



Modigare mörtar

En beteendestudie av oxazepam's påverkan på vild mört

Johanna Nordling

Student

Examensarbete i biologi 15 hp
Avseende kandidatexamen
Rapporten godkänd: 1 juni 2018
Handledare: Tomas Brodin

Abstract

The use of pharmaceuticals in Sweden has increased during the last decades and one of the most frequently used groups of pharmaceuticals for treating anxiety is benzodiazepines. These pass through wastewater treatment plants and continue to lakes and rivers, where benzodiazepines may be a big threat to the environment. So far, little is known about the ecological effects of them, since little research has been done in this area. One previous behavioural study showed that perch (*Perca fluviatilis*) exposed to oxazepam (a benzodiazepine anxiolytic drug) became bolder, more active and less social. In this study the effect of oxazepam on the same three basic behaviours of roach (*Rutilus rutilus*) are studied (boldness, activity and sociality). Roach were exposed to one of three treatments; a control without oxazepam (0 µg/l), a low concentration (0,84 µg/l) and a high concentration (280 µg/l), for 8 days. The study indicated that roach exposed to the high concentration became significantly bolder, similar to perch. This might have negative effects in situ, since they will take more risks and expose themselves to dangers. However, to get information about the net effect of oxazepam on roach behaviour in the wild, further studies are required.

Key words: oxazepam; behaviour; *Rutilus rutilus*; ecological consequences; pharmaceuticals

Förord

Först och främst vill jag rikta ett stort tack till min handledare Tomas Brodin för möjligheten att genomföra det här projektet samt för all vägledning genom arbetets gång. Tack till Martina Heynen för hjälpt med analysering samt till Jerker Fick för oxazepamlösning. Till sist vill jag tacka Anna Sundelin och Annelie Lagesson för praktisk hjälp.

Innehållsförteckning

1. Inledning	8
1.2 Syfte/Problemformulering	9
2. Material och metod	9
3. Resultat	12
4. Diskussion	14
4.1 Slutsats	16
5. Referenser	17

1. Inledning

Läkemedelsanvändningen i Sverige ökar och under år 2015 använde över 60 % av svenska befolkningen receptbelagda läkemedel (Socialstyrelsen 2016). Dessa läkemedel kommer via avloppssystemen ut i sjöar och vattendrag (Heberer 2002; Loos et al. 2013) tillsammans med föroreningar från fabriker, industrier, bilar och jordbruk, vilket har lett till att vattenförorening blivit ett stort, globalt problem (Zadorozhnaya et al. 2015). Då världens befolkning växer ökar avfallen och man räknar med att vattenföroreningarna kommer fördubblas inom de närmaste 20 åren (Zadorozhnaya et al. 2015).

Idag kan man hitta tusentals antropogena preparat i sjöar och vattendrag påverkade av jordbruk och kommunala avloppsvatten (Kolpin et al. 2002), däribland läkemedel såsom antihistaminer, hormoner, antidepressiva medel och antibiotika. Eftersom dessa är konstruerade att vara stabila har reningsverken svårt att bryta ner dem, vilket gör att dessa ämnen förblir biokemiskt aktiva när de kommer ut i naturen (Huerta et al. 2012; Brodin et al. 2013), där de exponerar både flora och fauna (Dietrich et al. 2002).

Att läkemedel kommer ut i naturen är oroande, då de skiljer sig från andra antropogena föroreningar. När andra kemikalier kan ha biologiska effekter som en oavsiktlig konsekvens av deras huvudfunktion, är läkemedel däremot konstruerade till att påverka den fysiologiska funktionen hos organismer (Calisto och Esteves 2009; Corcoran et al. 2010; Huerta et al. 2012). De är dessutom designade att ge effekt på ryggradsdjur, vilket innebär att vissa läkemedel som är avsedda för boskapsdjur eller människor även kan komma att påverka vilda ryggradsdjur och deras beteende. Detta gör att läkemedel som kommer ut via avloppen kan påverka artsammansättning i samhällen. På så sätt kan läkemedel vara ett hot mot akvatiska ekosystem (Brodin et al. 2013; Klaminder et al. 2014).

En grupp läkemedel som i miljön medför en stor risk för ekologiska effekter är bensodiazepiner. Dessa utgör en mycket vanlig grupp av psykoterapeutiska läkemedel med ångestdämpande funktion och hör till de mest ordinerade medicinerna i världen (Calisto och Esteves 2009; Calisto et al. 2011). De har funnits både på den europeiska och den amerikanska marknaden sedan 1960-talet och har som funktion att ge en lugnande effekt samt minska ångest, genom att rikta in sig på det centrala nervsystemet (Klaminder et al. 2014). Av dessa är oxazepam och diazepam (där oxazepam även är huvudmetabolit av diazepam) de mest använda globalt sett och påträffas ofta i ytvatten nära avloppsutflöden tillsammans med andra bensodiazepiner, eftersom endast en bråkdel av dem bryts ner i reningsverken (Brodin et al. 2013; Klaminder et al. 2014). Enligt undersökningar av biologisk nedbrytning verkar läkemedel generellt sett ha snabb nedbrytningshastighet i vattensediment (Klaminder et al. 2014), då den farmakologiska effekten har försvunnit inom några dagar till veckor. Psykiatriska läkemedel däremot antas vara bland de mest persistenta och finns därför kvar länge i den akvatiska miljön (Klaminder et al. 2014).

Läkemedel kan bioackumuleras i organismer (Ramirez et al. 2007; Huerta et al. 2012) och många läkemedel har hittats i fisk (Brodin et al. 2013; Meador et al. 2016), men kunskapen om hur läkemedlen påverkar de akvatiska ekosystemens funktion och struktur är ännu mycket liten (Rosi-Marshall och Royer 2012). De flesta ekotoxikologiska studier har dock gjorts på experimentellt uppfödd fisk såsom zebrafisk (*Danio rerio*) och knölskallelöja (*Pimephales promelas*), medan väldigt få är gjorda på vild fisk (Klaminder et al. 2014). De som gjorts på vild fisk har främst varit på abborre (*Perca fluviatilis*), där man sett hur de förändrat beteende när de utsatts för det ångestdämpande läkemedlet oxazepam (Brodin et al. 2013; Brodin et al. 2014; Klaminder et al. 2014). Framför allt har fiskarnas aktivitet ökat och de har blivit mindre sociala med ökande koncentration av läkemedlet (Brodin et al. 2013; Klaminder et al. 2014).

I en beteendestudie gjord av Brodin et al. (2013) studerades grundläggande beteenden som aktivitet, risktagande och social preferens hos abborre. Fisken exponerades för oxazepam i sju dagar i en av tre behandlingar; kontroll (rent vatten), låg (1,8 µg/l) samt hög koncentration (910 µg/l). Testerna visade på signifikant skillnad i beteende mellan före och efter exponering, då det blev en ökning i aktivitet i både låg och hög behandling. Abborrarna blev även mindre sociala,

medan endast fisk i hög koncentration blev mer riskbenägen. I en liknande beteendestudie (Klaminder et al. 2014) blev individer i låg (1 µg/l) samt hög (1000 µg/l) koncentration mer aktiva. För de andra två beteendena såg man däremot bara en signifikant förändring i hög koncentration, där individerna blev mer riskbenägna och mindre sociala.

Den bakomliggande orsaken till att oxazepam har visat sig ge ökad aktivitet hos abborre vet man inte säkert men det finns hypoteser. En hypotes (Klaminder et al. 2014) är att fisken känner av samma effekt som medicinen är gjord att ge, d.v.s. en lugnande känsla som minskar ångest och stress. Detta gör sedan fisken mer riskbenägen och på det viset vågar den vara mer aktiv. Det som stödjer denna teori är att försöksfiskarna visat på både ökad aktivitet och ökad riskbenägenhet i två olika studier (Brodin et al. 2013; Klaminder et al. 2014).

Abborre är dock endast en av många organismer i vattnet och för att få en större förståelse för ekologiska effekter av detta läkemedel behövs fler studier av andra arter. I denna studie har mört (*Rutilus rutilus*) studerats för att se om oxazepam kan påverka även mörtarnas beteende.

1.2 Syfte/Problemformulering

Syftet med denna studie är att undersöka om oxazepam påverkar tre viktiga beteenden (aktivitet, social preferens och risktagande) hos mört, för att se vilka potentiella ekologiska effekter oxazepam kan ha i akvatiska miljöer, samt om effektstyrkan är beroende av koncentration. Experimentet innehåller tre behandlingar: kontroll (rent vatten), en låg koncentration av oxazepam samt en hög koncentration av oxazepam. Koncentrationerna av läkemedlet som har använts i denna studie är i likhet med de som tidigare har hittats i svenska sjöar och vattendrag. I en undersökning av Brodin et al. (2013) påträffades oxazepam i svenska ytvatten vid utloppsflöden från reningsverk i koncentrationer av 0,73 µg/l. Även i Fyrisån i Uppsala, som påverkas starkt av utlopp från avloppsreningsverk, observerades koncentrationer av läkemedlet på 0,58 µg/l. Koncentrationsnivåerna i studien är valda för att kunna urskilja mörtens påverkan av olika nivåer av oxazepam. Den första behandlingen ska efterlikna de värden som påträffats i naturen med en koncentration på 0,84 µg/l för att se hur mört kan komma att påverkas av det. Den andra behandlingen med högre koncentration (280 µg/l) av oxazepam är högre än den som påträffats i naturen, för att få en tydlig indikation på hur mörtens påverkas av läkemedlet i större dos. Den tredje behandlingen är kontroll och innehåller endast rent vatten, för att kunna jämföra beteendena mellan de olika behandlingarna.

Hypoteserna är:

H₀: Mörtens beteende vad gäller aktivitet, socialt eller risktagande förändras inte efter exponering av oxazepam.

H₁: Mörtens beteende, vad gäller aktivitet, socialt och risktagande, förändras efter att de utsatts för oxazepam. Individer i hög koncentration kommer att visa på signifikant skillnad i de tre beteendena efter exponering; öka i aktivitet och risktagande samt bli mindre sociala. I låg koncentration kommer liknande men mindre kraftig förändring ske, medan det i kontrollen inte kommer att bli någon förändring mellan före och efter exponering.

2. Material och metod

Till denna studie fanns ett etiskt tillstånd för djurförsök med diarienummer A41-12.

Mörten fångades in 30–31 maj 2016 i Bjännsjön, som ligger 16 km sydväst om Umeå (SWEREF99 TM: 7083260; 746167; VISS 2016). De fångades in genom notdragning och förflyttades sedan i vattenfyllda tunnor med syretabletter och transporterades till EMG på Umeå universitet. Där tillsattes tryckluft samt ca 50 % kranvatten i tunnorna under ca 10 min för att de skulle aklimatisera sig till det kalla kranvattnet. Därefter flyttades fisken tillsammans med abborrar (som hörde till annat projekt) över till större tankar (400 liter), som hade både tryckluft och genomrinnande vattenflöde.

Den 1 juni 2016 förflyttades alla mörtar till en egen 400-literstank, vilken också hade cirkulerande kranvatten med en temperatur på ca 11 °C som syresattes m.h.a. tryckluft. För att mörtarna skulle få upp aptiten matades dem med zooplankton det första dygnet, därefter fick de upptinade frysta *Chironomidae* (röda mygglarver) en gång/dag. De aklimatiserades i denna tank under fem dagar innan beteendestudierna startade.

Efter 5 dagar gjordes de första experimenten där tre viktiga beteenden (aktivitet, social preferens och risktagande) hos mört undersöktes. 60 slumpvis utvalda fiskar hävdades upp ur tanken, fyra stycken åt gången, och transporterades till experimentrummen i varsin hink (10 l, innehållandes vatten från mörttanken) tillsammans med det individnummer de kom att behålla resten av undersökningen.

Experimenten utfördes i två olika rum, där det i första experimentrummet undersöktes risktagande med metoden scototaxis. I scototaxis-försöken var experimentarenan ett akvarium (höjd 42 cm * längd 80 cm * bredd 50 cm). Eftersom mört är en känslig art för förändringar fylldes akvariet med vatten (ca två dm) från mörttanken för att experimentfisken skulle känna lukten av de andra mörtarna och på så vis minska stress hos experimentfisken. På undersidan av akvariets glasbotten var en svart samt en vit plastpåse fasttejpade och täckte halva botten var (Figur 1a). En filmkamera placerades på ett stativ för att filma akvariet uppifrån. I rummet fanns fyra experimentakvarier, vilka stod med täckta kortsidor mot varandra, så fiskarna inte skulle påverkas av varandra. När experimentet började placerades försöksfisken i mitten av arenan, kameran slogs på och fiskens individnummer visades. Därefter filmades fisken i 12 minuter, varav två minuter var aklimatiseringstid och exkluderades därför i analysen. Vid analysen mättes den tid som fisken befann sig i svart område med hjälp av tidtagningsfunktionen på en mobiltelefon. Efter det omvandlades tiden i svart till tiden i vit (600 sekunder – tiden i svart = tiden i vit) för att få fram riskbenägenhet (mer tid i vit = större riskbenägenhet). Efter det första experimentet förflyttades fisken till nästa rum.

Experiment nummer två innefattade undersökningar av två beteenden: social preferens samt aktivitet. Experimentarenan var ett akvarium (höjd 35 cm * längd 60 cm * bredd 30 cm), vilket var uppdelat med transparent glas i tre sektioner; en större central del (längd 30 cm * bredd 30 cm) samt två mindre på kanterna (längd 15 cm * bredd 30 cm) och var fyllt med två dm vatten från mörttanken (Figur 1b). Akvariets yttre väggar var helt täckta med silvertape för att minimera störning utifrån. För att undersöka social preferens registrerades experimentfiskens rumsliga användning i närvaro av två andra fiskar. Dessa fiskar placerades i en av de små sektionerna ca 30 min innan experimenten (för aklimatisering), medan den andra mindre sektionen förblev tom. Experimentfisken placerades i mittensektionen. Glasväggarna gjorde att fiskarna i de olika sektionerna kunde se varandra, men ingen fysisk eller kemisk interaktion kunde ske mellan dem. För att undvika beteendeförändringar över tid hos fiskarna i den mindre sektionen byttes dessa ut efter ca fem timmar. Det fanns två luftpumpar i akvariet som syresatte vattnet. På botten i mittensektionen fanns raka linjer vilka utgjorde 15 zoner, med två cm mellanrum. Även här filmades fisken uppifrån med en kamera i 12 minuter, varav två minuter exkluderades i analysen. Sedan analyserades experimentfiskens rumsliga användning m.h.a. Observer 2.01, vilket är ett integrerat system inom vetenskaplig forskning för händelseinspelning och dataanalys. För att räkna ut social preferens mättes tiden som experimentfisken spenderade i varje zon, där zon 1 var närmast de andra två fiskarna och 15 var längst bort. Parallellt med detta mättes aktivitet genom att notera hur mycket (antalet sekunder) fisken simmade under 10 minuter.



Figur 1. a) Experimentarena för scototaxis-experiment, sett uppifrån. Arenans botten är uppdelad i hälften vit och hälften svart. Experimentfisken placerades i mitten av arenan vid experimentets början.
 b) Två akvarier för social preferens, sedda uppifrån. Varje akvarium är uppdelad i tre sektioner med transparenta skiljeväggar. I delen närmast/längst ner på bilden är två mörtar placerade. Mittensektionen med linjer (2 cm breda) är experimentarenan där experimentfisken placerades vid undersökningen och den bortersta sektionen innehåller endast vatten. Foto: Johanna Nordling.

Vartefter experimenten blev klara slumpades de 60 försöksfiskarna ut bland 12 svarta 65-literstankar (fyra av varje behandling) vilket resulterade i fem fiskar per tank. Tankarna var placerade i samma rum som den stora mörttanken och de stod i två rader; sex tankar på golvet samt sex tankar på bordet. Varje tank innehöll 40 liter, vatten (ca fem liter kom från mörttanken och resterande var ca 11 °C kranvatten) som syresattes av två luftslangar. Tankarna var täckta med nät för att inte mörtarna skulle kunna hoppa ur. I dessa tankar exponerades mörtarna av läkemedlet genom att de simmade runt i vatten innehållandes olika koncentrationer av oxazepam (låg koncentration; 0,84 µg/l, hög koncentration; 280 µg/l eller bara rent vatten).

Efter 8 dagars exponering genomfördes experiment nummer två. Fyra slumpvis utvalda fiskar (minst en per behandling) togs ut ur tankarna vid varje beteendestudie. De identifierades enkelt för att få sina individnummer och sedan genomfördes beteendestudier på samma sätt som innan exponering (beskriven ovan). Samtidigt som mörtarna plockades ut för beteendestudier mättes också vattentemperaturen i tankarna (ca 15 °C).

När experimenten var klara lades experimentfiskarna ner, en i taget, i en plastbytta med vatten innehållande MS222 (0,45 g/l) för att de snabbt och smärtfritt skulle avlida. Därefter mättes fisken, lades i plastpåsar och frystes in tillsammans med sitt individnummer. Mörtarna vägdes 8 dagar senare.

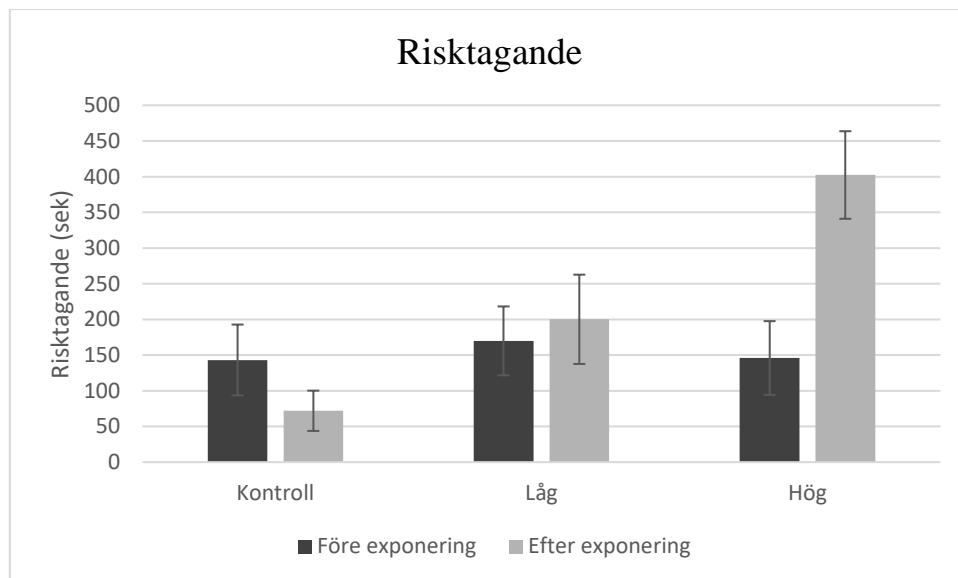
För att helt säkert kunna identifiera individuella fiskar på filmerna, studerades filminspelningarna (för social preferens) med Windows Film&TV. Detta gjordes genom att jämföra storlek på fiskarna i filmerna före och efter exponering.

Till de statistiska analyserna användes dataprogrammet IBM SPSS Statistics 23.0. För att kunna se om det fanns skillnad mellan behandlingarna efter exponering i varje beteendestudie gjordes envägs-ANOVA och sedan Tukeys Post-hoc test för att se mellan vilka behandlingar skillnaden fanns. Sedan användes även Pearsons Correlation för att undersöka korrelationer mellan storlek och beteende.

3. Resultat

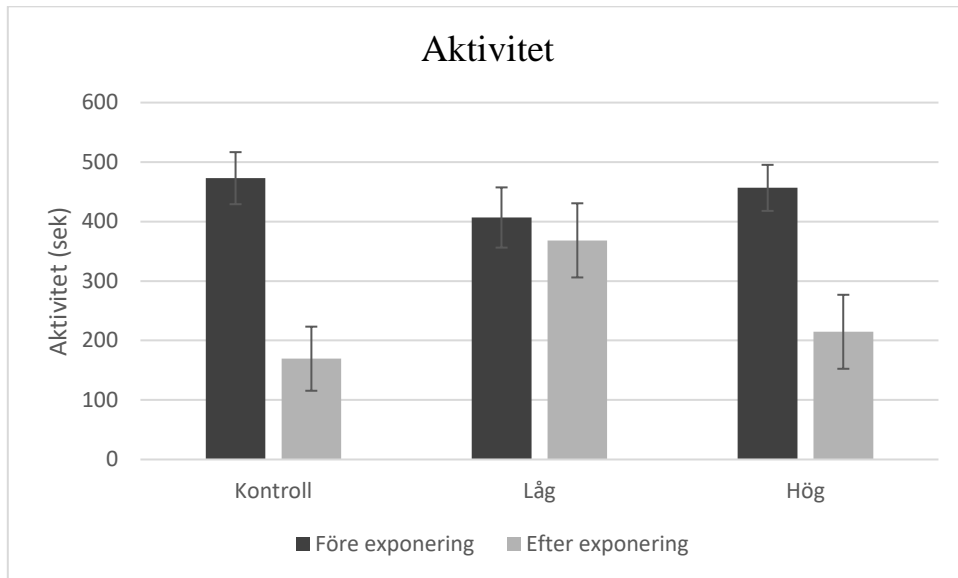
Under experimentets gång dog 38% av mörtarna under exponering (varav 35% inom kontroll, 30% inom låg koncentration samt 35% inom hög koncentration) och endast de överlevande (62%) användes i analyserna. Av dessa återstående hade 46% begynnande svampinfektion, varav merparten i behandlingen med låg koncentration av oxazepam.

Behandling påverkade risktagande hos mört signifikant ($F=9,342$, $p=0,001$), och ett Tukeys Post-hoc test visade att mört i hög koncentration var signifikant mer riskbenägen än både de i låg ($p=0,030$) och kontroll ($p=0,000$). Mellan grupperna kontroll och låg fanns däremot ingen signifikant skillnad ($p=0,222$) efter exponering. I hög däremot noterades en signifikant ökning ($p=0,004$) mellan före och efter exponering.



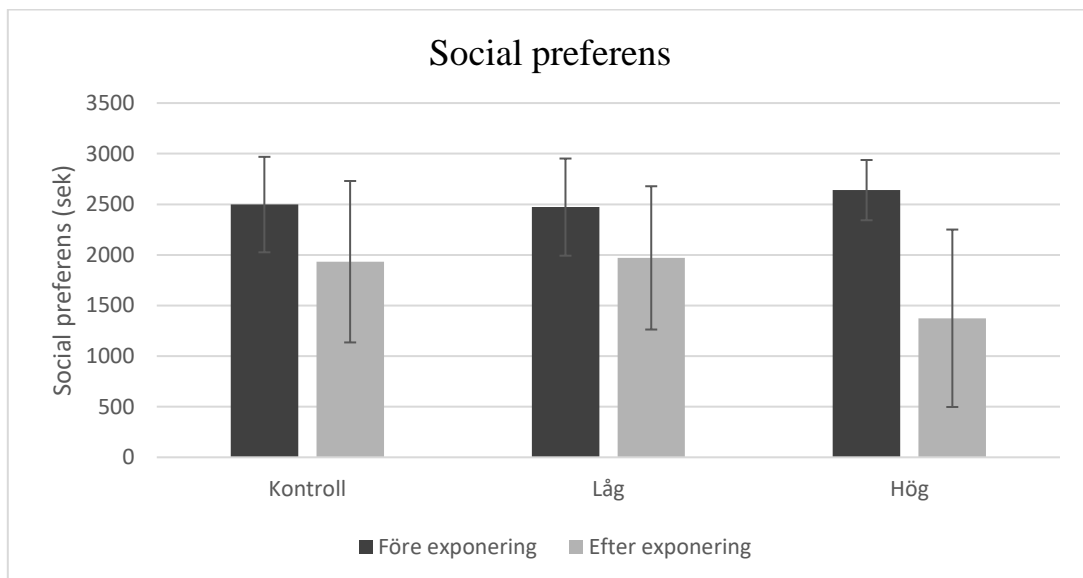
Figur 2. Risktagande hos mört före exponering (grå) samt efter åtta dagars exponering (vit) (medel \pm SE) av tre behandlingar; kontroll, låg oxazepamlösning (0,84 $\mu\text{g/l}$) samt hög oxazepamlösning (280 $\mu\text{g/l}$).

I aktivitetsexperimentet minskade mörtens i aktivitet i alla tre behandlingar efter exponering (Figur 3). Mört i låg koncentration skiljde sig dock från de andra behandlingarna, då den bara minskade med knappt 10% i aktivitet, medan mört i både kontroll samt hög koncentration minskade i aktivitet med över 50% vardera. Trots detta kunde ingen signifikant skillnad observeras i analysen emellan de två behandlingarna ($F=3,110$, $p=0,058$). Inom kontroll observerades dock en signifikant minskning ($p=0,000$) efter exponering jämfört med före, samt inom hög behandling där en signifikant minskning ($p=0,002$) också kunde noteras mellan före och efter exponering.



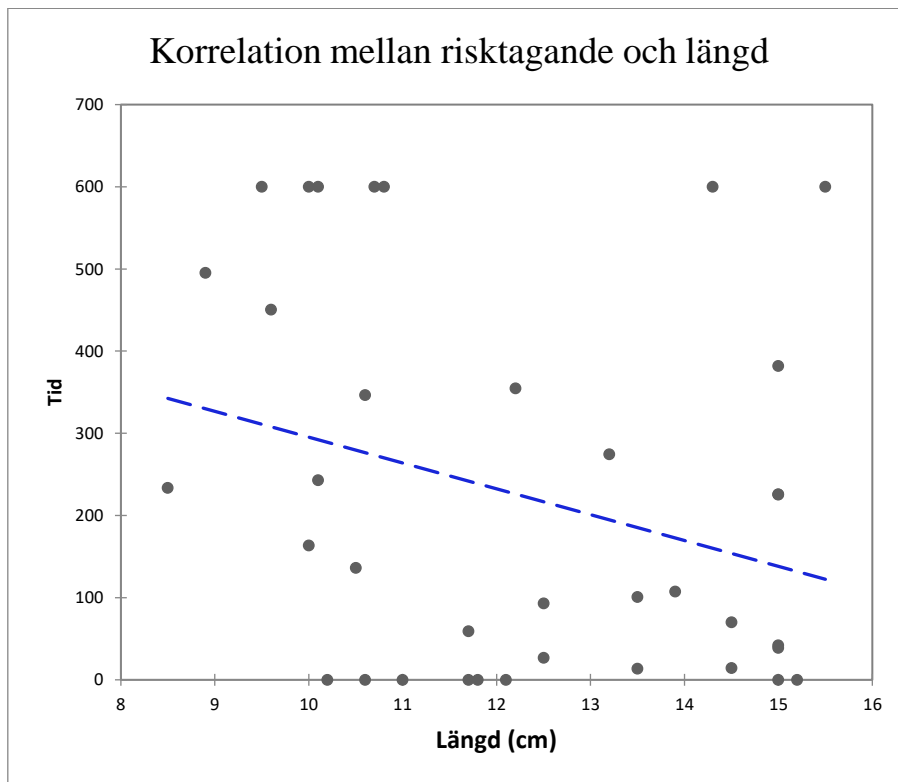
Figur 3. Aktivitet hos mört före och efter åtta dagars exponering (medel \pm SE) med tre behandlingar; kontroll, låg oxazepamlösning (0,84 μ g/l) samt hög oxazepamlösning (280 μ g/l).

Resultatet för social preferens visade att mört i alla tre behandlingar blev mindre sociala efter exponering (Figur 4), men ingen signifikant skillnad observerades mellan de tre behandlingarna ($F=0,176$, $p=0,840$). Dock kunde en signifikant minskning noteras inom hög koncentration, där fisken blev mindre social efter exponering jämfört med före ($p=0,02$).



Figur 4. Social preferens hos mört före och efter åtta dagars exponering (medel \pm SE) med tre behandlingar; kontroll, låg oxazepamlösning (0,84 μ g/l) samt hög oxazepamlösning (280 μ g/l).

En parameter som kan påverka hur fiskar betar sig är dess storlek. Pearsons Correlation visade på en trend till en negativ korrelation mellan längd och risktagande där mindre fiskar är mer riskbenägna ($P=0,077$, figur 5). Övriga beteenden var oberoende av mörtens storlek (alla $P>0,3$).



Figur 5. Pearsons korrelationstest mellan fiskens längd och risktagande (tid) efter exponering. Tid står för antal sekunder spenderade i vitt område = högre riskbenägenhet. Diagrammet visar en negativ korrelationstrend.

4. Diskussion

Mörts risktagande påverkades positivt av oxazepam. Både i låg och hög koncentration kunde en ökning av risktagande ses hos mört som blev exponerad av läkemedlet, men de i hög var signifikant mer riskbenägna än både de i kontroll och låg koncentration. Detta resultat liknar resultat från tidigare studier (Brodin et al. 2013; Klaminder et al. 2014) där endast fisk i hög koncentration har blivit signifikant mer risktagande. Även inom behandlingarna var det endast i hög koncentration som ökningen var signifikant. Att de blev mer riskbenägna kan ge negativa effekter i det vilda, då de tar större risker och utsätter sig för fler faror, vilket innebär att mortaliteten kan öka. Det kan även föra med sig positiva effekter, då individer som tar större risker får fördel vid födosök. Vid frånvaro av predatorer (Brodin et al. 2013) kan då dessa öka snabbare i tillväxt och det finns en möjlighet att också populationen ökar i storlek.

Resultatet på aktivitet hos mört skiljer sig däremot från tidigare studier som gjorts på abborre. I studien av Klaminder et al. (2014) ökade aktiviteten i alla tre behandlingar och i studien av Brodin et al. (2013) ökade aktiviteten i hög och låg behandling efter exponering, men i denna studie minskade däremot aktivitet hos mört i alla tre behandlingar efter exponering. Det var ingen signifikant skillnad mellan behandlingarna, utan endast en trend till att mört i låg var mer aktiva än de i kontroll. Dock kunde man se att mörtar i både kontroll och hög behandling minskade aktiviteten signifikant medan mörtar i låg behandling inte ändrade aktiviteten efter exponering.

Enligt tidigare studier (Brodin et al. 2013; Klaminder et al. 2014) där man sett att aktivitet ökat tillsammans med risktagande hos abborre, finns hypotesen att läkemedlet oxazepam ger fisken den lugnande effekt som den är avsedd att ge människor och att detta sedan resulterar i att fisken vågar ta större risker samt vara mer aktiv. Hos mört skiljde sig beteendet jämfört med abborre då den blev mindre aktiv av läkemedlet. Den blev dock mer risktagande, vilket kan betyda att mörtan känner av läkemedlets lugnande och ångstdämpande effekt vilket också gör den slöare. En möjlig orsak till denna skillnad i beteende kan vara att mört är en känsligare art än abborre, något som koncentrationerna av läkemedlet kan antyda. I tidigare studier (Brodin et al. 2013; Klaminder et al. 2014) har koncentrationerna av oxazepam varit betydligt högre, jämfört med i denna studie och

det visar på att mört även påverkas av låga koncentrationer. Eftersom mörten som testades var något mindre i storlek jämfört med abborre från tidigare experiment, kan detta vara anledningen till att den reagerar på dessa låga koncentrationer. Det är möjligt att resultaten skulle se annorlunda ut om koncentrationerna var annorlunda. Därför skulle det vara intressant att i vidare studier på mört använda både högre samt lägre koncentrationer av oxazepam för att se hur stor påverkan koncentrationen av läkemedlet har på mört, samt om det skulle förändra dess beteende.

Det kan tyckas förvånande att mört i hög koncentration signifikant minskar sin aktivitet efter att ha exponerats för oxazepam medan aktiviteten hos mört i låg behandling var opåverkad. En potentiell anledning till skillnaden kan vara att mört i hög koncentration fick så hög dos av oxazepam att det gjorde dem lugna och slöa, medan fisk i låg koncentration fick en dos som var tillräckligt stor till att göra den mer riskbenägen, men samtidigt så liten dos att de fortfarande var relativt aktiva. Samtidigt minskade också aktiviteten signifikant inom kontroll. Detta skulle kunna visa på hur mörts aktivitet naturligt minskar efter 8 dagar i fångenskap, men för att kunna säga att denna aktivitetsförändring är generell för mört i fångenskap behöver fler studier göras, där man har fler mörtar i kontrollgruppen.

Resultatet för social preferens påvisade inte någon signifikans mellan de tre behandlingarna, men man kunde se en minskning inom varje behandling efter exponering. Hos mört i hög koncentration var skillnaden signifikant, där fisk blev mindre sociala efter exponering jämfört med före. Detta resultat liknar resultat från tidigare studier (Brodin et al. 2013; Klaminder et al. 2014), där abborre blev mindre sociala. I Brodin et al. (2013) blev fisk i både låg och hög koncentration mindre sociala medan i Klaminder et al. (2014) blev endast fisk i hög koncentration mindre sociala. Här kan koncentrationen av oxazepam ha spelat in, då Brodin et al. (2013) hade 1,8 µg/l i låg behandling, medan Klaminder et al. (2014) hade 1 µg/l och i denna studie användes endast 0,84 µg/l i låg behandling. Detta indikerar att de två senare koncentrationerna är för små för att göra någon signifikant påverkan på fisken. Skillnaden i resultaten kan även bero på att det är olika arter av fisk och att mört inte påverkas på samma sätt som abborre. Det kan vara så att mört är en mer utpräglad stimfisk än abborre och därför är det svårare att påverka dess sociala preferens än det är hos abborre. De beteendeförändringar som dock observerats hos mört kan ha både positiva och negativa effekter. I ett område där predatorer saknas kan denna förändring vara positiv, då mörten ökar sina chanser för överlevnad genom lägre konkurrens vid födosök. Att den inte tyr sig till andra fiskar kan även ha negativa konsekvenser, då det utpräglade stimbeteendet är ett skydd mot hot. När de är många tillsammans minskar risken att bli offer för predatorer, då det både är lättare att upptäcka och förvirra dem. Mörtarna blir därför mer utsatta för risker om de är ensamma i ett område med predatorer (Brodin et al. 2014; Cote et al. 2010). Eftersom beteendet på mört exponerad av oxazepam är så pass litet studerat krävs utökade studier för att ta reda på mer om hur mörtar påverkas av oxazepam.

Det fanns en trend till att mindre mörtar var mer riskbenägna än större. Varför mindre individer var mer riskbenägna är svårt att säga. En anledning kan vara att om man är liten är risken större att man hamnar under den kritiska energigränsen för överlevnad, eftersom det ofta finns fler individer som är små. Detta ökar konkurrensen om föda och då är det viktigt att ta större risker.

Trots de observationer och analyser som gjorts är det svårt att dra några slutsatser från endast en studie. Det krävs därför ytterligare studier för att påvisa hur oxazepam påverkar mörtars beteende. Flera saker kan ha påverkat experimenten, vilket är viktigt att ha i åtanke. Under studiens gång dog som sagt 38% av mörtarna (23 st.), vilket resulterade i att endast 37 av 60 individer kunde fullfölja experimenten och av de överlevande hade 46% av dem begynnande svampinfektion. En orsak till detta kan ha varit temperaturökning. När mörten lades i tankarna var vattnet ca 11 grader och efter de 8 exponeringsdagarna uppmättes temperaturen till 15 grader. Denna relativt snabba temperaturökning ledde då förmodligen till stress hos flertalet av mörtarna, vilket resulterade i sämre hälsa, snabbt spridande svampangrepp samt högre mortalitet. Själva temperaturökningen kan ha berott på att tankarna var mörka och inte innehöll cirkulerande vatten. Den höga mortaliteten kan ha påverkat resultatet och om fler mörtar överlevt hade resultatet möjligen sett annorlunda ut. Denna studie var relativt liten (n=60), vilket gav små marginaler för mortalitet. I en fortsatt studie rekommenderas därför fler replikat (n>100) vilket ger bättre marginaler.

4.1 Slutsats

Baserat på resultaten diskuterade ovan kan H₀ (att mörtens beteende inte förändras vad gäller aktivitet, socialt eller risktagande efter exponering av oxazepam) förkastas och H₁ bekräftas (att mört förändrar beteende när de utsätts för exponering av oxazepam). Enligt hypotesen skulle mört i hög koncentration bli signifikant mer aktiv och risktagande samt mindre social, likt de resultat man tidigare sett hos abborre. Resultatet skiljde sig dock något från tidigare studier då man endast kunde se en signifikant skillnad mellan de olika behandlingarna i risktagande. I aktivitet blev de mindre aktiva i kontroll samt hög behandling, medan de i låg behandling var oförändrade. Hypotesen lyfte även ett annat antagande; att mört i låg koncentration skulle ändra samtliga beteenden på liknande sätt som de i hög koncentration, men mindre kraftigt. Detta kunde bekräftas i studien, då individer inom låg koncentration i alla tre beteenden drog åt samma håll som de i hög koncentration men inte lika mycket.

Denna studie visar på att mörts beteende påverkas av ångestdämpande läkemedel och tillför därför en viktig pusselbit i ekotoxikologisk forskning kring effekter av läkemedelsföroreningar på vilda arter och ekosystem.

5. Referenser

- Brodin, T., Fick, J., Jonsson, M. och Klaminder, J. 2013. Dilute Concentrations of a Psychiatric Drug Alter Behavior of Fish from Natural Populations. *Science* 339 (6121): 814-815.
- Brodin, T., Piovano, S., Fick, J., Klaminder, J., Heynen, M. och Jonsson, M. 2014. Ecological effects of pharmaceuticals in aquatic systems--impacts through behavioural alterations. *Philosophical Transactions of the Royal Society B- Biological Sciences* 369 (1656): 20130580-20130580.
- Calisto, V., Domingues, M. och Esteves, V. 2011. Photodegradation of psychiatric pharmaceuticals in aquatic environments – Kinetics and photodegradation products. *Water research* 45:6097-6106.
- Calisto, V. och Esteves, V. 2009. Psychiatric pharmaceuticals in the environment. *Chemosphere* 77 (10): 1257-1274.
- Corcoran, J., Winter, M. och Tyler, C. 2010. Pharmaceuticals in the aquatic environment: A critical review of the evidence for health effects in fish. *Critical Reviews in Toxicology* 40 (4): 287-304.
- Dietrich, D., Webb, S. och Petry, T. 2002. Hot spot pollutants: pharmaceuticals in the environment. *Toxicology Letters* 131 (1-2):1-3.
- Heberer, T. 2002. Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data. *Toxicology Letters* 131 81-2): 5–17.
- Huerta, B., Rodriguez-Mozaz, S. och Barceló, D. 2012. Pharmaceuticals in biota in the aquatic environment: analytical methods and environmental implications. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 404 (9): 2611-2624.
- Klaminder, J., Jonsson, M., Fick, J., Sundelin, A. och Brodin, T. 2014. The conceptual imperfection of aquatic risk assessment tests: highlighting the need for tests designed to detect therapeutic effects of pharmaceutical contaminants. *Environmental Research Letters* 9 (8) 084003.
- Kolpin, D., Furlong, E., Meyer, M., Thurman, E., Zaugg, S., Barber, L. och Buxton, H. 2002. Pharmaceuticals, Hormones, and Other Organic Wastewater Contaminants in U.S. Streams, 1999–2000: A National Reconnaissance. *Environmental Science & Technology* 36 (6): 1202-1211. Doi: 10.1021/es011055j.
- Loos, R., Carvalho, R., António, D.C., Comero, S., Locoro, G., Tavazzi, S., Paracchini, B., Ghiani M., Lettieri T., Blaha L., Jarosova, B., Voorspoels S., Servaes K., Haglund P., Fick J., Lindberg, R.H., Schwesig, D. och Gawlik, B.M. 2013. EU-wide monitoring survey on emerging polar organic contaminants in wastewater treatment plant effluents. *Water Research* 47 (17): 6475-6487.
- Meador, J., Yeh, A., Young, G. och Gallagher, E. 2016. Contaminants of emerging concern in a large temperate estuary. *Environmental Pollution* 213: 254-267.
- Ramirez, A., Mottaleb, M., Brooks, B. och Chambliss, C. 2007. Analysis of Pharmaceuticals in Fish Using Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry* 79 (8): 3155-3163.
- Rosi-Marshall, E. och Royer, T. 2012. Pharmaceutical Compounds and Ecosystem Function: An Emerging Research Challenge for Aquatic Ecologists. *Ecosystems* 15 (6): 867-880.
- Socialstyrelsen. 2016. Statistik om läkemedel 2015.
<http://www.socialstyrelsen.se/Lists/Artikelkatalog/Attachments/20116/2016-4-4.pdf>
(Hämtad 2016-05-24)

Zadorozhnaya, O. Kirsanov, D. Buzhinsky, I. Tsarev, F. Abramova, N. Bratov, A. Muñoz, F. Ribó, J. Bori, J. Riva, M. och Legin, A. 2015. Water pollution monitoring by an artificial sensory system performing in terms of *Vibrio fischeri* bacteria. *Sensors and Actuators B-Chemical* 207 (SI): 1069–1075.



Institutionen för ekologi, miljö och geovetenskap (EMG)
901 87 Umeå, Sweden
Telefon 090-786 50 00
Texttelefon 090-786 59 00
www.umu.se