한국어병학회지 제35권 제2호 (2022)
J. Fish Pathol., 35(2) : 205~214

www.ksfp.org
pISSN 1226-0819, eISSN 2233-5412
http://dx.doi.org/10.7847/jfp.2022.35.2.205

Video tracking을 이용한 병원성 세균에 감염된 angelfish (*Pterophyllum scalare*)의 행동 변화 분석

김윤재 · 허영웅 · 김주성 · 김민교 · 김도형*

부경대학교 수산생명의학과

Analysis of Behavioral Changes in Angelfish (*Pterophyllum scalare*) Infected with Bacterial Pathogens using Video Tracking

Yoon-Jae Kim, Young-Ung Heo, Ju-Sung Kim, Min-Kyo Kim and Do-Hyung Kim*

Department of aquatic life medicine, Pukyong National University, Busan 48513, Korea

In recent years, there have been many studies investigating changes in animal behavior using video tracking technology to track motion. However, there have been very few studies and results on changes in the behavior of fish infected with a pathogen. Therefore, the present study attempted to analyze the behavior of angelfish (*Pterophyllum scalare*) infected with bacterial pathogens using video tracking. Two cameras were placed in front of the water tank to obtain behavior data, and tracking was performed for three days until the day of death. Data such as average speed, changes in speed, the locations of the fish in the tank, and fractal dimension were statistically analyzed based on the fish speed and location in the tank of the fish. For bacterial infection, an individual angelfish was intraperitoneally injected with approximately 10^6 CFU ml^{-1} of *Aeromonas hydrophila* or *Edwardsiella piscicida*. The experiment was carried out five times for each group. Fish infected with the bacterial pathogens showed a tendency to increase in speed and to spend more time in the upper part of the tank one or two days before death. On the day the fish died, the average speed, changes in speed, and the fractal dimension value were significantly lower than the corresponding values in the control group, and the fish also remained in the lower part of the tank. Our results indicated that behavioral changes in fish could be successfully detected earlier than death using video tracking technology, and that this method presents potential for disease monitoring in aquaculture.

Key words: Video tracking, Fish behavior, Bacterial infection, *Aeromonas hydrophila*, *Edwardsiella piscicida.*

서 론

1990년대 중반부터 컴퓨터를 이용한 어류의 행동 관찰 연구가 이뤄지고 있으며(Kato *et al*., 1996), 최근 video tracking 기술의 발전으로 인해 동물의 행동을 육안으로 관찰하는 것 보다 자동으로 인지하는 방법을 이용한다(Noldus *et al*., 2002; Zurn *et al*., 2005). 이러한 행동 관찰은 컴퓨터를 통해 시간에 구애 받지 않고 행동 반응을 정량화 할 수 있는

†Corresponding author: Do-Hyung Kim
Tel: +82-51-629-5945, Fax: +82-51-629-5938
E-mail: dhkim@pknu.ac.kr

장점이 있다(Denoël *et al*., 2013). 특히 어류는 물속의 3차원 공간에서 이동하기 때문에 다른 동물들의 움직임 보다 복잡하다고 할 수 있다(Cachat *et al*., 2011; Stewart *et al*., 2015; Macrì *et al*., 2017; Xia *et al*., 2018; Deakin *et al*., 2019). 최근에 제브라피쉬(*Danio rerio*), 금붕어(*Carassius auratus*), 엔젤피쉬(*Pterophyllum scalare*)를 모델로 video tracking을 이용하여 약물, 포식자, 독성물질, 수온 등에 대한 행동분석 연구가 수행되었다(Stewart *et al*., 2015; Blaser and Gerlai, 2006; Nimkerdphol and Nakagawa, 2008A; Nimkerdphol and Nakagawa, 2008B; Kim *et al*., 2021). 그러나 video tracking을 이용하여 병원체에 감염된 어류의 행동을 연구한 사례는 드물다. *Aeromonas hydrophila*에 감염된 snake head fish(*Channa striata*)가 비정상적인 움직임을 나타내거나(Samayanpaulraj *et al*., 2019), *Edwardsiella piscicida*에 감염된 금붕어(*Carassius auratus*)의 속력이 느려졌다는 보고(Choe *et al*., 2017)는 관찰자의 육안에 의한 것으로 분명히 한계가 존재한다. 최근 Lee *et al*. (2015)은 *Edwardsiella tarda*에 감염된 제브라피쉬의 행동 반응을 정량적으로 분석하였으며, Junior *et al*., (2019)은 *Aeromonas hydrophila*에 감염된 silver catfish(*Rhamdia quelen*)의 행동을 video tracking으로 분석하였으나, 두 연구 모두 하나의 카메라를 이용한 2차원적 행동 변화만을 측정한 한계를 가진다.

매년 5000종 이상의 담수어와 해수어가 아시아, 유럽, 아메리카 등의 지역으로부터 10억 마리 이상 국제적으로 거래되고 있고(Whittington *et al*., 2007) 이를 통해 항생제 다재 내성 및 신종 병원체의 유입이 증가하고 있다(Grandjean *et al*., 2019; Rho *et al*., 2019; Preena *et al*., 2020). 제한된 수조 환경에서 관상어를 포함한 어류의 이상 유무를 신속히 감지하고 해당 문제에 재빨리 대처하는 것은 매우 중요하다(MacAulay *et al*., 2022). 양식장 환경에 비해 관상어 사육 조건은 사육수의 혼탁도, 사육 시설의 규모 등의 측면에서 video tracking 기술의 적용 용이성에서 좀 더 이점을 가지고 있다고 할 수 있다. 본 연구에서는 video tracking 기술을 이용하여 담수 관상어인 angelfish(*Pterophyllum scalare*)가 병원성 세균에 감염되었을 때 나타나는 행동을 분석하여 어류의 이상을 사전에 감지할 수 있는 행동 패턴 분석 방법을 찾고자 하였다.

재료 및 방법

실험어 및 실험 환경 설정

본 연구에서는 질병 발생 이력이 없는 건강한 angelfish (5.1±0.8 cm, 2.6±0.46 g)를 구입하여 실험에 사용하였다. 실험어는 이전 연구의 Kim *et al*. (2021) 방법과 동일하게 26℃에서 순치 후 실험을 실시하였다. 45 cm × 45 cm × 45 cm 수조에 한 마리의 angelfish를 넣고 video tracking software(smart aqua system, SoosangST, Korea)가 설치된 컴퓨터와 Intel RealSense D435 (Intel Corporation, Santa Clara, CA, USA) 두 대의 카메라를 연결하였다. 카메라는 수조 정면과 우측면으로부터 50 cm 거리에 설치하였으며, 이후 angelfish의 행동 데이터를 수집하였다. 해당 수조 설치 모식도는 Kim *et al*. (2021)의 Fig. 1과 동일하다. Video tracking software는 어느 시점의 가로(x축), 세로(y축) 및 높이(z축)의 좌표, 순간속력, 촬영시간 항목에 대한 각각의 값을 종합하여 하나의 데이터로 출력하며, 3-4 FPS (frame per second) 간격마다 여러 개의 누적 관측 값이 기록되어 있는 시계열 데이터를 행동 데이터로 사용하였다.

대조군 및 세균 인위감염 조건

대조군 그룹의 한 마리 angelfish를 26℃로 유지된 수조(45 cm × 45 cm × 45 cm)에서 촬영을 수행하였다. 3일동안 하루 중 오전 10시부터 오후 18시까지 연속적인 행동패턴을 촬영하였으며, 외부로 인한 행동 변화를 최소화하기 위해 수조에 자극을 주지 않았다. 대조군 그룹은 MS-222(Sigma)로 마취시킨 후 PBS (phosphate-buffered saline) 100 ㎕를 복강주사 하였으며, 접종 후 3일째(Day 1-3)까지 행동 패턴을 촬영하였다. 대조군은 각각 다른 개체를 이용하여 5회 반복하여 데이터를 수집하였다.

본 연구에서는 세균에 감염된 angelfish의 행동을 촬영하기 위해 병원성이 강한 *Aeromonas hydrophila* AC133 균주와 *Edwardsiella piscicida* KE1 균주를 사용하여 인위 감염시켰다. 동결되어 있는 두

균주는 tryptic soy agar (TSA)에 접종하여 28℃에서 18-24시간 배양하였다. 배양한 균은 10^7 CFU (colony forming unit) ml^{-1}의 농도로 균액을 제작하였으며, MS-222로 마취 후 angelfish에 10^7 CFU ml^{-1} 균액 100 μl를 복강주사 하였다. *A. hydrophila* (Ah) 및 *E. piscicida* (Ep) 접종 후 폐사 발생 시점까지 오전 10시에서 오후 18시 사이에 촬영을 하였다. *A. hydrophila* 및 *E. piscicida* 감염 실험구의 행동 패턴 촬영은 각각 1마리의 개체를 8회와 10회에 걸쳐 수행되었으며, 이 중 폐사 당일의 촬영 시간이 6시간 이상이었던 개체만 행동 분석에 사용하였다. 모든 감염 그룹에 대해 공통적으로 촬영된 기간인 폐사 이틀 전, 폐사 하루 전, 폐사 당일을 각각 Day 1, Day 2, Day 3로 설정하였다. 본 실험 디자인의 간단한 모식도를 Fig. 1에 나타내었다.

데이터 보정

수조의 촬영으로 기록되는 가로, 세로 및 높이의 좌표는 원근에 의해 왜곡되어 출력된다. 따라서 데이터 보정을 통해 좌표를 수정하여 실제 좌표로 변환하는 과정이 요구된다. 왜곡된 좌표를 실제 좌표로 보정해주는 방정식은 Kim *et al*. (2021) 연구의 식 1, 2, 3을 사용하였으며, 방정식에 사용된 변수와 모식도는 Kim *et al*. (2021) 연구의 Fig. 3과 동일하다.

속력 및 위치 분석

속력 및 위치 분석은 Ah-infected group 및 Ep-infected group의 공통적으로 행동 패턴이 촬영된 기간인 Day 1 부터 Day 3 까지 1일 당 연속적인 8시간 데이터를 사용하였다. 대조군은 연속으로 촬영한 3일 데이터 중 8시간 데이터를 일별로 분석하였다. 속력 데이터는 5 mm/s 이하의 분포 비율, 평균 속력, 그리고 1초당 속력의 변화량을 분석하였다. 위치 데이터는 수조 높이를 삼등분하여 하층부, 중층부, 상층부에 머무르는 시간을 측정하여 분석하였다. Fractal dimension은 box counting 방법(Li *et al*., 2009)을 사용하여 분석하였다. XZ면과 YZ면을 각각 가로 및 세로 0.625, 1.25, 2.5, 5, 10, 20, 44, 80, 160 pixel 크기의 정사각형 상자로 면적을 나눴으며, 행동 좌표가 포함된 상자 개수를 구하여 fractal dimension을 계산하는 방정식인 Kim *et al*. (2021) 연구의 식 4로 계산하였다.

통계분석

속력 및 위치 분석으로 도출된 결과는 그룹 간의 유의성을 평가하기 위해 SPSS v23.0 (IBM, NY, USA)의 one-way analysis of variance (ANOVA) test로 확인하였으며, Duncan's multiple range test 방법으로 사후검정을 하였다($p<0.05$).

결과 및 고찰

데이터 선택 및 유의성 검증

본 실험의 대조군은 실험기간 동안 어떤 임상증상이나 폐사가 일어나지 않았다. Ah-infected group과 Ep-infected group은 세균 접종 후 3-5일 만에 모두 폐사하였다(Fig. 1). 대조군의 시계열 행동 데이터 개수는 평균 92,806개였으며, 표준편차는 6,170개였다(Table 1). Ah-infected group 및 Ep-infected group에 대한 Day 1-3의 시계열 행동 데이터 개수는 각각 평균 87,676개, 87,853개 이며, 표준편차는 각각 6,292개, 13,142개 였다(Table 1). 모든

Table 1. Numbers of spatial coordinates based on the movement of angelfish in the control and bacterial infection groups

Numbers of spatial coordinates				
Groups	Angelfish No.	Day 1	Day 2	Day 3
Control group	1	95,219	93,125	88,642
	2	92,264	88,942	90,980
	3	89,910	94,350	101,032
	4	98,656	103,152	89,120
	5	100,790	82,756	83,156
Ah-infected group	1	91,447	87,967	79,984
	2	98,853	84,949	84,718
	4	80,473	86,898	82,631
	7	89,826	91,479	98,131
	8	94,061	85,386	78,336
Ep-infected group	2	99,520	80,547	63,005
	3	80,433	83,991	108,268
	6	109,156	95,312	69,361
	8	86,412	99,439	81,482
	10	84,656	81,560	94,651

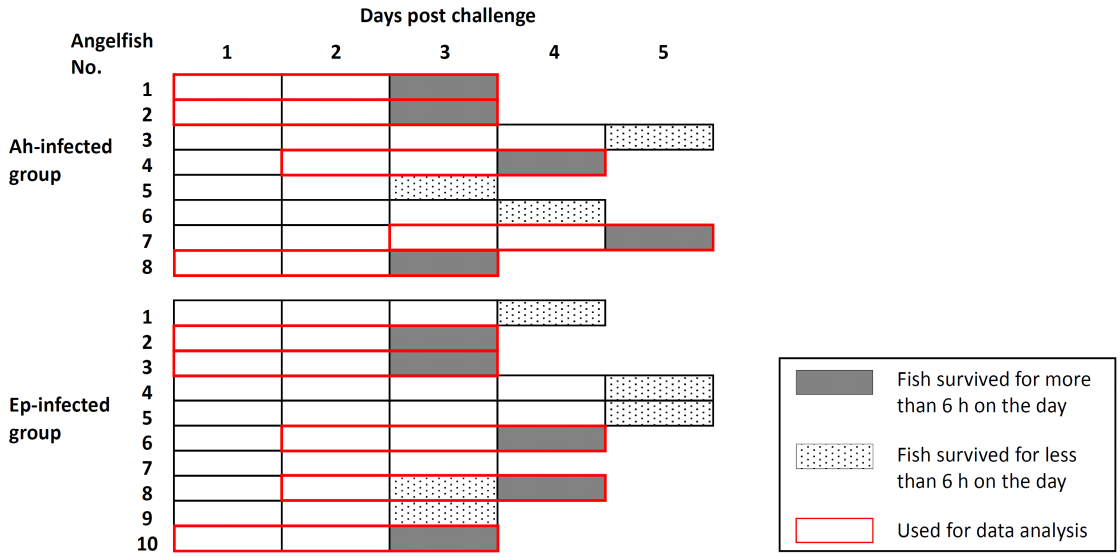

Fig. 1. Data collection for behavior changes in *A. hydrophila* (Ah) and *E. piscicida* (Ep) infection model. A total of 8 and 10 angelfish were used for Ah-infected and Ep-infected groups, respectively, and video tracking was conducted until fish was dead.

그룹의 데이터에 대한 통계분석 결과 유의적인 차이는 없었다.

세균 감염에 따른 속력 분석

대조군, Ah-infected group, Ep-infected group의 공통적으로 행동 패턴이 촬영된 기간인 Day 1부터 Day 3 까지의 속력 데이터를 히스토그램으로 Fig. 2에 나타내었다. 각각의 그룹별로 속력 분포를 나열한 결과, Day 1, 2, 3에서 대조군의 5 mm/s 이하의 순간 속력 분포는 각각 61%, 58%, 61%로 유사한 비율을 나타냈다. Ah-infected group과 Ep-infected group에서 Day 3의 5 mm/s 이하 속력 분포 비율은 각각 73%와 81%였다. 본 결과에서 확인할 수 있듯이 Day 3의 angelfish 속력이 유의적으로 감소하였다. 일반적으로 어류가 병원체에 감염된 후 질병이 진행됨에 따라 가장자리에서 느리게 유영하거나 무기력한 모습을 보이는 행동 변화는 이전 연구(Hawke *et al*., 1998; Junior *et al*., 2019)에서도 나타났다. 본 연구의 속력 히스토그램 결과에서도 Day 3의 5 mm/s 이하의 속력 분포 비율이 증가한 것을 확인할 수 있으며, 이는 video tracking으로 선행 연구에서 서술한 행동 변화를 충분히 감지할 수 있다는 것을 보여준다.

Day 1에서 Ah-infected group의 평균속력은 대조군보다 유의적으로 높게 나타났지만 Ep-infected group에서는 대조군 대비 유의적인 차이는 보이지 않았다. Day 3에는 Ah-infected group과 Ep-infected group 모두 대조군 대비 유의적으로 낮은 평균 속력을 나타내었다(Fig. 3A). Angelfish의 1초당 속력 변화량을 분석한 결과, Day 1에서 병원체에 감염된 두 그룹 모두 대조군에 비해 속력 변화량이 유의적으로 컸다. 다만, Ah-infected group에서만 Day 2에서 대조군 대비 유의적으로 큰 변화량을 나타내었다(Fig. 3B). 본 연구에서 *A. hydrophila*와 *E. piscicida*에 감염된 angelfish는 서로 매우 유사한 속력 패턴을 보였다(Fig. 3). *Mycobacterium*에 감염된 delta smelt(*Hypomesus transpacificus*)는 감염되지 않은 개체보다 유영 속도가 낮았으나(Swanson *et al*., 2002), Junior *et al*. (2019)에 따르면 *A. hydrophila*에 감염된 silver catfish(*Rhamdia quelen*)는 감염되지 않은 개체보다 감염 후 5일째에 수조에서 더 많이 움직이고 활동성이 크다고 하였다. 또한 *Pseudomonas aeruginosa*에 감염된 silver catfish는 약 1주일 후에 활동량이 많았다고 서술하였으며

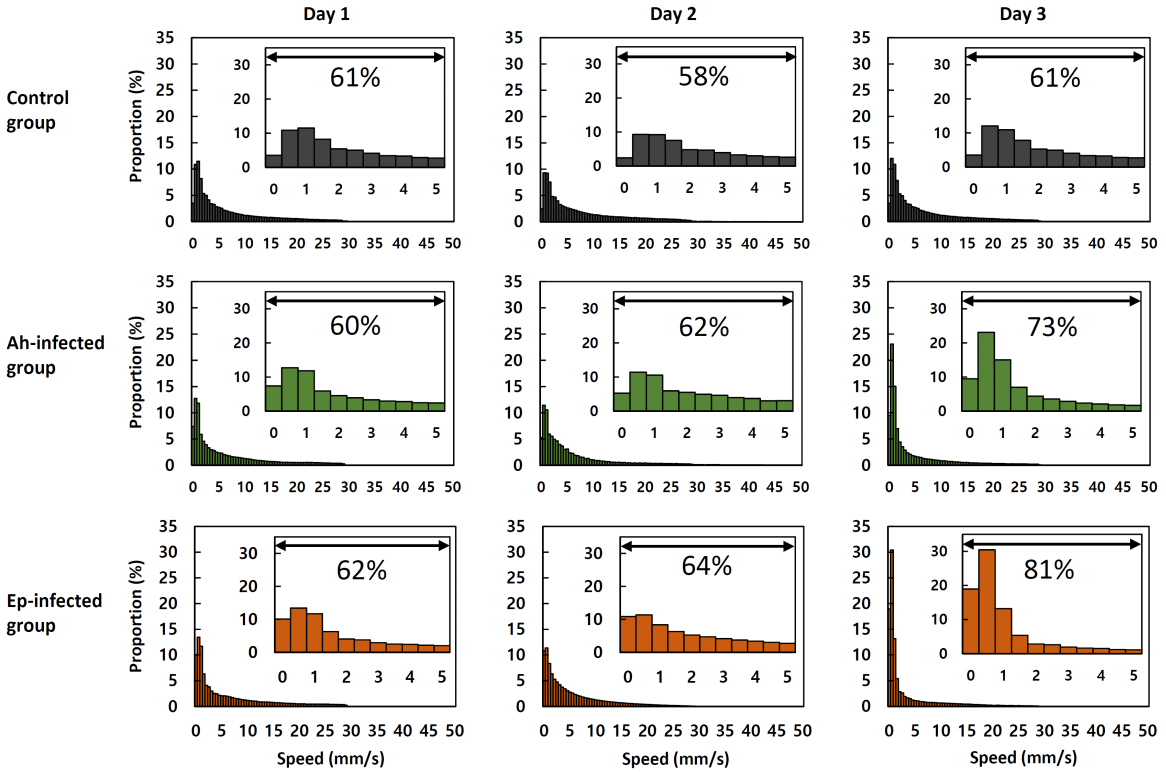

Fig. 2. Speed histograms of fish in the control, Ah-infected, and Ep-infected groups. Distribution and proportion of fish speed less than 5 mm/s are presented in each graph.

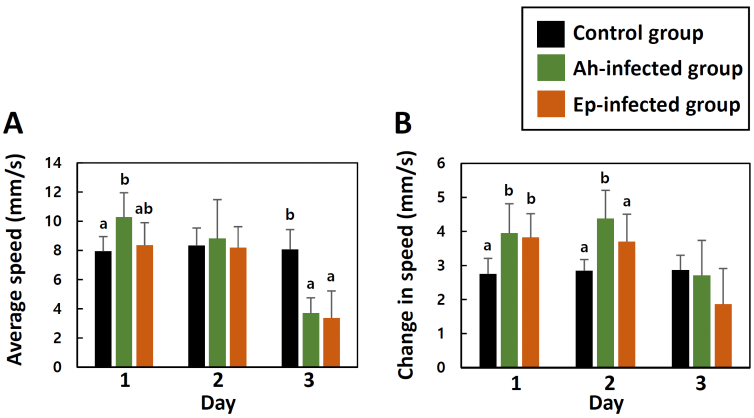

Fig. 3. Average speed (A) and changes in speed (mm/s) (B) of angelfish artificially challenged with bacterial pathogens. Different letters indicate statistically significant differences determined by Duncan's multiple range test ($P<0.05$).

(Baldissera *et al*., 2017), 본 연구 결과와 유사한 속력 패턴을 보였다. 하지만 선행 연구(Swanson *et al*., 2002; Baldissera *et al*., 2017)의 어류 행동 반응은 행동의 정량적 분석이 아닌 관찰자의 시각으로 서술하였으므로 어류 행동을 비교 분석하기에는 한계가 존재한다. 따라서 세균 감염에 의한 어류의 미세한 속력 변화는 관찰자의 육안으로 감지하기 어렵기 때문에 video tracking을 이용하여 평균 속력 및 1초당 속력 변화량 등 행동의 정량적 분석으로 확인이 가능해진다. 이는 관찰자가 행동 변화를

인지할 수 있는 폐사 당일이 아닌 그 이전에도 위험을 감지할 수 있음을 시사한다.

세균 감염에 따른 위치 분석

Video tracking으로부터 획득한 좌표 데이터를 이용하여 세균 감염에 따른 angelfish의 위치를 분석하였다. 대조군 그룹 및 세균 감염 그룹에서 8시간 동안의 angelfish 행동 좌표를 각 그룹별로 무작위로 선택하여 3차원 공간에서 재구성하였다. 대조군에서는 3일 동안 비슷한 유영 패턴을 보였지만, 세균이 접종된 그룹은 Day 1부터 Day 3까지 일정하지 않은 다양한 유영 패턴을 나타내었다(Fig. 4).

수조 높이에 따라 하층부, 중층부, 상층부에서의 분포 시간 비율을 분석한 결과, Day 3에서 Ah-infected group과 Ep-infected group의 angelfish는 대조군에 비해 수조 하층부에 분포하는 비율이 유의적으로 높았다(Fig. 5A). 이는 폐사가 나타나기 직전에 무기력한 모습으로 바닥에 가라앉아 있었기 때문인 것으로 보인다. 하지만 Day 1과 2에서 Ah-infected group과 Ep-infected group의 angelfish는 대조군에 비해 수조 상층부에 주로 머물러 폐사 발생 직전의 행동 패턴과는 차이가 있음을 알 수 있었다. 수조 상층부에서는 대조군 대비 Ah-infected group은 Day 1과 2에서 Ep-infected group은 Day 2에서 대조군 대비 높은 분포 비율을 나타내었다(Fig. 5C). 즉, 세균에 감염된 angelfish는 감염 초기에 수조의 상층부에서 머무는 시간이 길었던 것으로 나타났으며, 이를 video tracking으로 조기에 행동 변화를 인지할 수 있었다. 본 연구 결과는 활동성이 큰 정상적인 제브라피쉬의 행동(Miller and Gerlai, 2007)과 다르게 tilapia lake virus(TiLV)에 인위 감염된 제브라피쉬가 접종 후 5 - 6일 째에 주로 수조 바닥에 머물렀다는 결과(Rakus *et al*., 2020)와 상반되지만, Junior *et al*. (2019)는 *A. hydrophila*에 감염된 silver catfish가 주로 수조의 상층부에 머무

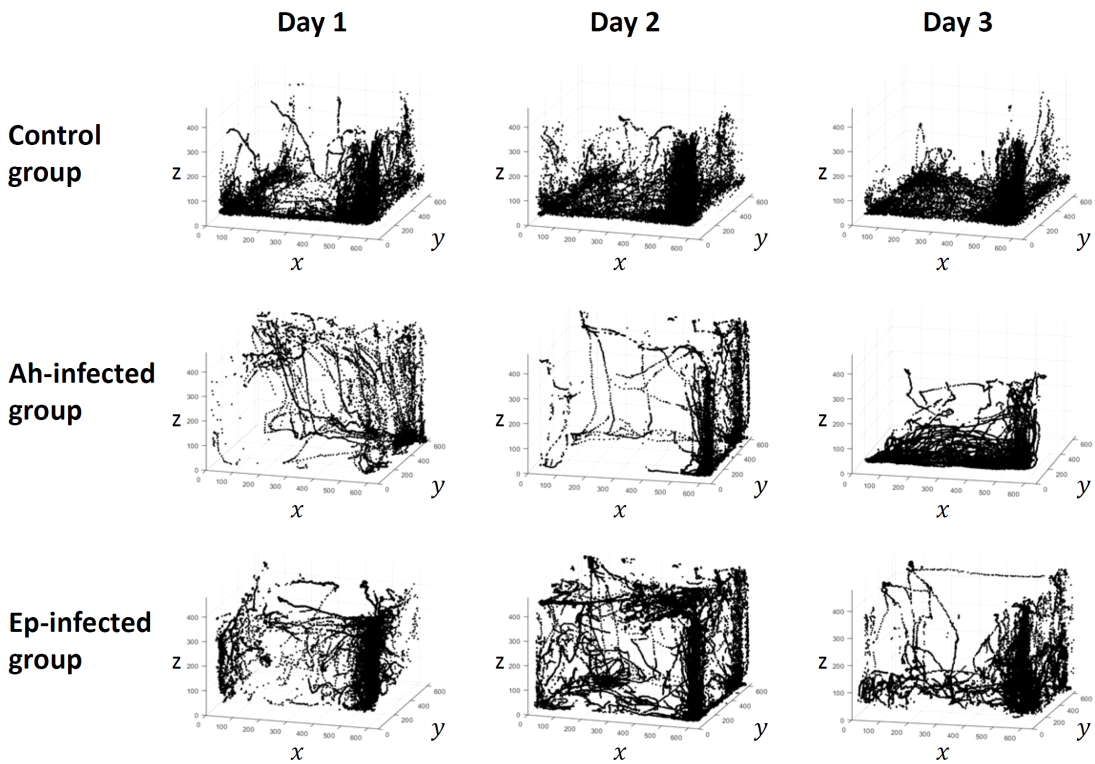

Fig. 4. Tracking results (3D scatter plot) of representative fish from each group with 8 hours as duration.

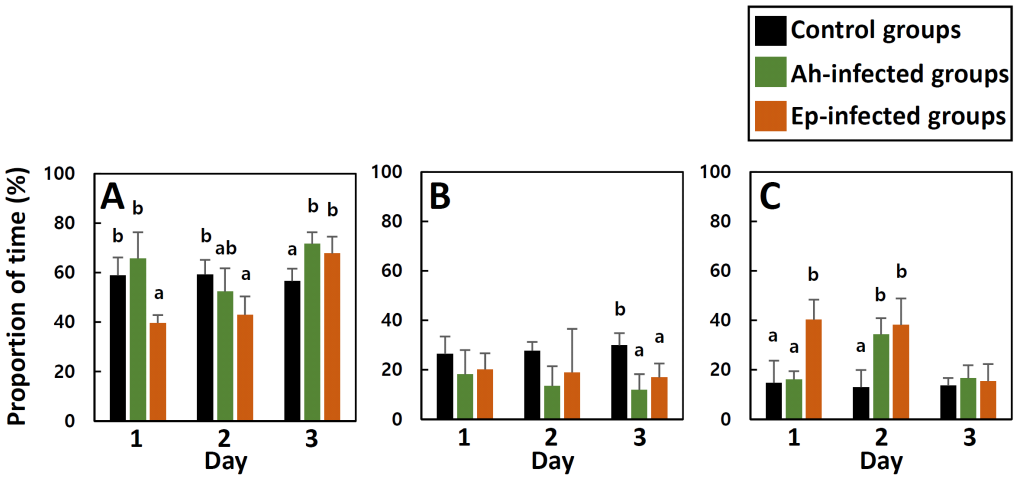

Fig. 5. Proportion of time that angelfish with challenged pathogens spend at the lower (A), middle (B), and upper part (C) of tank. Different letters indicate statistically significant differences (P<0.05).

르는 행동을 보였다고 하였으며, *Edwardsiella tarda*에 감염된 grass carp(*Ctenopharyngodon idella*)는 접종 24 - 48시간 후 주로 수면 근처를 떠다니는 비정상적인 행동 패턴을 보인다는 연구 결과(Pandey *et al*., 2021)와 일치하였다. 본 연구에서 Day 3의 angelfish는 주로 수조 하층부에서 많이 분포하는 것으로 나타났으며, 이는 선행 연구 결과(Rakus *et al*., 2020; Junior *et al*., 2019; Pandey *et al*., 2021)를 종합해볼 때 어종 및 감염의 정도에 따라 머무르는 위치가 달라진다는 것을 보여주고 있다. 따라서 video tracking을 이용한 수조 내 위치에 따른 어류의 분포 비율 분석은 폐사가 발생하기 이전 행동의 변화를 사전에 인지할 수 있음을 나타낸다.

Fractal dimension 분석은 유영의 복잡성을 측정할 수 있는 방법이다. 선행 연구에서는 fractal dimension 분석을 어류 행동에 적용하여 정상과 자극을 받은 어류의 행동 패턴을 비교하였다(Deakin *et al*., 2019; Nimkerdphol and Nakagawa, 2008A). 본 연구의 Fractal dimension 분석 결과, Day 3에는 Ah-infected group과 Ep-infected group 모두 대조군 대비 유의적으로 낮은 FD value를 나타내었다(Fig. 6A and 6B). Day 3의 낮은 FD value는 본 연구의 속력 및 위치 분석에서 나타난 행동 패턴 결과와 연결된다고 할 수 있다. 하지만 XZ-side에서 *E. piscicida* 감염 시 Day 2에서 대조군 대비 유의적으로 높은 FD value는 행동의 복잡성이 증가했다는 의미이며, 해당 결과를 통해 폐사가 발생하는 당일 이전의 행동 변화를 이용하여 세균 감염에 의한 이상을 감지할 수 있음을 나타낸다.(Fig. 6A).

행동 패턴 분석 결과를 종합하여 보았을 때, *A. hydrophila*와 *E. piscicida*에 감염 시 속력과 위치의 행동 패턴이 매우 유사하게 나타났으며, 대조군과 대비하여 주로 Day 1과 2에서 유의적인 행동 패턴의 차이를 보였다. 평균 속력 및 1초당 속력 변화량의 증가, 상층부에서의 분포 비율 증가와 행동의 복잡성 증가를 분석하여 세균 감염 초기의 행동 변화를 조기에 감지할 수 있음을 나타낸다. 더 나아가 해당 항목을 통합하여 행동을 분석할 때 조기에 이상 행동을 탐색할 수 있는 민감도가 더욱 높아질 것으로 기대된다.

본 연구는 눈으로 확인이 불가능하거나 어려운 어류의 행동을 조기에 감지하고, 변화된 행동 패턴을 분석하여 어류의 건강 상태를 예측할 수 있는 시스템 개발의 기초 연구가 될 것으로 사료된다. 양식장 또는 아쿠아리움에서 질병이 발생하였을 때 대량 폐사가 나타나기 전 일부 개체의 행동 변화를 감지할 수 있다면 나머지 개체가 질병에 걸리기 전 건강을 관리할 수 있을 것으로 기대된다. 추후 연구를 통해 어류가 병원체에 감염되었을 때 나타나는 행동의 변화를 조기에 감지하고 관리자

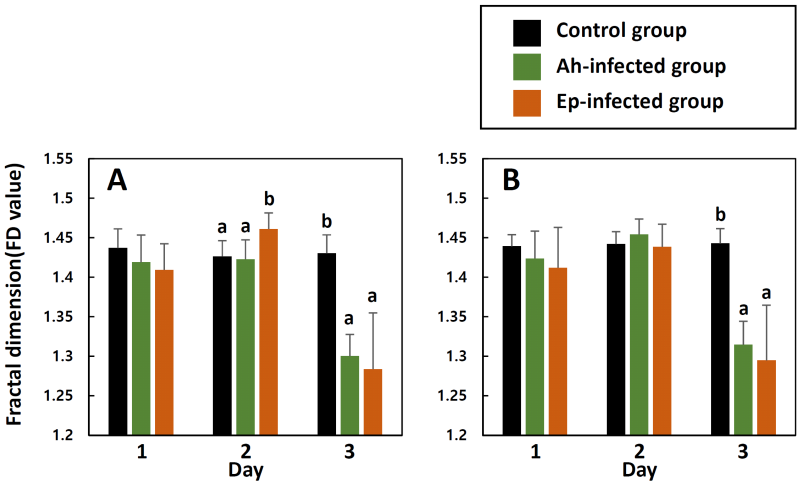

Fig. 6. Fractal dimension values of fish with challenged pathogens in different groups at XZ-side (front) (A) and YZ-side (side) (B). Different letters indicate statistically significant differences ($P < 0.05$).

에게 경고 메시지를 보낼 수 있는 시스템으로 활용될 수 있다는 것을 보여주고 있다.

사 사

이 논문은 2022학년도 부경대학교 국립대학육성사업 지원비(PhiNX 보호학문 차세대육성)에 의하여 연구되었음.

References

Baldissera MD, Souza CF, Santos RC, da Rosa LVC, Rosemberg DB, & Baldisserotto B. Pseudomonas aeruginosa strain PAO1 infection impairs locomotor activity in experimentally infected Rhamdia quelen: Interplay between a stress response and brain neurotransmitters. Aquaculture, 473, 74-79. 2017. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.02.004

Blaser R, & Gerlai R. Behavioral phenotyping in zebrafish: comparison of three behavioral quantification methods. Behavior research methods, 38(3), 456-469. 2006. https://doi.org/10.3758/BF03192800

Cachat J, Stewart A, Utterback E, Hart P, Gaikwad S, Wong K, Kyzar E, Wu N and Kalueff AV. Three-dimensional neurophenotyping of adult zebrafish behavior. PloS one 6, e17597. 2011. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017597

Choe, Y., Yu, J. E., Park, J., Park, D., Oh, J. I., Kim, S., Moon, K. & Kang, H. Y. Goldfish, Carassius auratus, as an infection model for studying the pathogenesis of Edwardsiella piscicida. Veterinary research communications, 41(4), 289-297. 2017. https://doi.org/10.1007/s11259-017-9700-2

Deakin AG, Spencer JW, Cossins AR, Young IS, & Sneddon LU. Welfare challenges influence the complexity of movement: fractal analysis of behaviour in zebrafish. Fishes, 4(1), 8. 2019. https://doi.org/10.3390/fishes4010008

Denoël M, Libon S, Kestemont P, Brasseur C, Focant JF and Pauw ED. Effects of a sublethal pesticide exposure on locomotor behavior: a video-tracking analysis in larval amphibians. Chemosphere 90, 945-951. 2013. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.06.037

Grandjean, F., Gilbert, C., Razafimafondy, F., Vucić, M., Delaunay, C., Gindre, P., Bouchard, J., Raimond, M., & Moumen, B. A new bunya-like virus associated with mass mortality of white-clawed crayfish in the wild. Virology, 533, 115-124. 2019. https://doi.org/10.1016/j.virol.2019.05.014

Hawke JP, Durborow RM, Thune RL, & Camus AC. Enteric septicemia of catfish. ESC Enteric Septicemia of Catfish. Southern Regional Aquaculture Center, p. 477 1998

Junior GB, de Freitas Souza C, Descovi SN, Antoniazzi A, Cargnelutti JF, & Baldisserotto B. Aeromonas hydrophila infection in silver catfish causes hyperlocomotion related to stress. Microbial pathogenesis, 132, 261-265. 2019. https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.05.017

Kato, S., Tamada, K., Shimada, Y., & Chujo, T. A quantification of goldfish behavior by an image processing system. Behavioural Brain Research, 80(1-2),

51-55. 1996. https://doi.org/10.1016/0166-4328(96)00018-6

Kim YJ, No HM and Kim DH. Analysis and Prediction of Behavioral Changes in Angelfish Pterophyllum scalare Under Stress Conditions. Korean journal of fisheries and aquatic sciences, vol. 54, no. 6, pp.965-973, December, 2021. https://doi.org/10.5657/KFAS.2021.0965

Lee, S. B., Choe, Y., Chon, T. S., & Kang, H. Y. Analysis of zebrafish (Danio rerio) behavior in response to bacterial infection using a self-organizing map. BMC veterinary research, 11(1), 1-12. 2015. https://doi.org/10.1186/s12917-015-0579-2

Li, J., Du, Q., & Sun, C. An improved box-counting method for image fractal dimension estimation. Pattern recognition, 42(11), 2460-2469. 2009. https://doi.org/10.1016/j.patcog.2009.03.001

MacAulay, S., Ellison, A. R., Kille, P., & Cable, J. Moving towards improved surveillance and earlier diagnosis of aquatic pathogens: From traditional methods to emerging technologies. Reviews in Aquaculture. 2022. https://doi.org/10.1111/raq.12674

Macrì S, Neri D, Ruberto T, Mwaffo V, Butail S and Porfiri M. Three-dimensional scoring of zebrafish behavior unveils biological phenomena hidden by two-dimensional analyses. Sci Rep 7, 1-10. 2017. https://doi.org/10.1038/s41598- 017-01990-z

Miller, N., & Gerlai, R. Quantification of shoaling behaviour in zebrafish (Danio rerio). Behavioural brain research, 184(2), 157-166. 2007. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2007.07.007

Nimkerdphol K, & Nakagawa M. Effect of sodium hypochlorite on zebrafish swimming behavior estimated by fractal dimension analysis. Journal of bioscience and bioengineering, 105(5), 486-492. 2008A. https://doi.org/10.1263/jbb.105.486

Nimkerdphol K, & Nakagawa M. 3D Locomotion and Fractal Analysis of Goldfish for Acute Toxicity Bioassay. International Journal of Bioengineering and Life Sciences, 2(1), 38-43. 2008B. https://doi.org/10.5281/zenodo.1326718

Noldus LP, Spink AJ and Tegelenbosch RA. Computerised video tracking, movement analysis and behaviour recognition in insects. Comput Electron Agric 35, 201-227. 2002. https://doi.org/10.1016/S0168-1699(02)00019-4

Pandey, V., Bhat, R. A. H., Chandra, S., Tandel, R. S., Dubey, M. K., Sharma, P., Gehlot, B., Dash, P., & Joshi, R. Clinical signs, lethal dose and histopathological lesions in grass carp, Ctenopharyngodon idella experimentally infected with Edwardsiella tarda. Microbial Pathogenesis, 161, 105292. 2021. https://doi.org/10.1016/j.micpath.2021.105292

Preena, P. G., Arathi, D., Raj, N. S., Arun Kumar, T. V., Arun Raja, S., Reshma, R. N., & Raja Swaminathan, T. Diversity of antimicrobial-resistant pathogens from a freshwater ornamental fish farm. Letters in applied microbiology, 71(1), 108-116. 2020. https://doi.org/10.1111/lam.13231

Rakus, K., Mojzesz, M., Widziolek, M., Pooranachandran, N., Teitge, F., Surachetpong, W., Chadzinska, M., Steinhagen, D., & Adamek, M. Antiviral response of adult zebrafish (Danio rerio) during tilapia lake virus (TiLV) infection. Fish & shellfish immunology, 101, 1-8. 2020. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.03.040

Roh, H. J., Kim, B. S., Kim, A., Kim, N. E., Lee, Y., Chun, W. K., Ho, T. D, & Kim, D. H. Whole-genome analysis of multi-drug-resistant Aeromonas veronii isolated from diseased discus (Symphysodon discus) imported to Korea. Journal of fish diseases, 42(1), 147-153. 2019. https://doi.org/10.1111/jfd.12908

Samayanpaulraj, V., Velu, V., & Uthandakalaipandiyan, R. Determination of lethal dose of Aeromonas hydrophila Ah17 strain in snake head fish Channa striata. Microbial pathogenesis, 127, 7-11. 2019. https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.11.035

Stewart AM, Grieco F, Tegelenbosch RA, Kyzar EJ, Nguyen M, Kaluyeva A, Song C, Noldus LP, Kalueff AV. A novel 3D method of locomotor analysis in adult zebrafish: Implications for automated detection of CNS drug-evoked phenotypes. Journal of neuroscience methods, 255, 66-74. 2015. https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2015.07.023

Swanson, C., Baxa, D. V., Young, P. S., Cech Jr, J. J., & Hedrick, R. P. Reduced swimming performance in delta smelt infected with Mycobacterium spp. Journal of fish Biology, 61(4), 1012-1020. 2002. https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2002.tb01859.x

Whittington RJ, & Chong R. Global trade in ornamental fish from an Australian perspective: the case for revised import risk analysis and management strategies. Preventive Veterinary Medicine, 81(1-3), 92-116. 2007. https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2007.04.007

Xia, C., Fu, L., Liu, Z., Liu, H., Chen, L., & Liu, Y. Aquatic toxic analysis by monitoring fish behavior using computer vision: a recent progress. Journal of toxicology, 2018. https://doi.org/10.1155/2018/2591924

Zurn JB, Hohmann D, Dworkin SI and Motai Y. A real-time rodent tracking system for both light and dark cycle behavior analysis. In: 2005 Seventh IEEE Workshops on Applications of Computer Vision (WACV/MOTION'05)- Volume 1. Breckenridge, CO, U.S.A., 87-92. 2005. https://doi. org/10.1109/ACVMOT. 2005.9

Manuscript Received : Oct 11, 2022
Revised : Nov 14, 2022
Accepted : Dec 01, 2022