

## 청각문턱치 측정에서 순응시간에 따른 조피볼락의 스트레스 반응

이 창 헌

제주대학교 해양과학대학 실습선

### **Stress response of black rock fish according to adapted time in measurement of auditory threshold**

**Chang-Heon LEE\*<sup>1</sup>**

*Training vessel, College of Ocean Science, Jeju National University, Jeju 690-756, Korea*

In order to obtain the fundamental data for the marine ranch, this paper was carried out to investigate cortisol variation in blood according to adapted time in the measurement of auditory threshold. The groups were adapted at the experimental tanks for 0.5, 1, 3 and 6 hours, respectively. At the results, cortisol concentration had a deep connection with adapted time. In particular, cortisol concentration in the experimental group of 1 hour was significantly increased, whereas others showed no difference comparing with the control group. When classical conditioning method with the sound coupled with a delayed electric shock was given after the adapted time of 1 hour and 6 hours, the rate of the conditioning completion for 6 hours was higher than that of 1 hour. Therefore, this suggests that the sufficient adapted time was required for the accurate auditory threshold.

Key words : Stress, Auditory threshold, Adapted time

### 서 론

수중에서의 정보의 전달은 음파가 전달되는 과정에서 감쇠가 적어 효과적인 제어수단이 될 수 있다. 이러한 수중 음향은 초음파를 이용한 어군탐지 등의 해양 관측뿐만 아니라, 특히 가청음을 이용한 어군의 행동 제어를 위한 바다목장

에서 음향 순치의 주요 수단으로서 활용된다. 어장에서 수중 음향을 이용하여 어군을 제어하기 위해서는 대상어종의 청각능력을 정확히 파악할 필요가 있으며, 이와 관련하여 Ishioka et al.(1988)의 참돔, Park et al.(1999)의 조피볼락, Lee et al.(1999)의 썸뱅이, Lee and Seo(2001)의

\*Corresponding author: leech@cheju.ac.kr, Tel: 82-64-754-3415, Fax: 82-64-756-3483

볼락 등 오래전부터 여러 어종의 청각 능력에 관련된 연구가 수행되었다.

이러한 연구들은 어류가 갖고 있는 청각 능력을 이용하여 행동 제어를 하기 위한 것이지만, 어군 행동 제어에 음을 이용하기 위해서는 음에 대한 어류의 생리적 변화를 파악하는 것이 무엇보다도 필요하다.

이 연구에서는 제주 연안해역에 있어서 바다목장의 음향순치대상 어류로 이용할 수 있는 조피볼락을 대상으로 어류가 음에 대하여 어떠한 생리적 변화를 나타내는지를 알아보기 위한 기초적 자료를 얻기 위하여, 청각 문턱치 실험과정에서 실험수조에 순응시키기 위한 고정시간에 따른 스트레스 변화와 함께 그에 따른 어류의 심박과형의 변화를 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 실험어

실험어는 여수 연안 가두리에서 사육된 조피볼락(*Sebastes schlegeli* Hilgendorf) 으로서, 실험은 제주대학교 해양과 환경연구소의 사육수조를 이용하여 수행하였다. 실험어는 각 1톤 용량의 5개의 수조에 각각 나누어 약 2-3주 사육하여 안정시킨 후, 무작위로 추출하여 10개의 Fig. 1의 실험 수조로 옮겨 측정시간별로 실험에 사용하였다. 실험이 끝난 후 자료정리에 사용한 실험어는 대조군을 포함하여 50미로서, 이 때, 사육중의 수온은 12.0-14°C, 실험기간 중의 실험수조 수온은 12.3-12.6°C였다.

### 실험장치 및 방법

사육수조 및 실험 수조내의 배경잡음은 Lee and Seo(2000)가 이용한 방법으로 각각 측정하였다. 사용된 10개의 실험수조는 실험기간동안 일정 수온을 유지할 수 있도록 수면 상부에서 수면 하면으로 해수가 흐르도록 설치를 하였으며, 실험시간동안 실험어의 산소 부족을 해결하도록 공기 발생장치를 설치하였다. 음향 학습을 위한

실험어의 심박과형은 Park et al.(1997)의 보고와 같은 방법으로 실험어의 아가미 아래 뒤쪽 부근에 낚시 끝 부분을 삽입한 후 실험수조에 고정하여 오실로스코프(NK, AVB11) 및 FFT(AND, AD-3525)를 이용하여 도출하였다. 또한, 실험수조의 순응 시간에 따른 스트레스 정도를 알아보기 위하여 실험어의 순응시간을 각각 30분, 1시간, 3시간, 6시간의 4종류의 시간대로 나누어 각각 10미씩 순응시킨 후 동시에 채혈하여 어류의 스트레스를 측정하였다.

### 채혈 및 분석

사육수조에서 사육되는 실험어의 혈액은 채혈 시간에 맞추어 24시간 동안 먹이를 제공하지 않은 상태에서 실험을 실시하였다. 실험어로 사용된 조피볼락의 평균 전장은 대조군의 10미를 포함하여 31.2±1.5cm, 평균체중은 508.1±72.4g이었다. 각각의 순응시간이 경과된 후 실험어의 포획에서 두부 절개까지 약 1분 이내로 실험어의 두부를 절개하여 Heparine 처리한 튜브에 혈액을 채취하였다. 채취한 혈액은 20분간 상온에서 방치한 후, 6000rpm에서 5분간 원심분리하여 혈청부분을 채취하였다.

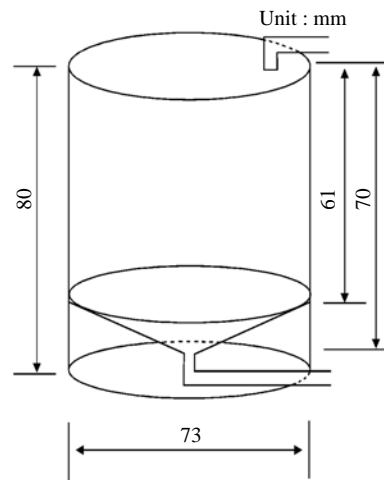


Fig. 1. Experimental tank for measuring the stress of test fish.

혈청은 실험 종료까지  $-70^{\circ}\text{C}$ 에서 보관하였다가 코티졸 분석에 사용하였으며, 국립수산 과학원에 의뢰하여 방사선 면역측정법에 의해 분석하였다. 각각의 시간대에서 얻어진 자료는 각각 가장 작은 값과 가장 큰 값을 제외한 8개의 값만을 이용하였으며, 시간대에 대한 분석값에 대한 유의차 유무는 SPSS 통계 패키지에 의한 ANOVA로 분석하여 Duncan's multiple test로 검정하였다.

### 음향 학습 및 분석

스트레스 반응에서 실험전의 상태와 비슷한 cortisol 수준을 보이는 시간대와 유의차가 보이는 시간대를 각각 정하여 실험어의 조건 학습효과를 조사하였다. 실험어의 음향 조건 학습은 조피볼락의 경우 민감한 반응을 나타낸 주파수 순음인 200Hz(Park et al. 1999)를 기준으로 음압 120 dB (0 dB re  $1\mu\text{Pa}$ ) 이상의 음압의 방성과 함께 직류 전압 7V의 전기 자극을 실험어에 가하면서 조건 학습시켰으며, 실험어의 음향 조건 학습의 음방성 방법은 Lee and Seo(2000)와 같이 실험어의 심박간격이 안정상태를 나타낼 때 지속시간 5초간의 순음을 방성하였으며, 방성개시 3초 후에 지속시간 0.1초의 전기 자극을 가하면서 학습을 시켰다. 이와 같은 조건 학습에 대한 어류의 반응의 판정은 음자극을 주기 전보다 음자극을 주었을 때의 심박간격이 넓었을 때를 반응이 있는 것으로 하였다.

200Hz의 방성 주파수에 대해 3회 이상 연속으로 심박간격에 변화가 있는 반응이 나타나면 음에 대한 학습이 완료된 것으로 간주하였고, 각각의 학습 실험 모두 전기 자극 후 어류의 심박이 정상적으로 될 수 있도록 3분 이상의 시간 간격을 두어 음향 학습을 시켰으며 조건 학습 시간은 최대 30분까지, 약 10회의 자극을 기준으로 하여 학습이 완료된 자극 횟수가 5회 이내, 5회 이상 10회 이내 그리고 10회 이상을 포함한 미완료의 3단계로 구분하여 실험어의 순응시간에 따른 조건 학습효과를 조사하였다.

### 결과 및 고찰

실험시에 측정된 사육 수조와 실험수조 안의 잡음 스펙트럼 레벨을 Fig. 2에 나타내었다. 수조 내에서의 잡음원은 주로 해수유입 및 공기 발생 장치의 가동에 기인하지만 수조의 잡음은 주파수가 높아질수록 감소하는 일반적인 형태를 나타내고 있으며, 실험수조보다 큰 사육수조의 소음이 전반적으로 높게 나타나고 있었다. 특히 실험수조가 사육수조보다 크기가 작으므로 인하여, 상대적으로 공기발생장치의 영향이 높게 나타나고 있었으나 동일조건하에서 실험이 이루어지는 것으로 판단하여 이들의 영향은 제외하였다.

Fig. 3에 대조군 및 각 순응시간별로 사용된 실험

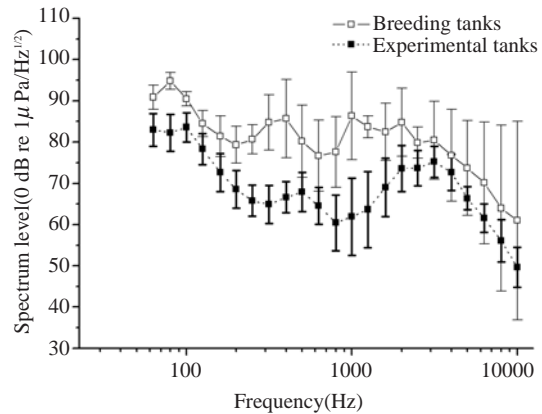


Fig. 2. Spectrum levels of background noise at experimental tanks and breeding tanks.

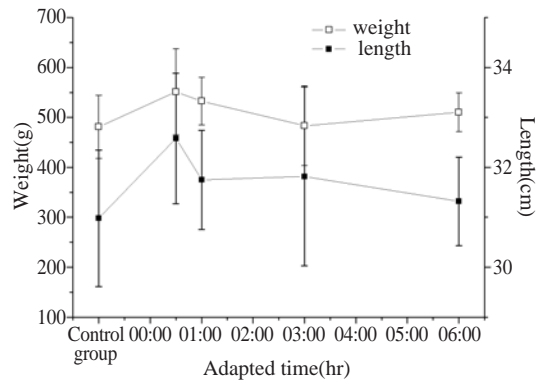


Fig. 3. Variations in weight and length of test fishes.

험어의 체장 및 체중을 나타내었다.

Fig. 3에서 체장 및 체중에서 각각의 평균값 차이를 다소 보이고 있으나 체장 및 체중에 따른 실험군의 유의차( $P < 0.05$ )는 나타나지 않았다.

실험어의 실험수조에서의 각각의 순응시간에 대한 실험어 혈액중의 cortisol의 변화를 Fig. 4 나타내었다.

각각의 순응시간에 의한 cortisol의 평균치는 순응시간 30분에서 순응 3시간째까지 계속 높아져 이후 실험 종료시 6시간째의 개체군이 대조군과 비슷한 수준으로 회복되었다. 특히 순응 1시간째에는 대조군과 비교하여 cortisol의 평균도 높아지고 표준편차도 높아지면서 순응시간이 길어질수록 점차 줄어드는 경향을 보이고 있

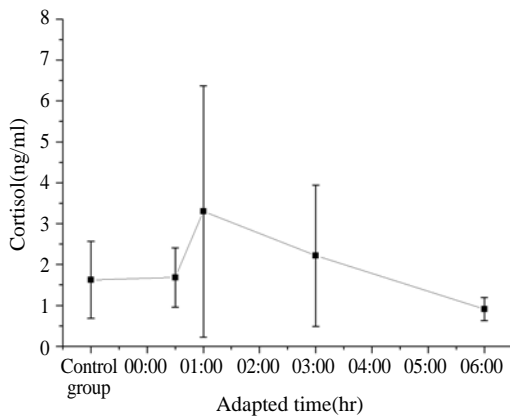


Fig. 4. Cortisol variation according to adapted time.

어 시간이 지나면서 어류의 생리도 안정적으로 나타나는 것으로 판단된다. 이들 실험 개체군 중 대조군과 유의차( $P < 0.05$ )가 인정되고 있는 개체군은 순응시간 1시간째의 개체군에서 유의차가 인정되었고, 그 외의 개체군에서는 순응시간에 따른 유의차가 인정되지 않았다.

Barton and Iwama(1991)는 스트레스가 나타나면 cortisol의 값은 어중에 따라 증가속도와 시간이 다르게 나타난다고 보고하고 있으며, Pickering and Pottinger (1989)에 따르면 또한 대부분의 연구 결과 실험어에 스트레스를 주었을 때 cortisol의 농도는 1-3시간 이전에 최고값으로 증가하고, 다시 회복하는 시간은 6시간 이내인 것으로 보고하고 있는데, 본 연구에서도 3시간째까지 cortisol 농도가 높게 나타났고, 이 이후에 안정된 값으로 회복되어 이와 유사하게 나타났다. 또한 연어과 어류에 대하여 스트레스를 받지 않는 어류의 안정시의 코티졸 농도는 30-40ng/mL이며, 이상적인 농도로 5ng/mL를 제시하고 있는데, 본 연구에서는 이들 값보다 낮은 수치를 나타내었다. 이것은 이들 어종과 생활사 및 생리적 특성이 다른 조피볼락은 안정시의 코티졸 농도가 서로 다른 것으로 보인다.

200Hz의 순음을 120dB 이상으로 방성하여 조건 학습을 시켰을 때의 결과를 Table 1에 나타내었다. 청각 문턱치 측정을 위하여 행하여지는 순

Table 1. Variation of training completion using a classical cardiac conditioning technique according to adapted time of 1hour and 6hours

1hour				6hours			
Completion step	Temp. (°C)	Length (cm)	Weight (g)	Completion step	Temp. (°C)	Length (cm)	Weight (g)
1	13.5	34.3	585	1	13	29	350
2	13	25.3	253	1	13	31.5	650
3	12	32.5	580	1	10.2	34	605
3	13	32	465	1	12.5	31.3	435
2	12	32.5	510	2	11	29.2	373
2	13	32.4	464	2	14.5	32.5	495
1	13	33.1	450	1	13	32.5	470
3	12.7	35.5	567	2	13	32	405
2	12.7	32.5	440	1	13	36.5	704
1	14	30.4	450	1	12	31.3	450

응시간중 혈액 cortisol의 수치에서 대조군과 유의성이 인정되는 1시간 및 대조군의 수치와 가장 유사한 6시간의 두 경우를 측정하여 비교하였다. 각각의 순응시간이 지난 후 조건학습이 가능한 심박 파형이 나타난 실험어를 대상으로 총 20회의 문턱치 측정을 실시하였다. 순응시간 1시간 및 6시간에서 각각 10회씩 측정한 결과 1시간 순응시 조건 학습을 행한 경우, 5회 이내가 3회, 10회 이내가 4회, 그리고 10회 이상이 3회로 나타났으며, 6시간 순응시 조건학습을 행한 경우 5회 이내가 7회, 10회 이내가 3회로 조건학습이 이루어져 청각 문턱치 측정시 조건학습은 6시간 이상의 순응을 실시한 경우가 1시간의 순응시간보다 상대적으로 조건학습 완료율이 높게 나타났다. 따라서 실험어인 경우 6시간 이상의 순응시간이 가장 스트레스영향이 적으며, 이때 조건 학습을 실시할 경우가 가장 효율적인 것으로 판단된다.

Fig. 5에 실험어 순응 후 안정되지 않은 상태의 심박 파형과 안정된 실험어의 심박파형을 나타내었다. 안정되지 않은 실험어의 심박파형 (a)은, 심박간격이 좁고, 파형의 진폭도 크게 나타나고 있으나, (b)와 같이 안정된 심박의 경우, 상대적으로 심박 진폭이 적을 뿐만 아니라, 특히 심박 간격의 시간이 2초 이상의 간격을 나타내

고 있는 것이 가장 큰 특징이다. 순응시간이 1시간인 경우 심박 파형 간격이 비교적 뚜렷하게 나타났고 있음에도 불구하고 조건학습이 어려운 경향이 나타났으며, 심박이 규칙적으로 나오다가도 전기충격 후 정상적인 파형으로 돌아오기에 많은 시간이 걸리고, 이때의 파형도 상당히 불규칙적이었다. 반면, 6시간의 순응시간에는 어류 설치시 심박 파형이 복잡하게 나타나도 6시간 지나면 Fig. 5의 (b)와 같이 2초 이상의 심박 파형 간격을 나타내면서 차분히 나타나 청각 문턱치 측정이 쉽게 이루어졌다. 또한 전기충격에 의하여 파형이 불안정하여도 빠른 시간내에 안정적인 파형을 나타내고 있었다. 따라서 어류의 청각 문턱치를 구하기 위한 어류의 순응시간을 1시간정도로 한다면 청각 문턱치 측정에 다소의 편차가 높게 발생할 가능성이 높다고 판단된다. 순응시간이 30분으로 할 경우 대조군과 cortisol의 유의적 차이가 없는 것으로 나타났지만, 조건 학습과정에서 시간이 어류 순응 설치 후 1시간이 경과됨에 따라 또한 심박파형 측정에 측정값의 편차가 높아질 수 있는 것으로 판단된다. 심박수 측정용 finger를 이용하여 참돔의 심박수를 측정할 결과 스트레스를 주었을 때 참돔의 심박수는 평상시보다 높게 나타났다는 보고 (Takafumi and Nanba, 1996)와 유사하게 Fig. 5에

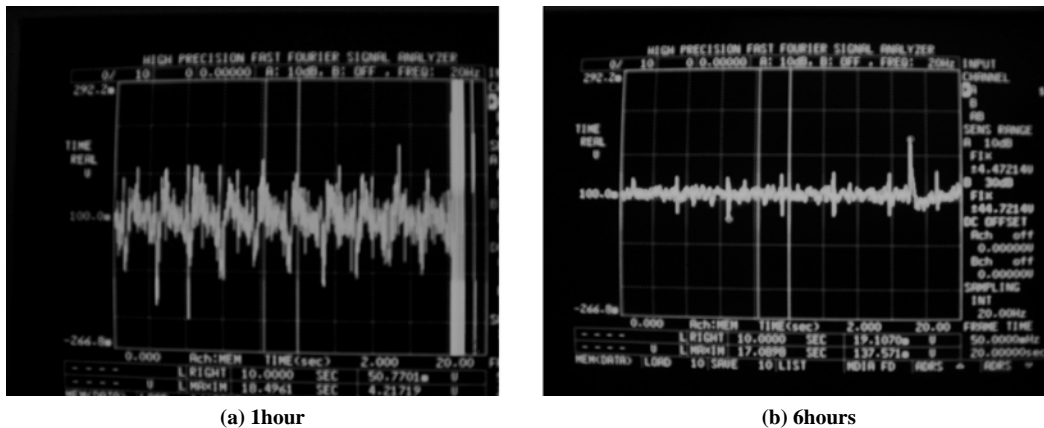


Fig. 5. Electrocardiograms of heartbeat suppression according to adapted time

서 나타난 어류의 심박간격의 차이도 어류의 설치순응에 따른 스트레스의 차이로 판단된다.

Shigeru et al.(1995)등의 넙치의 청각문턱치는 1시간의 순응 시간을, Park et al.(1994)는 명태의 청각 문턱치 측정에서 실험수조의 환경 적응시간을 5시간 이상을 이용하여 어류의 청각문턱치를 구하였다. 특히 Park et al.(1997)는 10시간 이상의 순응시간을 이용하여 조피볼락의 청각 문턱치를 구하였는데, 이 실험 결과 안정된 상태에서 실험어의 청각 문턱치가 구해진 것으로 판단된다. 이처럼 어류의 청각문턱치 측정에 어류의 환경순응시간이 각기 연구자의 실험조건에 따라 달라지고 어종에 따라 차이가 있는데, 실험어의 순응시간이 짧을수록 음과 전기자극을 이용한 어류의 조건학습 완료가 어려워지고, 조건학습 완료후에도 전기자극에 의한 영향보다 순응에 따른 스트레스의 영향이 커 정확한 청각 문턱치를 구하는 데 어려움이 발생할 것으로 판단된다.

바다목장에서 어류 음향순치의 기초 자료로 활용하기 위한 청각 문턱치는 수중음과 전기자극의 조건학습을 이용한 실험어의 심박간격의 변화로부터 실험어가 지각할 수 있는 최소음압을 판단하게 된다. 조피볼락의 실험수조 내에서의 순응시간은 수조내의 순응에 따른 스트레스로 인한 심박과형 측정의 오차를 줄이기 위해 최소 4시간 이상의 순응시간이 요구되는 것으로 판단되며, 다른 어류의 청각 문턱치를 구하는 경우도 충분한 순응시간을 이용한다면 보다 안정된 상태에서 청각 문턱치가 측정될 것으로 판단된다.

많은 보고들이 어류의 청각 문턱치를 이용하여 치어 때부터 음향 반복학습을 통한 해양목장이 주를 이루고 있다. 그러나 이것은 어류의 청각 특성과 방성 효율을 우선적으로 고려한 것으로, 보다 근본적으로 어류가 어떠한 음에 긍정적으로 반응하는지에 관한 연구는 거의 없는 실정이다. 따라서 이와 같은 수조실험에서 음을 포함하는 자극에 대하여 혈액 분석을 통한 스트레스

변화량을 정량적으로 나타내고, 또 이러한 스트레스를 줄일 수 있는 여부를 구한다면 바다목장뿐만 아니라 음향어법에 보다 현실적이고 현장적용이 가능할 것으로 판단된다.

현재까지 어류의 청각 문턱치는 수심종의 어류에 걸쳐 조사되어 이를 통하여 수산업에 유용한 어종의 청각 문턱치에 관한 연구도 많이 수행되었다. 따라서 어류의 청각문턱치를 바다목장의 기초자료로 사용하기 위해서는 청각 문턱치 측정을 위한 순응의 과정에서 실험어에 맞는 충분한 순응시간의 설정 배려가 필요한 것으로 판단된다.

## 결 론

바다목장의 대상어종으로 사용할 수 있는 조피볼락을 대상으로 청각 문턱치 측정실험에서 실시하는 어류의 순응시간에 따른 생리적 변화에 관한 기초적 자료를 얻기 위하여, 청각 문턱치 실험중 실험수조에 순응시간에 따른 스트레스 변화와 함께 어류의 심박과형의 변화를 조사하였다. 순응시간을 30분, 1, 3, 6의 4단계 시간으로 하여 각 실험군의 혈액내의 cortisol을 측정한 결과, 1시간의 순응시간에 대한 실험군의 cortisol 농도는 대조군과 유의한 결과를 나타내었다. 또한 1시간과 6시간의 순응시간을 마친 실험군에 대하여 각각 10회의 조건학습을 실시한 결과 1시간의 순응시간인 경우 조건학습 완료율은 순응시간 6시간이 지난 어류의 조건학습의 완료율보다 나쁘게 나타나고 있었다.

## 참고문헌

- Barton, B.A. and G.K. Iwama, 1991. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. *Annu. Rev. Fish Dis.*, 1, 3 - 26.
- Hatakeyama, Y., 1992. The hearing abilities of fish. *Fisheries Engineering*, 28, 111 - 119.
- Ishioaka, H., Y. Hatakeyama and S. Sakaguchi, 1988. The hearing ability of the red sea bream *Pagrus major*.

- Nippon Suisan Gakkaishi, 54, 947 –951.
- Lee, C.H., Y.S. Park, J.W. Moon, S.J. Kim, J.Y. Ahn and D.O. Seo, 1999. The hearing ability of the scorpion fish *Sebastiscus marmoratus* to audible sound. Bull. Korean Soc. Fish. Tech., 35(2), 156 – 160.
- Lee, C.H. and D.O. Seo, 2000. The hearing ability of black rockfish *Sebastes inermis* to underwater audible sound. 1. The auditory threshold. J. Korean Fish. Soc., 33, 581 –584.
- Lee, C.H. and D.O. Seo, 2001. The hearing ability of black rockfish *Sebastes inermis* to underwater audible sound. 2. The auditory critical ratio. J. Korean Fish. Soc., 34, 151 – 155.
- Pickering, A.D. and T.G. Pottinger, 1989. Stress responses and disease resistance in salmonide fish: Effects of chronic elevation of plasma cortisol. Fish Physiol. Biochem., 7, 253 –258.
- Park, Y. S., C.H. Lee, Y.C. Lee and D.O. Seo, 1997. On the study of electrocardiography of the walleye pollock for the behavioral control, Bull. Mar. Res. Inst. cheju Nat. Univ., 21. 175 –179.
- Park, Y.S., C.H. Lee, J.W. Moon, J.Y. Ahn and D.O. Seo, 1999. Auditory thresholds of black rock fish. Jour. Fish. Mar. Sci. Edu., 11, 88 – 97.
- Park, Y.S., K. Iida, T. Mukai and Y. Sakurai, 1994. Auditory characteristics of walleye pollock *theragra chalcogramma*(pallas) threshold in fishes by piezoelectric sensor. Nippon Suisan Gakkaishi, 61(2), 159 – 163.
- Shigeru, F., T. Mori, Y. Yamanaka and Y. Matsuno, 1995. Measurement of auditory threshold in fishes by piezoelectric sensor. Nippon Suisan Gakkaishi, 62(1), 40 –45.
- Takafumi, A. and K. Nanba, 1999. Fish Behavior and Physiology for Fish Capture Technology. Nippon Suisan Gakkaishi, 123 –125.
- 
- 2009년 8월 19일 접수  
2009년 10월 19일 1차 수정  
2009년 10월 18일 2차 수정  
2009년 11월 21일 수리