



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

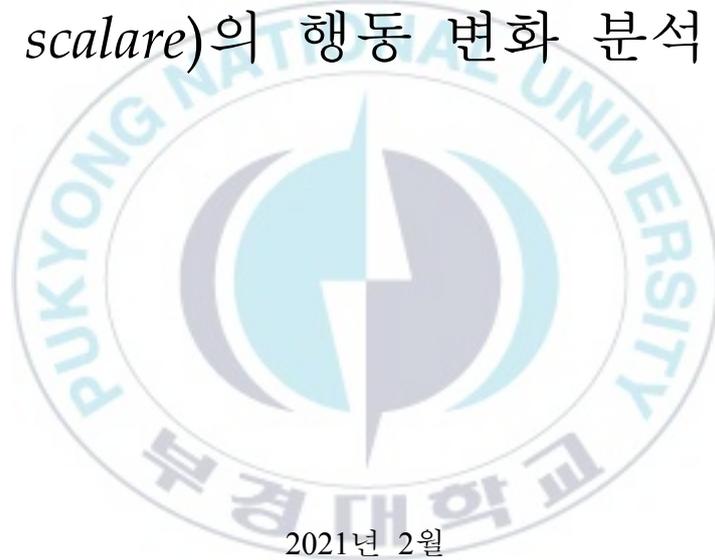
저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

이 학 석 사 학 위 논 문

Video tracking을 이용한 스트레스  
조건에 노출된 엔젤피쉬(*Pterophyllum  
scalare*)의 행동 변화 분석



2021년 2월

부 경 대 학 교 대 학 원

수 산 생 명 의 학 과

김 윤 재

이 학 석 사 학 위 논 문

Video tracking을 이용한 스트레스  
조건에 노출된 엔젤피쉬(*Pterophyllum*  
*scalare*)의 행동 변화 분석

지도교수 김 도 형

이 논문을 이학석사 학위논문으로 제출함.

2021년 2월

부 경 대 학 교 대 학 원

수 산 생 명 의 학 과

김 윤 재

# 김윤재의 이학석사 학위논문을 인준함

2021년 2월 19일



위원장 이학박사 김광일 (인)

위원 이학박사 김도형 (인)

위원 이학박사 조미영 (인)

# 목 차

목차 .....	i
<b>Abstract</b> .....	<b>iii</b>
<b>1. 서론</b> .....	<b>1</b>
<b>2. 재료 및 방법</b> .....	<b>3</b>
2.1. 실험어 순차 및 실험 환경 .....	3
2.2. 어류 행동 데이터 수집 .....	5
2.2.1. 일반 환경 조건 .....	5
2.2.2. 온도 연관 스트레스 조건 .....	5
2.2.3. 세균 인위감염 조건 .....	6
2.3. 행동 패턴 분석 .....	7
2.3.1. 데이터 교정 .....	7
2.3.2. 속력 분석 .....	10
2.3.3. 위치 분석 .....	11
2.3.4. Machine learning model .....	12
2.4. 통계분석 .....	12

3. 결과	13
3.1. 수은 변화에 따른 행동 패턴	13
3.1.1. Video tracking data validation	13
3.1.2. 속력 분석	15
3.1.3. 위치 분석	18
3.2. 세균 감염에 따른 행동 패턴	23
3.2.1. Video tracking data validation	23
3.2.2. 속력 분석	25
3.2.3. 위치 분석	29
3.3. Machine learning을 이용한 이상 행동 분석	35
3.3.1. Training accuracy test	35
3.3.2. 정상/비정상 행동 분류	37
4. 고찰	40
5. 결론	44
6. 국문요약	45
7. 참고문헌	47

Analysis of behavior changes of angelfish(*Pterophyllum scalare*) exposed to stress conditions using video tracking

Yoon-Jae Kim

Department of aquatic life medicine, The Graduate school,  
Pukyong National University

Abstract

In recent years, there are many studies on changes in animal behavior using video tracking technology that tracks motion. However, studies and information on changes in behavior of fish exposed to stressful condition are very limited. In this study, therefore, behavior of angelfish exposed to bacterial pathogens and temperature increase or decrease was monitored by video tracking using two cameras, and the data were statistically analyzed based on data derived from fish speed and changes in speed, and locations in the tank. For water temperature, it was raised from 26°C to 36°C or lowered from 26°C to 16°C for 4h, respectively. For bacterial infection, one individual angelfish was intraperitoneally injected with approximately  $10^6$ CFU ml<sup>-1</sup> of *A. hydrophila* or *E. piscicida*. The experiment was carried out five times for each group. For machine learning analysis, LSTM model was used to train and test behavioral data (80s) after pre-processing. As a result, when the water temperature changed, fish showed that their average speed, changes in speed, and fractal dimension were significantly lower than fish in the control group. Fish infected with the bacterial pathogens exhibited their average speed and changes in speed were increased, and spent more

time in the upper part just before death. From machine learning analysis, training and test accuracy of 80 seconds of video footage data were 87.66% and 85.35%, respectively. Machine learning obtained in this study could distinguish normal and abnormal status of fish with accuracy rate at 80.12-85.35%. Therefore, the results presented in this study demonstrate that video tracking technology can detect fish abnormal behavior, indicating that it can be used as an early warning system in fish health management of aquarium and farms.



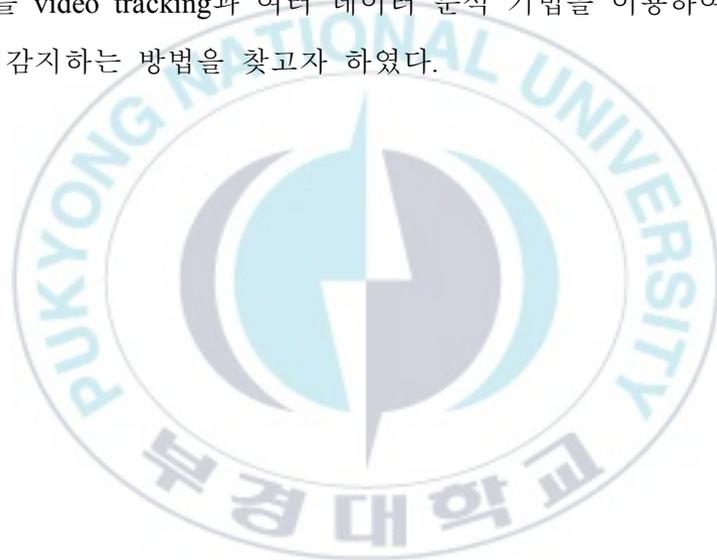
## 1. 서론

동물의 행동과 움직임을 자동으로 감지하고 기록하는 기술은 지난 20년 동안 극적으로 발전하였다(Noldus et al., 2002). Video tracking을 이용한 행동 변화의 관찰은 육안으로는 감지할 수 없는 이상 행동을 감지할 수 있고, 행동패턴을 정량화할 수 있으며, 관찰이 거의 무한정 진행될 수 있는 장점이 있다(Zurn et al., 2005; Denoël et al., 2013; Noldus et al., 2002). 어류의 행동 표현은 3차원에서 나타나서 자극에 대한 행동 반응을 평가하는데 유용할 수 있다(Cachat et al., 2011). 그럼에도 불구하고 video tracking에 의한 행동 패턴 연구는 주로 설치류(Zurn et al., 2005), 소(Chae and Cho, 2020), 돼지(Lind et al., 2005) 등의 육상 동물을 대상으로 이뤄지고 있다. 그러나 이러한 연구의 대부분은 단일 카메라에 의존하며, 2D 데이터에서 분석이 진행된다는 한계점이 있다(Macri et al., 2017). 최근 어류에 대해서도 video tracking을 이용한 행동 분석이 진행되고 있으며, 2대의 카메라를 이용하여 3D 데이터를 기반으로 한 분석 연구가 진행 중이다. 그러나 대부분의 연구는 제브라피쉬(*Danio rerio*)(McGonnell et al., 2006)에 한정되어 있으며, 특히 신경과학 연구, 독성 평가 그리고 신약 개발 분야에 집중되어 있다(Stewart et al., 2015; Burne et al., 2011; Rosa et al., 2018; Stewart et al., 2010; Cachat et al., 2011; Deakin et al., 2019; Nimkerdphol & Nakagawa, 2008A). 그러나 질병을 포함한 다양한 스트레스 조건에 노출되었을 때 일어나는 행동 변화에 관한 연구는 부족한 실정이다. 금붕어(*Carassius auratus*)를 모델로 하여 행동 분석한 연구(Nimkerdphol & Nakagawa, 2008B)도 Sodium hypochlorite의 독성에 초점이 맞춰져 있다.

매년 4000종 이상의 담수어와 1400종의 해수어를 포함하여 10억 마리 이상의 관상어가 국제적으로 거래되고 있다(Whittington et al., 2007).

관상어 사육은 제한된 수조 내에서 적정 환경을 유지하는 것이 매우 중요하다. 특히, 수온의 변화와 질병을 일으키는 병원체의 관리는 관상어 사육에 있어 중요한 요소이다. 이처럼 관상어 사육 시에 발생할 수 있는 스트레스 환경을 어류의 행동 변화 감지로 초기에 발견할 수 있다면 상황이 악화하기 전에 문제를 막을 수 있다.

따라서 본 연구에서는 인기 있는 담수 관상용 어종인 엔젤피쉬(*Pterophyllum scalare*)를 이용하여 여러 스트레스 조건에서 개체의 행동 변화를 video tracking과 여러 데이터 분석 기법을 이용하여 육안 관찰보다 빨리 감지하는 방법을 찾고자 하였다.



## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 실험어 순치 및 실험 환경

본 연구에서는 질병이 없는 건강한 엔젤피쉬(*Pterophyllum scalare*)를 부산 나모 수족관에서 구입하였으며, 25cm length x 25cm high x 25cm width 수조에서 26°C로 순치하였다. Video tracking은 좌측면과 후면에 흰색 시트지가 부착된 45cm length x 45cm high x 45cm width 수조의 40cm 수위에서 한 마리의 엔젤피쉬를 대상으로 진행하였다. 카메라는 Intel RealSense D435 (Intel Corporation, USA) 2대를 각각 수조 정면과 우측면에서 50cm 떨어진 곳에 설치하였다. 카메라는 video tracking software가 설치된 컴퓨터와 연결하였으며, software는 SoosangST (Korea)에서 개발한 Smart aqua system software를 사용하였다. Video tracking software는 촬영되고 있는 수조 비율을 640x640x480 pixel로 조정하여 촬영되며, frame rate는 3-4 fps이다. 촬영된 데이터는 가로, 세로 및 높이의 좌표, 순간속력, 촬영시간이 출력되어 나타난다.

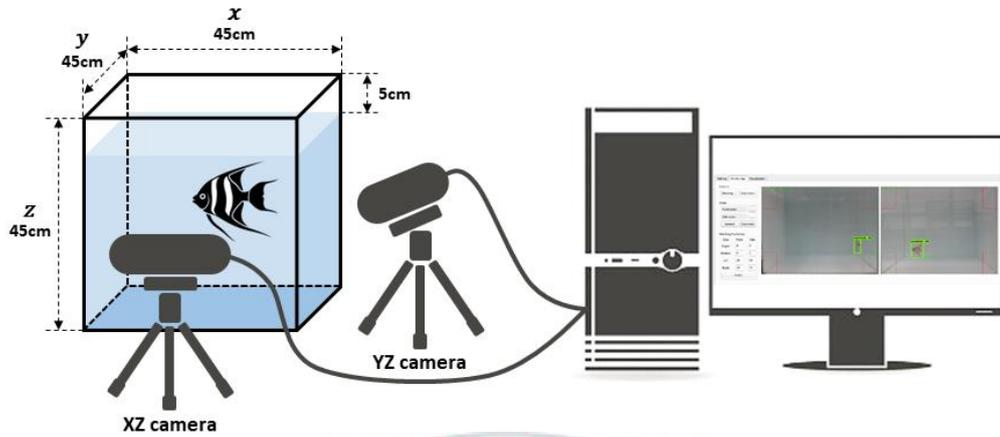
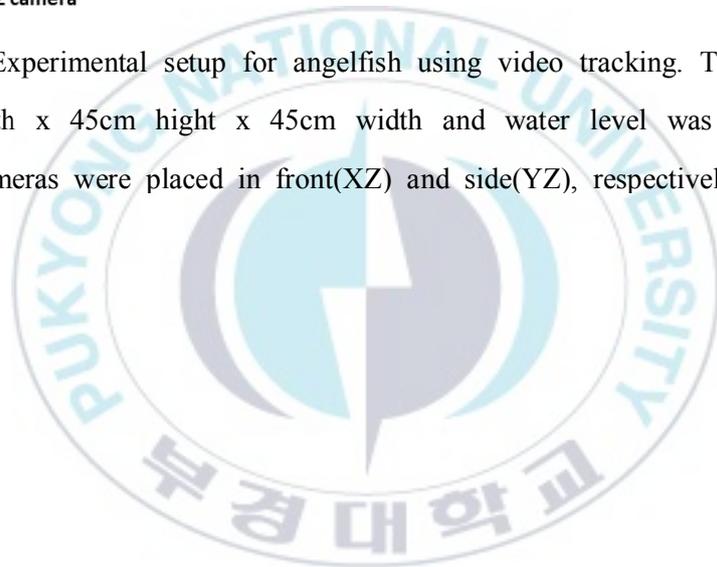


Figure 1. Experimental setup for angelfish using video tracking. The tank was 45cm length x 45cm high x 45cm width and water level was 40cm from bottom. cameras were placed in front(XZ) and side(YZ), respectively.



## 2.2. 어류 행동 데이터 수집

### 2.2.1. 일반 환경 조건

수온이 26℃로 유지되는 수조(45 x 45 x 45cm<sup>3</sup>)에 한 마리의 건강한 엔젤피쉬를 사육하여 행동패턴을 촬영하였다. 엔젤피쉬의 행동 패턴 촬영은 오전 10시부터 오후 18시까지 진행하였으며, 외부 자극으로부터 엔젤피쉬의 행동 변화가 나타나는 것을 방지하기 위해 촬영하는 동안 수조에 자극을 주지 않았다. 행동 패턴은 하루 중 8시간 또는 3일 중 24시간 촬영하여 저장한 후 추후의 분석에 사용하였다. 본 실험은 5마리의 개체를 이용하여 반복실험 하였다.

### 2.2.2. 온도 연관 스트레스 조건

엔젤피쉬에 온도 변화 스트레스를 유발하기 위하여 수온 상승 또는 하강시켰다. 온도 변화 시험은 모두 45 x 45 x 45cm<sup>3</sup> 수조에서 진행하였다. 수온 상승 시험은 26℃의 수온을 4시간 동안 10℃ 상승하여 36℃에 도달하였으며, 이후 4시간 동안 36℃를 유지하였다. 26℃에서 36℃로 수온을 상승하는 과정을 수온 상승 구간이라고 설정하였으며, 36℃를 유지하는 과정을 고수온 구간이라고 설정하였다.

수온 하강 시험은 26℃의 수온을 4시간 동안 10℃ 하강하여 16℃에 도달하였으며, 이후 4시간 동안 16℃를 유지하였다. 26℃에서 16℃로 수온을 하강하는 과정을 수온 하강 구간이라고 설정하였으며, 16℃를 유지하는 과정을 저수온 구간이라고 설정하였다. 수온을 변화 시간 동안 연속적으로 행동 패턴을 촬영하였으며, 오전 10시부터 오후 18시까지 촬영을 진행하였다. 행동 패턴 촬영은 각각 5회 반복하여 실시하였다.

### 2.2.3. 세균 인위감염 조건

세균에 감염된 엔젤피쉬의 행동을 촬영하기 위해 인위적으로 세균을 감염시켰다. 본 연구에서는 병원성이 강한 *Aeromonas hydrophila* AC133 균주와 *Edwardsiella piscicida* KE1 균주를 사용하였다. 동결되어있는 두 균주는 tryptic soy agar(TSA)에 접종하여 28℃에서 18-24시간 배양하였다. 배양한 균은  $10^7$ CFU/ml의 농도로 균액을 제작하였으며, MS-222(Sigma)로 마취시킨 엔젤피쉬에 균액 100 $\mu$ l를 복강주사하였다. 마취에 의한 엔젤피쉬의 행동 변화를 피하기 위해 균 접종 후 한 시간 이후부터 폐사가 발생하는 날까지 오전 10시에서 오후 18시 사이에 촬영을 실시하였다. 추후 행동 패턴 분석은 폐사 이틀 전, 폐사 하루 전 그리고 폐사 당일의 데이터를 사용하였으며, 폐사 이틀 전을 D-2, 폐사 하루 전을 D-1 그리고 폐사 당일을 D-day로 설정하였다. 행동 패턴 촬영은 두 균주 접종시험 모두 각각 5회 반복실시하였다.

## 2.3. 행동 패턴 분석

### 2.3.1. 데이터 교정

Video tracking으로 획득한 엔젤피쉬의 좌표값은 수조의 원근법에 의해 왜곡된 좌표로 출력된다. 이를 해결하고자 실제 좌표로 변환하는 계산과정이 필요하다. 좌표 변환을 위해 Nimkerdphol and Nakagawa (2008)의 방정식을 일부 수정하여 계산하였다.

$$\begin{aligned}
 x' &= x + \Delta x; \\
 \Delta x &= x_d \times \frac{x - x_c}{(x_{innerwidth}/2)} \\
 &\quad \times \left[ \left( 1 - \frac{x - x_{outermin}}{x_{outerwidth}} \right) \times \left( \frac{y - y_{innermin}}{y_{innerwidth}} \right) + \left( \frac{x - x_{outermin}}{x_{outerwidth}} \right) \times \left( \frac{y - y_{outermin}}{y_{outerwidth}} \right) \right] \quad (1)
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 y' &= y + \Delta y; \\
 \Delta y &= y_d \times \frac{y - y_c}{(y_{innerwidth}/2)} \times \left( 1 - \frac{x'}{x_{outerwidth}} \right) \quad (2)
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 z' &= z + \Delta z; \\
 \Delta z &= z_d \times \frac{z - z_c}{(z_{innerwidth}/2)} \times \left( \frac{y'}{y_{outerwidth}} \right) \quad (3)
 \end{aligned}$$

$x'$ ,  $y'$ ,  $z'$ 은 좌표 변환 방정식을 통해 계산된 실제 좌표이다.  $x$ ,  $y$ ,  $z$ 는 video tracking으로부터 출력된  $x$ 축,  $y$ 축,  $z$ 축에 대응하는 어류의 좌표이다.  $\Delta x$ ,  $\Delta y$ ,  $\Delta z$ 는 각각  $x$ 축,  $y$ 축,  $z$ 축으로부터 계산된 결과이며,  $x_c$ ,  $y_c$ ,  $z_c$ 는 각각  $x$ 축,  $y$ 축,  $z$ 축의 중앙 좌표이다.  $x_d$ ,  $y_d$ ,  $z_d$ 는 카메라와 가까운  $x$ 축,  $y$ 축,  $z$ 축과 카메라와 멀리 떨어진  $x$ 축,  $y$ 축,  $z$ 축 사이 거리의 평균이다.  $x_{outerwidth}$ ,  $y_{outerwidth}$ ,  $z_{outerwidth}$ 는 각각 카메라와 가까운  $x$ 축,  $y$ 축,  $z$ 축의 길이이며,  $x_{innerwidth}$ ,  $y_{innerwidth}$ ,  $z_{innerwidth}$ 는 각각 카메라와 멀리 떨어진  $x$ 축,

y축, z축의 길이이다.  $x_{outermin}$ ,  $y_{outermin}$ ,  $z_{outermin}$ 은 각각 카메라와 가까운 x축, y축, z축의 최소 좌표이며,  $x_{outermax}$ ,  $y_{outermax}$ ,  $z_{outermax}$ 는 각각 카메라와 가까운 x축, y축, z축의 최대 좌표이다.  $x_{innermin}$ ,  $y_{innermin}$ ,  $z_{innermin}$ 은 각각 카메라와 가까운 x축, y축, z축의 최소 좌표이며,  $x_{innermax}$ ,  $y_{innermax}$ ,  $z_{innermax}$ 는 각각 카메라와 가까운 x축, y축, z축의 최대 좌표이다.



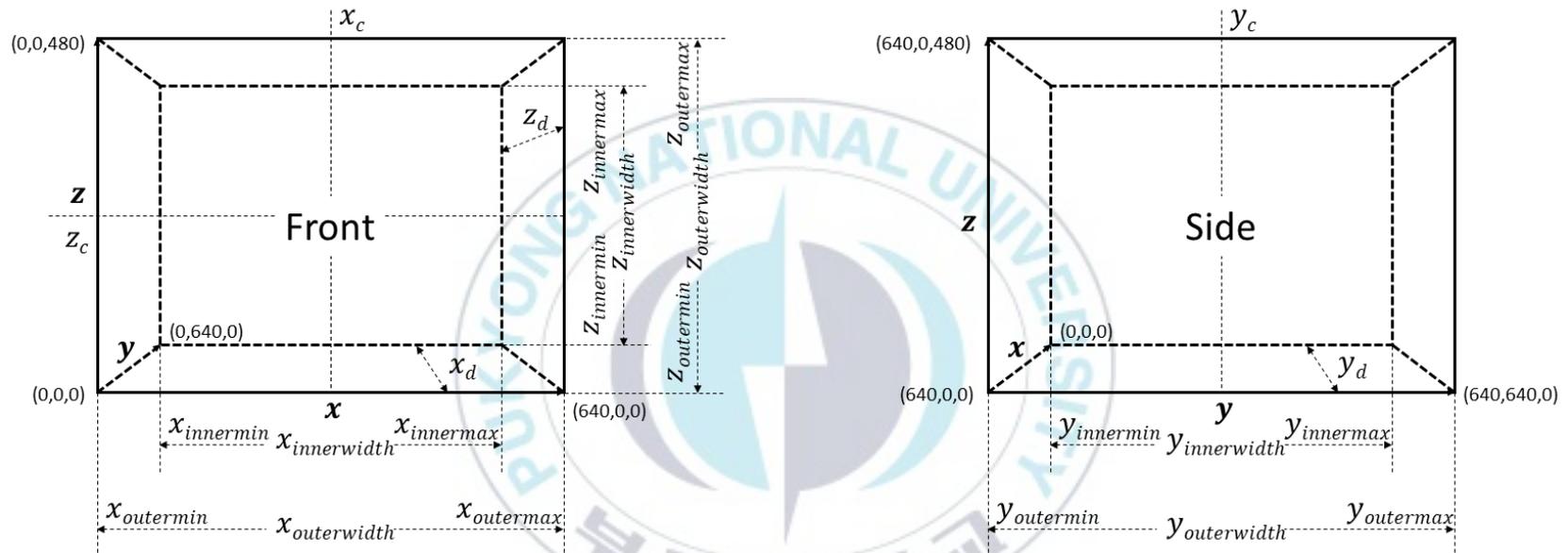


Figure 2. Parameters used in equations for coordinate transformation.

### 2.3.2. 속력 분석

수온 변화 스트레스 시험의 속력 데이터는 수온 상승(26°C to 36°C), 고수온(36°C), 수온 하강(26°C to 16°C), 저수온(16°C)으로 구분하여 분석하였다. 온도 변화 스트레스 시험의 속력 분석은 수온 변화 구간별 4시간 데이터에 대해 실시하였다. 정상 수온 구간은 촬영된 8시간 데이터 중 연속된 4시간 데이터를 선택하여 속력을 분석하였으며, 온도 변화 스트레스 구간과 비교 분석하였다.

세균 감염 스트레스 시험의 속력 데이터는 *A. hydrophila*와 *E. piscicida* 두 균종에 대해 각각 폐사 이틀 전, 폐사 하루 전, 폐사 당일의 연속적인 8시간 데이터를 사용하여 분석하였다. 정상상태 구간은 연속으로 촬영한 3일 데이터 중 8시간 데이터를 일별로 선택하여 분석을 진행하였다.

속력 데이터는 평균 속력과 1초당 속력 변화량 항목에 대하여 분석을 실시하였다.

### 2.3.3. 위치 분석

위치 분석은 모든 촬영 시험에 대하여 실제 좌표로 변환된 좌표값으로 분석하였다. 위치 분석에 사용된 데이터는 정상상태 및 모든 스트레스 구간의 속력 분석 데이터와 상응하는 좌표값으로 분석을 실시하였다.

위치 데이터는 수조 높이에 따른 분포 시간, 수조 공간 활용, fractal dimension 항목에 대해 분석을 실시하였다. 수조 높이에 따른 분포 시간 분석은 촬영된 수조를 높이에 따라 하층부, 중층부, 상층부로 구분하여 분석을 진행하였다. 공간 활용 항목은 수조의 가로, 세로 높이를 각각 16등분하여 전체 수조 공간을 4096개로 구분하였으며, 전체 수조 공간 대비 유휴 공간의 비율을 분석하였다. Fractal dimension 분석은 box-counting 방법을 사용하여 계산하였다. 정면인 XZ면과 우측면인 YZ면을 각각 0.625, 1.25, 2.5, 5, 10, 20, 44, 80, 160 pixel 크기의 정사각형 상자로 면적을 구분하였으며, 엔젤피쉬의 행동 좌표를 포함하는 상자 개수를 counting하였다. Fractal dimension은 다음과 같은 식을 사용하여 계산하였다.

$$D = - \lim_{n \rightarrow \infty} \frac{\ln N}{\ln \epsilon} \quad (4)$$

여기서 N은 box의 개수,  $\epsilon$ 은 box size이다.

### 2.3.4. Machine learning model

Machine learning을 위해 video tracking software로 얻은 좌표 데이터의 전처리 과정을 실시하였다. Machine learning으로 학습할 모든 데이터는 일정한 sequence로 자르고, 하나의 sequence중 1/3이 중첩되도록 나열하였다. Machine learning에 사용된 모델은 순환신경망(Recurrent Neural Network)이며 그 중 LSTM(Long Short-Term Memory) 모델을 사용하였다. Machine learning 과정은 figure 3에 나타내었다.

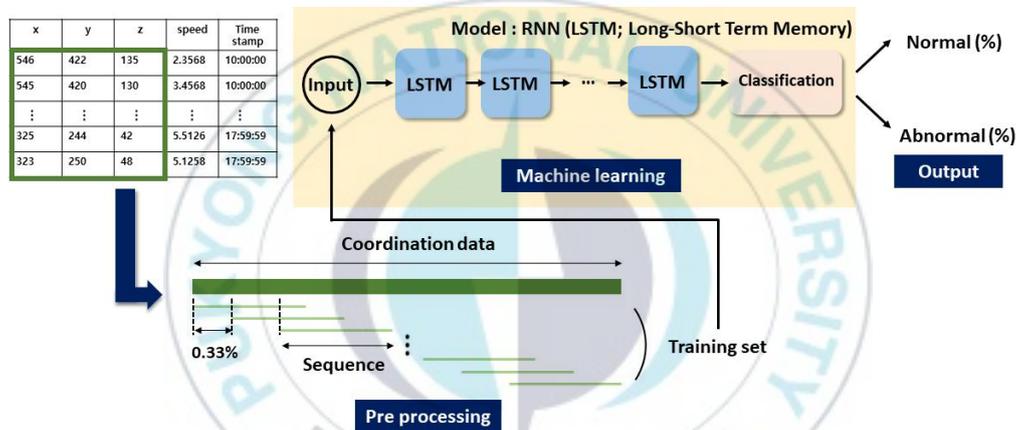


Figure 3. Process of machine learning.

### 2.4. 통계분석

속력 및 위치 분석으로 도출된 결과는 SPSS v20.0(IBM, NY, USA)의 one-way analysis of variance(ANOVA) test로 확인하였으며, 사후검정은 Duncan's multiple range test 방법을 이용하여 유의성을 검정하였다( $p < 0.05$ ).

### 3. 결과

#### 3.1. 수온 변화에 따른 행동 패턴

##### 3.1.1. Video tracking data validation

Video tracking software를 이용하여 수온 변화에 따른 행동 데이터를 수집하였으며, 각 조건에 따른 데이터의 수를 Table 1에 나타내었다. 온도 변화에 따른 모든 데이터 개수는 평균 52,532개였으며 표준편차는  $\pm 3,241$ 개였다. 모든 온도 변화 조건에서 도출된 좌표의 개수 간에는 유의적인 차이는 없었다.

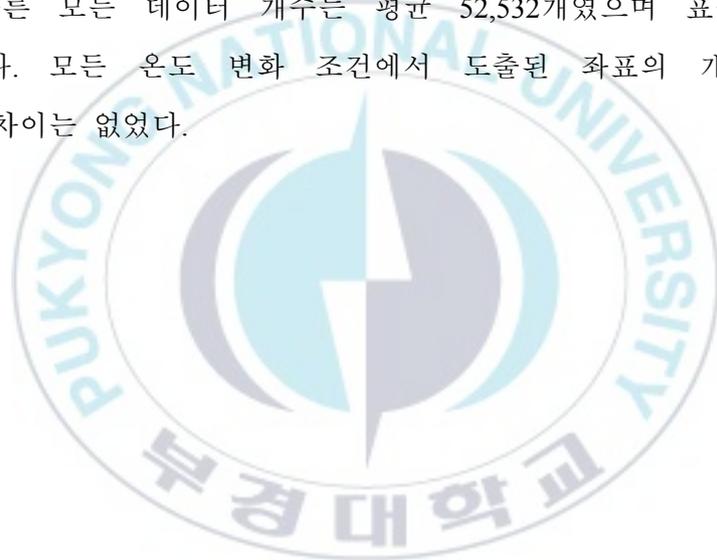


Table 1. Numbers of spatial coordinates based on the movement of angelfish under acute water temperature change.

Acute temperature change stress	Number of data				
	Trial 1	Trial 2	Trial 3	Trial 4	Trial 5
Normal temperature (26°C)	55,255	51,481	47,427	52,606	55,977
Increasing temperature (26°C→36°C)	56,397	49,894	49,100	54,973	59,921
High temperature (36°C)	52,699	47,583	52,775	50,640	53,458
Decreasing temperature (26°C→16°C)	55,410	55,940	50,069	53,559	52,866
Low temperature (16°C)	50,265	53,259	55,295	49,763	46,682

### 3.1.2. 속력 분석

Video tracking을 통해 출력된 속력 데이터를 온도 변화 그룹별로 종합하여 히스토그램으로 나타내었다(Figure 4). 각 그룹별로 속력 분포를 나열한 결과, 정상 수온과 비교하여 모든 수온 변화 구간에서 5mm/s 이하의 속력구간이 높은 분포 비율을 나타내는 경향을 보였다. 정상 수온, 수온 상승, 고수온, 수온 하강, 저수온 그룹의 5mm/s 이하의 속력 분포 비율은 각각 55%, 80%, 81%, 63%, 82%였다.



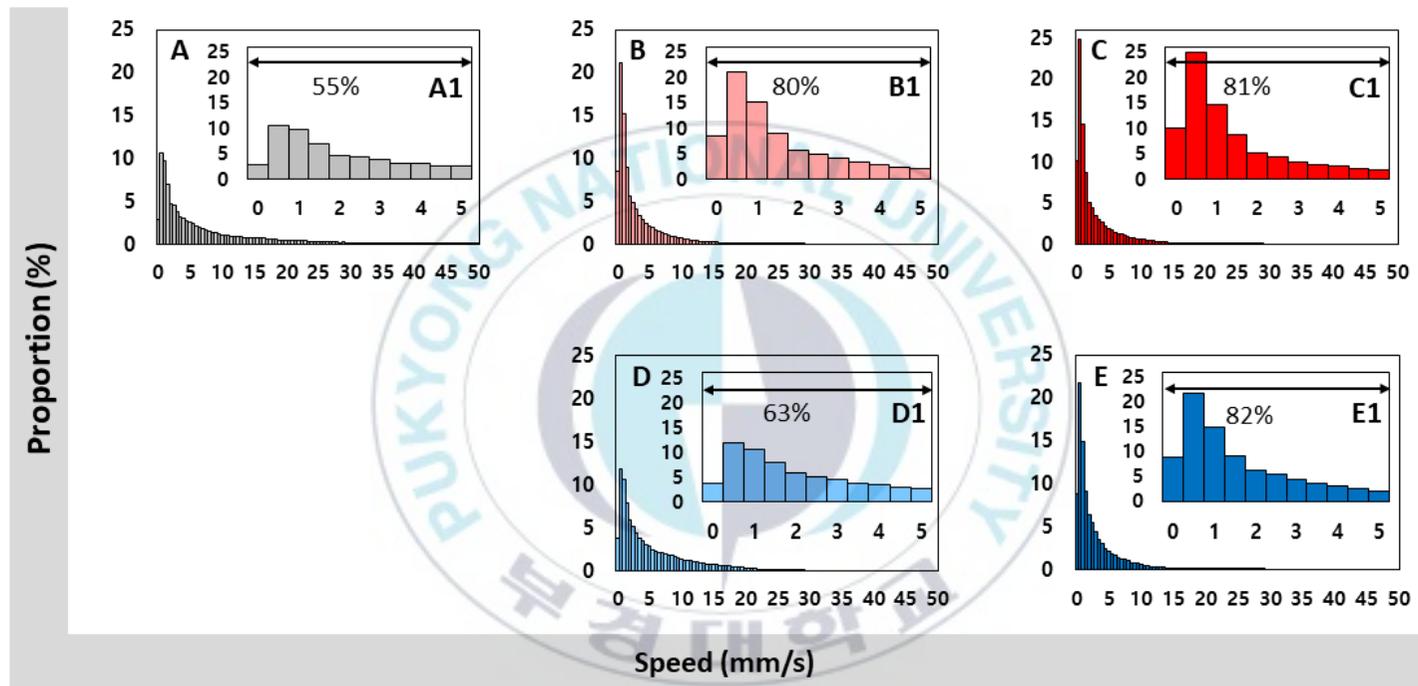


Figure 4. Speed histogram according to water temperature change. Speed distributions of angelfish in normal water temperature (26°C) (A), increasing temperature (26°C to 36°C) (B), high temperature (36°C) (C), decreasing temperature (26°C to 16°C) (D) and low temperature (16°C) (E) are shown. A1, B1, C1, D1 and E1 indicate proportions at speeds below 5mm/s.

정상 수온(대조군), 수온 상승, 고수온, 수온 하강, 저수온 그룹의 평균 속력은 각각 8.47 mm/s, 4.12 mm/s, 3.9 mm/s, 6.26 mm/s, 3.68 mm/s였다. 수온 하강 그룹을 제외한 모든 온도 변화 그룹은 정상 수온 그룹과 비교하여 유의적으로 낮은 평균 속력을 나타내었다(Figure 5A).

1초당 속력 변화량의 평균을 분석한 결과, 정상 수온, 수온 상승, 고수온, 수온 하강, 저수온 그룹은 각각 2.91 mm/s, 1.3 mm/s, 1.24 mm/s, 1.7 mm/s, 0.91 mm/s였다. 모든 온도 변화 그룹은 대조군에 비해 유의적으로 낮은 속력 변화량을 나타내었다(Figure 5B).

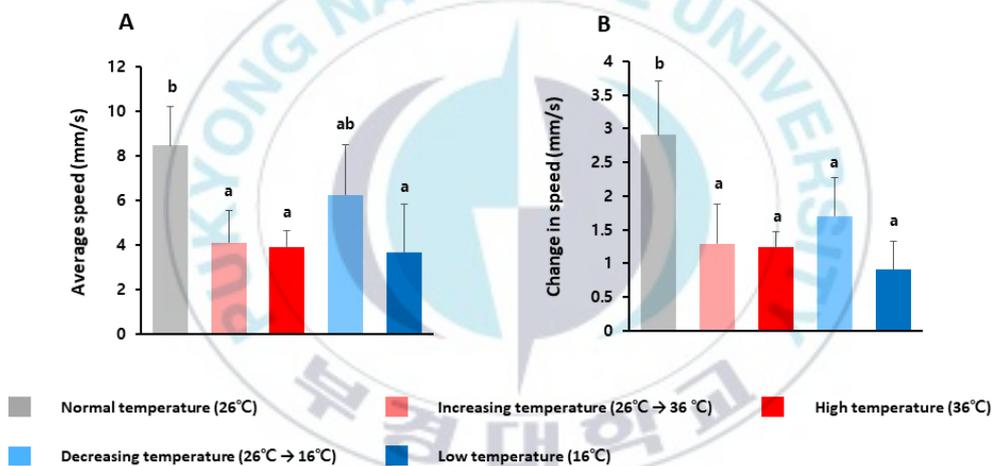


Figure 5. Average speed (A) and changes in speed (per second) (B) of angelfish exposed to water temperature alterations. Different letters indicate statistically significant differences between normal temperature group and other groups (analyzed using Duncan's multiple range test) ( $P < 0.05$ )

### 3.1.3. 위치 분석

Video tracking으로부터 도출된 좌표를 이용하여 수온 변화에 따른 엔젤피쉬의 위치를 분석하였다. 정상 수온 그룹 및 수온 변화 그룹에서 4시간 동안의 엔젤피쉬 행동 좌표를 무작위로 선정하여 3차원 공간에서 재구성하였다. 수온 변화 스트레스 발생 시 엔젤피쉬의 유형 패턴이 다양하게 나타나는 것을 확인하였다(Figure 6).

온도 변화에 따른 엔젤피쉬의 수조 공간 활용 비율을 분석한 결과, 고수온과 수온 하강 그룹에서 유의적인 차이를 보였으나, 정상 수온과 비교하여 모든 온도 변화 그룹에서 유의적인 차이는 보이지 않았다(Figure 7).



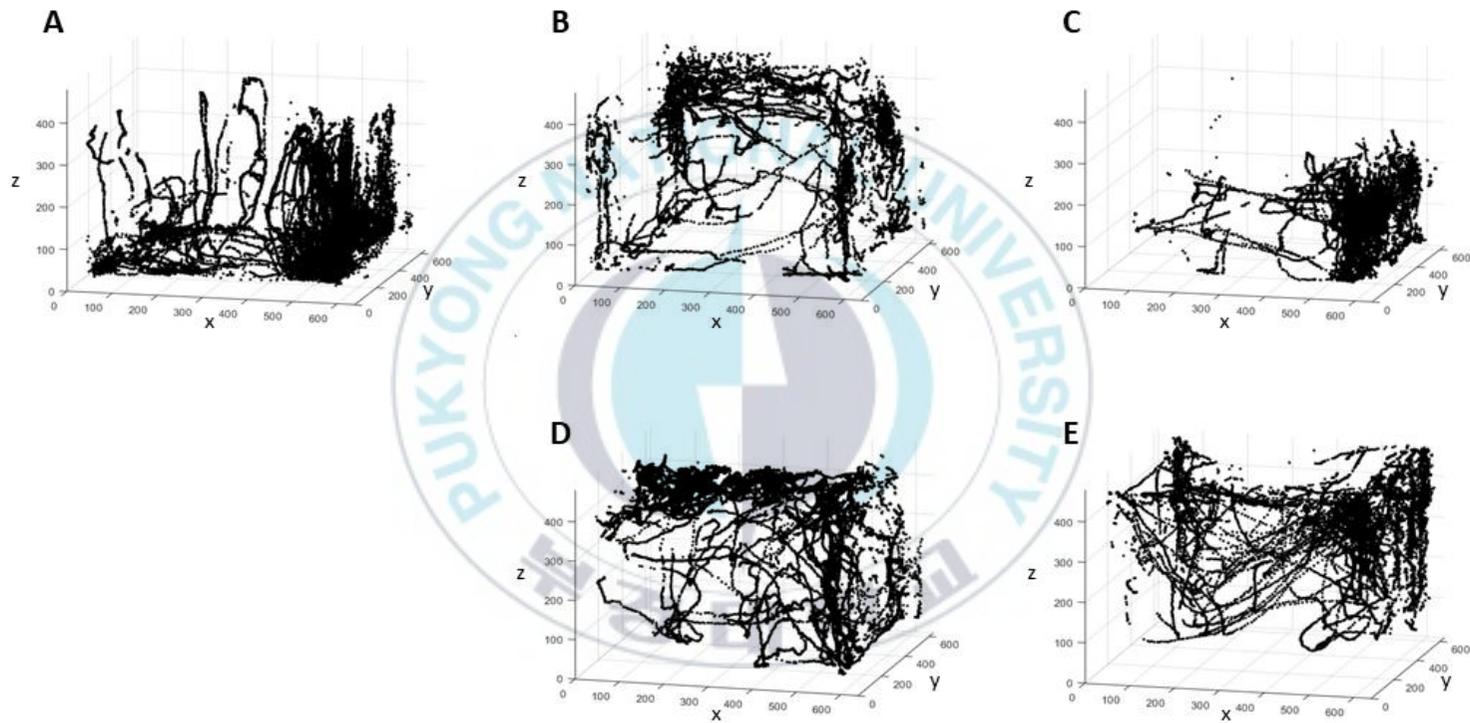


Figure 6. Tracking results (3D scatter plot) on different groups with 4 hours as duration. Normal temperature (26°C) (A), increasing temperature (26°C to 36°C) (B), high temperature (36°C) (C), decreasing temperature (26°C to 16°C) (D) and low temperature (16°C) (E) are shown.

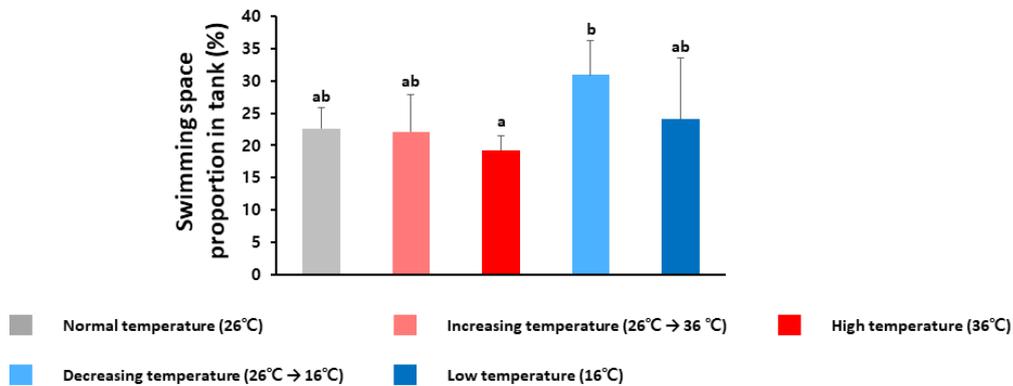


Figure 7. Spatial distribution of fish in the tank under varying water temperature-related conditions. Different letters indicate statistically significant difference determined by Duncan's multiple range test ( $P < 0.05$ ).

수조를 높이에 따라 3등분하여 하층부, 중층부, 상층부로 나뉘었으며, 각각의 공간 범위에 따라 분포 시간의 비율을 분석하였다(Figure 8). 수조 하층부에서의 정상수온, 수온 상승, 고수온, 수온 하강, 저수온 그룹의 평균 분포 비율은 각각 55.5%, 30.5%, 22.03%, 32.97%, 6.37%였으며, 정상 수온 그룹 대비 모든 온도 변화 그룹에서 유의적으로 낮은 분포 비율을 나타내었다(Figure 8A). 수조 중층부에서의 평균 분포 비율은 각각 30.5%, 45.73%, 62.23%, 25.41%, 18.66%이며, 정상 수온 그룹 대비 수온 상승 및 고수온 그룹에서 유의적으로 높은 분포 비율을 나타내었다(Figure 8B). 수조 상층부에서의 평균 분포 비율은 각각 14%, 23.77%, 15.74%, 41.62%, 74.97%이며, 저수온 그룹에서만 정상 수온 대비 유의적으로 높은 분포 비율을 나타내었다(Figure 8C).

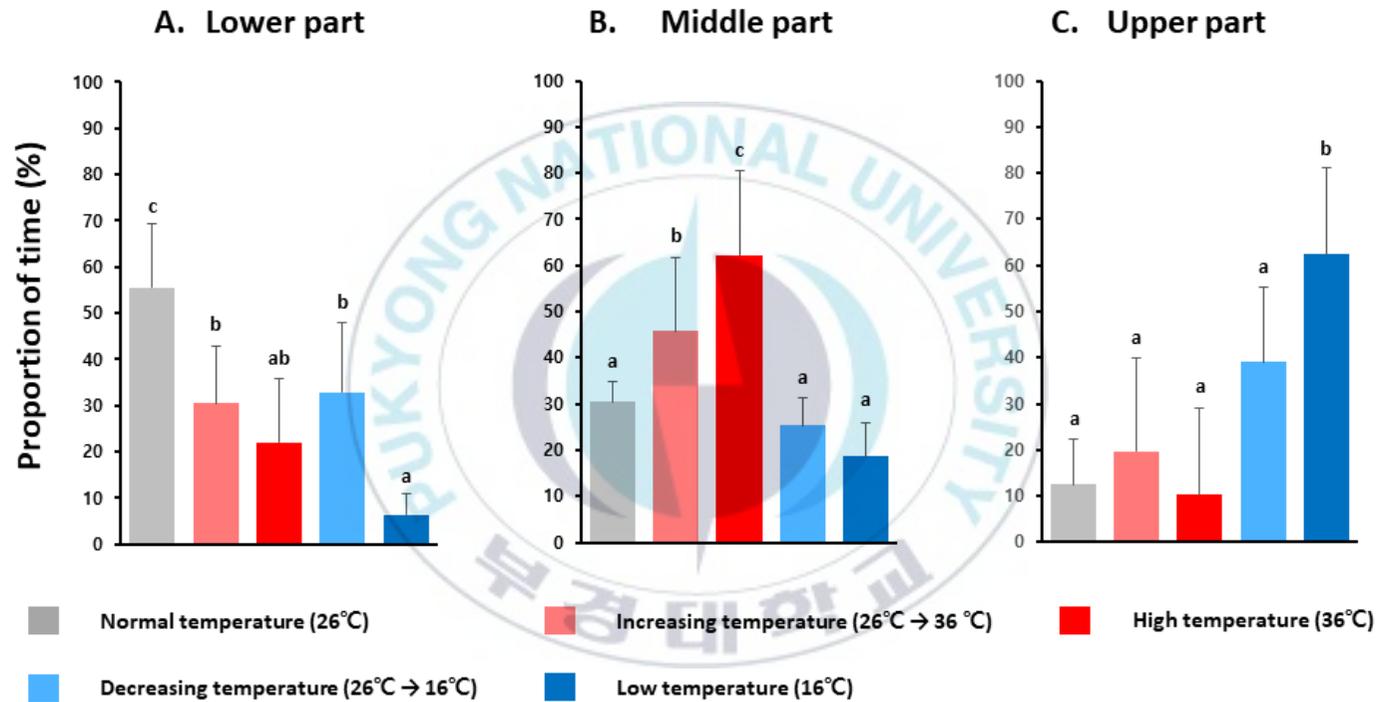


Figure 8. Proportion of time that angelfish spend at the lower (A), middle (B), and upper part (C) of the tank. Different letters indicate statistically significant differences ( $P < 0.05$ ).

Fractal dimension 분석 결과, 정면인 XZ-side에서 정상 수온, 수온 상승, 고수온, 수온 하강, 저수온 그룹의 FD value는 각각 1.44, 1.33, 1.32, 1.37, 1.34였다(Figure 9A). 측면인 YZ-side에의 FD value는 각각 1.44, 1.31, 1.35, 1.38, 1.34였다(Figure 9B). XZ-side와 YZ-side에서 모두 정상 수온과 비교하여 모든 온도 변화 그룹에서 유의적으로 낮은 FD value를 나타내었다.

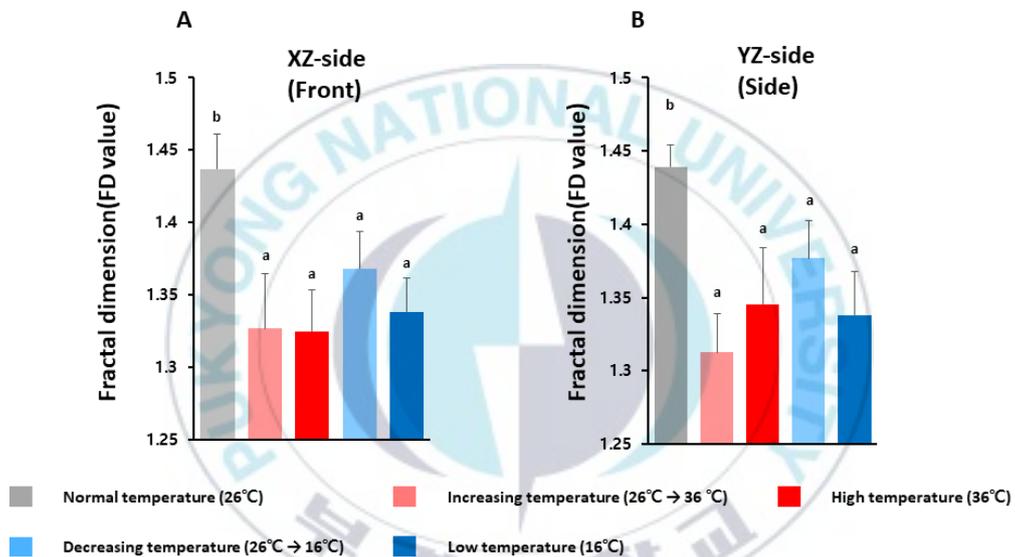


Figure 9. Fractal dimension values of fish in different groups. Different letters indicate statistically significant differences ( $P < 0.05$ ).

## 3.2. 세균 감염에 따른 행동 패턴

### 3.2.1. Video tracking data validation

Video tracking software를 이용하여 *A. hydrophila* 및 *E. piscicida* 감염에 따른 엔젤피쉬의 행동 변화 데이터를 수집하였으며, 정상상태 및 세균 감염 시 좌표의 개수를 Table 2에 나타내었다. 모든 조건에 따른 데이터 개수는 평균 89,445개였으며 표준편차는  $\pm 9,244$ 개였다.



Table 2. Numbers of spatial coordinates based on the movement of angelfish infected with *Aeromonas hydrophila* and *Edwardsiella piscicida*.

Bacterial infection		Number of data				
		Trial 1	Trial 2	Trial 3	Trial 4	Trial 5
Normal condition	Day 1	95,219	92,264	89,910	98,656	100,790
	Day 2	93,125	88,942	94,350	103,152	82,756
	Day 3	88,642	90,980	101,032	89,120	83,156
<i>A. hydrophila</i> infection	Two days before death	91,447	98,853	80,473	89,826	94,061
	One day before death	87,967	84,949	86,898	91,479	85,386
	The day of death	79,984	84,718	82,631	98,131	78,336
<i>E. piscicida</i> infection	Two days before death	99,520	80,433	109,156	86,412	84,656
	One day before death	80,547	83,991	95,312	99,439	81,560
	The day of death	63,005	108,268	69,361	81,482	94,651

### 3.2.2. 속력 분석

정상상태 및 *A. hydrophila*, *E. piscicida* 세균 감염 그룹별로 폐사 발생 이틀 전부터 폐사 당일까지의 속력 데이터를 히스토그램으로 나타내었다(Figure 10 and Figure 11). 각각의 그룹별로 속력 분포를 나열한 결과, 정상상태의 1, 2, 3일 차의 5mm/s 이하의 속력 분포 비율은 각각 61%, 58%, 61%였다. *A. hydrophila*와 *E. piscicida*에 감염시킨 후 폐사가 일어나기 2일 전, 1일 전과 폐사한 당일의 5mm/s 이하 속력 분포 비율은 각각 60%, 62%, 73%와 62%, 64%, 81%였다. 본 결과에서 알 수 있듯이 폐사가 일어난 당일 엔젤피쉬의 속력이 유의적으로 감소하는 것이 관찰되었다.



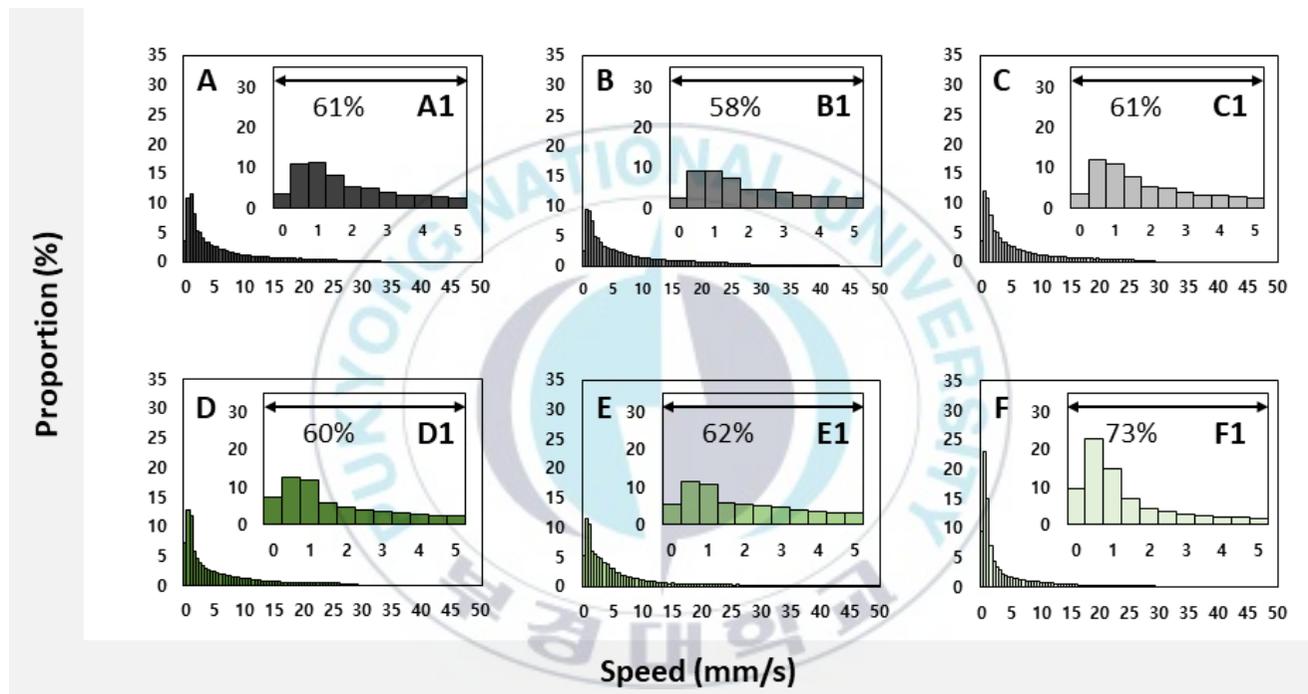


Figure 10. Speed histogram according to *A. hydrophila* infection. Speed distributions of angelfish in normal condition (A, Day 1; B, Day 2; C, Day 3) and *A. hydrophila* infection (D, two days before death; E, one day before death; F, the day of death) are shown. A1, B1, C1, D1, E1 and F1 indicate proportions at speeds below 5mm/s. 26

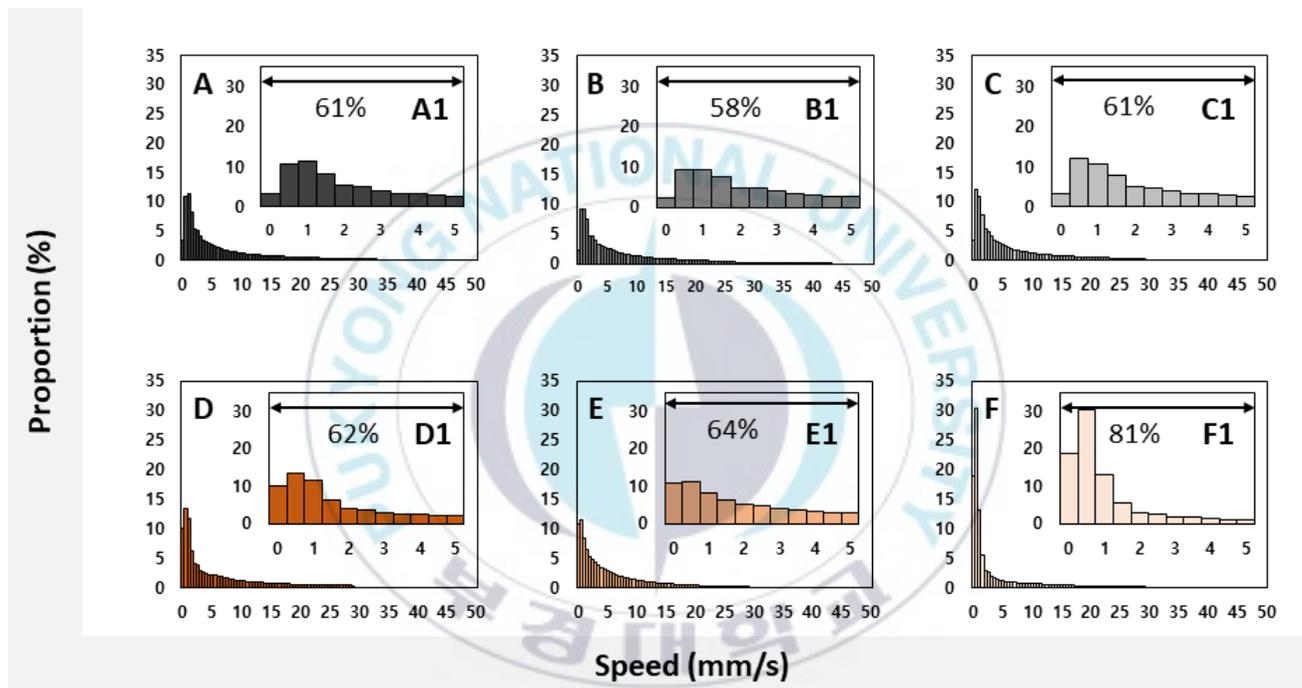


Figure 11. Speed histogram according to *E. piscicida* infection. Speed distributions of angelfish in normal condition (A, Day 1; B, Day 2; C, Day 3) and *E. piscicida* infection (D, two days before death; E, one day before death; F, the day of death) are shown. A1, B1, C1, D1, E1 and F1 indicate proportions at speeds below 5mm/s. 27

정상상태 및 세균 감염 시 평균 속력을 Figure 12A.에 나타내었다. 폐사 이틀 전 *A. hydrophila* 감염 시 정상상태보다 유의적으로 높은 평균속력을 나타내었으며, 폐사 당일에는 *A. hydrophila* 및 *E. piscicida* 감염 그룹 모두 정상상태 대비 유의적으로 낮은 평균 속력을 나타내었다.

엔젤피쉬의 1초당 속력 변화량의 평균을 분석한 결과, 폐사 이틀 전 병원체에 감염된 두 그룹 모두 대조군에 비해 속력 변화량이 유의적으로 높았다. 다만, *A. hydrophila* 감염 구간에서만 폐사 하루 전에 정상상태 대비 유의적으로 높은 변화량을 나타내었다(Figure 12B).

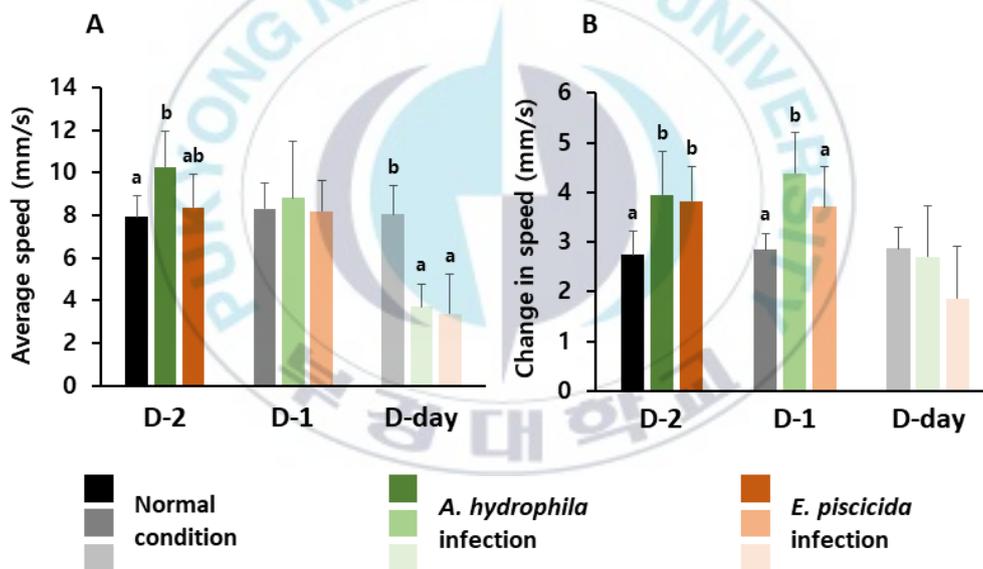


Figure 12. Average speed (A) and changes in speed (mm/s) (B) of angelfish artificially challenged with a bacterial pathogen. D-day indicates the day that fish was killed due to bacterial infection. Different letters indicate statistically significant difference determined by Duncan's multiple range test ( $P < 0.05$ ).

### 3.2.3. 위치 분석

Video tracking으로부터 도출된 좌표를 이용하여 세균 감염에 따른 엔젤피쉬의 위치를 분석하였다. 정상상태 그룹 및 세균 감염 그룹에서 8시간 동안의 엔젤피쉬 행동 좌표를 3차원 공간에서 재구성하였으며, 세균 감염 시 엔젤피쉬의 유명 패턴이 다양하게 나타나는 것을 확인하였다(Figure 13).



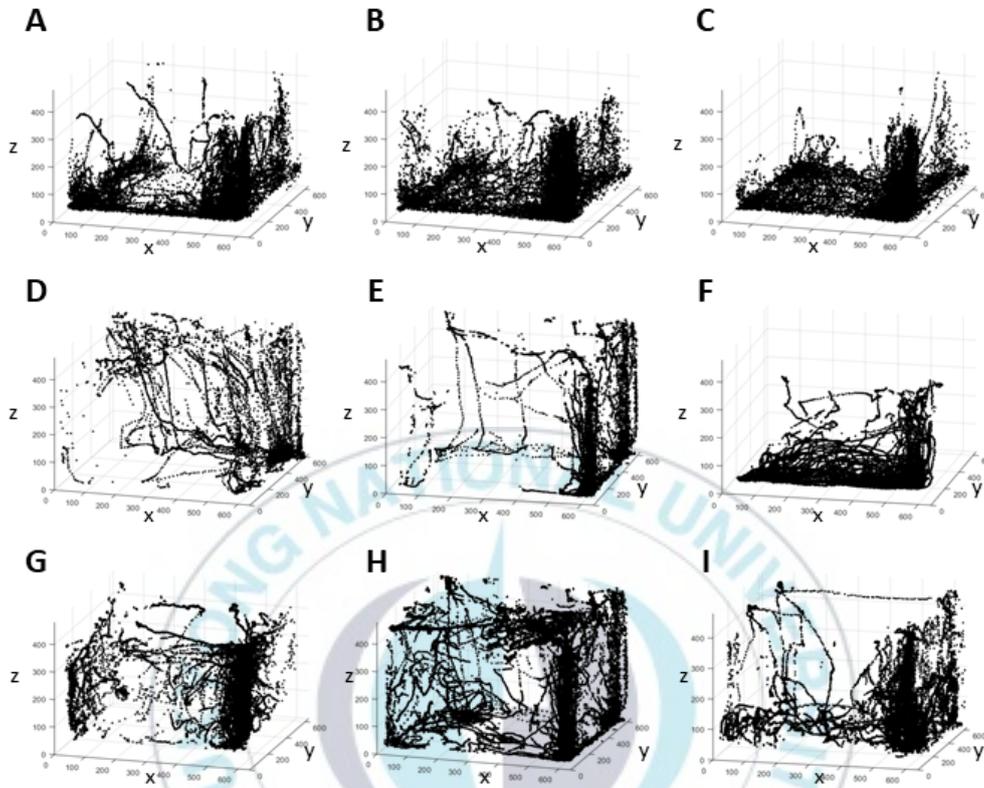


Figure 13. Examples of tracking results (3D scatter plot) on different groups with 8 hours as duration. Normal condition(A; day 1; B, day 2; C, day 3), *A. hydrophila* infection (D, two days before death; E, one day before death; F, the day of death) and *E. piscicida* infection (G, two days before death; H, one day before death; I, the day of death) are shown.

정상상태와 *A. hydrophila* 및 *E. piscicida* 감염 시 엔젤피쉬의 수조 공간 활용을 분석한 결과, 폐사가 발생한 당일 모든 감염 그룹에서 정상상태와 비교하여 유의적으로 낮은 공간 활용을 보였다(Figure 14).

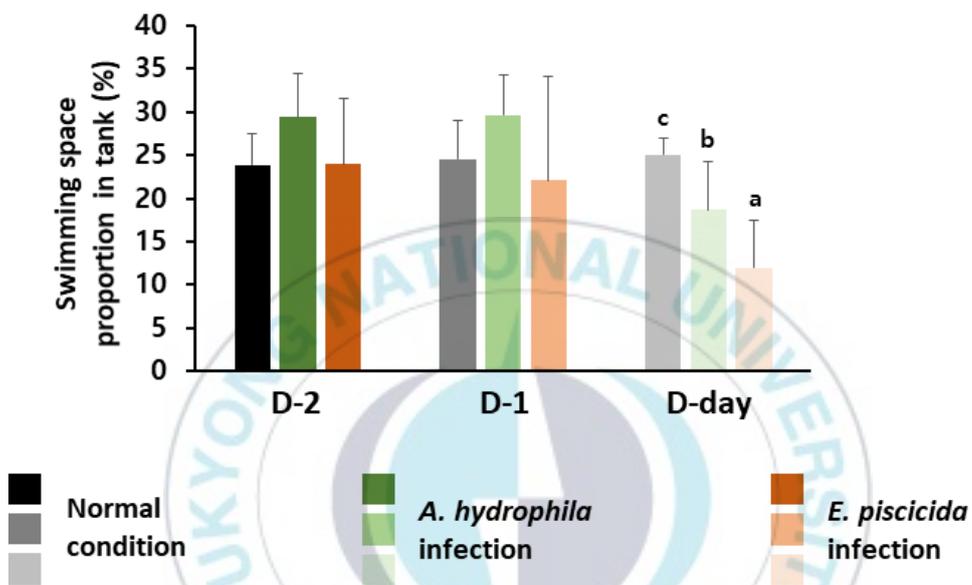
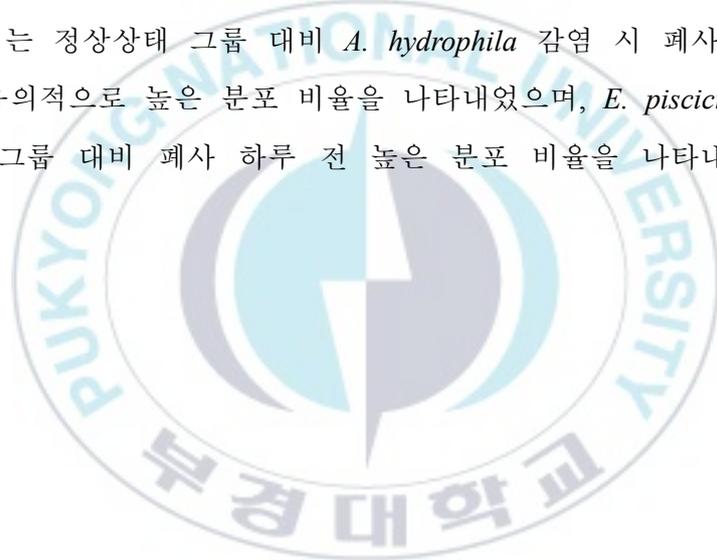


Figure 14. Spatial distribution of fish in the tank under bacterial infection. Different letters indicate statistically significant difference determined by Duncan's multiple range test ( $P < 0.05$ ).

수조를 높이에 따라 3등분하여 하층부, 중층부, 상층부로 나뉘었으며, 각각의 공간 범위에 따라 분포 시간의 비율을 분석하였다(Figure 15). 수조 하층부에서는 정상상태 그룹 대비 *A. hydrophila* 감염 시 폐사 당일 유의적으로 높은 분포 비율을 나타내었으며, *E. piscicida* 감염 시 정상상태 그룹 대비 폐사 이틀 전과 하루 전 유의적으로 낮은 분포 비율을 나타내고 폐사 당일에는 유의적으로 높은 분포 비율을 나타내었다(Figure 15A). 수조 중층부에서는 정상상태 그룹 대비 *A. hydrophila* 및 *E. piscicida* 감염 시 폐사 당일에 유의적으로 낮은 분포 비율을 나타내었다(Figure 15B). 수조 하층부에서는 정상상태 그룹 대비 *A. hydrophila* 감염 시 폐사 이틀 전과 하루 전 유의적으로 높은 분포 비율을 나타내었으며, *E. piscicida* 감염 시 정상상태 그룹 대비 폐사 하루 전 높은 분포 비율을 나타내었다(Figure 15C).



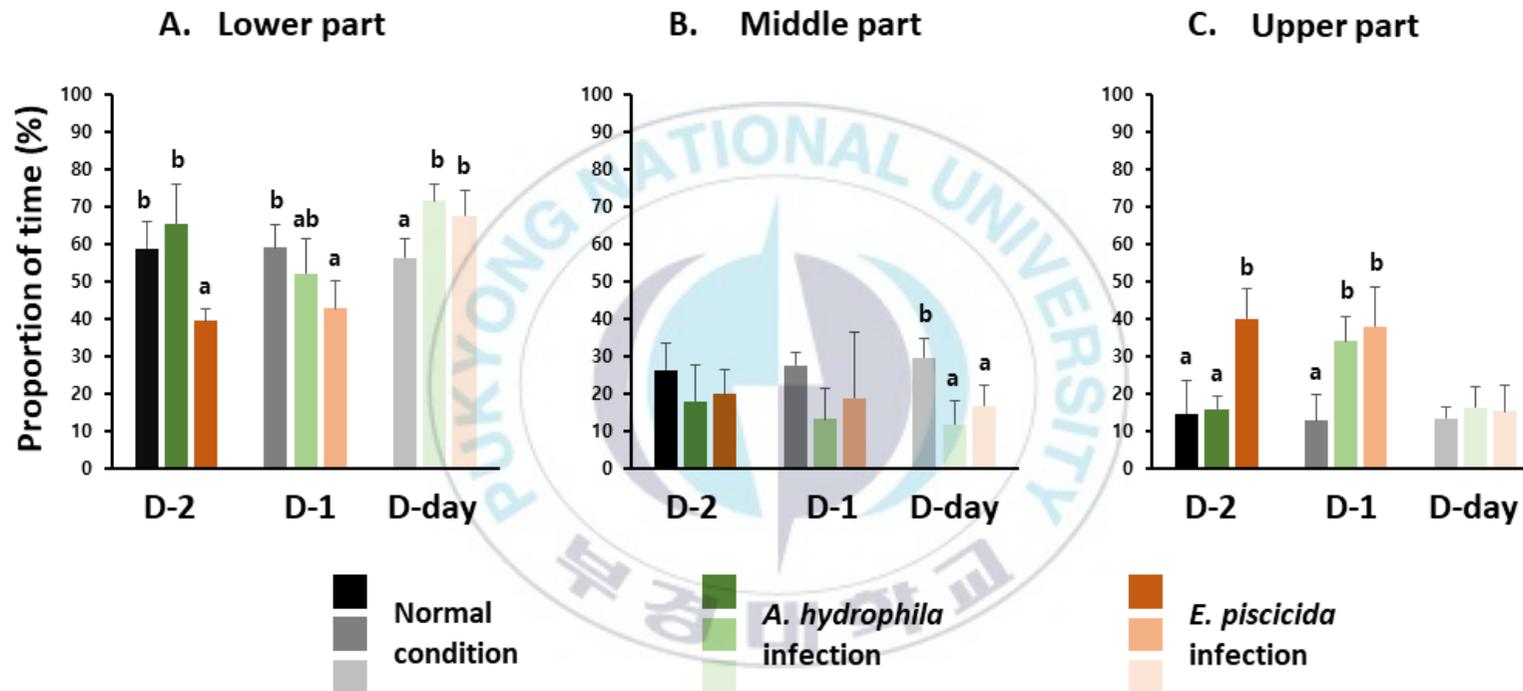


Figure 15. Proportion of time that angelfish spend at the lower (A), middle (B), and upper part (C) of tank. Different letters indicate statistically significant differences ( $P < 0.05$ ).

Fractal dimension 분석 결과, XZ-side에서 폐사 하루 전, *E. piscicida* 감염 시 FD value는 정상 대비 유의적으로 높았으며, 폐사 당일에는 *A. hydrophila* 및 *E. piscicida* 감염 그룹 모두 정상 대비 유의적으로 낮은 FD value를 나타내었다(Figure 16A). YZ-side에서는 폐사 당일에서만 두 균 감염 그룹 모두 정상상태 대비 유의적으로 낮은 FD value를 나타내었다(Figure 16B).

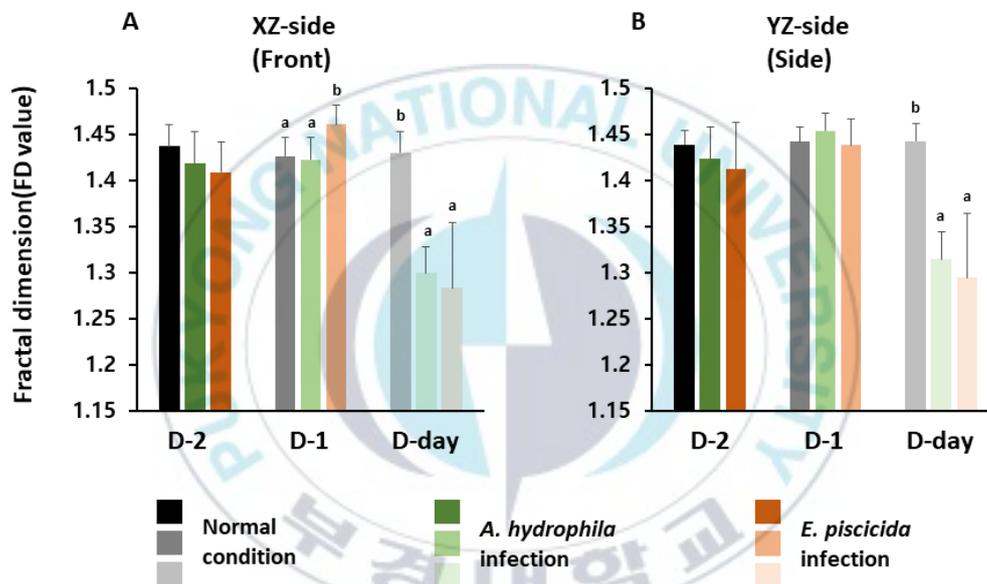


Figure 16. Fractal dimension values of fish in different groups. Different letters indicate statistically significant differences ( $P < 0.05$ ).

### 3.3. Machine learning을 이용한 이상 행동 분석

#### 3.3.1. Training accuracy test

본 연구에서는 순환 신경망(RNN) 모델 중 LSTM 모델을 사용하여 machine learning을 실시하였다. Training accuracy 조건을 구하기 위해 LSTM 층을 변경하여 학습을 진행하였다. 그 결과 512층과 1024층의 LSTM이 각각 87.66%, 87.68%로 높은 training accuracy를 나타내었으며, test accuracy는 각각 85.35%, 85.38%였다. Machine learning은 512층의 LSTM을 사용하여 진행하였다.

데이터 전처리를 위해 좌표 데이터를 여러 길이의 sequence로 잘라 학습을 시켰다. 학습 결과 87.66%로 80초 길이의 sequence가 가장 높은 training accuracy를 나타내었다(Table 4).

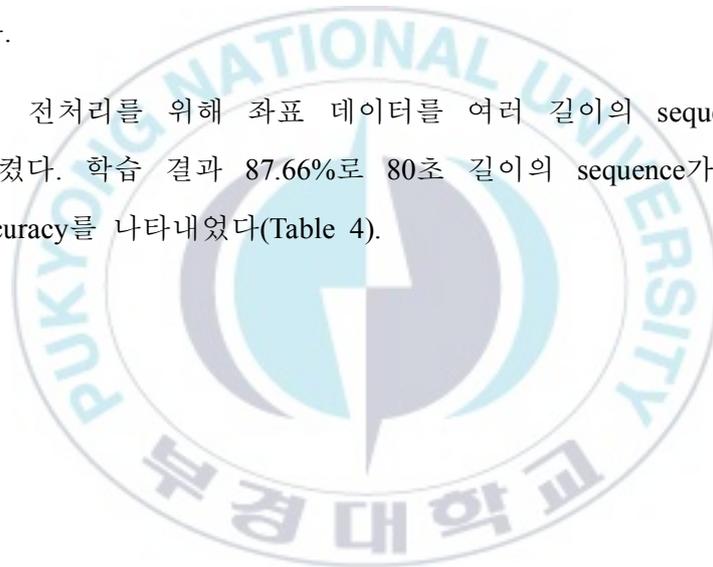


Table 3. Accuracy test of LSTM layer.

Accuracy (%)	LSTM layer				
	64	128	256	512	1024
<b>Training</b>	83.16	83.95	85.69	87.66	87.68
<b>Test</b>	81.49	83.42	84.96	85.35	85.38

Table 4. Accuracy test of sequence length.

Accuracy (%)	Sequence length (s)					
	60	70	80	90	100	110
<b>Training</b>	83.69	84.03	87.66	85.10	84.70	81.75
<b>Test</b>	81.94	81.63	85.35	84.20	83.33	80.71

### 3.3.2. 정상/비정상 행동 분류

512층의 LSTM과 80초의 sequence의 데이터를 이용하여 정상 환경 및 스트레스 환경에서의 데이터를 training하고 test를 실시하였다. Video tracking을 이용하여 정상상태, 수온 변화 스트레스, 세균 감염 스트레스 환경에서 출력된 데이터 중 각각 무작위로 60%의 데이터를 선택하여 training 하였으며, 나머지 40%의 데이터를 이용하여 test를 실시하였다. 사용한 데이터의 개수는 Table 5에 나타내었다. Machine learning test 결과, 정상상태 데이터는 모두 정상으로 분류하였으며, 스트레스 환경 데이터는 모두 비정상으로 분류하였다. Test accuracy는 모든 데이터에 대해 80% 이상을 나타내었다 (Table 6, Table 7 and Table 8).

Table 5. Number of data used training and test for machine learning.

Number of data	Stress		
	Normal condition	Water temp. change	Bacterial infection
<b>Total</b>	20	20	30
<b>Training</b>	12	12	18
<b>Test</b>	8	8	12

Table 6. Test accuracy at normal condition data.

Number of data	Normal condition											
	Data 1	Data 2	Data 3	Data 4	Data 5	Data 6	Data 7	Data 8	Data 9	Data 10	Data 11	Data 12
Test accuracy (%)	85.25	80.48	83.12	81.15	85.35	84.44	84.95	85.17	81.45	82.26	82.75	81.65

Table 7. Test accuracy at temperature change stress data.

Number of data	Temperature change stress							
	Increasing temp.		High temp.		Decreasing temp.		Low temp.	
	Data 1	Data 2	Data 1	Data 2	Data 1	Data 2	Data 1	Data 2
Test accuracy (%)	82.26	83.35	84.41	84.12	80.12	81.77	82.87	83.43

Table 8. Test accuracy at bacterial infection stress data.

Number of data	Bacterial infection stress											
	<i>A. hydrophila</i>						<i>E. piscicida</i>					
	Two days before death		One day before death		The day of death		Two days before death		One day before death		The day of death	
	Data1	Data2	Data1	Data2	Data1	Data2	Data1	Data2	Data1	Data2	Data1	Data2
Test accuracy (%)	80.77	80.65	82.15	84.15	84.15	85.11	81.35	84.25	82.76	83.45	84.31	84.66

#### 4. 고찰

어류는 용존산소, 소음, 중금속, 질소 화합물 등 환경 인자에 대해 매우 민감하게 반응한다.(Kramer, 1987; Popper & Carlson, 1998; Atchison et al., 1987; Israeli-Weinstein & Kimmel, 1998). 이러한 인자들은 어류에게 스트레스로 작용하여 호흡, 운동, 생식, 회피 등의 여러 가지 행동 변화를 일으키며, 장기적으로 노출된 경우에는 어류의 성장률 및 면역력의 감소, 그리고 폐사율을 증가시킬 수 있는 위험이 있다(Israeli-Weinstein & Kimmel, 1998). 이렇게 민감하게 나타나는 행동 변화를 신속이 인지하고 여기에 대한 시기 적절한 대응은 피해를 줄이는데 무엇보다도 중요하다. 따라서 본 연구에서는 video tracking을 이용하여 스트레스에 노출된 어류의 이상행동을 자동으로 초기 단계에서 인지할 수 있는지 가능성을 보고자 하였다.

어류는 급격한 수온 변화에 노출되면 그 지역을 피하거나 탈출하려는 행동 변화를 나타낸다(Neill & Magnuson, 1974). 제브라피쉬 유생도 수온 변화가 나타나면 선호하는 온도로 이동하였으며, 회전 운동의 빈도가 증가하는 등 행동 변화를 나타내었다(Robson, 2013; Haesemeyer et al., 2015; Haesemeyer et al., 2019; Haesemeyer, 2020). 더욱이 어류는 고수온 환경에 노출되면 자극에 대한 반응이 감소하고 움직임이 둔해져 활동성이 감소하는 경향이 나타나며 심한 경우 방향성을 잃어버리고 근육 경련이 일어나기도 한다(Lutterschmidt et al., 1997). 유사하게 어류는 저수온 환경에서도 움직임이 느려지고, 유영 능력이 저하되며 반응성의 감소와 평형 상태의 상실, 호흡의 곤란, 근육 수축 증상을 나타낸다(Donaldson et al., 2008; Bartolini et al., 2015; Wardle, 1980). 선행연구에서는 급성 저수온 스트레스 하에서 구피와 brown trout의 활동이 감소하였고(Colchen et al.,

2017; Wiles et al., 2020), 대서양대구의 경우 대사가 감소하는 등(Claireaux et al., 1995), 많은 어류에서 저온에 노출되었을 때 활동성이 감소하는 경향이 나타났다. 본 연구에서도 온도 증가 및 감소 환경에 노출된 엔젤피쉬는 대조군에 비해 유의적으로 속력이 감소하는 것으로 나타났다(Figure 4). 또한 대부분의 온도 변화 구간에서 평균 속력이 대조군에 비해 유의적으로 감소하였으며, 1초당 속력 변화량이 정상 수온 대비 감소하는 경향을 보였다. 이는 급성 온도 변화 스트레스 발생 시 어류의 속력이 줄어들고 활동성이 감소한다는 결과와 일치하였다.

Fractal dimension 분석은 데이터의 복잡성을 확인하는 방법으로써 행동 분석에도 사용되는 방법이다(Deakin et al., 2019). Deakin et al. (2019)과 Nimkerdphol and Nakagawa (2008)은 어류 행동 분석에 fractal dimension 분석 방법을 사용하였으며, 정상상태와 자극이 주어진 조건에서 행동의 복잡성을 비교하였다. 본 연구에서도 정상 수온 대비 수온 변화 환경에서 유의적으로 더 낮은 FD value를 나타내었으며, 이는 수온이 급격하게 변할 때 어류의 유형 패턴이 더욱 단순해진다는 것을 의미한다. 이로써 급성 수온 변화 시 어류 행동이 선행연구 결과와 비슷한 경향을 보였으며, 이는 video tracking을 이용한 다양한 분석 방법으로 이상 행동을 효과적으로 감지할 수 있음을 보여주고 있다.

본 연구에서 *A. hydrophila*와 *E. piscicida*에 감염된 엔젤피쉬는 서로 매우 유사한 행동 패턴을 보였다. 평균 속력 분석 결과, 폐사 이틀 전에는 *A. hydrophila* 감염 구간에서 속력이 정상상태보다 유의적으로 증가하는 모습을 보였으며, 속력 변화량 또한 폐사 이틀 전, 하루 전 각각 정상상태보다 유의적으로 높았다. *E. piscicida* 감염 시 *A. hydrophila* 감염과 유사하게 폐사 이틀 전 속력 변화량이 증가하는 경향을 보였다. Junior et

al. (2019)에 따르면 *Aeromonas hydrophila*에 감염된 silver catfish는 감염되지 않은 개체보다 감염 후 5일째에 수조에서 더 많이 움직이고 활동성이 높았다고 하였다. *Pseudomonas aeruginosa*에 감염된 silver catfish 또한 감염 후 6-7일째 운동성이 높았다고 하였다(Baldissera et al., 2017). 본 연구에서도 video tracking으로 세균 감염 초기에 속력이 증가하는 것을 확인할 수 있었다. Junior et al. (2019)는 *A. hydrophila*에 감염된 silver catfish는 주로 수조의 상층부에 머무르는 행동을 보였다고 하였다. 흥미롭게도 본 연구 결과에서도 두 세균에 감염된 엔젤피쉬는 감염 초기에 수조의 상층부에서 많은 시간을 보내는 것으로 나타났다. 추후 추가적인 연구가 필요할 것으로 보인다.

일반적으로 어류가 병원체에 감염된 후 질병이 진행됨에 따라 가장자리에서 느리게 수영하거나 무기력한 상태로 이어지는 행동 변화는 잘 알려져있는 결과이다(Hawke et al., 1998; Junior et al., 2018). 본 연구에서 두 균 감염 모두 폐사 당일 5mm/s 이하의 저속력 구간의 분포 비율이 유의적으로 높았으며, 평균 속력은 정상상태 대비 두 균 감염 구간에서 유의적으로 감소하는 패턴을 보였다. 동시에, 폐사가 일어난 당일에는 엔젤피쉬가 주로 수조 하층부에서 많이 분포하는 것으로 나타났으며, 이는 감염의 정도에 따라 머무르는 위치가 달라진다는 것을 보여주고 있다. 폐사하는 당일의 수조 내에서 위치 분포 비율과 FD value는 세균 감염 그룹 모두 대조군 대비 유의적으로 낮아 행동의 복잡성이 줄어든 것으로 나타나 향후 본 분석 방법의 활용성이 기대된다. 세균 감염 시 행동 패턴 분석 결과를 종합하여 보았을 때, 감염 초기 활동성의 증가와 상층부에서의 분포 증가, 감염이 심화 되었을 때 무기력해져 행동의 복잡성이 유의적으로 줄어드는 행동 패턴을 확인할 수 있었다. 따라서 본 연구의 결과는 video tracking을 이용한 행동분석이

어류가 병원체에 감염되었을 때 나타나는 행동의 변화를 조기에 감지하고 관리자에게 경고 메시지를 보낼 수 있는 시스템으로 활용될 수 있다는 것을 보여주고 있다.

본 연구에서 도출된 데이터는 추가적인 분석을 통해 정상과 비교해야 하며, 실시간으로 분석할 수 없는 한계가 있다. 따라서 본 연구에서는 machine learning을 활용하여 정상상태와 비정상상태를 구분하고 조기에 이상 행동을 발견하고자 하였다. Video tracking으로 획득한 좌표 데이터를 학습한 결과, training accuracy와 test accuracy는 각각 약 87%와 85%를 기록하여 유사한 수치를 보여주었다. 이는 LSTM으로 고양이 행동과 위치를 분석한 선행연구에서 81.1-92.3%를 기록한 결과와 유사한 식별 성능을 나타낸다(Choi et al., 2019). 학습된 데이터에서 정상과 비정상을 판단하고자 새로운 데이터를 test 시켰을 때, 정상상태의 데이터는 정상이라고 판단하였으며, 스트레스 상태의 데이터는 비정상이라고 판단하였다. 또한 모든 데이터에 대해 accuracy 수준은 약 80% 이상으로 나타났다. 이는 80초 길이의 행동 데이터만으로도 정상 또는 비정상상태를 구분할 수 있다는 것을 의미하며, 조기에 이상 행동을 감지하여 문제에 대처할 수 있음을 나타낸다. 본 연구 결과는 향후 행동패턴 분석에서 machine learning을 포함하는 인공지능 기술의 활용 가능성이 매우 높음을 보여주고 있다.

## 5. 결론

본 연구에서는 육안으로는 신속하고 정확히 인지하는 것이 어려운 어류의 이상 행동을 video tracking과 다양한 분석 방법을 이용하여 감지하는 방법을 찾고자 하였다. 어류의 평균 속도, 속도 변화량 및 fractal dimension 분석은 수온 변화 시 일어나는 이상행동 감지에 적합하였고, 속도 변화량과 상층부 분포 비율 분석 방법은 세균 감염 후반부를 잘 인지할 수 있는 방법으로 나타났다. 특히 머신러닝을 통한 행동 학습 시 80초의 좌표 데이터만으로도 정상과 비정상을 구분할 수 있었다. 이는 수온 변화 또는 세균 감염 시 짧은 시간의 데이터를 이용하여 조기에 어류의 이상 행동을 감지할 수 있는 중요한 결과이다. 본 연구에서 도출된 결과는 향후 어류 행동 패턴 관련 연구에 중요한 기초자료로 활용될 수 있을 것으로 여겨진다.

## 국문요약

Video tracking을 이용한 스트레스 조건에 노출된  
엔젤피쉬(*Pterophyllum scalare*)의 행동 변화 분석

김윤재

부경대학교 수산생명의학과

최근 움직임을 추적하는 video tracking을 사용한 동물 행동 변화 연구가 진행되고 있다. 그러나 스트레스에 노출된 어류에 대한 행동 변화 연구는 매우 적은 실정이다. 따라서 본 연구에서는 세균 감염에 노출되거나 수온 상승 또는 하강의 환경에서의 엔젤피쉬 행동을 2대의 카메라를 이용한 video tracking으로 모니터링 하였으며, 속력 및 위치 데이터를 기반으로 행동을 분석하였다. 수온 변화 스트레스를 유발하기 위해 26°C에서 36°C로 4시간 동안 수온을 상승시키거나 26°C에서 16°C로 4시간 동안 하강시켰다. 세균 감염을 유도하기 위해 *A. hydrophila* 또는 *E. piscicida*를  $10^6$ CFU ml<sup>-1</sup> 농도로 엔젤피쉬에 복강주사하였다. Video tracking은 각 실험 조건에 대해 5회 반복하여 실시하였다. Machine learning 분석을 위해 video tracking으로 출력된 데이터를 전처리 후 LSTM model을 사용하여 행동분석을 실시하였다. 실험 결과, 수온이 상승하거나 하강할 때, 평균 속력, 속력 변화량 그리고 fractal dimension이 대조군과 비교하여 유의적으로 낮았다. 세균 감염 그룹에서는 폐사하기 전 평균 속력과 속력 변화량이 증가하였으며, 상층부에서 많은 시간을 보냈다. 폐사 당일에는 평균 속력이 유의적으로 낮았으며, 하층부에서의 분포 시간이 증가하고 수조 공간 활용의 감소와 낮은 FD value를 나타내었다. Machine learning 결과, 80초의 위치 데이터를 학습하였을 때

87.66%와 85.35%의 training accuracy 및 test accuracy를 나타내었다. 정상 및 스트레스 환경의 데이터를 test 하였을 때 정상과 비정상을 구분할 수 있었으며, 80.12-85.35%의 accuracy를 나타내었다. 따라서 본 연구는 video tracking을 이용하여 엔젤피쉬의 이상행동을 구분할 수 있었으며, 짧은 시간의 데이터로 정상과 비정상을 구분할 수 있었다. 이는 어류 관리 시 조기 경보 시스템으로 활용하여 문제 발생에 대해 대처할 수 있는 가능성을 보여준 기초 연구 자료가 될 것이다.



## 참고문헌

- Atchison, G. J., Henry, M. G., & Sandheinrich, M. B. (1987). Effects of metals on fish behavior: a review. *Environmental Biology of fishes*, 18(1), 11-25.
- Baldissera, M. D., Souza, C. F., Santos, R. C., da Rosa, L. V. C., Rosemberg, D. B., & Baldisserotto, B. (2017). *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.
- Barichello, T., Lemos, J. C., Generoso, J. S., Cipriano, A. L., Milioli, G. L., Marcelino, D. M., ... & Teixeira, A. L. (2011). Oxidative stress, cytokine/chemokine and disruption of blood-brain barrier in neonate rats after meningitis by *Streptococcus agalactiae*. *Neurochemical research*, 36(10), 1922-1930.
- Bartolini, T., Butail, S., & Porfiri, M. (2015). Temperature influences sociality and activity of freshwater fish. *Environmental biology of fishes*, 98(3), 825-832.
- Beitinger, T. L., Bennett, W. A., & McCauley, R. W. (2000). Temperature tolerances of North American freshwater fishes exposed to dynamic changes in temperature. *Environmental biology of fishes*, 58(3), 237-275.
- Burne, T., Scott, E., van Swinderen, B., Hilliard, M., Reinhard, J., Claudianos, C., ... & McGrath, J. (2011). Big ideas for small brains: what can psychiatry learn from worms, flies, bees and fish?. *Molecular psychiatry*, 16(1), 7-16.
- Cachat, J., Stewart, A., Utterback, E., Hart, P., Gaikwad, S., Wong, K., ... & Kalueff, A. V. (2011). Three-dimensional neurophenotyping of adult

- zebrafish behavior. *PloS one*, 6(3), e17597.
- Claireaux, G., Webber, D., Kerr, S., & Boutilier, R. (1995). Physiology and behaviour of free-swimming Atlantic cod (*Gadus morhua*) facing fluctuating temperature conditions. *Journal of Experimental Biology*, 198(1), 49-60.
- Colchen, T., Teletchea, F., Fontaine, P., & Pasquet, A. (2017). Temperature modifies activity, inter-individual relationships and group structure in a fish. *Current zoology*, 63(2), 175-183.
- Deakin, A. G., Spencer, J. W., Cossins, A. R., Young, I. S., & Sneddon, L. U. (2019). Welfare challenges influence the complexity of movement: fractal analysis of behaviour in zebrafish. *Fishes*, 4(1), 8.
- Deakin, A. G., Spencer, J. W., Cossins, A. R., Young, I. S., & Sneddon, L. U. (2019). Welfare challenges influence the complexity of movement: fractal analysis of behaviour in zebrafish. *Fishes*, 4(1), 8.
- Denoël, M., Libon, S., Kestemont, P., Bresseur, C., Focant, J. F., & De Pauw, E. (2013). Effects of a sublethal pesticide exposure on locomotor behavior: a video-tracking analysis in larval amphibians. *Chemosphere*, 90(3), 945-951.
- Donaldson, M. R., Cooke, S. J., Patterson, D. A., & Macdonald, J. S. (2008). Cold shock and fish. *Journal of Fish Biology*, 73(7), 1491-1530.
- Haesemeyer, M. (2020). Thermoregulation in fish. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 110986.
- Haesemeyer, M., Robson, D. N., Li, J. M., Schier, A. F., & Engert, F. (2015). The structure and timescales of heat perception in larval zebrafish. *Cell systems*, 1(5), 338-348.
- Haesemeyer, M., Schier, A. F., & Engert, F. (2019). Convergent temperature representations in artificial and biological neural networks. *Neuron*, 103(6), 1123-1134.
- Hawke, J. P., Durborow, R. M., Thune, R. L., & Camus, A. C. (1998). Enteric septicemia of catfish. *SRAC publication*, (477).
- Israeli-Weinstein, D., & Kimmel, E. (1998). Behavioral response of carp

- (*Cyprinus carpio*) to ammonia stress. *Aquaculture*, 165(1-2), 81-93.
- Junior, G. B., de Freitas Souza, C., Descovi, S. N., Antoniazzi, A., Cargnelutti, J. F., & Baldisserotto, B. (2019). *Aeromonas hydrophila* infection in silver catfish causes hyperlocomotion related to stress. *Microbial pathogenesis*, 132, 261-265.
- Junior, G. B., dos Santos, A. C., de Freitas Souza, C., Baldissera, M. D., dos Santos Moreira, K. L., da Veiga, M. L., ... & Baldisserotto, B. (2018). *Citrobacter freundii* infection in silver catfish (*Rhamdia quelen*): Hematological and histological alterations. *Microbial pathogenesis*, 125, 276-280.
- Kramer, D. L. (1987). Dissolved oxygen and fish behavior. *Environmental biology of fishes*, 18(2), 81-92.
- Lind, N. M., Vinther, M., Hemmingsen, R. P., & Hansen, A. K. (2005). Validation of a digital video tracking system for recording pig locomotor behaviour. *Journal of neuroscience methods*, 143(2), 123-132.
- Lutterschmidt, W. I., & Hutchison, V. H. (1997). The critical thermal maximum: data to support the onset of spasms as the definitive end point. *Canadian Journal of Zoology*, 75(10), 1553-1560.
- Macri, S., Neri, D., Ruberto, T., Mwaffo, V., Butail, S., & Porfiri, M. (2017). Three-dimensional scoring of zebrafish behavior unveils biological phenomena hidden by two-dimensional analyses. *Scientific reports*, 7(1), 1-10.
- Neill, W. H., & Magnuson, J. J. (1974). Distributional ecology and behavioral thermoregulation of fishes in relation to heated effluent from a power plant at Lake Monona, Wisconsin. *Transactions of the American Fisheries Society*, 103(4), 663-710.
- Nimkerdphol, K., & Nakagawa, M. (2008A). Effect of sodium hypochlorite on zebrafish swimming behavior estimated by fractal dimension analysis. *Journal of bioscience and bioengineering*, 105(5), 486-492.
- Nimkerdphol, K., & Nakagawa, M. (2008B). 3D Locomotion and Fractal Analysis of Goldfish for Acute Toxicity Bioassay. *International Journal*

- of Bioengineering and Life Sciences, 2(1), 38-43.
- Noldus, L. P., Spink, A. J., & Tegelenbosch, R. A. (2002). Computerised video tracking, movement analysis and behaviour recognition in insects. *Computers and Electronics in agriculture*, 35(2-3), 201-227.
- Popper, A. N., & Carlson, T. J. (1998). Application of sound and other stimuli to control fish behavior. *Transactions of the American Fisheries Society*, 127(5), 673-707.
- Robson, D. N. (2013). Thermal navigation in larval zebrafish (Doctoral dissertation).
- Rosa, L. V., Ardais, A. P., Costa, F. V., Fontana, B. D., Quadros, V. A., Porciúncula, L. O., & Rosemberg, D. B. (2018). Different effects of caffeine on behavioral neurophenotypes of two zebrafish populations. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 165, 1-8.
- Sheng, L., & Xu, J. (2008, May). Effects of Thermal Shock on Some Freshwater Fishes. In 2008 2nd International Conference on Bioinformatics and Biomedical Engineering (pp. 4535-4538). IEEE.
- Stewart, A. M., Grieco, F., Tegelenbosch, R. A., Kyzar, E. J., Nguyen, M., Kaluyeva, A., ... & Kalueff, A. V. (2015). 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.
- Stewart, A., Kadri, F., DiLeo, J., Min Chung, K., Cachat, J., Goodspeed, J., ... & Elegante, M. (2010). The developing utility of zebrafish in modeling neurobehavioral disorders. *International Journal of Comparative Psychology*, 23(1).
- Wardle, C. S. (1980). Effects of temperature on the maximum swimming speed of fishes. In *Environmental physiology of fishes* (pp. 519-531). Springer, Boston, MA.
- Whittington, R. J., & Chong, R. (2007). 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.

- Wiles, S. C., Bertram, M. G., Martin, J. M., Tan, H., Lehtonen, T. K., & Wong, B. B. (2020). Long-Term Pharmaceutical Contamination and Temperature Stress Disrupt Fish Behavior. *Environmental Science & Technology*, 54(13), 8072-8082.
- Zurn, J. B., Hohmann, D., Dworkin, S. I., & Motai, Y. (2005, January). 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 (Vol. 1, pp. 87-92)*. IEEE.
- 최윤아, 이종욱, 박대희, & 정용화. (2019). 위치 및 행동 정보를 이용한 고양이 행동 분석 시스템. *한국정보과학회 학술발표논문집*, 748-750.

