



Kandidatarbeten
i Skogsvetenskap
Fakulteten för Skogsvetenskap

2020:17

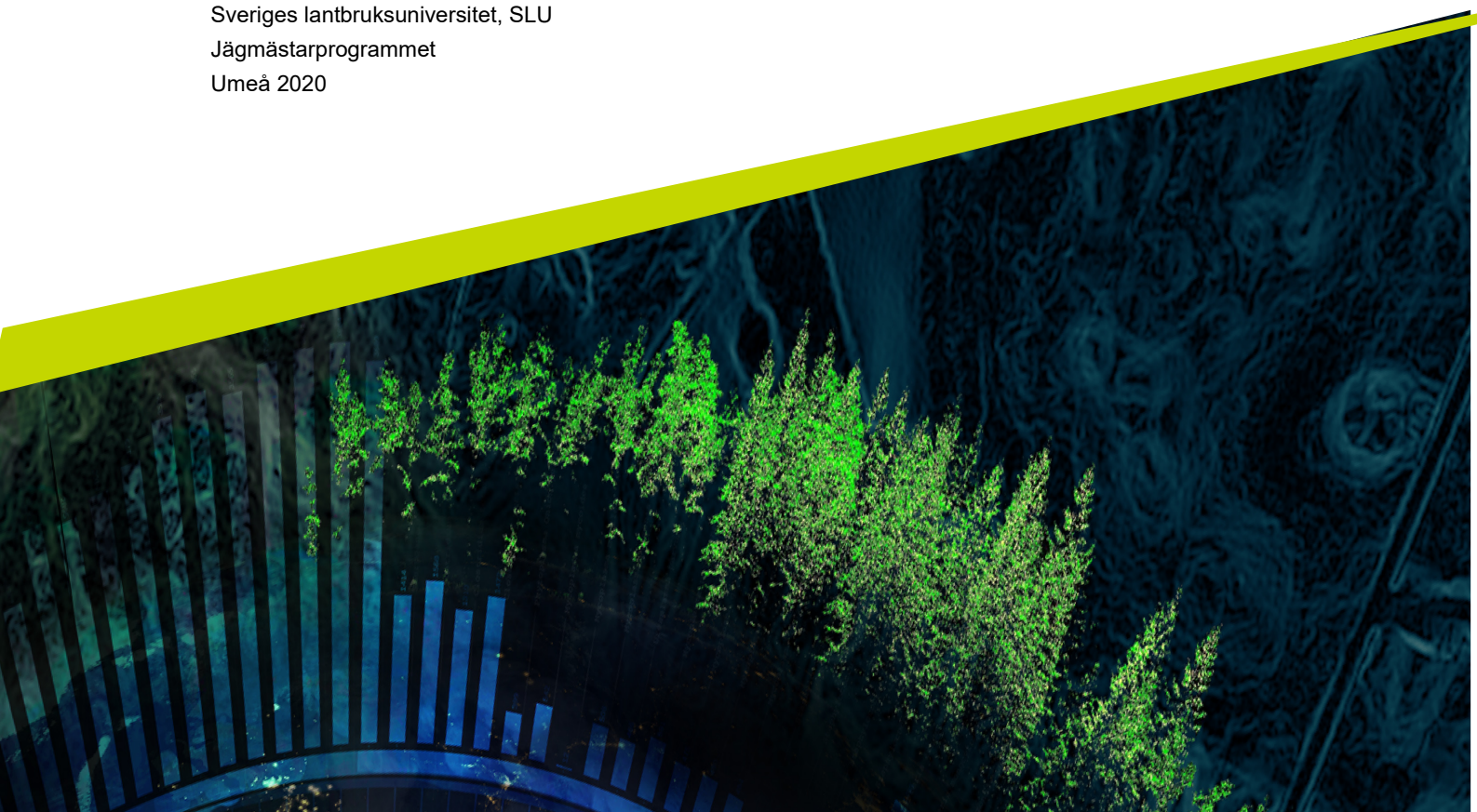
Beteendeeffekter av antidepressivt läkemedel på abborre (*Perca fluviatilis*)

- Socialt och aktivt beteende undersökts genom att kombinera behandlingar med oxazepam, temperatur och predationstryck

*Behavioral effects on European perch (*Perca fluviatilis*) after exposure to a psychoactive pharmaceutical under different temperatures and predation risks.*

Oskar Karlsson & Svante Knutsen

Självständigt arbete • 15 hp
Sveriges lantbruksuniversitet, SLU
Jägmästarprogrammet
Umeå 2020



Beteendeeffekter av antidepressivt läkemedel på abborre (*Perca fluviatilis*) – Socialt och aktivt beteende undersökts genom att kombinera behandlingar med oxazepam, temperatur och predationstryck.

Behavioral effects after exposure of combinations of psychoactive pharmaceutical, temperature and predation on European perch (Perca fluviatilis).

Oskar Karlsson och Svante Knutsen

Handledare: Tomas Brodin, Sveriges lantbruksuniversitet, Vilt, fisk och miljö
Examinator: Tommy Mörling, SLU, institutionen för skogens ekologi och skötsel

Omfattning: (15 hp)
Nivå och fördjupning: (Grundnivå, G2E)
Kurstitel: Självständigt kandidatarbete i skogsvetenskap, G2E
Kurskod: EX0911
Program/utbildning: Jägmästarprogrammet
Kursansvarig inst.: Institutionen för skogens ekologi och skötsel
Serietitel: Kandidatarbeten i Skogsvetenskap
Delnummer i serien; 2020:17
Utgivningsort: Umeå
Utgivningsår: 2020

Nyckelord: Antidepressiva läkemedel, oxazepam, abborre

Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för skogsvetenskap
Institutionen för skogens ekologi och skötsel

Publicering och arkivering

Godkända självständiga arbeten (examensarbeten) vid SLU publiceras elektroniskt. Som student äger du upphovsrätten till ditt arbete och behöver godkänna publiceringen. Om du kryssar i **JA**, så kommer fulltexten (pdf-filen) och metadata bli synliga och sökbara på internet. Om du kryssar i **NEJ**, kommer endast metadata och sammanfattning bli synliga och sökbara. Fulltexten kommer dock i samband med att dokumentet laddas upp arkiveras digitalt.

Om ni är fler än en person som skrivit arbetet så gäller krysset för alla författare, ni behöver alltså vara överens. Mer information om publicering och arkivering går att hitta här: <https://www.slu.se/site/bibliotek/publicera-och-analysera/registrera-och-publicera/avtal-for-publicering/>.

JA, jag/vi ger härmed min/vår tillåtelse till att föreliggande arbete publiceras enligt SLU:s avtal om överlåtelse av rätt att publicera verk.

NEJ, jag/vi ger inte min/vår tillåtelse att publicera fulltexten av föreliggande arbete. Arbetet laddas dock upp för arkivering och metadata och sammanfattning blir synliga och sökbara.

Sammanfattning

Användandet av antidepressiva och ångstdämpande läkemedel, som ex. oxazepam, ökar i samhället vilket kan leda till höga halter i våra vattendrag. Tidigare studier har visat att abborrar som blir utsatta för miljörelevanta koncentrationer av oxazepam ändrar sitt beteende. Denna studie undersöker om två ekologiskt viktiga beteenden hos abborre, aktivitet och socialitet, påverkas av vattentemperatur, predationsrisk och det ångstdämpande läkemedlet oxazepam. Studien gjordes på vilda juvenila abborrar (*Perca fluviatilis*) som fångades och hölls i ett labb där de senare exponerades under 7 dygn för behandlingar med oxazepam (10µg/L), eller utan, kombinerat med två olika temperaturer (10°C och 18°C) och predationstryck (risk att bli uppäten). Predationstryck simulerades genom att använda vatten från en fisktank med Gädda (*Esox lucius*). Resultatet visade att temperaturskillnaden påverkade abborrarna signifikant och abborrarna blev mer aktiva och sociala vid en högre temperatur. Däremot visade behandlingarna med oxazepam och predationstryck ingen effekt på varken socialitet eller aktivitet. En förklaring kan vara att den starka korrelationen mellan temperatur och beteende hämmade effekterna från de andra behandlingar.

Nyckelord: Antidepressiva läkemedel, oxazepam, abborre

Abstract

The use of antidepressants has increased rapidly over the past decades. Antidepressants can, according to previous studies, influence animal behavior, not least among fish. The purpose of this study was to explore how a common antidepressant (oxazepam) affects social and active behavior of fish. Wild juvenile European perch (*Perca fluviatilis*) were for 7 days exposed to the antidepressant oxazepam (10µg/L), or not, in combination with two levels of water temperatures (10°C and 18°C) and predation pressures. Predation pressure was simulated by using water from a fish tank with Northern pike (*Esox lucius*). Perch behavior was affected significantly by water temperature which resulted in more social and active behaviors in the higher temperature. However, treatments with oxazepam and predation pressure did not show any response. An explanation might be that the strong correlation between temperature and behavior depressed other treatments results.

Keywords: Antidepressants, oxazepam, European perch

Förord

Vi vill tacka Tomas Brodin, vår handledare, som väglett oss genom detta arbete. Han har givit oss otroligt värdefull återkoppling som har ökat vår kunskap, bland annat inom det vetenskapliga skrivandet. Varken coronaviruset eller lördagar stoppade honom från att hjälpa oss att föra arbetet framåt. En riktigt bra handledare. Tack!

P.S. Om du läser detta, hoppas medicinbollen väger precis som en medicinboll ska väga.

Innehållsförteckning

Figurförteckning	8
1. INLEDNING	9
1.1. Antidepressiva läkemedel och vägen till naturen	9
1.2. Antidepressiva läkemedlet oxazepam.....	9
1.3. Potentiella risker för ekosystem med läkemedel.....	10
1.4. Miljöförändringar	11
1.5. Predationsrisk och beteende.....	11
1.6. Syfte och hypotes	13
2. MATERIAL OCH METOD	14
2.1. Art för undersökning	14
2.2. Fångst av abborrar	14
2.3. Exponeringsdesign och insamling av data.....	15
2.4. Experimentfaktorer - oxazepam, temperatur och predationstryck	16
2.4.1. Oxazepam.....	16
2.4.2. Temperatur	16
2.4.3. Predationstryck	16
2.5. Undersökning av beteende.....	16
2.6. Bearbetning av data	17
2.6.1. Aktivitet	17
2.6.2. Socialitet	18
2.7. Analys av data	18
3. RESULTAT	19
3.1. Skillnader innan exponering av oxazepam och predationstryck	19
3.2. Beteendeförändringar av temperatur, oxazepam och predationstryck	19
4. DISKUSSION	21
4.1. Beteendeeffekter av temperatur	21
4.2. Beteendeeffekter av Oxazepam.....	22
4.3. Predationstryck.....	23
4.4. Fiskar är individer	23
REFERENSER	25

Bilaga 1	31
Bilaga 2	32

Figurförteckning

Figur 1. Experimentdesignen i kronologisk ordning från vänster till höger.	15
figur 2. Undersökningsakvariet sedd uppifrån.	17
figur 3. Hög temperatur (18°C) och låg temperatur (10°C) över tiden (sekunder) abborrarna var aktiva före och efter exponering av oxazepam och predationstryck. Felstaplarna visar den översta kvartilen och de högsta observerade värdena medan boxarna visar de andra kvartilerna i en följande ordning. Där boxar eller felstaplar inte syns (inga felstaplar syns vänster om boxarna) är alla observerade värden inom den kvartilen samma.	20
figur 4. Hög temperatur (18°C) och låg temperatur (10°C) över den socialitet abborrarna visade efter exponering av oxazepam och predationstryck. Felstaplarna visar den översta kvartilen och de högsta observerade värdena medan boxarna visar de andra kvartilerna i en följande ordning. Där boxar eller felstaplar inte syns (inga felstaplar syns vänster om boxarna) är alla observerade värden inom den kvartilen samma.	20

1. INLEDNING

1.1. Antidepressiva läkemedel och vägen till naturen

Användandet av antidepressiva läkemedel ökar och i Sverige har användandet ökat med 25 procent sedan 2006 (Socialstyrelsen 2019). Konsumtionen är koncentrerad kring stora städer där befolkningstätheten är hög (Bilaga 1). Läkemedlen intas oftast genom munnen där de färdas genom kroppens matsmältningssystem. För att påverka rätt organ och inte lösas upp direkt är läkemedel kemisk stabila vilket medför att en viss mängd läkemedel lämnar kroppen via urin och avföring. Läkemedlen hamnar därefter i avloppsvatten som leds till reningsverk. Dagens reningsverk är inte anpassade för att selektera och rena vattnet från läkemedel och hamnar därför i vattendrag runt om i världen och utgör den största spridningskällan av läkemedel till naturen (Naturvårdsverket 2019). Ur ett globalt perspektiv släpps 80 procent av allt avloppsvatten direkt ut i vattendrag utan att renas och hamnar i ekosystemet (UN-Water). Reningsprocessen och hanteringen av läkemedel styrs av befolkningstätheten och hur välutvecklat avloppssystemet är (Kookana et al. 2014). Den enkla regeln är, ju fler människor som lever i området desto mer och fler läkemedel hittar man i vattendragen. Beek et al. (2016) visar i sin studie att >600 olika läkemedel har identifierats i vattendrag världen över. Vissa läkemedel är ofarliga medans andra kan orsaka skador på exempelvis fiskar. Detta ses som ett globalt problem eftersom användandet av läkemedel förutspås öka tillsammans med den växande populationen i världen (Beek et al. 2016; Saaristo et al. 2018).

1.2. Antidepressiva läkemedlet oxazepam

Ett läkemedel som ofta hittas i vattendrag och visat sig påverka fisk och andra djur är oxazepam (Brodin et al. 2013). Oxazepam härstammar från läkemedelsklassen bensodiazepiner som expedieras i stora kvantiteter och är av stort intresse för dagens samhälle. Bensodiazepiner används främst av människor för att motverka ångest, sömnlöshet, aggression, panikstörningar, kramper och har även lugnande och muskelavslappnande effekter (Cunha et al. 2017). Bensodiazepiner har hittats i avloppsvatten med koncentrationer som varierar från 0.01 µg/liter till flera µg/liter

(Calisto et al. 2009). När oxazepam och andra bensodiazepiner hamnar i ytvattnet är de svårnedbrytbara. Oxazepam bryts ned mest effektivt av solstrålning och har en halveringstid på 4 soliga sommardagar. Andra bensodiazepiner bryts ned betydligt långsammare och har halveringstider uppemot 228 soliga sommardagar (Calisto et al. 2011). Gjorda fältstudier på oxazepam visar att nedbrytningen i naturen går betydligt långsammare och mätbara värden av läkemedlet hittades efter ~150 dagar (Fahlman et al. 2018). På grund av den stora användningen och dess stabilitet i naturen är forskning kring hur oxazepam påverkar ekosystem relevant.

1.3. Potentiella risker för ekosystem med läkemedel

Läkemedel är byggda för att aktivera receptorer i människors kroppar vilket kan bidra till positiva effekter vid olika besvär. Receptorer hos organismer i naturen är liknande eller identiska med människans och kan därför påverkas av läkemedel på liknande sätt. Dock kan effekterna vara missgynnande i ett naturligt ekosystem. Hos djur kan läkemedel till exempel ge upphov till förändring i beteenden som missgynnar dess överlevnad. Dessutom kan koncentrationer som anses normala för människor kan vara skadliga i naturen. Det finns lite kunskap om hur en varaktig låg koncentration påverkar organismer samt hur olika organismer påverkas. Att djur påverkas olika är en anledning till varför läkemedels inverkan på ekosystem anses komplicerad (Boxall 2004).

Hur läkemedel påverkar ekologiska system är komplext och mindre studerat, men att specifika organismer som exempelvis fiskar påverkas är däremot mer studerat (Pascoe, D. et al. 2003; Richmond et al. 2018; Saaristo et al. 2018). I en undersökning av Brodin et al. (2013) som gjordes på abborrar som blivit utsatta för det antidepressiva läkemedlet oxazepam visade resultaten signifikanta beteendeförändringar. Koncentrationen som användes i studien var liknande de som blivit uppmätta i stadsnära vattendrag. Abborrarna som utsattes för Oxazepam tog mer risker, blev mer aktiva och mindre sociala. En studie av Saaristo et al. (2018) visade att dessa effekter ökade vid en högre koncentration oxazepam. Samma studie har även visat en stor skillnad mellan hur olika fiskarter påverkas, även om koncentrationen är densamma. Att fiskar befinner sig i olika livsskeden har även visat spela en betydande roll i hur de påverkas och att mindre fiskar är mer lättpåverkade än större fiskar (Saaristo et al. 2018).

Läkemedel ackumuleras i näringskedjan genom vattenlevande insekter vilket leder till en högre koncentration i predatorer som livnär sig på dessa (Richmond et al. 2018). I en studie av Richmond et al. (2018) har flera potentiellt interagerande läkemedel återfunnits i vävnader på vattenlevande evertebrater. Predatorer som konsumerar dessa är därför särskilt utsatta och riskerar att utsättas för en

koncentration stor nog att påverka dem. Författarna rapporterar att halterna som beräknas kunna uppkomma i predatorer kan jämföras med en halv daglig dos för en människa.

1.4. Miljöförändringar

Som följd av klimatförändringarna och att jordens isar smälter förväntas uppvärmningen på land och vatten accelerera i framtiden (NOAA Climate.gov, 2019). Temperaturen i vattnet styr fiskars fysiologiska mekanismer som reglerar metabolism, aktivitet, födosökande, stimbildning, migration och reproduktion (Nagelkerken et al. 2016). En stigande vattentemperatur kan därför förändra hur dessa processer regleras (Nagelkerken et al. 2016). Att djur anpassar beteende till omgivande miljö är en överlevnadsstrategi och ett sätt att öka fitness. Dock är inte alla beteendeändringar gynnande. Att miljön förändras kan även leda till att djur får försämrat sensorsystem, som bland annat hjälper dem hitta föda och olika miljöer, och att fysiologiska processer påverkas negativt (Wong & Candolin 2015). Högre temperatur kan öka metabolismen hos fiskar och kan därför leda till ökade halter och snabbare upptag av läkemedel och föroreningar (Saaristo et al. 2018).

1.5. Predationsrisk och beteende

Predatorer i akvatiska ekosystem har en betydande roll för bytesfiskars beteende (Saaristo et al. 2018). Vid ett högt predationstryck är sannolikheten att bli uppäten av en predator stor. I ekosystem där predationstrycket är högt gynnas därför egenskaper som innebär mindre risktagande och det motsatta vid ett lågt predationstryck (Mittelbach et al. 2014). Enligt Saaristo et al. (2018) och Brodin et al. (2013) försämras egenskaper av antidepressiva läkemedel som annars gynnat fiskars överlevnad gentemot predatorer.

Fiskar har ett väl utvecklat luktsinne som används för att analysera omgivningen. På detta vis sker en stor del av fiskens orientering av andra fiskar och predatorer via kemiska indikatorer (Meuthen et al. 2011). Studier har simulerat ökat predationstryck med kemiska indikatorer i form av predatorers omgivande vatten. Resultaten visade att fiskars risktagande minskade, vilket innebar att de tenderade att bilda stim samtidigt som de blev mindre aktiva (Saaristo et al. 2018). Fiskar som blivit påverkade av predationstryck under en längre tid kan bli vana att hantera riskfyllda situationer bättre (Brown & Braithwaite 2004; Brown et al. 2007). Saaristo (2018) föreslår att gäddor oftare attackerar abborrar som visar exempelvis djärvhet och aggressivitet. Däremot har andra studier visat att gäddor föredrar byten

som visar vissa utseendemässiga karaktärer istället för hur de betar sig (Heynen et al. 2017).

När predationstrycket är högt tenderar fiskar att bilda stim vilket spelar en betydande roll vid interaktioner mellan predatorer och byten (Brodin et al. 2013; Brown 2002). Det finns flera evolutionära förklaringar till varför stimbilning är framgångsrikt vid närvaro av predatorer. En anledning till att bilda stim är att sannolikheten att upptäcka en predator ökar. Ett stim har fler spejande ögon som tillsammans ser från alla håll. Individuella fiskar är därför mer utsatta och hyser en större risk att bli attackerade bakifrån (Rountree et al. 2009). En annan förklaring är att predatorer blir distraherade och förvirrade av stim vilket leder till försämrad jakt och mindre risk per individ att bli uppäten (Steele et al. 2009). Fiskars benägenhet att bilda stim är inte slumpmässig utan beror på bland annat stimmets storleksdistribution, individernas reproduktiva status och utseende (Brown 2002). Fiskars beslut om att gå med eller ur ett stim beror på hur motiverad fisken är (Seghers et al. 1981) och motivationen kan förändras beroende på predationstryck och hunger. Om fisken är hotad kan detta beslut ske snabbare (Morgan et al. 1998). Tidigare studier har visat att guppy (*Peocilia reticulat*) och storspigg (*Gasterosteus aculeatus*) föredrar att bilda stim med bekanta medlemmar. Dock tyder andra studier på annat (Brown 2002).

Predatorer påverkar även bytesfiskars födosökande beteende och aktivitet (Werener & Anholt 1993). Detta är synnerligen viktigt eftersom ökad aktivitet är kopplad till ökad predatorrelaterad mortalitet samtidigt som ökad aktivitet är kopplat till tillväxt (Strobbe et al. 2011). Dock kan denna synnerligen viktiga koppling överskattas i undersökningar på grund av samvariationen mellan olika faktorer som påverkar aktivitet. Dels på grund av att låg och hög aktivitet ofta är manipulerade av andra faktorer som temperatur och dels på grund av att miljön är artificiellt fabricerad (Strobbe et al. 2011). I en studie som använde utomhustankar testades huruvida födosökande aktivitet och mortalitet påverkades av predationstryck, men som förvånansvärt nog inte visade några signifikanta resultat (Van Buskirk et al. 1997)

Hur förändringar i predationstryck och temperatur påverkar fiskars beteenden är väl studerat (Saaristo et al. 2018, Maximino et al. 2010) i jämförelse med samspelet mellan temperatur, predationstryck och läkemedelseffekter och hur de tillsammans påverkar fiskars beteende (Saaristo et al. 2018). Därutöver har studier som undersökt beteendeförändringar efter förändrat predationstryck och temperatur visat mångtydiga resultat (Saaristo et al. 2018; Maximino et al. 2010).

1.6. Syfte och hypotes

Syftet med denna studie är att undersöka om abborrars (*Perca fluviatilis*) sociala och aktiva beteenden förändras av läkemedlet oxazepam under olika vattentemperaturer och varierande predationsrisk. Målet är att öka förståelsen kring hur biotiska och abiotiska faktorer påverkar antidepressiva läkemedelseffekter på fiskars beteenden. Undersökningen inbegriper juvenila abborrar placerade individuellt i akvarier. Abborrindividerna exponeras för en av följande åtta behandlingar: (1) låg temperatur med oxazepam och predationstryck, (2) låg temperatur med oxazepam, (3) låg temperatur med predationstryck, (4) låg temperatur, (5) hög temperatur med oxazepam och predationstryck, (6) hög temperatur med oxazepam, (7) hög temperatur med predationstryck (8) hög temperatur. Beteenden filmades före och efter exponeringsperioden. Låg temperatur innebär 10°C och hög 18°C och koncentrationen oxazepam är 10 µg/L. Predationstryck innebär att vatten från en tank med Gädda (*Esox lucius*) har tillsatts. Mer om detta i stycke 1.4.

Hypotesen är att en högre temperatur kommer öka abborrarnas aktivitet och socialitet starkast jämfört med de andra behandlingarna. Vid en temperaturökning stimuleras fiskars metabolism eftersom de är kallblodiga djur, vilket innebär att de blir generellt mer aktiva (Nagelkerken et al. 2016). Oxazepambehandlingar på juvenila abborrar har i tidigare studier visat ökad aktivitet och minskad socialitet (Brodin et al. 2013). Vid nuvarande studie används 5 gånger högre koncentration oxazepam jämfört med studien av Brodin et al. (2013). Vår hypotes är därför att oxazepambehandlingarna påverkar abborrarna näst starkast och ökar aktiviteten men minskar socialiteten. Enligt Saaristo et al. (2018) ger förhöjt predationstryck ökad socialitet och minskad aktivitet eftersom motivationen till att bilda stim ökar. Vi hypotiserar att predationstryck påverkar abborrarna svagast. Eftersom temperatur hypotiserar öka aktivitet och oxazepam hypotiserar minska socialiteten, vilket går emot predationstryckets påvisade effekter, hypotiserar vi att predationstryck inte kommer påverka socialitet eller aktivitet.

2. MATERIAL OCH METOD

2.1. Art för undersökning

Abborre har sitt ursprung i Europa och är en vanlig sötvattensfisk i Sverige. Abborrar klarar sig inom ett brett temperaturspann och livnär sig i ung ålder på plankton och evertebrater för att sedan äta fisk när de blivit större (Ceccuzzi et al. 2011). Honor kan nå en vikt kring 3 kg medan hanen oftast inte väger mer än 1,5 kg (Havs och Vattenmyndigheten 2020). Abborrar är växelvarma och tillväxten beror på temperatur, populationsdensitet och näringstillgänglighet (Ceccuzzi et al. 2011). Eftersom abborrar är väl studerade inom beteendområdet och har visat sig påverkas av oxazepam är det därför en relevant fisk att bedriva undersökningar på. (Brodin et al. 2013; Thorpe et al. 1977; Christensen & Persson 1993). Dessutom har tidigare studier visat att abborrar i naturen blivit utsatta för oxazepam (Brodin et al. 2013).

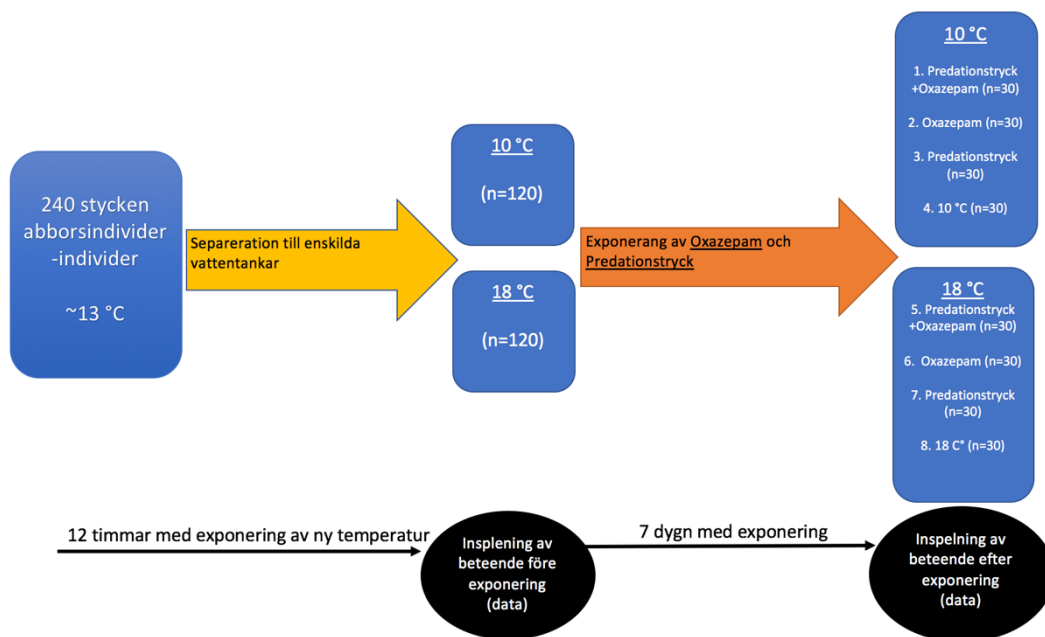
2.2. Fångst av abborrar

Insamlingen av abborrar gjordes i Brännsjön, 16 km sydväst från Umeå, Sverige. Insamlingen skedde under de första veckorna av juni 2016. Det samlades in ettåriga abborrar (5,5 - 7 cm långa) med hjälp av en not gjord av ett finmaskigt nät (5mm × 5mm). Abborrarna transporterades sedan i tråg (100 liter) med vatten som syresattes med en luftpump, till Umeå universitet där de förvarades i en vattentank 150 × 85 × 150 cm (längd × bredd × höjd) fylld med åldrat kranvatten. Vattnets temperatur i tanken var ~13 °C, och hade ett konstant genomflöde med vatten. Tankens ljusförhållande mellan ljust: mörkt var 12:12 h. Under 3 veckors aklimatisering i tanken matades abborrarna dagligen med fjädermygglarver motsvarade ~10 % av abborrens kroppsvikt

2.3. Exponeringsdesign och insamling av data

240 abborrar delades upp i separata vattentankar ($28 \times 19 \times 14$ cm) som var fyllda med 4 liter åldrat kranvatten och hade en luftpump för syresättning. Vattentankarna hade en temperatur på $\sim 13^\circ\text{C}$ och placerades omgående slumpmässigt i antingen ett varmare eller kallare rum (10 eller 18°C). Här sjönk eller steg temperaturerna sakta och resulterade i 120 separata vattentankar och individer i varje tempererade rum. Efter 12 h i den nya temperaturen flyttades abborrarna individuellt till ett akvarium där deras beteende spelades in med en kamera för vidare undersökning. Hur undersökningen av beteenden gick till beskrivs i stycke 1.5.

Efter abborrarna spelats in första gången placerades de tillbaka i samma individuella tankar i samma rum med samma temperatur som tidigare. Därefter delades de slumpvis upp i 4 olika grupper med en unik behandling för varje grupp ($n=30$). Experimentfaktorerna var, förutom temperatur som bestämdes kvällen innan första filmningen, oxazepam och predationstryck. De olika behandlingar var: (1) låg temperatur med oxazepam och predationstryck, (2) låg temperatur med oxazepam, (3) låg temperatur med predationstryck, (4) låg temperatur, (5) hög temperatur med oxazepam och predationstryck, (6) hög temperatur med oxazepam, (7) hög temperatur med predationstryck, (8) hög temperatur. Under behandlingstiden på 7 dygn matades abborrarna med 10 stycken fjädermygglarver varannan dag. Vattenegenskaper kontrollerades under hela exponeringsperioden (ammonium $[\text{NH}_4]$, $<0,004$ mg / L; hårdhet, $2,8^\circ$ dH; järn $[\text{Fe}]$, $<0,010$ mg / L; nitrit $[\text{NO}_2]$, $<0,003$ mg / L ; pH 8,0). Experimentdesignen illustreras i figur 1.



Figur 1. Experimentdesignen i kronologisk ordning från vänster till höger.

2.4. Experimentfaktorer - oxazepam, temperatur och predationstryck

2.4.1. Oxazepam

Oxazepam-lösningen (Sigma-Aldrich, O5254, CAS 604-75-1) blandades separat i abborrarnas tankar till koncentrationen 10 µg/L. Denna koncentration valdes för att tidigare studier, som endast använt oxazepam utan andra abiotiska eller biotiska faktorer, har visat beteendeffekt på abborrar när de blivit utsatta för en lägre koncentration vid 18 °C (Brodin et al. 2013; Klaminder et al. 2014). Oxazepam tillsattes bara en gång eftersom tidigare studier har visat att koncentrationen har hållit sig konstant i minst 7 dagar (Brodin et al., 2014; Klaminder et al. 2014).

2.4.2. Temperatur

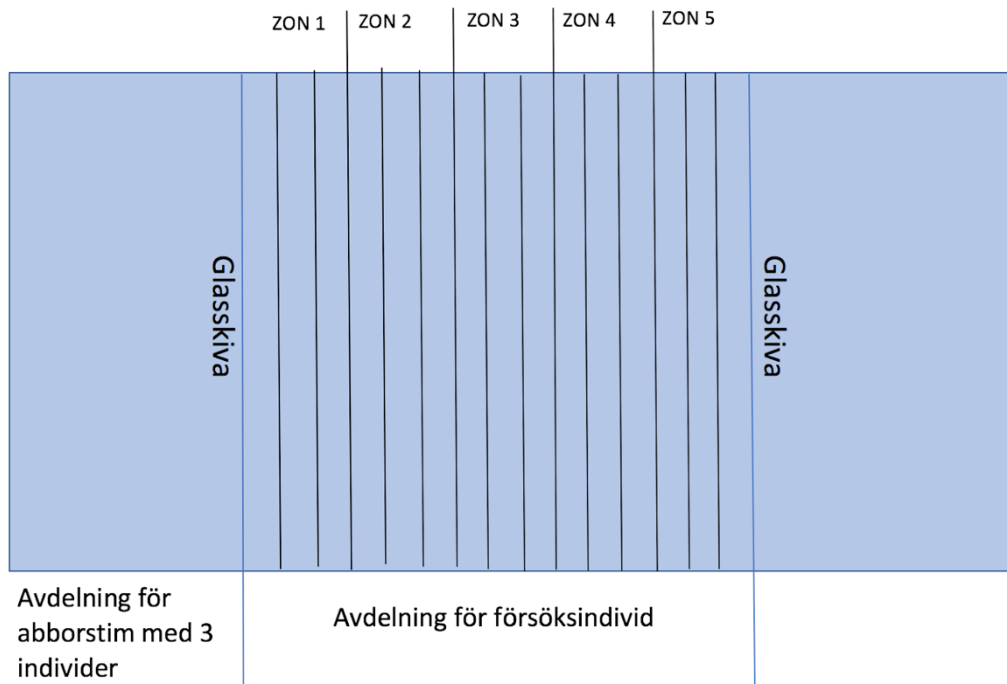
Temperaturbehandlingarna 10°C och 18°C användes i försöket. Dessa behandlingar valdes för att efterlikna en medeltemperatur hos insjöars hösttemperatur (10°C) och sommartemperatur (18°C) i en klimatzon motsvarande i Umeå (Thorpe et al. 1977).

2.4.3. Predationstryck

Predationstryck simulerades genom att tillsätta vatten från en fisktank (150 x 85 x 150 cm) innehållande två 40 cm långa gäddor, matade med abborrar var tredje dag. Dagligen tillsattes 12 ml vatten, 3 ml i varje hörn, från akvariet med gäddor till varje akvarium innehållande abborre exponerad för behandling med predationstryck.

2.5. Undersökning av beteende

Akvariet som användes under undersökningen var (30 cm högt, 30 cm brett, 60 cm långt) och fyllt med åldrat kranvatten upp till 14 cm. Akvariet var uppdelat med glasskivor i tre olika avdelningar. Två små avdelningar på sidorna, (30 cm x 15 cm) och en central avdelning, (30 cm x 30 cm). Varje försöksindivid placerades i den centrala delen och ett abborrstim med tre abborrar av liknande storlek i någon av avdelningarna på sidan. Glasskivorna gjorde det möjligt för endast visuell interaktion mellan försöksindividen och abborrstimmet. Den centrala avdelningen har parallellt utritade sträck på botten med 2 cm mellanrum som delar in akvariet i fem zoner med tre streck i varje zon. Zon 1 är sidan bredvid stimmet. Akvariet illustreras i figur 2.



Figur 2. Undersökningsakvariet sedd uppifrån.

Abborrsstimmet introducerades till akvariet en timme innan undersökningen började för att aklimatiseras till den nya miljön. När försöksindividen släpptes ned började inspelningen med en filmkamera som var lodrätt riktad ned i akvariet och hade en förinställd inspelningslängd på 20 minuter. Till detta används ett kamerastativ och en filmkamera av modell (SONY Handycam HDR-PJ50VE).

2.6. Bearbetning av data

Filmerna analyserades sedan från och med en minut efter abborren släpptes ned i akvariet för att låta den aklimatiseras till den nya miljön. I sjutton minuter, motsvarande 1020 sekunder, analyserades abborrens aktivitet och socialitet. Detta gjordes genom att anteckna antal sekunder försöksindividen var aktiv och/eller passiv i varje zon. Ett aktivt beteende innebar att abborren rörde på stjärtpenan och rörde sig i en riktning. Passivt beteende innebar att fisken inte rörde sig framåt eller bakåt med en simmande rörelse.

2.6.1. Aktivitet

Försöksindividens aktiva sekunder adderades för alla zoner den varit aktiv i. Det resulterade i ett värde för varje individs aktivitet. Det innebär att varje individ fick ett värde för aktivitet mellan 0 och 1020.

2.6.2. Socialitet

För att få ett värde för varje individs socialitet användes en graderad skala där varje zon fisken befinner sig i väger olika tungt. Zon 1 innebär hög socialitet då försöksindividen befinner sig nära abborsstimmet och det motsatta gäller för zon 5. Den totala tiden i zon 1 multipliceras med 8, zon 2 multipliceras med 4, zon 3 multipliceras med 1, zon 4 multipliceras med -4 och zon 5 multipliceras med -8. Till slut adderades alla värden för varje zon och varje individ fick ett värde på hur social den var. Det innebär att varje individ fick ett värde för socialitet mellan -8160 och 8160 där ett högt värde betyder en social fisk.

2.7. Analys av data

För att ta reda på vilka av behandlingarna som visade signifikanta skillnader i aktivitet eller socialitet använde vi generaliserad linjär modell med en gammafördelning med log-Link funktion. Signifikansnivån $p = 0.05$ användes. Denna modell användes eftersom datat inte var normalfördelat. Samma modell användes för att utreda skillnader mellan behandlingarna.

Två test utfördes. Ett för att utreda om någon faktor inte påverkade abborrharna alls och ett för att utreda hur de faktorerna som påverkade abborrharna, påverkade socialitet och aktivitet. För att kunna skapa diagram och utföra statistiska test på socialitet adderades 8160 ($1020*8$) på socialitetsresultatet eftersom detta krävde endast positiva tal.

3. RESULTAT

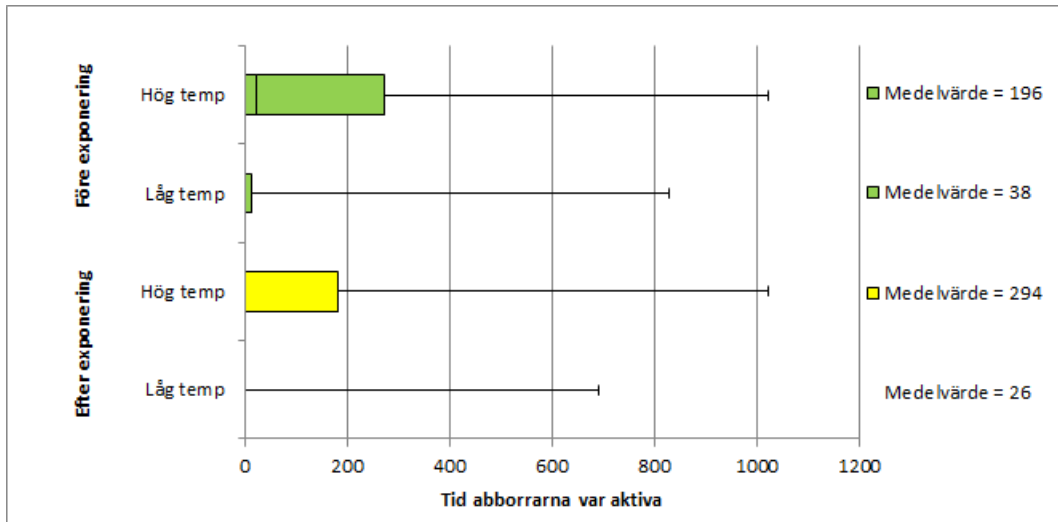
3.1. Skillnader innan exponering av oxazepam och predationstryck

Före exponering av oxazepam och predationstryck visade temperaturbehandlingarna skillnader i aktivitet ($p=0,002$; figur 3) men inte i socialitet. Högre temperatur innebar högre aktivitet. Detta är inte förvånande eftersom abborrarna blivit flyttade till de högt eller lågt tempererade behandlingstankarna där de i 12 timmar acklimatiserades till den nya temperaturen.

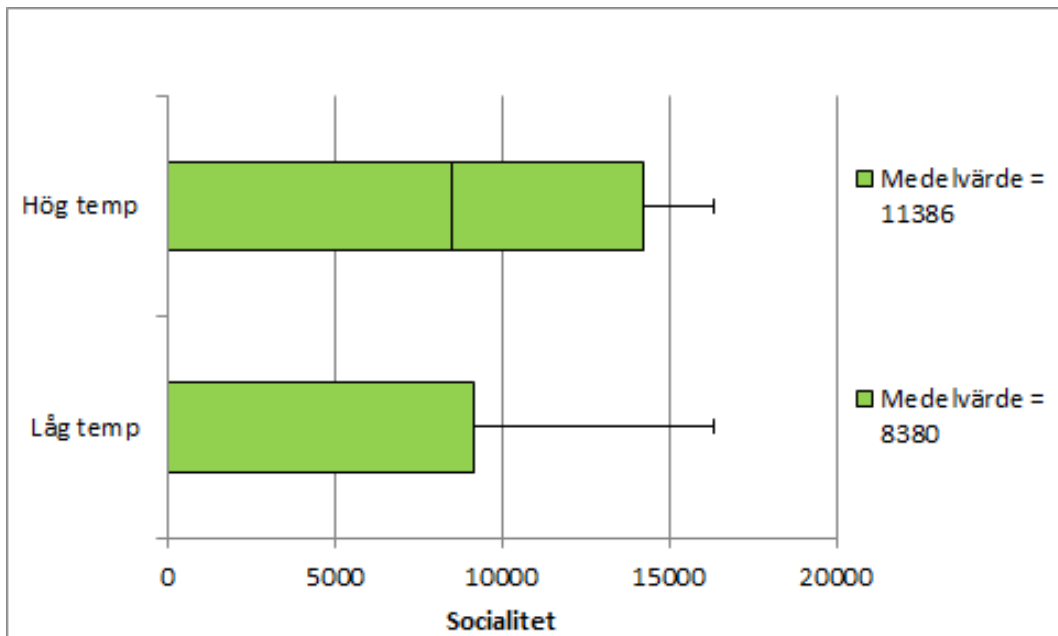
3.2. Beteendeförändringar av temperatur, oxazepam och predationstryck

Efter 7 dygn i två olika temperaturer visade abborrarna ytterligare ökad skillnad i aktivitet ($p=0,021$; figur 3). Högre temperatur innebar högre aktivitet. Även socialiteten förändrades signifikant ($p=0,007$; figur 4) efter 7 dygn i de olika temperaturerna. Abborrarna var mer sociala i den högre temperaturen.

Oxazepambehandlingarna visade ingen effekt på abborrarnas socialitet eller aktivitet ($p=0,185$ respektive $p=0,943$). Predationstryck visade sig inte påverka abborrarna alls och blev därför exkluderat vid det statistiska test som avslöjar sociala och aktiva förändringar. Varken oxazepam, temperatur eller predationstryck interagerade med varandra och dessa redogörs därför framöver oberoende av varandra.



Figur 3. Hög temperatur (18°C) och låg temperatur (10°C) över tiden (sekunder) abborrarna var aktiva före och efter exponering av behandlingarna. Felstaplarna visar den översta kvartilen och de högsta observerade värdena medan boxarna visar de andra kvartilerna i en följande ordning. Där boxar eller felstaplar inte syns (inga felstaplar syns vänster om boxarna) är alla observerade värden inom den kvartilen samma.



Figur 4. Hög temperatur (18°C) och låg temperatur (10°C) över den socialitet abborrarna visade efter exponering av behandlingarna. Felstaplarna visar den översta kvartilen och de högsta observerade värdena medan boxarna visar de andra kvartilerna i en följande ordning. Där boxar eller felstaplar inte syns (inga felstaplar syns vänster om boxarna) är alla observerade värden inom den kvartilen samma.

4. DISKUSSION

4.1. Beteendeeffekter av temperatur

Vi upptäckte att skillnaden mellan hög och låg temperatur innan exponering ökade signifikant abborrarnas aktiva beteende, vilket stödjer vår hypotes om att högre temperatur ökar aktivitet. Denna förändring ökade sedan ytterligare efter abborrarna blivit exponerade för de olika temperaturerna ytterligare i 7 dygn. Den ökade skillnaden innebär att abborrarna förmodligen kräver mer än 12 timmar för att visa en fullständig effekt efter de blivit utsatta för olika temperaturer. Temperaturskillnaden ökade även abborrarnas socialitet signifikant efter 7 dygn, dock inte efter 12 timmar. Eftersom socialiteten ökade stöds vår hypotes om att högre temperatur innebär en högre socialitet. Liksom aktivitet behöver förmodligen abborrar acklimatiseras i mer än 12 timmar i nya temperaturer för att visa fullständiga sociala effekter.

Att vissa abborrar var stilla kan vara en respons på låg temperatur (Saaristo 2019) och ångest (Stewart et al. 2012). Lägre temperatur är kopplat till lägre metabolism och hjärtfrekvens (Pörtner 2002; Jensen et al. 2017) och ångest kan uppstå när fiskar introduceras till nya miljöer (Stewart et al. 2012). Detta kan vara en anledning till att många fiskar under experimentet inte rörde sig alls under inspelningstiden, särskilt vid behandlingar med låg temperatur.

Att fiskar förändrar beteende efter temperatur har tidigare studerats av Biro et al. (2010) som kom fram till att korallrevsfiskars aktivitet ökade av en högre temperatur. En annan studie på Siamesisk kampfisk (*Betta splendens*) visade signifikanta skillnader i aktivitet efter en temperaturökning på 4°C (Forsatkar et al. 2016). I den nuvarande studien på juvenila abborrar visade en temperaturökning på 8°C signifikant ökad aktivitet och socialitet.

Ökad socialitet och aktivitet kan innebära både för och nackdelar vid dagens klimatförändringar. Från 1950 till 2015 har temperaturen på jordens yta uppskattas öka med 2°C och vatten kring Europas kustlinjer förväntas i framtiden öka mer än resten av världen. Även sötvattentemperaturen i Europa förväntas öka och som en

effekt av detta förväntas kompositionen av fiskarter och dess populationer förändras (European Environment Agency 2017). I den nuvarande studien ökar abborrarnas socialitet med ökad temperatur. I och med den ökade socialiteten kan abborrar förväntas ha en större chans att överleva eftersom de då bildar stim (Brodin et al. 2013). Däremot kan en högre temperatur orsaka en minskad chans till överlevnad och reproduktion eftersom en ökad aktivitet är kopplad till ökad mortalitet. (Forsatkar et al. 2016)

De fullständiga beteendeffekterna av klimatförändringarna är dock oklara. Studier har visat att förändringar i djurs beteende påverkar interaktioner mellan djur och kan leda till kedjereaktioner i en näringskedja. På grund av ekosystems komplexitet är det omöjligt att fastställa beteendeförändringars alla effekter (Harmon & Barton 2013). En slutsats kan dock vara att temperatur har en djupgående generell inverkan på både djurs beteende och att andra interagerande djur förmodligen påverkas. Mer forskning kring olika kombinationer av behandlingar på olika arter är därför betydelsefullt för att ge en tydligare inblick i hur temperatur tillsammans med andra faktorer påverkar ekosystem och dess komponenter olika mycket.

4.2. Beteendeffekter av Oxazepam

Resultatet visade att oxazepam inte påverkade abborrarna. Variansen på värdena från hur abborrarnas beteende förändras påverkas av alla behandlingar. Eftersom temperaturbehandlingarna hade en stark effekt jämfört med oxazepam och predationstryck bestäms variansen mestadels av dessa. Detta innebär ökade svårigheter i att påvisa signifikanta resultat från behandlingarna med oxazepam och predationstryck.

Enligt Brodin et al. (2013) har behandlingar med betydligt lägre koncentration (1.8µg/L) oxazepam visat signifikanta skillnader på juvenila abborrars både sociala och aktiva beteenden. Däremot hade den studien inte med temperaturbehandlingar. I den här studien där abborrarna utsattes för en vattentemperatur på antingen 10°C eller 18°C visade oxazepambehandlingarna, trots en drygt fem gånger högre dos (10µg/L), inga signifikanta effekter. Därför kan en spekulation vara att oxazepambehandlingarna hade påverkat abborrarnas beteende om temperaturerna varit annorlunda eller borttagna från undersökningen.

Olika temperaturer kan även förändra metabolismen hos fiskar som kan leda till förändrad halt och upptagshastighet av läkemedel (Saaristo et al. 2018). Hur detta påverkar den nuvarande undersökningen är dock oklar eftersom oxazepam inte påverkade abborrindividernas aktivitet eller socialitet vid någon av temperaturerna.

Vår hypotes om att oxazepam påverkar abborrars beteende styrks inte av våra resultat.

4.3. Predationstryck

Resultaten visade att predationstryck inte påverkade abborrarna alls och blev exkluderad i det statistiska test som undersökte socialitet och aktivitet. Därför stöds hypotesen om att predationstryck inte skulle påverka abborrarnas beteende. Dock har predationstryck i andra studier visat signifikanta effekter (Saaristo et al. 2019). En del av förklaringen till att predation inte visade signifikanta resultat i den nuvarande studien kan vara kemiska indikatorer. Fiskar känner igen andra fiskar till stor del genom kemiska indikatorer. Fiskar använder dessa indikatorer bland annat till att uppfatta bekanta, olika fiskarter eller om predatorer är närvarande (Meuthen et al. 2011). I den nuvarande studien skiljdes försöksindividen och abborrstimmet med en glasskiva som förhindrar kemiska indikatorer. Om individen inte känner igen stimmet på grund av att de kemiska indikatorerna är hindrade, skulle abborrarnas motivation till att bilda stim kunna minska. Detta kan påverka resultatet eftersom stimbildning annars är en respons på predationstryck (Brodin et al. 2013). Dessutom har undersökningar som använder filmkamera som filmar ovanifrån svårt att fånga nyanserade effekter av predationstryck (Meuthen et al. 2011).

En annan förklaring till att abborrarna inte påverkades av predationstryck kan vara evolutionär historia. Gener påverkar beteende (Drangsholt et al. 2014) och beroende på genotyp påverkas fiskars kortsiktiga beteende olika av predation (Dingemanse et al. 2009). Predation och genetik är kopplade eftersom predatorer påverkar vilket beteende som förs vidare i generationer (Dingemanse et al. 2009). Abborrar med andra gener skulle därför kunna svara annorlunda på predationstryck än vad abborrarna i denna studien gjorde. Kopplingen mellan genetik och personlighet är däremot mindre studerad (Millot et al. 2014).

4.4. Fiskar är individer

Resultatet kan påverkas av abborrarnas personligheter, d.v.s. att de är alla individer som skiljer sig åt. Att arter inom många olika taxa har olika personligheter har under de senaste åren uppmärksamats. Dessa olika personligheter påverkar individernas överlevnad och reproduktion och därigenom fitness (Jolles et al. 2016). Beteende har traditionellt delats upp längst en axel från proaktiv till reaktiv. På ena änden av axeln karaktäriseras individer av kamp- eller flyktbeteende och som kännetecknas av aggressivitet, sympati, undvikande och rutinmässighet. På andra sidan karaktäriseras individer av ett reaktivt beteende som innebär att de fryser vid

påtryckande situationer samt att de generellt visar en högre variation i beteende (Koolhaas et al. 1999; Dingemanse et al. 2010). Individer som är utsatta för en hög stress, som i denna undersökning, kan möjligtvis triggas till ett visst beteende beroende på personlighetstyp. Detta kan vara en förklaring till variationen i beteende mellan individerna, trots samma behandling (bilaga 2).

Att fiskar beter sig olika i detta experiment kan även bero på hur stimmet på andra sidan glasväggen ser ut, exempelvis storleksmässigt (Brown 2002). Fiskars motivation till att visa socialitet (bilda stim) kan även bero på andra faktorer, som att om de känner igen stimmet eller inte. I stim där individerna är bekanta kan samspelet mellan individerna öka och gynna dem i situationer med predatorer. Dessutom kan antalet möjliga partners öka om de känner igen obekanta individer. (Hughes et al. 1999; Kelly et al. 1999). I den nuvarande studien tas inte abborrstimets egenskaper i beaktning, utan här antas abborrindivider vara motiverade till att interagera socialt med dem. Detta skulle kunna påverka resultaten, möjligtvis genom en generellt minskad socialitet.

Avslutningsvis påverkades abborrarnas aktivitet signifikant av temperaturskillnaderna redan efter 12 timmar. Efter 7 dygn hade temperaturskillnadernas effekter ökat ytterligare och visade signifikanta skillnader i både socialitet och aktivitet. Högre temperatur medförde en högre socialitet och högre aktivitet. Däremot svarade inte juvenila abborrar på oxazepambehandlingar eller behandlingar med predationstryck. Detta visar att temperatur har en djupgående effekt på beteende, oberoende av oxazepam och predationstryck.

5. REFERENSER

- Beek, T. aus der, Weber, F.-A., Bergmann, A., Hickmann, S., Ebert, I., Hein, A. & Küster, A. (2016). Pharmaceuticals in the environment—Global occurrences and perspectives. *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 35 (4), ss. 823–835. DOI: <https://doi.org/10.1002/etc.3339>
- BF00001795.pdf. Tillgänglig: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/BF00001795.pdf> [2020-04-13]
- Biro, P.A., Beckmann, C. & Stamps, J.A. (2010). Small within-day increases in temperature affects boldness and alters personality in coral reef fish. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, vol. 277 (1678), ss. 71–77 Royal Society. DOI: <https://doi.org/10.1098/rspb.2009.1346>
- Boxall, A.B.A. (2004). The environmental side effects of medication. *EMBO Reports*, vol. 5 (12), ss. 1110–1116. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.embor.7400307>
- Boxall, A.B.A., Rudd, M.A., Brooks, B.W., Caldwell, D.J., Choi, K., Hickmann, S., Innes, E., Ostapyk, K., Staveley, J.P., Verslycke, T., Ankley, G.T., Beazley, K.F., Belanger, S.E., Berninger, J.P., Carriquiriborde, P., Coors, A., Deleo, P.C., Dyer, S.D., Ericson, J.F., Gagné, F., Giesy, J.P., Gouin, T., Hallstrom, L., Karlsson, M.V., Larsson, D.G.J., Lazorchak, J.M., Mastrocco, F., McLaughlin, A., McMaster, M.E., Meyerhoff, R.D., Moore, R., Parrott, J.L., Snape, J.R., Murray-Smith, R., Servos, M.R., Sibley, P.K., Straub, J.O., Szabo, N.D., Topp, E., Tetreault, G.R., Trudeau, V.L. & Van Der Kraak, G. (2012). Pharmaceuticals and personal care products in the environment: what are the big questions? *Environmental Health Perspectives*, vol. 120 (9), ss. 1221–1229
- Brodin, T., Fick, J., Jonsson, M. & Klaminder, J. (2013). Dilute Concentrations of a Psychiatric Drug Alter Behavior of Fish from Natural Populations. *Science*, vol. 339 (6121), ss. 814–815. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1226850>
- Brodin, T., Piovano, S., Fick, J., Klaminder, J., Heynen, M. & Jonsson, M. (2014). Ecological effects of pharmaceuticals in aquatic systems—impacts through behavioural alterations. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, vol. 369 (1656), s. 20130580 Royal Society. DOI: <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0580>
- Brown, C. (2002). Do female rainbowfish (*Melanotaenia* spp.) prefer to shoal with familiar individuals under predation pressure? *Journal of Ethology*, vol. 20 (2), ss. 89–94. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10164-002-0059-6>

- Brown, C. & Braithwaite, V.A. (2005). Effects of predation pressure on the cognitive ability of the poeciliid *Brachyraphis episcopi*. *Behavioral Ecology*, vol. 16 (2), ss. 482–487. DOI: <https://doi.org/10.1093/beheco/ari016>
- Brown, C., Burgess, F. & Braithwaite, V.A. (2007). Heritable and experiential effects on boldness in a tropical poeciliid. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, vol. 62 (2), ss. 237–243. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00265-007-0458-3>
- Calisto, V., Domingues, M.R.M. & Esteves, V.I. (2011). Photodegradation of psychiatric pharmaceuticals in aquatic environments – Kinetics and photodegradation products. *Water Research*, vol. 45 (18), ss. 6097–6106. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.09.008>
- Calisto, V. & Esteves, V.I. (2009). Psychiatric pharmaceuticals in the environment. *Chemosphere*, vol. 77 (10), ss. 1257–1274. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.09.021>
- Cunha, D.L., de Araujo, F.G. & Marques, M. (2017). Psychoactive drugs: occurrence in aquatic environment, analytical methods, and ecotoxicity—a review. *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 24 (31), ss. 24076–24091. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0170-4>
- Dingemanse, N.J., Kazem, A.J.N., Réale, D. & Wright, J. (2010). Behavioural reaction norms: animal personality meets individual plasticity. *Trends in Ecology & Evolution*, vol. 25 (2), ss. 81–89. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tree.2009.07.013>
- Dingemanse, N.J., Van der Plas, F., Wright, J., Réale, D., Schrama, M., Roff, D.A., Van der Zee, E. & Barber, I. (2009). Individual experience and evolutionary history of predation affect expression of heritable variation in fish personality and morphology. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, vol. 276 (1660), ss. 1285–1293. DOI: <https://doi.org/10.1098/rspb.2008.1555>
- Drangsholt, T.M.K., Damsgård, B. & Olesen, I. (2014). Quantitative genetics of behavioral responsiveness in Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *Aquaculture*, vol. 420–421, ss. 282–287. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.11.004>
- European Environment Agency (2017). *Climate change, impacts and vulnerability in Europe 2016*. European Environment Agency. [Publication]. Tillgänglig: <https://www.eea.europa.eu/publications/climate-change-impacts-and-vulnerability-2016> [2020-04-13]
- Fahlman, J., Fick, J., Karlsson, J., Jonsson, M., Brodin, T. & Klaminder, J. (2018). Using laboratory incubations to predict the fate of pharmaceuticals in aquatic ecosystems. *Environmental chemistry (Online); Collingwood*, vol. 15 (8), ss. 463–471 Collingwood, Australia, Collingwood: CSIRO. DOI: <http://dx.doi.org/10.1071/EN18154>
- Forsatkar, M.N., Nematollahi, M.A., Biro, P.A. & Beckmann, C. (2016). Individual boldness traits influenced by temperature in male Siamese fighting fish. *Physiology & Behavior*, vol. 165, ss. 267–272. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2016.08.007>

- Harmon, J.P. & Barton, B.T. (2013). On their best behavior: how animal behavior can help determine the combined effects of species interactions and climate change. *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 1297 (1), ss. 139–147 John Wiley & Sons, Ltd. DOI: <https://doi.org/10.1111/nyas.12192>
- Havs och Vattenmyndigheten (2020-02-04). *Abborre. Abborre (Perca fluviatilis)*. [text]. Tillgänglig: <http://www.havochvatten.se/hav/fiske--fritid/arter/arter-och-naturtyper/abborre.html> [2020-04-13]
- Heynen, M., Bunnefeld, N. & Borcharding, J. (2017). Facing different predators: adaptiveness of behavioral and morphological traits under predation. *Current Zoology*, vol. 63 (3), ss. 249–257 Oxford Academic. DOI: <https://doi.org/10.1093/cz/zow056>
- Hughes, K.A., Du, L., Rodd, F.H. & Reznick, D.N. (1999). Familiarity leads to female mate preference for novel males in the guppy, *Poecilia reticulata*. *Animal Behaviour*, vol. 58 (4), ss. 907–916. DOI: <https://doi.org/10.1006/anbe.1999.1225>
- Hunt, J. & Hosken, D.J. (2014). *Genotype-by-Environment Interactions and Sexual Selection*. John Wiley & Sons.
- Huntingford, F.A. (2004). Implications of domestication and rearing conditions for the behaviour of cultivated fishes. *Journal of Fish Biology*, vol. 65 (s1), ss. 122–142. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.0022-1112.2004.00562.x>
- Jensen, D.L., Overgaard, J., Wang, T., Gesser, H. & Malte, H. (2017). Temperature effects on aerobic scope and cardiac performance of European perch (*Perca fluviatilis*). *Journal of Thermal Biology*, vol. 68, ss. 162–169. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2017.04.006>
- Jolles, J.W., Boogert, N.J., Sridhar, V.H., Couzin, I.D. & Manica, A. (2017). Consistent Individual Differences Drive Collective Behavior and Group Functioning of Schooling Fish. *Current Biology*, vol. 27 (18), ss. 2862–2868.e7. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.08.004>
- Kelley, J.L., Graves, J.A. & Magurran, A.E. (1999). Familiarity breeds contempt in guppies. *Nature*, vol. 401 (6754), ss. 661–662. DOI: <https://doi.org/10.1038/44314>
- Kookana, R.S., Williams, M., Boxall, A.B.A., Larsson, D.G.J., Gaw, S., Choi, K., Yamamoto, H., Thatikonda, S., Zhu, Y.-G. & Carriquiriborde, P. (2014). Potential ecological footprints of active pharmaceutical ingredients: an examination of risk factors in low-, middle- and high-income countries. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, vol. 369 (1656). DOI: <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0586>
- Koolhaas, J.M., Korte, S.M., De Boer, S.F., Van Der Vegt, B.J., Van Reenen, C.G., Hopster, H., De Jong, I.C., Ruis, M.A.W. & Blokhuis, H.J. (1999). Coping styles in animals: current status in behavior and stress-physiology. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, vol. 23 (7), ss. 925–935. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0149-7634\(99\)00026-3](https://doi.org/10.1016/S0149-7634(99)00026-3)

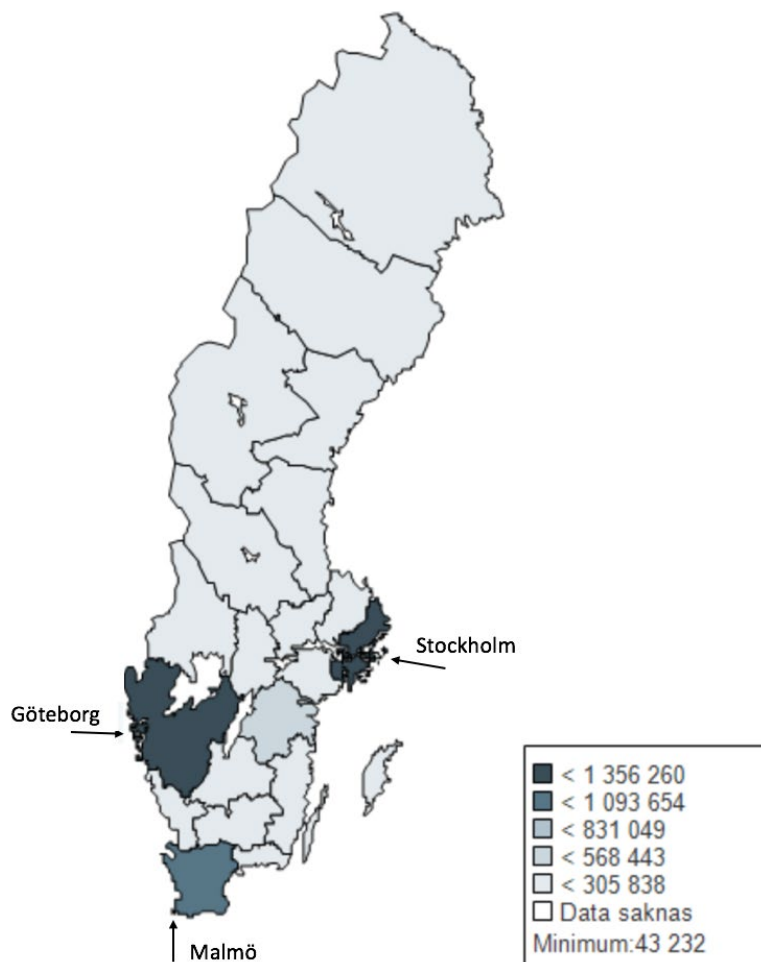
- Maximino, C., Marques de Brito, T., Dias, C.A.G. de M., Gouveia, A. & Morato, S. (2010). Scototaxis as anxiety-like behavior in fish. *Nature Protocols*, vol. 5 (2), ss. 209–216 Nature Publishing Group. DOI: <https://doi.org/10.1038/nprot.2009.225>
- Meuthen, D., Baldauf, S., Bakker, T. & Thünken, T. (2011). Substrate-treated water: a method to enhance fish activity in laboratory experiments. *Aquatic Biology*, vol. 13 (1), ss. 35–40. DOI: <https://doi.org/10.3354/ab00348>
- Millot, S., Péan, S., Labbé, L., Kerneis, T., Quillet, E., Dupont-Nivet, M. & Bégout, M.-L. (2014). Assessment of Genetic Variability of Fish Personality Traits using Rainbow Trout Isogenic Lines. *Behavior Genetics*, vol. 44 (4), ss. 383–393. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10519-014-9652-z>
- Mittelbach, G.G., Ballew, N.G. & Kjelson, M.K. (2014). Fish behavioral types and their ecological consequences. (Fraser, D., red.) *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, vol. 71 (6), ss. 927–944. DOI: <https://doi.org/10.1139/cjfas-2013-0558>
- Morgan, M.J. (1988). The influence of hunger, shoal size and predator presence on foraging in bluntnose minnows. *Animal Behaviour*, vol. 36 (5), ss. 1317–1322. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0003-3472\(88\)80200-8](https://doi.org/10.1016/S0003-3472(88)80200-8)
- Nagelkerken, I. & Munday, P.L. (2016). Animal behaviour shapes the ecological effects of ocean acidification and warming: moving from individual to community-level responses. *Global Change Biology*, vol. 22 (3), ss. 974–989
- Naturvårdsverket (2019-08-15). *Läkemedel i miljön*. Naturvårdsverket. [text]. Tillgänglig: <https://www.naturvardsverket.se/Sa-mar-miljon/Manniska/Miljogifter/Organiska-miljogifter/Lakemedel/> [2020-04-02]
- NOAA Climate.gov (2020-01-16). *Climate Change: Global Temperature* | NOAA Climate.gov. Tillgänglig: <https://www.climate.gov/news-features/understanding-climate/climate-change-global-temperature> [2020-04-02]
- Pascoe, D., Karntanut, W. & Müller, C.T. (2003). Do pharmaceuticals affect freshwater invertebrates? A study with the cnidarian *Hydra vulgaris*. *Chemosphere*, vol. 51 (6), ss. 521–528
- Patel, M., Kumar, R., Kishor, K., Mlsna, T., Pittman, C.U. & Mohan, D. (2019). Pharmaceuticals of Emerging Concern in Aquatic Systems: Chemistry, Occurrence, Effects, and Removal Methods. *Chemical Reviews*, vol. 119 (6), ss. 3510–3673 American Chemical Society. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00299>
- Pörtner, H.O. (2002). Climate variations and the physiological basis of temperature dependent biogeography: systemic to molecular hierarchy of thermal tolerance in animals. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, vol. 132 (4), ss. 739–761. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1095-6433\(02\)00045-4](https://doi.org/10.1016/S1095-6433(02)00045-4)
- Richmond, E.K., Rosi, E.J., Walters, D.M., Fick, J., Hamilton, S.K., Brodin, T., Sundelin, A. & Grace, M.R. (2018). A diverse suite of pharmaceuticals

- contaminates stream and riparian food webs. *Nature Communications*, vol. 9 (1), ss. 1–9 Nature Publishing Group. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06822-w>
- Richmond, E.K., Rosi-Marshall, E.J., Lee, S.S., Thompson, R.M. & Grace, M.R. (2016). Antidepressants in stream ecosystems: influence of selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) on algal production and insect emergence. *Freshwater Science*, vol. 35 (3), ss. 845–855. DOI: <https://doi.org/10.1086/687841>
- Rountree, R.A. & Sedberry, G.R. (2009). A theoretical model of shoaling behavior based on a consideration of patterns of overlap among the visual fields of individual members. *acta ethologica*,
- Saaristo, M., Brodin, T., Balshine, S., Bertram, M.G., Brooks, B.W., Ehlman, S.M., McCallum, E.S., Sih, A., Sundin, J., Wong, B.B.M. & Arnold, K.E. (2018). Direct and indirect effects of chemical contaminants on the behaviour, ecology and evolution of wildlife. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, vol. 285 (1885), s. 20181297. DOI: <https://doi.org/10.1098/rspb.2018.1297>
- Saaristo, M., Lagesson, A., Bertram, M.G., Fick, J., Klaminder, J., Johnstone, C.P., Wong, B.B.M. & Brodin, T. (2019). Behavioural effects of psychoactive pharmaceutical exposure on European perch (*Perca fluviatilis*) in a multi-stressor environment. *Science of The Total Environment*, vol. 655, ss. 1311–1320. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.11.228>
- Seghers, B.H. (1981). Facultative schooling behavior in the spottail shiner (*Notropis hudsonius*): possible costs and benefits. *Environmental Biology of Fishes*, vol. 6 (1), ss. 21–24. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00001795>
- Simon, T.P. (1998). *Assessing the Sustainability and Biological Integrity of Water Resources Using Fish Communities*. CRC Press.
- Socialstyrelsen (2019-04-03). *Allt fler får antidepressiva läkemedel*. Tillgänglig: <https://www.socialstyrelsen.se/om-socialstyrelsen/pressrum/press/allt-fler-far-antidepressiva-lakemedel/> [2020-04-02]
- Socialstyrelsen. (*Statistikdatabaser - Läkemedelsstatistik - Val*) *Val: Läkemedelsgrupper=Antidepressiva, Antidepressiva -SSRI. Regioner=alla. Ålder=alla. Kön=alla. Mått=alla. År=alla. Karta: Antal expiderade*. Tillgänglig: https://sdb.socialstyrelsen.se/if_lak/val.aspx [2020-04-02]
- Steele, J.H., Thorpe, S.A. & Turekian, K.K. (2009). *Elements of Physical Oceanography: A derivative of the Encyclopedia of Ocean Sciences*. Academic Press.
- Stewart, A., Gaikwad, S., Kyzar, E., Green, J., Roth, A. & Kalueff, A.V. (2012). Modeling anxiety using adult zebrafish: A conceptual review. *Neuropharmacology*, vol. 62 (1), ss. 135–143. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2011.07.037>
- Strobbe, F., McPeck, M.A., De Block, M. & Stoks, R. (2011). Fish predation selects for reduced foraging activity. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, vol. 65 (2), ss. 241–247. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00265-010-1032-y>

- Tanoue, R., Margiotta-Casaluci, L., Huerta, B., Runnalls, T.J., Eguchi, A., Nomiya, K., Kunisue, T., Tanabe, S. & Sumpter, J.P. (2019). Protecting the environment from psychoactive drugs: Problems for regulators illustrated by the possible effects of tramadol on fish behaviour. *Science of The Total Environment*, vol. 664, ss. 915–926. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.090>
- UN-Water Quality and Wastewater. *UN-Water*. Tillgänglig: <https://www.unwater.org/water-facts/quality-and-wastewater/> [2020-04-10]
- Van Buskirk, J., McCollum, S.A. & Werner, E.E. (1997). Natural Selection for Environmentally Induced Phenotypes in Tadpoles. *Evolution*, vol. 51 (6), ss. 1983–1992 [Society for the Study of Evolution, Wiley]. DOI: <https://doi.org/10.2307/2411018>
- Werner, E.E. & Anholt, B.R. (1993). Ecological consequences of the trade-off between growth and mortality rates mediated by foraging activity. *The American Naturalist*, vol. 142 (2), ss. 242–272
- Wong, B.B.M. & Candolin, U. (2015). Behavioral responses to changing environments. *Behavioral Ecology*, vol. 26 (3), ss. 665–673 Oxford Academic. DOI: <https://doi.org/10.1093/beheco/aru183>

Bilaga 1

Läkemedelsstatistik, Antal expedieringar,
Antidepressiva, Ålder: 0-85+, Båda könen, 2019



Statistikdatabaser - Läkemedelsstatistik - Val. Tillgänglig:
https://sdb.socialstyrelsen.se/if_lak/val.aspx [2020-04-02]

Bilaga 2

Individer med samma behandling efter exponering (oxazepam, hög temp och predationstryck).

