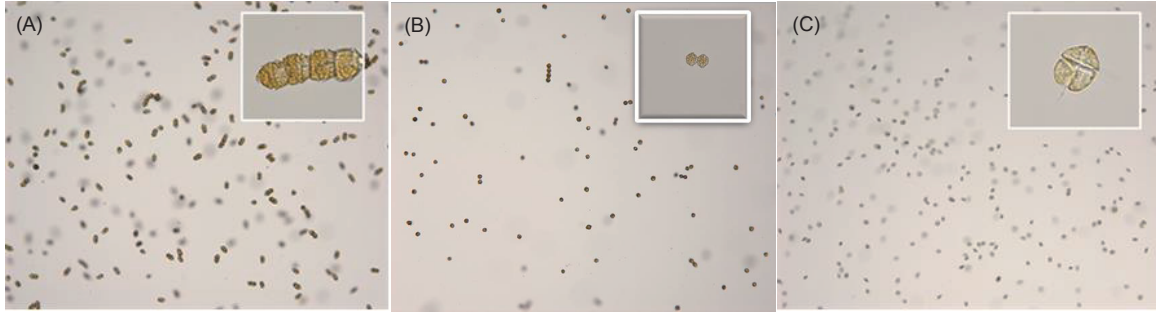


Fig. 1. Microscopic images of HAB species used in the experiment. A, *Margalefidinium polykrikoides*; B, *Alexandrium affine*; C, *Karenia mikimotoi*; HAB, Harmful algal blooms.

에 의한 전복 폐사가 보고되었다. 하지만 적조 발생 빈도에 비해 피해를 유발하지 않은 경우가 많아 두 종에 대한 수산 피해 연구는 전무하다. 그러나 이들 종은 전 세계 온대 연안에서는 경제적 피해를 유발하는 대표적인 유해성 적조생물로 알려져 있으며(Zhang et al., 2022), 대규모 증식 시 수산생물에 직·간접적인 피해를 유발하는 것으로 보고되고 있다(Niu et al., 2021). 적조 생물은 수괴 내 용존산소 농도를 급격히 저하시켜 어류의 호흡장애를 유도하거나, 아가미에 직접 부착되어 점액질과 독소를 분비함으로써 생물학적 스트레스 및 폐사를 유발할 수 있다(Zhang et al., 2023). 그 중 *M. polykrikoides*와 *A. affine*의 경우 호흡 장애 및 아가미와 간 손상에 관여하며, *K. mikimotoi*의 경우 독성에 의해 폐사를 유발한다고 알려져 있다(Li et al., 2019; de Silva and Gobler, 2023; Kim et al., 2023). 대부분의 연구는 적조 생물이 가지는 환경 적응력과 같은 생리 특성이나 스트레스나 독소 생성에 관여하는 유전자 기능적 역할 연구에 집중되어 있으며 실제 양식생물을 대상으로한 적조 생물 노출 실험은 대량 배양 및 유지의 어려움으로 인하여 제한적인 실정이다. 특히 적조 피해 발생 시 현장에서는 양식 해수를 채수하거나 폐사한 어류의 아가미를 현미경 검경하여 적조 생물의 존재를 확인하는 방식으로 피해 원인을 판단하고 있지만, 분석 시점에는 세포의 파괴나 분해, 어류의 부패 등으로 인해 정확한 노출 유무를 판단하기 어려운 한계가 존재한다. 이를 대체하는 방법으로 q-PCR (quantitative polymerase chain reaction) 방법이 있으나 이 역시 복잡한 전처리 과정과 높은 비용 등의 단점이 있다. 따라서 기존 식물플랑크톤의 생체량과 군집 구조 평가에 활용된 색소 분석법을 적조 노출을 평가하는 수단으로 활용하고자 한다. 이러한 식물플랑크톤 군집 분석을 위해서는 일반적으로 CHEMTAX 분석법을 기반으로 한 고성능 액체크로마토그래피(high performance liquid chromatography, HPLC)가 널리 사용되어 왔다. 이 방법은 식물플랑크톤으로부터 색소를 분리한 후, 각각의 지표 색소를 정성 및 정량적으로 분석하는 방식으로 활용되며 분석된 색소의 비율을 활용하여 CHEMTAX 분석을 수행함으로써 식물플랑크톤의 군집 조성을 보다 정밀하게 평가할 수 있다(Wright et al., 1991; Mackey et al., 1996).

최근에는 UPLC (ultra performance liquid chromatography)를 사용하여 기존 HPLC 40분 이상 걸리던 분석 시간을 10분으로 단축할 수 있고 분석 효율 또한 향상된 것으로 보고되고 있다(Ali et al., 2002; Swapna et al., 2024). 이에 본 연구는 기존에 식물플랑크톤 군집 분석에 국한되던 색소 분석 기법을 국내 최초로 양식생물의 아가미 조직에 적용하여 색소 조성 변화 양상을 통해 적조 생물 노출의 간접적 지표로 활용 가능성을 탐색하고자 하였다.

재료 및 방법

적조생물 배양

국립수산과학원 남해수산연구소에서 보유중인 적조 생물인 *M. polykrikoides* (NFRDI-CP001), *A. affine* (AL-TY-1508-02), *K. mikimotoi* (KM02 KSS) 3종을 이용하여 적조 노출 실험을 진행하였다(Table 1, Fig. 1). 우선 적조 생물 고농도 및 대량 배양을 위해 각 종의 최적 성장 조건에 맞추어 배양을 수행하였다. 광량은 형광등(200 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$) 및 메탈할라이드램프(500 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$), F/2 medium (Guillard, 1975), 염분 32–33 psu 조건 하에서, *M. polykrikoides*와 *K. mikimotoi*는 수온 25°C, *A. affine*는 수온 20°C로 배양하였다. 배양 용기는 남해수산연구소에서 자체 제작한 대량배양용기를 사용하였다(NIFS, 2017). 초기 적정밀도 확보를 위해 유리로 제작된 10 L 용기에 생물과 해수를 1:1비율로 1주 간격으로 계대 배양하면

Table 1. Information of harmful algal bloom (HAB) species used in the experiment

Species name	Cat no.	Location	Year
<i>Margalefidinium polykrikoides</i>	NFRDI-CP001	Busan, Korea	2013
<i>Alexandrium affine</i>	AL-TY-1508-02	Busan, Korea	2019
<i>Karenia mikimotoi</i>	KM02 KSS	Seto Inland Sea, Japan	2016

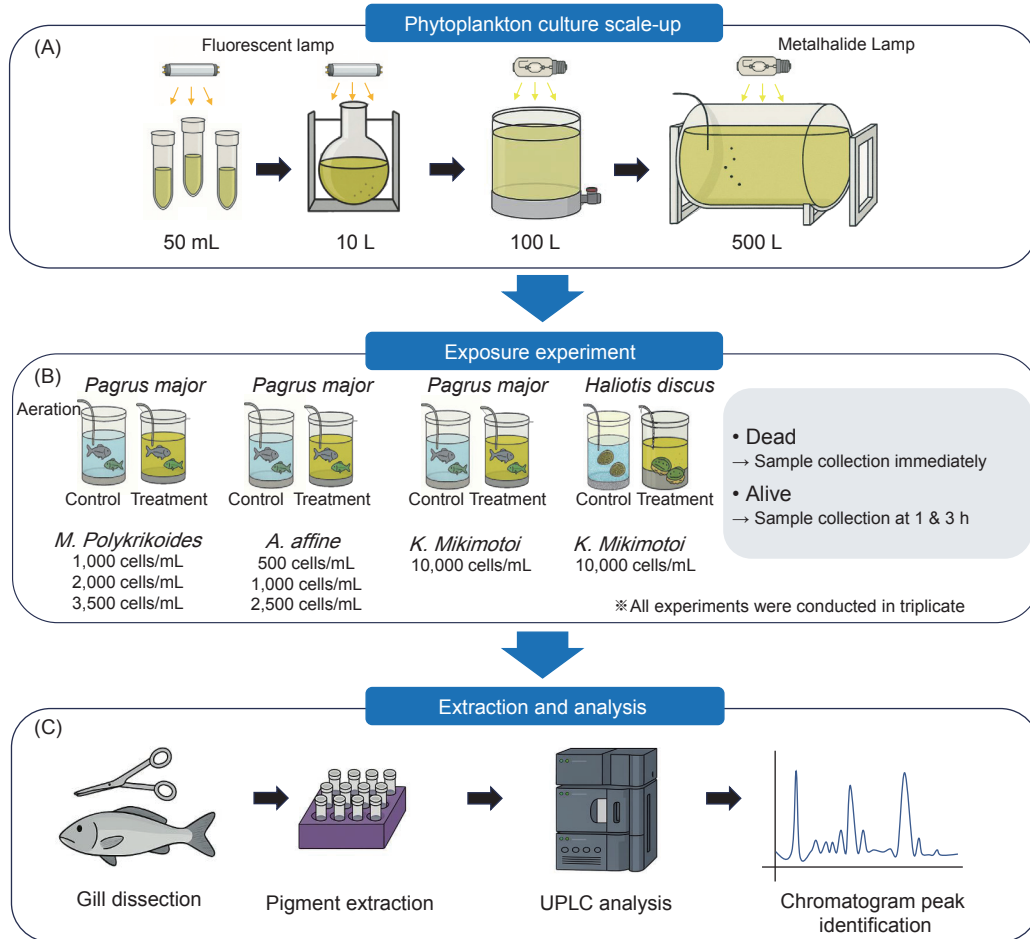


Fig. 2. Overview of (A) phytoplankton culture scale-up from 50 mL to 500 L, (B) exposure experiment and (C) workflow of pigment extraction and analysis from gill tissues. UPLC, Ultra-performance liquid chromatography.

서 일정수의 개수를 늘린 후 아크릴로 자체 제작된 100, 500 L 원형수조로 규모를 확대하며 대량 배양하였다(Fig. 2A). 대량 배양에 사용한 해수는 하우징 필터를 이용하여 10, 5, 1 μm 순으로 단계별 여과하여 고압멸균기(HVA-110; HIRAYAMA Co., Kasukabe, Japan)로 120 $^{\circ}\text{C}$ 에서 20분 멸균처리 하였다.

노출 실험

실험 생물은 남해연안 주 양식대상종인 참돔(*P. major*, length 23 ± 1 cm, weight 153 ± 7 g)과 전복(*H. discus*, length 5 ± 0.5 cm, weight 43 ± 5 g)을 이용하였으며, 적조 발생시기의 수산생물 성장단계에 맞는 크기로 실험을 수행하였다(Fig. 2B). 적조 생물 *M. polykrikoides*는 1,000, 2,000, 3,500 cells/mL, *A. affine*는 500, 1,000, 2,500 cells/mL의 농도 구별로 50 L 규모의 참돔 노출 실험을 수행하였다. *K. mikimotoi* 10,000 cells/mL의 농도로 50 L 규모의 참돔과 전복 노출 실험을 수행하였다. 실험 동안 산소 소진을 막기위해 에어레이션을 병행하였다. 생물

폐사 판정은 참돔의 경우 유영 능력을 상실하고 복부가 뒤집혔을 때 폐사로 간주하였고, 전복은 접착력을 잃어 부착하지 못하고 탈락하는 개체를 폐사로 간주하였다. 폐사하였을 경우(*M. polykrikoides*) 즉시 해부하여 아가미 시료를 획득하였고, 폐사하지 않았을 경우(*A. affine*, *K. mikimotoi*) 1시간, 3시간에 아가미 시료를 획득하였다. 아가미는 바깥쪽 첫 번째 새엽을 포함한 새궁 한 쌍을 분리하였고 어류는 3마리, 전복은 5마리의 시료를 모아 하나의 분석용 시료로 간주하였다. 실험 동안 호흡수는 아가미 두경의 개폐를 관찰하여 계수하였고, 아가미 내 적조생물 여부 확인을 위하여 아가미 조직을 고정하고 파라핀 포매 및 염색 후 현미경으로 관찰하였다. 적조생물에 노출시키지 않은 참돔 및 전복의 아가미를 채취하여 대조구로 이용하였으며 모든 실험은 3반복으로 수행되었다. 채취한 아가미는 -80 $^{\circ}\text{C}$ 초저온냉동고(IU2386D, Deep Freezer, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)에 보관하였다. 이후 색소분석을 위해 동결건조기(OPR-FDT-86100, Freeze Dryer; OPERON, Gimpo,

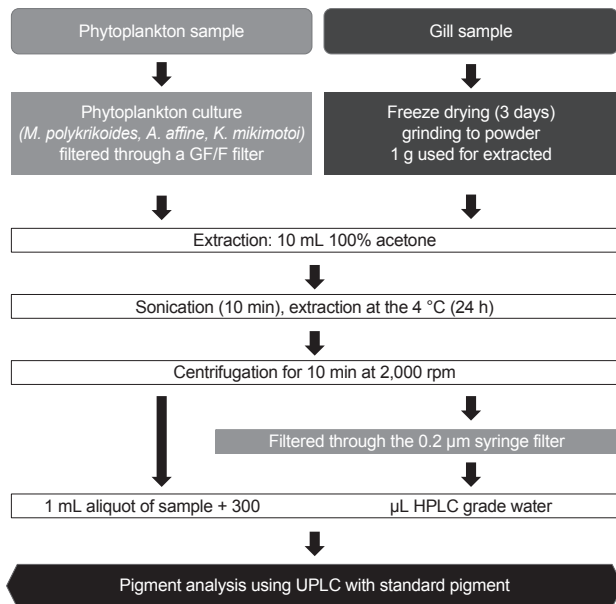


Fig. 3. Workflow of the experimental procedure for pigment analysis of fish gill tissues and algal culture samples.

Korea)를 이용하여 -80°C에서 3일간 동결건조하였다.

UPLC 분석

적조 생물 3종의 색소 분석을 위해, 시료는 47 mm GF/F 여과지로 고농도 배양액 여과 후 100% 아세톤 5 mL를 첨가하고, 초음파 분쇄기(10 분)로 처리하였다(Fig. 2C, Fig. 3). 이후 4 °C 이하의 냉암소에서 24시간 동안 색소를 추출하였다. 추출 후 원심분리기(2,000 rpm, 10 분)를 이용해 상등액을 분리하고, 여기에 HPLC Water 300 µL를 혼합하여 분석 시료로 사용하였다. 분석한 각 적조 생물의 색소 조성은 Fig. 4에 제시하였다. 동결건조된 아가미 시료는 무게 측정 후 분쇄하여, 100% 아세톤 7 mL를 첨가하고 배양액과 동일한 방법으로 초음파 분쇄 및 냉암소 추출을 수행하였다. 이후 원심분리 후, 불순물 제거를 위해 hydrophobic syringe filter (25 mm diameter, 0.2 µm pore size; HYUNDAI MICRO, Anseong, Korea)로 여과하였으며 여과된 상등액 1 mL와 HPLC용 water 300 µL를 혼합하여 분석에 사용하였다. 색소 분석을 위해 총 8종[Chlorophyll c (Chl. c), peridinin, 19'-butanoyloxyfucoxanthin, fucoxanthin, 19'-hexanoyloxyfucoxanthin, Chlorophyll b (Chl. b), Chlorophyll a (Chl-a), β-carotene]의 표준 색소(DHI, Horsholm, Denmark)를 사용하였고 그 중 Chl. a, peridinin, fucoxanthin을 적조생물 지시색소(marker pigment)로 이용하였다. 색소 분석은 Wright et al. (1991)에서 제시한 HPLC 분석 조건을 기반으로 하여 UPLC 컬럼 조건에 맞게 최적화된 방법을 사용하였다(Lee et al., 2018). 세부 분석 조건 및 용매 조성은 Table 2에 제시하였다.

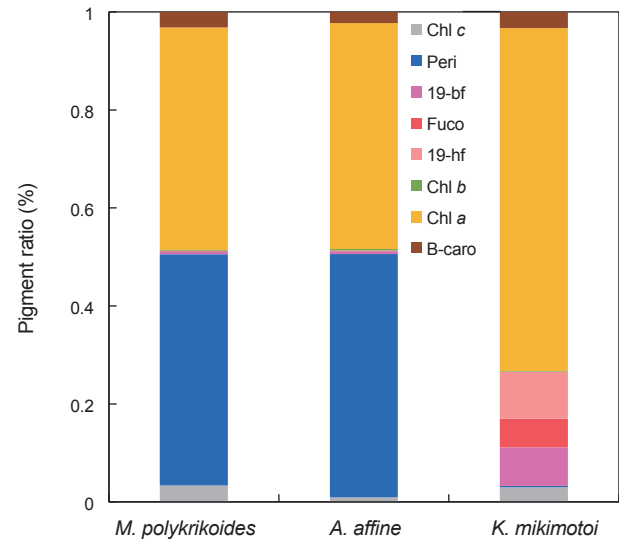


Fig. 4. Cultured phytoplankton pigment composition of *Margalefidinium polykrikoides*, *Alexandrium affine*, and *Karenia mikimotoi*.

결과 및 고찰

실험어의 생존율 및 폐사 양상

*M. polykrikoides*에 노출된 *P. major* 실험군에서는 노출 10분부터 폐사가 시작되어 30분 시점에 폐사율이 60%에 달했으며 60분 이내에 모든 개체가 폐사하였다(Fig. 5). 추가적인 생리 반응으로는 노출 30분에 호흡수가 분당 146에서 65로 감소하였으며 아가미 새엽 상피가 증식하고 새변 사이에 *M. polykrikoides*이 관찰되었다(Fig. 6). 이는 선행 연구에서 보고

Table 2. UPLC analysis conditions used for pigment detection

Item	Condition
Systeme	ACQUITY UPLC H-Class (Waters Corp., Milford, MA, USA)
Detector	UPLC PDA detector
Column	Waters HSS C18 (1.8 µm, 2.1×100 mm)
Column temperature	35°C
Solvent A	MeOH:AmAc:BHT (80:20:0.01)
Solvent B	ACN:Water:BHT (87.5:12.8:0.01)
Solvent C	Ethyl acetate 100%
Flow rate	0.35 mL/min
Run time	12 min
Injection volume	10 µL

UPLC, Ultra performance liquid chromatography; PDA, Photo diode array; AmAc, Ammonium acetate; can, Acetonitrile; BHT, Butylated hydroxytoluene.

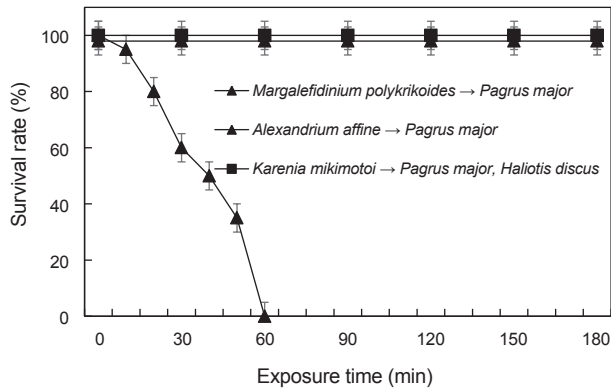


Fig. 5. Time-dependent survival rates of aquaculture species exposed to each harmful algal species.

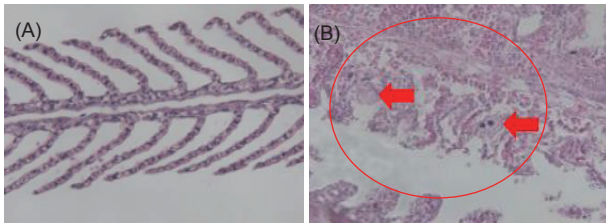


Fig. 6. Microscopic images of gill filaments of *Pagrus major* exposed to *Margalefidinium polykrikoides*. A, Before exposure; B, After exposure. Red arrows indicate *M. polykrikoides* cell, and red circle indicate epithelial hyperplasia in the gill filaments.

된 *M. polykrikoides*의 ichthyotoxin 분비 및 높은 ROS (reactive oxygen species) 생성 능력과도 일치하며 짧은 시간 내 어류 폐사를 유발할 수 있는 생리적 특성을 다시 한번 확인시켜주는 결과이다(Yang et al., 2022; de Silva and Gobler, 2023). 반면, *A. affine*와 *K. mikimotoi*에 노출된 생물은 노출 3시간까지 폐사가 발생하지 않았다. 그러나 *A. affine*와 *K. mikimotoi* 실험 구 아가미 새엽에서도 조직 변화 및 적조 생물에 관찰되었다. 최근 연구에 따르면 *A. affine*과 *K. mikimotoi*에 노출된 어류에서는 폐사가 발생하지 않았음에도 불구하고 체내 ROS 농도가 유의하게 증가하였고 코르티솔, SOD, catalase, glutathione peroxidase 증가와 같은 스트레스 반응이 나타났다(NIFS, 2023). 또한 국내 피해는 미미하나 대부분의 *K. mikimotoi*를 포함하는 *Karenia* 속은 용혈성(haemolytic) 및 세포독성(cytotoxic) 작용으로 수산피해를 일으킨다고 알려져있다(Chang, 2011). 본 연구 결과 역시 폐사는 발생하지 않았지만 노출 시간과 적조 생물 농도에 따른 아가미 내 색소 조성 변화와 축적 양상을 통해 그 영향을 확인할 수 있었다(Fig. 7, Fig. 8, Fig. 9). 이러한 결과는 급성 독성으로 폐사를 유발한다고 널리 알려진 *M. polykrikoides* 외에도, *A. affine* 및 *K. mikimotoi*와 같이 일반적으로 무해하거나 영향이 미미하다고 여겨지는 종들 역시 폐사를 유발하

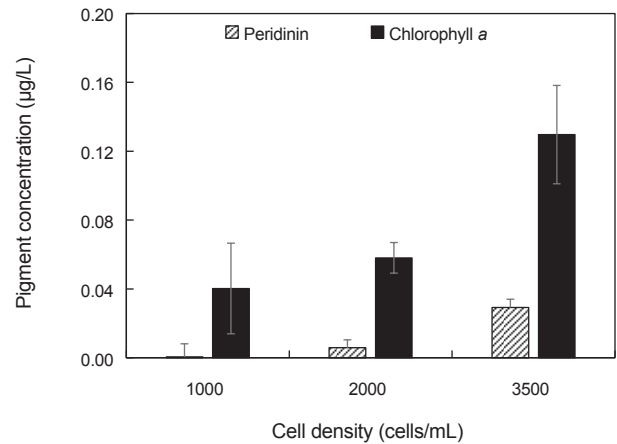


Fig. 7. Pigment composition in the gill tissue of *Pagrus major* exposed to *Margalefidinium polykrikoides*, showing changes in Chlorophyll a and peridinin concentrations according to *M. polykrikoides* cell density.

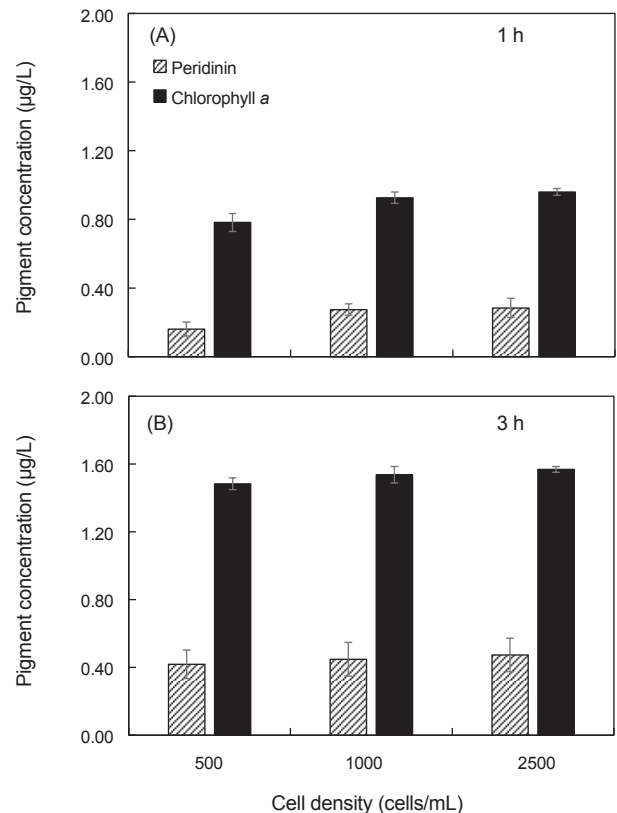


Fig. 8. Pigment composition in the gill tissue of *Pagrus major* exposed to *Alexandrium affine*, showing changes in Chlorophyll a and peridinin concentrations according to algal cell density and exposure time. A, 1 h exposure. B, 3 h exposure.

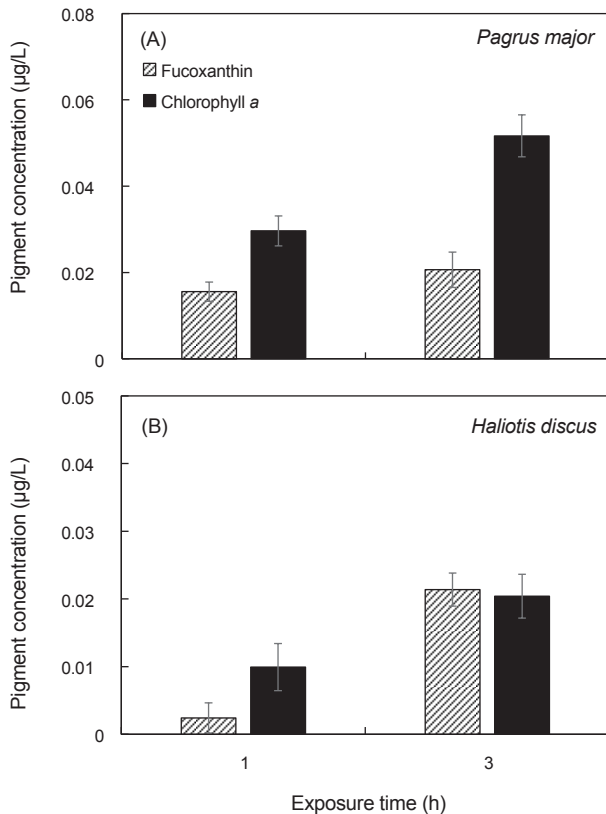


Fig. 9. Pigment composition in the gill tissue after exposure to *Karenia mikimotoi*, showing changes in Chlorophyll *a* and fucoxanthin concentrations following 1 and 3 h exposures. A, *Pagrus major*; B, *Halotis discus*.

지는 않았지만, 아가미에 부착되어 조직학적 변화 및 생리적 스트레스를 유발할 수 있음을 시사한다. 따라서 향후 이들 중의 한 적조 피해 발생 시, 아가미 조직을 채취하여 색소 조성 및 축적 양상을 분석하는 것이 적조 노출 여부를 판단하는 데 있어 유의미한 진단 도구로 활용될 수 있을 것이다.

적조생물 배양액 내 색소 조성

M. polykrikoides, *A. affine*, *K. mikimotoi*의 고농도 배양액을 이용하여 각 종의 색소 조성을 비교하였다(Fig. 4). *M. polykrikoides*는 Chl. *c*, peridinin, 19'-butanoyloxyfucoxanthin, Chl. *a*, β -carotene 색소, *A. affine*는 Chl. *c*, peridinin, Chl. *a*, β -carotene 색소, *K. mikimotoi*에서는 Chl. *c*, fucoxanthin, 19'-butanoyloxyfucoxanthin, 19'-hexanoyloxyfucoxanthin, Chl. *a*, β -carotene 등의 색소가 주로 검출되었다. 그 중 Chl. *a*와 일반적인 와편모조류의 주요 카르티노이드 색소인 peridinin이 *M. polykrikoides*, *A. affine*의 지시색소임을 확인하였다. *M. polykrikoides*의 세포 밀도가 1,000, 2,000, 3,500 cells/mL로 증가함에 따라 Chl. *a*와 peridinin이 비례하게 증가하였다(Fig.

7). 다만 60분 이내에 *M. polykrikoides*에 노출된 모든 어류가 폐사하였기 때문에 시간에 따른 아가미 색소 변화는 확인하지 못하였다. *A. affine*의 지시색소로 사용된 Chl. *a*와 peridinin 역시 밀도 증가에 따라 색소가 소폭 증가하였고, 시간에 따른 증가는 더욱 명확하게 나타났다(Fig. 8). 하지만 카레니아는 와편모조류의 지시색소인 peridinin이 극히 낮아 보조색소 중 상대적으로 높은 농도를 보이는 fucoxanthin을 지시색소로 사용하여야 한다. 이는 *K. mikimotoi*가 일반적인 와편모조류와는 상이한 색소 조합을 지니고 있기 때문이다(Chang and Gall, 2013). 실제로 *K. mikimotoi*는 광합성 보조색소로 fucoxanthin 및 acyl-oxyfucoxanthin 유도체를 높은 비율로 함유하고 있으며, 이 색소 조성은 구조류와 유사한 광합성 기작을 갖는 종에서도 공통적으로 검출된다. 일반적인 광합성 와편모조류가 보유한 peridinin 대신 fucoxanthin 및 acyl-oxyfucoxanthin 유도체를 가지는 특성은 색소 조성 측면에서 *Karenia* 속이 이례적인 Gymnodinoid 와편모조류 계통임을 보여준다(Chang and Gall, 2013). 이러한 특성은 *Karlodinium*, *Takayama* 속에서도 유사하게 나타난다(Daughbjerg et al., 2000; De Salas et al., 2003). 따라서 *K. mikimotoi*는 *M. polykrikoides*와 같은 일반적인 와편모조류 적조 생물과는 광합성 색소 구성 및 독성 기작이 본질적으로 상이하므로 어류 아가미 조직 내 색소 분석 결과를 해석할 때 구분하여 접근할 필요가 있다. *K. mikimotoi*에 노출된 아가미에서는 peridinin 검출되지 않거나 매우 낮은 수준이었고, Chl. *a*와 fucoxanthin 이 시간에 따라 증가하였다(Fig. 9). 이와 같이 주요 적조생물의 색소 조성을 파악하는 것은 아가미 조직 내 색소 분석 결과를 정확하게 해석하기 위해 필수적이다. 따라서 주요 적조생물의 색소 조성 및 농도에 따른 축적 특성은 아가미 조직을 활용한 적조 노출 진단 기법 개발을 위한 과학적 기반으로 활용될 것이다.

아가미 색소 조성 변화

적조 생물에 노출된 참돔과 전복의 아가미 색소 분석을 수행하였으며 분석의 정확도를 높이기 위해 적조에 노출되지 않은 개체의 아가미를 대조군으로 활용하였다. 대조군에서 검출된 색소 값(참돔, Chl. *a* 0.072 µg/L, peridinin 0.002 µg/L, fucoxanthin 0.005 µg/L; 전복, Chl. *a* 0.091 µg/L, fucoxanthin 0.007 µg/L)은 어류 혈액 내 헤모글로빈 등 흡광에 영향을 주는 내인성 물질이나 아가미 표면에 잔류한 식물플랑크톤으로 판단하여, 이를 배경값으로 간주하였고 분석 결과에서 제하였다.

적조 생물에 노출된 아가미 색소 분석 결과 모든 종에서 노출 시간 및 농도 증가에 따라 Chl. *a*, peridinin, fucoxanthin의 농도가 증가하는 경향을 나타냈다. *M. polykrikoides* 노출군의 경우, 1시간 노출된 참돔 아가미에서 Chl. *a*는 0.202 µg/L, peridinin은 0.031 µg/L로, 대조군(Chl. *a* 0.072 µg/L, peridinin 0.002 µg/L)에 비해 유의하게 증가하였다. *A. affine* 노출 시에는 1시간에 각각 1.032, 0.286 µg/L, 3시간 후에는 1.641, 0.475 µg/L

로 증가하였다(Fig. 7). *M. polykrikoides* 노출군에서 와편모조류의 지시색소인 peridinin이 현저히 증가하였다. 이는 해당 세포가 물리적으로 아가미에 부착되었거나 파괴되면서 식물플랑크톤의 점액질이 아가미 표면을 덮었을 가능성을 나타낸다. 현미경으로 새변을 관찰하여도 동일한 결과를 확인할 수 있으나 현장에서 실험을 수행하기는 쉽지 않다. 특히 *M. polykrikoides*의 경우 무각와편모조류로 세포벽이 약해 아가미를 화학적으로 고정하거나, 전 처리 후 현미경 검경을 수행하더라도 세포가 쉽게 파괴되어 관찰이 제한적이다(Hu et al., 2022). 따라서 본 연구와 같이 아가미를 색소 분석하여 와편모조류의 보조 색소인 peridinin을 측정하면 와편모조류에 대한 노출을 간접적으로 추정할 수 있다. 물론 peridinin이 *M. polykrikoides*만을 지시한다고 보기는 어렵지만 폐사 발생의 시기와 환경 조건, 전·후 적조 발생상황 등을 고려하여 즉시 현미경 관찰이 어려운 상황에서 폐사생물을 이용한 아가미 색소분석이 유용한 보완 수단이 될 수 있다.

한편, *K. mikimotoi* 노출군에서는 앞서 설명한 바와 같이 와편모조류의 지시색소인 peridinin이 거의 검출되지 않고 대신 fucoxanthin이 주요 색소로 나타났다. *K. mikimotoi*에 노출시킨 참돔 아가미의 경우, 3시간 노출 시 Chl. *a*는 0.124 µg/L, fucoxanthin은 0.026 µg/L로 대조군(0.072, 0.005 µg/L) 대비 유의한 증가를 보였다. 이러한 결과는 *K. mikimotoi* 노출에 따른 fucoxanthin 농도 변화가 노출 시간 및 농도에 비례하여 증가함을 시사하며, fucoxanthin을 해당 종의 지시 색소로 활용할 수 있는 가능성을 보여준다. 전복의 아가미에서도 유사한 경향이 확인되었으며, 3시간 노출군의 Chl. *a* 및 fucoxanthin 농도는 각각 0.111 µg/L, 0.029 µg/L로 대조군(Chl. *a* 0.091 µg/L, fucoxanthin 0.007 µg/L)보다 뚜렷하게 증가하였다. 이로써 *K. mikimotoi*가 전복 아가미에 물리적으로 상당량 부착되었다는 것을 확인할 수 있었다. 특히 전복과 같이 아가미의 크기가 작고 구조가 미세한 종에서는 현미경을 통한 세포 동정이 극히 어렵다는 점을 고려할 때 색소 분석을 통한 간접적인 노출 진단 기법이 더욱 유효함을 시사한다. 따라서 전복과 같은 복족류 양식생물 역시 아가미 색소 분석을 통해 적조 생물 노출 여부를 판단할 수 있으며, 이는 어류뿐만 아니라 다양한 양식생물에 색소 기반 진단 기법을 적용할 수 있는 가능성을 제시한다.

추가적으로 분석에 사용되는 지시 색소의 수를 확대하고 종 특이적 색소 조합을 기반으로 CHEMTAX와 같은 군집 분석 도구를 적용한다면, 적조 종의 여부 및 어장 내 식물플랑크톤 군집 변화를 정량적으로 평가할 수 있는 모니터링 체계 구축이 가능할 것으로 기대된다. 특히 본 연구에 적용된 UPLC 기반 색소 분석법은 기존 HPLC 대비 색소 분리 및 검출 효율이 높고 분석 시간도 12분 이내로 단축되어 빠른 분석 결과 제공이 가능하다. 또한 기존에는 폐사 발생 후 분석 지연으로 인해 어류 부패나 조직 손상으로 적조 원인 규명이 어려운 경우가 많았으나 본 기법은 아가미 조직에 축적된 색소를 정량 분석함으로써 세포 분해

이후에도 노출 이력을 간접적으로 진단할 수 있어 실질적인 활용 가능성을 보여준다. qPCR 기법은 종 특이적 진단에는 유리하지만 고가의 장비, 복잡한 전처리 과정, 그리고 숙련된 인력이 필요하다는 점에서 현장 적용에는 한계가 있다. 반면, UPLC 기반 색소 분석은 폐사 개체의 냉동 보관만으로도 비전문가가 현장에서 시료를 간단히 확보할 수 있고, 분석 과정 또한 비교적 신속하다는 장점이 있어 실용적인 대안이 될 수 있다.

향후 본 분석 기법이 어장 모니터링 체계로 실질적으로 활용되기 위해서는 주요 적조종의 색소 조합 특성을 정량화하고 이를 기반으로 CHEMTAX 적용에 필요한 색소 비율 라이브러리를 구축하는 것이 선행되어야 한다. 또한, 향후 색소 추출 및 분석 과정을 간소화하거나 자동화하여 휴대형 분석 시스템 또는 간이 진단 키트 개발로의 확장이 가능하다. 특히 본 연구에서는 어류뿐만 아니라 복족류에서도 아가미 색소 분석 적용 가능성이 확인되어, 다양한 양식생물을 대상으로 한 피해 원인 규명의 기초 자료로 활용될 수 있다. 나아가 비전문가에 의한 현장 초기 대응 체계 구축 및 진단 기술 고도화에 기여할 수 있을 것으로 기대된다.

사 사

이 논문은 교육부 및 전라남도의 지원을 받아 수행된 지역혁신중심대학지원체계(RISE) 사업과 국립수산물품질관리원 수산과학 연구사업(R2025026)의 지원을 받아 수행된 연구입니다.

References

- Ali R, Bhatia R and Chawla PA. 2022. Prospects of UPLC in pharmaceutical analysis over HPLC. Biomed J Sci Tech Res 45, 36075-36077. <https://doi.org/10.26717/BJSTR.2022.45.007138>.
- Berdalet E, Fleming LE, Gowen R, Davidson K, Hess P, Backer LC, Moore SK, Hoagland P and Enevoldsen H. 2015. Marine harmful algal blooms, human health and wellbeing: Challenges and opportunities in the 21st century. J Mar Biol Assoc U K 96, 61-91. <https://doi.org/10.1017/S0025315415001733>.
- Chang FH. 2011. Toxic effects of three closely-related dinoflagellates, *Karenia concordia*, *K. brevisulcata* and *K. mikimotoi* (Gymnodiniales, Dinophyceae) on other microalgal species. Harmful Algae 10, 181-187. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2010.09.004>.
- Chang FH and Gall M. 2013. Pigment compositions and toxic effects of three harmful *Karenia* species, *Karenia concordia*, *Karenia brevisulcata* and *Karenia mikimotoi* (Gymnodiniales, Dinophyceae), on rotifers and brine shrimps. Harmful Algae 27, 113-120. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2013.05.005>.
- Daugbjerg N, Hansen G, Larsen J and Moestrup Ø. 2000. Phylogeny of some of the major genera of dinoflagellates

- based on ultrastructure and partial LSU rDNA sequence data, including the erection of three new genera of unarmoured dinoflagellates. *Phycologia* 39, 302-317. <https://doi.org/10.2216/i0031-8884-39-4-302.1>.
- De Salas MF, Bolch CJS, Botes L, Nash G, Wright SW and Hallegraeff GM. 2003. Takayama gen. nov. (Gymnodiniales, Dinophyceae), a new genus of unarmored dinoflagellates with sigmoid apical grooves, including the description of two new species. *J Phycol* 39, 1233-1246. <https://doi.org/10.1111/j.0022-3646.2003.00331.x>.
- de Silva D and Gobler CJ. 2023. Effects of the harmful algal *Margalefidinium* (aka *Cochlodinium*) *polykrikoides* on clearance rates of the hard clam, *Mercenaria mercenaria*. *Front Mar Sci* 10, 1252540. <https://doi.org/10.3389/fmars.2023.1252540>.
- Eom SH, Jeong HJ, Ok JH, Park SA, Kang HC, You JH, Lee SY, Yoo YD, Lim AS and Lee MJ. 2021. Interactions between common heterotrophic protists and the dinoflagellate *Tripos furca*: implication on the long duration of its red tides in the South Sea of Korea in 2020. *Algae* 36, 25-36. <https://doi.org/10.4490/algae.2021.36.4.8>.
- Guillard RRL. 1975. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. In: *Culture of Marine Invertebrate Animals*. Smith WL and Chanley MH, eds. Springer, Boston, MA, U.S.A., 29-60. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-8714-9_3.
- Hu J, Guo R, Lu D, Dai X, Zhu Y, Park BS and Wang P. 2022. Detection and quantification of the harmful dinoflagellate *Margalefidinium polykrikoides* (East Asian ribotype) in the coastal waters of China. *Toxins* 14, 95. <https://doi.org/10.3390/toxins14020095>.
- Kim CH, Park TG and Lee C. 2010. Harmful dinoflagellates and mitigation strategies in Korea. *Philipp J Sci* 139, 139-147.
- Kim HS, Park H, Wang H, Kim T and Ki JS. 2023. Saxitoxins-producing potential of the marine dinoflagellate *Alexandrium affine* and its environmental implications revealed by toxins and transcriptome profiling. *Mar Environ Res* 185, 105874. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2023.105874>.
- Lee E, Son M, Kim JB, Lee WC, Jeon GE and Lee SH. 2018. A study of variation characteristics of the phytoplankton community by UPLC located in the Jinju Bay, Korea. *Environ Biol Res* 36, 62-72. <https://doi.org/10.11626/KJEB.2018.36.1.062>.
- Lee MJ, Jeong HJ, Kim JS, Jang KK, Kang NS, Jang SH, Lee HB, Lee SB, Kim HS and Choi CH. 2017. Ichthyotoxic *Cochlodinium polykrikoides* red tides offshore in the South Sea, Korea in 2014: III. Metazooplankton and their grazing impacts on red-tide organisms and heterotrophic protists. *Algae* 32, 285-308. <https://doi.org/10.4490/algae.2017.32.11.22>.
- Li X, Yan T, Yu R and Zhou M. 2019. A review of *Karenia mikimotoi*: Bloom events, physiology, toxicity and toxic mechanism. *Harmful Algae* 90, 101702. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2019.101702>.
- Mackey MD, Mackey DJ, Higgins HW and Wright SW. 1996. CHEMTAX-a program for estimating class abundances from chemical markers: Application to HPLC measurements of phytoplankton. *Mar Ecol Prog Ser* 144, 265-283. <https://doi.org/10.3354/meps144265>.
- NIFS (National Institute of Fisheries Science). 2017. *Mass Culture Techniques Manual for Harmful Algal Species*. National Institute of Fisheries Science, Busan, Korea.
- NIFS (National Institute of Fisheries Science). 2023. *Effects of Harmful Algal Species on Physiological Changes and Mortality of Cultured Fish: Research Report of Fisheries Science Project*. National Institute of Fisheries Science, Busan, Korea.
- Niu X, Xu S, Yang Q, Xu X, Zheng M, Li X and Guan W. 2021. Toxic effects of the dinoflagellate *Karenia mikimotoi* on zebrafish (*Danio rerio*) larval behavior. *Harmful Algae* 103, 101996. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2021.101996>.
- Swapna M, Indu R, Latha PM and Madhuri BR. 2024. A comprehensive review on UHPLC and UPLC: Advancements, comparison, and applications. *Int J Sci Res Tech* 1, 87-91. <https://doi.org/10.5281/zenodo.14173528>.
- Wright SW, Jeffrey SW, Mantoura RFC, Llewellyn CA, Bjørnland T, Repeta D and Welschmeyer NA. 1991. Improved HPLC method for the analysis of chlorophylls and carotenoids from marine phytoplankton. *Mar Ecol Prog Ser* 77, 183-196. <https://doi.org/10.3354/meps077183>.
- Yang H, Gobler CJ and Tang YZ. 2022. Consistency between the ichthyotoxicity and allelopathy among strains and ribotypes of *Margalefidinium polykrikoides* suggests that its toxins are allelochemicals. *Front Mar Sci* 9, 941205. <https://doi.org/10.3389/fmars.2022.941205>.
- Zhang P, Song X, Zhang Y, Zhu J, Shen H and Yu Z. 2022. Assessing the effect of modified clay on the toxicity of *Karenia mikimotoi* using marine medaka (*Oryzias melastigma*) as a model organism. *Toxics* 10, 105. <https://doi.org/10.3390/toxics10030105>.
- Zhang Y, Song X and Zhang P. 2023. Combined effects of toxic *Karenia mikimotoi* and hypoxia on the juvenile abalone *Haliotis discus hannai*. *Front Mar Sci* 10, 1029512. <https://doi.org/10.3389/fmars.2023.1029512>.