

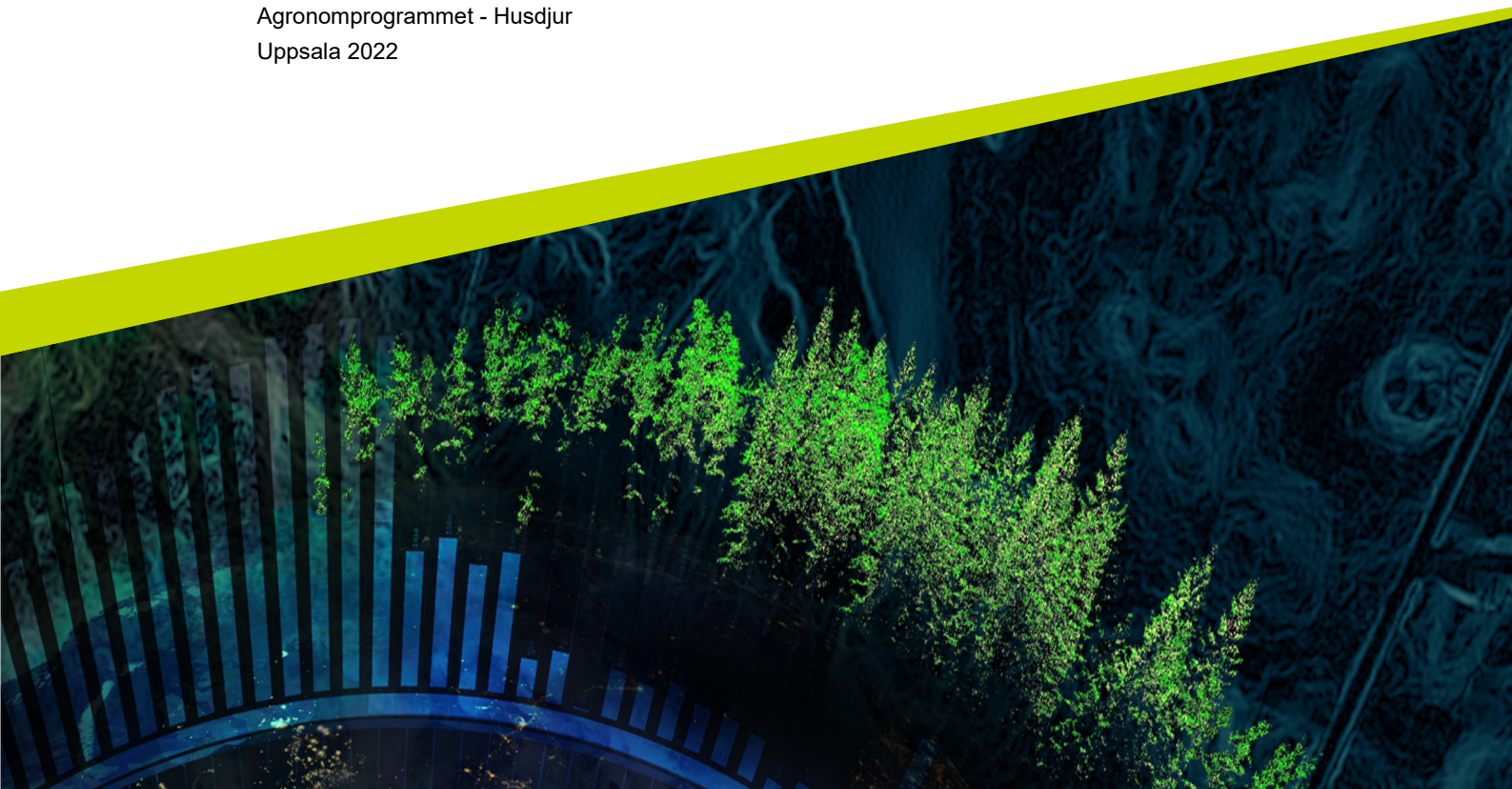


Effekten av kemiska bedövningsmedel vid olika typer av fiskhantering

The effect of chemical anesthetics during different types of fish handling

Nathalie Navarrete

Självständigt arbete • 15 hp
Sveriges lantbruksuniversitet, SLU
Institutionen för husdjurens miljö och hälsa
Agronomprogrammet - Husdjur
Uppsala 2022



Effekten av kemiska bedövningsmedel vid olika typer av fiskhantering

The effects of chemical anesthetics during different types of fish handling

Nathalie Navarrete

Handledare: Albin Gräns, SLU, Institutionen för husdjurens miljö och hälsa
Examinator: Aleksandar Vidakovic, SLU, Institutionen för husdjurens utfodring och vård

Omfattning: 15 hp
Nivå och fördjupning: Grundnivå, G2E
Kurstitel: Självständigt arbete i husdjursvetenskap, G2E
Kurskod: EX 0865
Program/utbildning: Agronomprogrammet - Husdjur
Kursansvarig inst.: Institutionen för husdjurens utfodring och vård

Utgivningsort: Uppsala
Utgivningsår: 2022

Nyckelord: Trikainmetansulfonat, Bensokain, Eugenol, Isoeugenol, 2-Fenoxietanol, fiskhantering, djurvälstånd, effekter

Sveriges lantbruksuniversitet
Fakultet för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institution för husdjurens miljö och hälsa

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. Läs om SLU:s publiceringsavtal 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

Kemiska bedövningsmedel används för att göra fiskarna lättare att hantera och minska skaderisken. Syftet med denna litteraturstudie var att identifiera vilka kemiska bedövningsmedel som används vid olika typer av fiskhantering. Vidare att undersöka vad befintlig litteratur kan säga om den effekt som olika medel har på olika hanteringsprocesser, samt på fiskars djurvälfärd. Idag finns ett relativt stort utbud av kemiska bedövningsmedel som går att använda på fisk. Det här arbetet är begränsat till några av de vanligaste preparaten med de aktiva ingredienserna Trikainmetansulfonat, Bensokain, Eugenol, Isoeugenol och 2-Fenoxietanol. En stor andel litteratur pekar mot att preparaten kan ha en positiv effekt på både hanteringsmoment och djurvälfärd genom att reducera rörelseförmåga och stressreaktioner. Några få studier som undersökt aspekter som hjärnaktivitet och preferens indikerar dock att rörelseförmåga och stressrespons inte ger all information som behövs för att helt förstå preparatens effekter. Det görs mer komplicerat av att preparatens funktion påverkas av artskillnader och andra faktorer. Befintlig litteratur är alltså inte tillräcklig för att helt kartlägga hur de fungerar. Därför bör fler studier göras för att förstå deras effekter bättre.

Nyckelord: Trikainmetansulfonat, Bensokain, Eugenol, Isoeugenol, 2-Fenoxietanol, fiskhantering, djurvälfärd, effekter.

Abstract

Chemical anesthetics are used to make fish easier to handle and reduce risk of mechanical damage. The aim of this literature study was to identify different chemical agents that are used when fish are being handled. Furthermore, to explore what current literature can tell us about the effects of different agents on handling and fish welfare. Today there exists many agents that can be used on fish. This study limits itself to some of the most popular, containing the active ingredients Tricaine methane sulfonate, Benzocaine, Eugenol, Isoeugenol and 2-Phenoxethanol. Many studies point to these agents having a positive effect on both handling procedures and animal welfare, by enabling fish to move and reducing stress responses. However, a few studies that have observed brain activity and preferences in fish under influence of different agents, have found that the ability to move and signs of stress do not paint the whole picture. It is made more complicated since a lot of things can affect how well the agents' function, such as species differences and other factors. The literature available today is not enough to map exactly how they work. More studies should be done to understand their effects better.

Keywords: Tricaine methane sulfonate, Benzocaine, Eugenol, Isoeugenol, 2-Phenoxethanol, fish handling, animal welfare, effects.

Innehållsförteckning

1.	Inledning.....	9
1.1.	Bakgrund	9
1.2.	Syfte och frågeställningar	11
2.	Litteraturgenomgång	12
2.1.	Trikainmetansulfonat	12
2.2.	Bensokain	14
2.3.	Eugenol.....	15
2.4.	Isoeugenol	16
2.5.	2-Fenoxietanol	17
3.	Diskussion.....	19
3.1.	Effekten på hanteringsprocessen	19
3.2.	Effekten på djurvälfaerden.....	21
4.	Slutsats	22

Tabellförteckning

Tabell 1. Bedövningsnivåer i fisk.....	10
--	----

1. Inledning

1.1. Bakgrund

Fiskars förmåga att uttrycka sig i ljud och kroppsspråk, på ett sätt som vi människor kan tolka, är begränsat. Detta tillsammans med att de befinner sig under vattenytan, i en egen värld, gör att de genom historien setts som enkla varelser, inkapabla till upplevelser som stress eller smärta. På senare år har dock en rad studier visat att även fiskar kan påverkas av både stress och smärta (Sneddon 2003). För att uppnå god hälsa och djurvälstånd utgår vi därför idag ofta från försiktighetsprincipen i arbetet med fisk. Det betyder att fiskarna antas kunna ha negativa upplevelser, även i situationer då ett vetenskapligt underlag för detta saknas (Berg et al. 2021).

Inom fiskproduktion, kommersiellt fiske, labbförsök, fiskbestånds inventering och veterinärvård hanteras fiskar rutinmässigt (Ross & Ross 2008; Stoskopf & Posner 2008; Neiffer & Stamper 2009). Vid hanteringsmoment stressas fiskarna ofta och börjar streta emot, vilket ökar risken för mekanisk skada innan, under och efter hantering. Det kan också leda till nedsatt motståndskraft mot sjukdomar och således orsaka långvariga hälsoproblem med ökad mortalitet. Därför ska fiskar alltid hanteras så lite och skonsamt som möjligt, men viss hantering är ofrånkomlig. Olika typer av hantering inkluderar infångning, vägning, sortering, vaccinering, kramning av rom eller mjölke, transport, märkning och provtagning (Stoskopf & Posner 2008; Zahl et al. 2012; Lindsjö et al. 2019; Jäderberg 2020).

Kemiska bedövningsmedel används för att göra fiskarna lättare att hantera och minska skaderisken. Det smidiga med kemiska bedövningsmedel är att de kan administreras direkt i vatten och sedan tas upp av fiskarna via gälarna. Oftast hämmar preparaten det centrala nervsystemet vilket påverkar rörligheten och fysiologiska aspekter som hjärt- och andningsfrekvens. Dessvärre har också en rad biverkningar från användandet av kemiska bedövningsmedel rapporterats, men generellt bör ett bra bedövningsmedel kunna leda till bedövning relativt snabbt, kunna hålla önskad nivå av bedövning jämn och ha en kort återhämtningstid från det att fiskarna tas ut ur bedövningsvattnet och återplaceras i rent vatten igen.

Genom att ändra på antingen dos eller exponeringstid, det vill säga tiden som fisken befinner sig i bedövningsbadet, kan bedövningsstyrkan regleras. Det är en viktig aspekt då olika bedövningsnivåer bestäms av hanteringstypen. Om hanteringen kan orsaka mer stress så är det lämplig med starkare bedövning och *vice versa*. Det vanligaste och enklaste sättet att mäta bedövningsnivån är med ett etogram. Redan 1959 utvecklade McFarland ett etogram (Tabell 1) för att kunna identifiera de olika nivåerna som fiskar går igenom när de bedövas (Ross & Ross 2008). De etogram som har använts i studier sen dess kan se lite olika ut, men de liknar ofta den ursprungliga någorlunda.

Olika synliga indikatorer på bedövningsnivå kan vara ett bra och praktiskt sätt att avgöra om en bedövning har misslyckats. Däremot så behöver tyvärr inte dessa indikatorer betyda att fisken är medvetslös eller omottaglig till upplevelser av stress och smärta (Berg et al. 2021). På grund av detta finns det idag flera oklarheter kring den faktiska effekten som olika kemiska bedövningsmedel har på olika fiskarter och vilka hanteringsmoment olika preparat lämpar sig för. För att främja lyckade hanteringsmoment såväl som en god djurvälstånd så är det viktigt att öka kunskaperna kring den effekt som olika kemiska bedövningsmedel har.

Tabell 1 Modifiering av bedövningsnivåer i fisk av McFarland (1959), som sammanfattat av Ross och Ross (2008).

Nivå	Fas	Beskrivning	Synliga tecken
I	1	Lätt sedering	Reagerar på yttre stimuli, men minskad rörlighet och reducerad ventilation
	2	Djup sedering	Som Nivå I Fas 1, men smärtlindring tillkommer och reaktion sker endast vid grov stimulering
II	1	Lätt bedövning	Delvis förlorad jämvikt, bra bedövning
	2	Djup bedövning	Totalt förlorad muskeltonus och jämvikt, nästan full avsaknad av ventilation
III		Kirurgisk bedövning	Som Nivå II Fas I, samt total avsaknad av reaktion till massiv stimulering
IV		Medullär kollaps	Ventilation upphör, hjärtstillestånd, eventuell död; överdosering

1.2. Syfte och frågeställningar

Syftet med det här arbetet är att sammanställa befintlig kunskap om vanligt förekommande kemiska bedövningsmedel som används vid olika typer av fiskhantering och att reflektera kring hur olika medel och användningsområden kan påverkar djurvälfaerden. De frågeställningar som arbetet avser att besvara är:

- Vilka kemiska bedövningsmedel används vid hantering av fisk?
- Vilken effekt på hanteringsprocessen har olika bedövningsmedel?
- Vilken effekt på djurvälfaerden har olika bedövningsmedel?

2. Litteraturgenomgång

Idag finns ett relativt stort utbud av kemiska bedövningsmedel som går att använda på fisk, samt flera potentiella framtida alternativ som undersöks (Ross & Ross 2008; Araújo et al. 2021). De vanligaste ämnena är: Trikainmetansulfonat, Bensokain, Eugenol, Isoeugenol, 2-Fenoxietanol, Etomidat, Metomidat, Quinaldin och Quinaldinsulfonat (Ross & Ross 2008; Neiffer & Stamper 2009; Sneddon 2012). Det här arbetet fokuserar på de första fem, som är de vanligaste och mest forskade på. Flera av dessa medel har olika produktnamn eller andra benämningar, men det här arbetet utgår i första hand från den aktiva ingrediensen om inget annat nämns i medlets avsnitt.

2.1. Trikainmetansulfonat

Trikainmetansulfonat är på marknaden mer känt som preparatet MS-222. Det är det kemiska bedövningsmedel som används mest på fiskar inom akvakultur, forskning och inom veterinärvård (Ross & Ross 2008; Sneddon 2012). Det har en kristallin struktur och en natriumsidokedja som dels gör medlet mycket vattenlösligt, samtidigt som det får en försurande effekt. Surt vatten kan vara skadligt för fiskar, då det orsakar sår på hud och ögon (Davis et al. 2008), skadar gälarna (Brunelli & Tripepi 2005) och leder till metabolisk acidosis (Packer 1979). Vattnet neutraliseras därför genom att medlet blandas ihop med en buffert, såsom bikarbonat (Ross & Ross 2008). En hopblandning kan hållas effektiv i upp till tre månader om den förvaras mörkt och svalt (Ross & Ross 2008). Tillstånd till användning och kraven på karenstid efter användning av MS-222 varierar inom EU, därför är det viktigt att kolla upp de regionala riktlinjerna innan användning (Popovic et al. 2012).

MS-222 stoppar natriumjoner från att komma in i nervceller och hämmar således att en aktionspotential kan uppstå. På så vis tappar fisken sin rörelseförmåga. Medlet kan också fungera som lokalbedövning, vilket är dess ursprungliga användningsområde (Ross & Ross 2008). MS-222 kan effektivt och inom rimliga tidsramar uppnå olika bedövningsnivåer (Tabell 1), samt återhämtning (Bolasina et al. 2017). Många studier har alltså gjorts på MS-222, dock har få resulterat i praktiskt användbar information för storskalig akvakultur (Popovic et al. 2012).

Dessutom finns det flera dokumenterade konsekvenser från användningen av MS-222 (Popovic et al. 2012). Inte minst att medlet i sig kan orsaka en viss stressrespons när fiskarna kommer i kontakt med det (Davis & Griffin 2004a; Popovic et al. 2012). Vidare studerade Jerez-Cepa et al. (2019) påverkan av MS-222 på guldsparid (*Sparus aurata*) vid simulerad transport under sex timmar. Prover utfördes på hälften av fiskarna direkt efter transport och efter 18 timmars återhämtningstid på resterande fiskar. Efter 18 timmar sågs fortfarande förändringar i guldsparidernas intermediärmetabolism, så som ökad glykolys i levern samt ökad förbränning av lipider under återhämtningen. Detta menar Jerez-Cepa et al. (2019a) pekar mot att fler studier behöver göras på den långvariga effekten av MS-222 och hur det kan påverka foderupptag samt tillväxt långsiktigt.

På senare tid har det undersökts huruvida guldfiskar (*Carassius auratus*) trots bedövning med MS-222 är mottagliga för visuell och akustisk stimulering (Machnik et al. 2018). Med hjälp av elektroder som läser av aktiviteten i fiskars Mauthner neuroner har den påverkan som medlet har på syn och hörsel registrerats. Machnik et al. (2018) kunde med studien bekräfta att MS-222 blockerar synen, framför allt med de högre doserna. Däremot kunde fiskarna fortfarande motta akustisk stimulans. Studien visar att MS-222 inte lämpar sig för alla typer av forskning och att preparatet inte ger något effektivt skydd mot högljudda miljöer.

På liknande sätt studerade Bowman et al. (2019) med hjälp av en icke-invasiv avläsningsmetod av hjärnaktivitet hur medlet påverkat medvetande hos regnbågslax (*Oncorhynchus mykiss*). De såg att vad som uppfattades som medvetlöshet baserat på synliga indikatorer (Tabell 1) inte alltid motsvarade ett tillstånd av medvetlöshet, eftersom vissa fiskar fortfarande svarade på en yttre ljusstimulus. Bowman et al. (2019) menar att detta är högst oroväckande, med tanke på att synliga indikatorer är den mest praktiskt använda metoden för att mäta medvetlöshet. Både Machnik et al. (2018) och Bowman et al. (2019) trycker på att mätningar av aktiviteten i nervceller och i hjärnan kan vara ett mer säkert sätt att korrekt tyda hur MS-222 faktiskt påverkar fiskar. De nämnda studierna undersökte inte huruvida olika miljöförhållanden kunde påverka resultaten, men konstaterade båda att metoderna även går att applicera på andra arter vid framtida studier.

Fortsättningsvis har Readman et al. (2017) sett att japansk risfisk (*Orzyias latipes*) undviker vatten med trikainmetansulfonat, till skillnad från karp (*Cyprinus carpio*) och regnbåge som inte visar någon preferens mellan behandlat och vanligt vatten. Det kan indikera att medlet har en negativ påverkan på vissa arter, som vi inte kan uppfatta, men som ändå är viktiga att samla kunskap kring och sedan ta hänsyn till (Readman et al. 2017).

2.2. Bensokain

Den kemiska strukturen hos Bensokain liknar MS-222. Det är ett vitt, doftlöst ämne med kristallin struktur, men till skillnad från MS-222 är fettlösligt. Därför behöver preparatet spädas ut med antingen etanol eller aceton innan användning, vilket kan orsaka irritation hos fiskar (Ross & Ross 2008). I samband med att medlet är fettlösligt har det också visat sig ta längre tid för äldre eller gravida fiskar att återhämta sig efter en lång exponeringstid (Ross & Ross 2008). Medlet används rutinmässigt inom veterinärvård där det fungerar som smärtstillande som tas upp via huden. Det används ofta i forskning med fisk och även inom fiskproduktion (Sneddon 2012).

Bensokain har använts på en variation av fiskarter med ett brett spektrum av effektiva doser (Readman 2015; Dawson & Gilderhus 1979). I studier som gjorts för att bestämma dos används ofta synliga indikatorer, likt de nämnda i Tabell 1 (Iversen et al. 2003; Bolasina et al. 2017). Några bieffekter som upptäckts i samband med användandet är hjärtrusning, ökad andningsfrekvens, ökade blodsockernivåer och nedsatt hjärt- och kärlsystem (Sneddon 2012). För vissa arter har användningen av Bensokain visat sig vara stressinducerande. Det skulle dock kunna bero på den förflyttning och hållning som sker i samband med försöken (Zahl et al. 2012).

När Jacobsen et al. (2019) undersökte hur Bensokain påverkade yngel av arten sjurygg (*Cyclopterus lumpus*) kom de fram till att medlet gav en acceptabel induktion, kortvarig återhämtningstid och hade goda säkerhetsmarginal. Kallare vatten än vad fiskarna var vana vid gav fiskarna en kortare induktionstid, men längre återhämtningstid. Även varmare vatten än normalläget resulterade i längre återhämtningstid från bedövningen. Saltvattennivån hade ingen större påverkan på sjuryggarnas reaktion till Bensokain, likaså huruvida fiskarna hade fastat eller inte (Jacobsen et al. 2019). Gilderhus (1989) såg också på kungslax (*Oncorhynchus tshawytscha*) och regnbågslax att en lägre vattentemperatur kräver högre Bensokain-dos för att ge likvärdig bedövning. Dessutom att vattnets hårdhet och pH-värde inte verkade ha någon större påverkan (Gilderhus 1989).

En relaterad studie av intresse gjordes av Berg et al. (2012) på atlantlax (*Salmo salar*) när de ville ta reda på hur väl personal på en fiskodling i Norge följde rekommendationer och anvisningar kring bedövning före vaccination eller andra mindre ingrepp. För de mindre ingreppen användes Bensokain i studien. Dessvärre ägde inga mindre ingrepp rum under observationsdagarna, men personalen ombads ändå förbereda bedövningsbad på 10 L med Bensokain. Berg och Haagensen (2012) såg att koncentrationerna av medlet blev mycket högre än rekommendationerna som stod på preparatets etikett och att nivån också skiljde sig beroende på vem i

personalen som hade förberett bedövningsbadet. Anledningen till att personalen överdoserade med Bensokain tycktes vara för att de sällan utförde den typen av bedövningsbad och att deras tidigare erfarenheter var att rekommendationerna var för låga för att faktiskt uppnå en effektiv bedövning (Berg & Haagensen 2012).

I studien med Readman et al. (2017) noterades att japansk risfisk undvek vatten innehållande Bensokain inblandat och valde att spendera mer tid i det vanliga vattnet. Regnbåge och karp visade ingen preferens. Vid simulerad transport av en tropiska prydnadsfisk *Puntius filamentosus* såg Pramod et al. (2010) att användningen av Bensokain ledde till lägre mortalitet både under och efter transport, jämfört med kontrollfiskarna som inte bedövades.

2.3. Eugenol

Nejlikolja har länge använts som bedövningsmedel för människor inom tandvård och 70–90% består av ämnet eugenol. Oljan innehåller även doftämnen och har visat sig kunna förändra smaken på fisk då det används som bedövningsmedel (Ross & Ross 2008). Höga vattentemperaturer accelererar tiden tills medlet tar verkan, samt återhämtningstiden (Soldatov 2021). Medlet är organiskt, vilket gör det säkert att hantera och medför en låg miljöpåverkan, samt att medlet har en låg kostnad (Iversen et al. 2003).

Nejlikolja har i studier bedömts lika effektivt som MS-222 med återhämtningstider som börjat ske inom 3–5 minuter. Blodprover visar att Eugenol kan leda till ökade kortisolnivåer, vilket kan tyda på ökad stress i samband med användningen, men också vara ett resultat av själva bedövningsprocessen, vilket gör det svårtolkat. Förutom detta hämmar medlet inte nödvändigtvis smärtkänslighet, som flera andra testade medel gör (Soldatov 2021).

Låga doser av nejlikolja ger en stressreducerande effekt hos atlantlax, enligt studien av Iversen et al. (2003). De fann också att en låg dos av medlet var tillräckligt för att fiskarna inom 20 minuter skulle uppnå en förbestämd bedövningsnivå, baserat på ett liknande etogram som beskrivet i Tabell 1. Iversen et al. (2003) såg att Nejlikolja och AQUI-S gav liknande resultat, men att medlet Metomidate är mer effektivt, alltså att lägre doser krävs för att uppnå olika bedövningsnivåer. Däremot är potentialen för de medel som har Eugenol-bas stort. Detta baserat på att båda medel har god effektivitet vid låga doser, dess stressreducerande egenskaper, rimliga kostnader och att de även är säkra för miljö och människor vid hantering (Iversen et al. 2003).

Bolasina et al. (2017) har istället i sin studie med ren Eugenol på guppyfiskar (*Poecilia vivipara*) funnit att medlet inte uppnår bedövningsnivåer lika effektivt som samma koncentration av de jämförda medlen Bensokain och Trikain. Även här utgick studien från synliga indikatorer. Samtidigt ökade mortaliteten med Eugenol vid för höga doser, vilket gjorde att Eugenol ansågs minst lämpligt.

Genom fysiologiska mätningar ville Jerez-Cepa et al. (2019) se om nejlikolja kunde förbättra välfärden under transport för arten guldsparrid (*Sparus aurata*). Med hjälp av en förstudie bestämdes den lägsta dosen nödvändig för att uppnå lätt bedövning och under simulerad transport användes en dos som var hälften så stor. Detta för att inte riskera att fiskarna gick in i djup bedövning. De såg flera fysiologiska skillnader, men konkluderade att nejlikolja inte minskade stressupplevelsen. Nejlikolja verkade till och med bidra till fysiologisk stress.

2.4. Isoeugenol

Trots dess likheter med eugenol skiljer sig isoeugenol genom att inte finnas organiskt i nejlikolja. Det är istället ett derivat därifrån vilket används som aktiv ingrediens i det kommersiellt tillgängliga preparatet AQUI-S (Ross & Ross 2008). Försättningsvis kommer texten benämna medlet som AQUI-S, då detta ofta används inom den granskade litteraturen. Medlet ser ut som en klar, trögflytande gul vätska och beroende på den inblandade dosen i ett vattenbad, så kan bedövningsnivån påverkas. En lägre dos ger en mild effekt, medan en högre dos ger en kraftigare bedövning på kortare tid (Ross & Ross 2008). I Australien, Nya Zeeland, Chile, Costa Rica och Korea får AQUI-S användas på matfisk utan någon efterföljande karenstid före slakt. I Norge får medlet användas på avelsfiskar och inom forskning (Zahl et al. 2012).

Ehrlich et al. (2019) testade AQUI-S på zebrafisk (*Danio rerio*) i tre olika livsstadier, då artens popularitet inom forskning har ökat. De jämförde effektiviteten vid användning av Nejlikolja (Eugenol) och AQUI-S gentemot Trikainmetansulfonat (MS-222) och Bensokain. Studien tittade också efter skillnader i hur praktiskt tillämpbara de olika preparaten är och om något orsakade högre andel döda fiskar. I deras studie tog det för de vuxna zebrafiskarna längre tid för AQUI-S att ha en fullt bedövande verkar. En högre dos gav en snabbare induktion, men den högsta testade dosen ledde till att försöksfiskarna dog. Deras data pekade på att Trikainmetansulfonat, följt av Bensokain, fortsatt var mest lämplig för kortvarig bedövning av vuxna zebrafiskar (Ehrlich et al. 2019).

Machnik et al. (2018) såg på Mauthner neuronerna i guldfisk att användningen av AQUI-S, som de andra testade preparaten, saknade förmågan att blockera akustisk stimulering. Däremot visade medlet väldigt blandade resultat i relation till visuell stimulering. Hos två av fem försöksfiskarna var synen helt intakt även vid kirurgisk bedövning, samtidigt som synen helt blockerades hos de övriga tre fiskarna. Alltså är medlets effekt på synen väldigt oförutsägbar. Det är ett speciellt intressant fynd med tanke på hur regelbundet AQUI-S används inom akvakultur (Machnik et al. 2018).

Studien av Machnik et al. (2018) utförde även en kontroll som enligt dem understryker pålitligheten i studiens resultat trots det låga antalet försöksfiskar (fem). Detta gjordes genom att ha tre kontrollgrupper med tre fiskar i varje kar där medlet 2-Fenoxietanol prövades. De såg likvärdiga resultat med låg till ingen variation från övriga mätningar, vilket då skulle kunna betyda att metoden som använts för att observera Mauthner neuronerna är säker (Machnik et al. 2018).

2.5. 2-Fenoxietanol

2-Fenoxietanol är en något oljig vätska som antingen är blekgult eller helt saknar färg. Från medlet kommer en svag doft, men när det ska förberedas inför användning blandas det ihop med vatten, vilket gör att doften försvinner. 2-Fenoxietanol är förhållandevis billigt och i ett svalt samt mörkt förvaringsutrymme kan en förberedd blandning hålla i ungefär tre dagar (Ross & Ross 2008). Idag förekommer medlet som konserveringsmedel i vaccin, hudvårdsprodukter och som fixermedel i parfymer (Sneddon 2012). Historiskt har det även använts på andra djur än fisk vid kirurgiska ingrepp, då det har svamp- och bakteriedödande egenskaper, samtidigt som det kan agera smärtlindring via hudupptag (Ross & Ross 2008).

2-Fenoxietanol är inte godkänt som bedövning på matfisk, men används regelbundet på icke-matfisk och inom forskning (Coyle et al. 2005). Barata et al. (2016) ansåg att medlet skulle kunna lämpa sig för vissa hanteringar som kräver längre bedövningstider, såsom transport eller sortering. Detta efter observation av ung Havsgös (*Argyrosomus regius*) som gick att hålla nedsövda i 60-120 minuter (Barata et al., 2016). Det tyder oklarheter kring hur medlet fungerar, men en hypotes är att det expanderar cellmembranet hos nervceller, vilket i sin tur kan leda till inhibering av det centrala nervsystemet (Burka et al. 1997; Sneddon 2012).

De fysiologiska effekterna som uppstår vid användning av 2-Fenoxietanol kan variera från milda till signifikanta. Effektstorleken beror bland annat på vilken art som undersökts, induktionstid och dos (Priborsky & Velisek 2018). Några rapporterade sekundära biverkningar av 2-Fenoxietanol som kan uppstå är minskad andningsfrekvens, hjärtfrekvens, blodtryck, pH i blodet, ökade halter av stresshormonet adrenalin och ökade blodsockernivåer (Iwama et al. 1989; Lambooi et al. 2009) och försämrat immunförsvar (Cuesta *et al.*, 2004). Vidare orsakar medlet irritation hos människor vid hudkontakt (Ross & Ross 2008; Stoskopf & Posner 2008) vilket skulle kunna betyda att det även orsakar irritation hos fisk. Därför bör den lägsta möjliga dos, som ger önskad effekt, alltid användas (Stoskopf & Posner 2008).

Vattentemperaturen kan påverka induktions- och återhämtningstiden vid användning av 2-Fenoxietanol, där högre temperaturer leder till att båda faktorer går fortare. Däremot menar Sneddon (2012) att temperaturens roll för bedövningsprocessen endast har testats på några få arter och att detta inte behöver vara representativ för samtliga. Samma studie visade att för vissa arter tycks fiskens storlek påverka induktions- och återhämtningstiden vid användning av 2-Fenoxietanol, men att medlet för andra arter har agerat likvärdigt trots storleksskillnaden (Sneddon 2012).

Readman (2015) observerade att zebrafiskar valde att spendera mer tid i vanligt vatten än i vatten behandlat med 2-Fenoxietanol och att de simmade snabbare i det behandlade vattnet, vilket indikerar att de ogillar vatten behandlat med 2-Fenoxietanol. På Guldfisk såg även Machnik et al. (2018) att medlet inte hade någon påverkan på fiskarnas Mauthnerceller (ett par stora nervceller som finns i bakhjärnan hos fisk och som är ansvariga för en tydlig flyktreflex), oavsett dosstorlek. Till och med riktigt höga doser begränsade inte hörseln och hade bara en liten effekt på synen. Däremot har Bahrekazemi & Yousefi (2017) sett på kaspisk öring (*Salmo trutta caspius*) att de sekundära stressresponserna, fysiologiska såväl som beteendebaserade, var lägre vid användning av 2-Fenoxietanol än vid bedövning med MS-222 respektive Nejlilolja. Detta trots att den initiala stressresponsen var högre vid användning av 2-Fenoxietanol.

3. Diskussion

Målet med denna litteraturstudie var att identifiera vilka kemiska bedövningsmedel som används vid olika typer av fiskhantering. Vidare att undersöka vad befintlig litteratur kan säga om den effekt som olika medel har på olika hanteringsprocesser, samt på fiskars djurvälstånd. Den ekonomiska aspekten är en viktig faktor som inte direkt undersökts i detta arbete. Däremot kan man anta att försämrade hantering och djurvälstånd kan ha negativa konsekvenser för den ekonomiska världen som finns inom akvakultur.

3.1. Effekten på hanteringsprocessen

Trots att syftet med samtliga granskade kemiska bedövningsmedel oftast är att reducera stress hos fiskar, så kan preparaten i sig också orsaka stress. Några potentiella bieffekter som flera preparat har gemensamt är nedsatt hjärt- och ventilationsfrekvens, ökad utsöndring av stresshormonen adrenalin och kortisol, ökade blodsockernivåer och försämrade allmänhälsa (Iwama et al. 1989; Cuesta et al. 2004; Davis & Griffin 2004; Lambooij et al. 2009; Sneddon 2012; Jerez-Cepa et al. 2019). I vissa fall uppvisar fiskar även beteenden som tyder på stress i samband med bedövning, så som flyktbeteenden (Davis & Griffin 2004; Readman 2015; Readman et al. 2017b; Jerez-Cepa et al. 2019). Det kan dock vara svårt att veta exakt vilka av stressresponserna som beror på preparaten kontra hanteringen som sker vid bedövningstillfället (Cuesta et al. 2004).

Om preparaten har en negativ effekt på fiskar kan det dock påverka olika hanteringsmoment. Det skulle kunna resultera i felaktiga resultat vid forskning, speciellt om syftet är att observera fysiologiska reaktioner av en viss behandling eller stimulus. Om fiskar uppvisar stressbeteende mot ett medel så kan det tolkas som att de behöver bedövas mer, vilket kan vara en orsak till de överdoseringar med Bensokain som rapporterats (Berg et al. 2012). Om fiskarna drabbas av sekundära stressresponser, exempelvis får försämrade immunförsvar vilket leder till ökade risk för sjukdom, så kan det innebära att mer hantering krävs i samband med behandling av sjukdomen. Alltså att ett potentiellt onödigt hanteringsmoment som leder till ytterligare stress äger rum, för att bedövningen var dålig.

Få studier har gjorts på hur fiskar påverkas neurologiskt av olika kemiska bedövningsmedel (Readman 2015; Machnik et al. 2018; Bowman et al. 2019). Det kan bero på att de nödvändiga verktygen inte funnits tillgängliga inom forskning på fisk särskilt länge. Bowman et al. (2019) nämner att det även tidigare varit svårt att mäta hjärnaktivitet på ett sådant sätt att fiskar inte påverkas av verktygen, vilket då riskerat att medföra opålitliga resultat. Även en brist på intresse av den typen av forskning kan vara en orsak. I och med att fiskar länge antagits sakna förmåga att uppleva stress och smärta, så är det också rimligt att anta att forskning som undersöker dessa faktorer inte efterfrågats i samma utsträckning som för andra djurgrupper. Både Machnik et al. (2018) och Bowman et al. (2019) har dock tagit fram intressanta resultat med sina studier.

Framförallt betonar deras forskning hur viktigt det är att ta fram vidare kunskaper om hur olika kemiska bedövningsmedel påverkar olika fiskarter (Machnik et al. 2018; Bowman et al. 2019). Machnik et al. (2018) visade att MS-222 helt kan blockera synen hos guldfisk. Detta medan AQUI-S har en väldigt oregelbunden förmåga att blockera visuell stimulans och 2-Fenoxietanol endast hade en liten påverkan. Däremot kunde inget av de observerade preparaten helt blockera hörselförmågan, inte ens vid höga doser. Att veta hur lång tid det tar innan fiskar är fullt bedövade och återhämtade från olika preparat, i relation till hjärnaktivitet, är viktigt. Det skulle annars kunna leda till att de behandlas för tidigt eller släpps tillbaka i sitt vanliga habitat innan de är redo. Det i sin tur kan göra att de har svårare att ta sig an naturliga faktorer, såsom predation eller födosök.

Likaså innebär det att för åtminstone vissa fiskarter som bedövas med de nämnda preparaten så saknas ett effektivt skydd mot stressinducerande ljud. Det drabbar all akvakultur och kan tänkas vara speciellt problematiskt under transporter. Även Bowman et al. (2019) såg att MS-222 inte alltid medför medvetlöshet, även om fisken är orörlig. Alltså behöver fiskar trots begränsad rörlighet och att de tycks bedövade enligt synliga indikationer (Tabell 1), inte vara helt skyddade från att uppleva stress som kan leda till sekundära stressresponser. Det har ingen direkt betydelse för hanteringsmomenten som ägde rum under bedövningen. Det är dock tänkbart att fiskar i vissa fall behöver behandlas ytterligare eller oftare om de upplever biverkningar från bedövningen. Exempelvis om de får ett försämrat immunförsvar och sjukdom eller infektion till följd som behöver behandlas. Sekundära stressresponser kan också leda till ökade mortalitetsrisker.

3.2. Effekten på djurvälfaerden

Det finns oense om huruvida fiskar kan ha negativa upplevelser till följd av smärta och stress, men effekten av olika hanteringsprocessen tycks kunna påverka dem negativt. Kemiska bedövningsmedel kan vara ett sätt att minska detta, men det finns stora kunskapsluckor i hur olika medel påverkar fiskarnas övergripande djurvälfaerd. De ska skyddas från smärta och sjukdom och det är enkelt att anta att detta är tillräckligt uppfyllt i relation till deras begränsade förmåga att uttrycka sig. Dock finns tecken på att det inte är fallet, dels genom observationer på hjärnaktiviteten, dels genom att se hur allvarliga biverkningar och sekundära stressresponser kan ske till följd av en behandling med ett kemiskt bedövningsmedel. De granskade preparaten i det här arbetet, så som de används idag, har inte alltid en positiv effekt på fiskars djurvälfaerd.

Både Machnik et al. (2018) och Bowman et al. (2019) har visat att synliga indikationer (Tabell 1) inte är tillräckligt för att veta om fiskar är medvetslösa och oförmögna tar in intryck från omvärlden. Machnik et al. (2018) har exempelvis visat att MS-222, det idag mest använda kemiska bedövningsmedlet inom akvakultur, samt Bensokain, AQUI-S och 2-Fenoxietanol inte hämmar akustisk stimulering hos guldfisk, ens vid höga doser. De såg att synen gick att blockera helt med MS-222 (Machnik et al. 2018), men Bowman et al. (2019) observerade att regnbåge med preparatet fortfarande uppvisar hjärnaktivitet på ljusstimuli trots orörlighet. Det här är faktorer som generellt inte inkluderas i bedömningen av en lyckad bedövning, men genom att utföra mer forskning av denna typ på olika arter så vore det möjligt att på ett mer representativt sätt kartlägga effekten av olika medel, bortom endast de synliga indikationerna (Tabell 1).

I båda studier som inkluderats av Readman utforskas också preferens gentemot olika kemiska bedövningsmedel (Readman 2015; Readman et al. 2017b). Det är en aspekt som inte undersökts i större utsträckning på annat håll för fisk, men som är viktig för välfärden. Dels tillåter själva studien att de studerade fiskarterna (japansk risfisk, karp, regnbåge och zebrafisk) får välja mellan olika alternativ, dels att de får indikera om något medel upplevs som negativt, trots att andra indikationer än deras beteende saknas. En fisk med god djurvälfaerd bör ge bättre, mer pålitliga resultat, såväl inom forskning, och ökad fiskhälsa och överlevnad inom som i akvakultur och viltvård. Således borde intresset öka till att undersöka frågan kring hur olika kemiska bedövningsmedel påverkar olika fiskar.

4. Slutsats

Några av de vanligaste kemiska bedövningsmedel som förekommer inom akvakultur är Trikainmetansulfonat, Bensokain, Eugenol, Isoeugenol och 2-Fenoxietanol. De underlättar hanteringsprocesser genom att göra fiskar mindre rörliga. Studier som undersökt deras stressreducerande effekt visar blandade resultat, vilket kan bero på att själva hanteringsmomenten som studierna innefattar kan orsaka stress. Många faktorer kan dessutom påverka hur väl preparaten fungerar, inte minst artskillnader eller olika vattenegenskaper. Några studier har undersökt preparatens effekt på medvetande, hörsel, syn och beteende. De har sett att orörlighet inte behöver betyda att fiskar är medvetslösa eller saknar förmåga att höra/se. Dessutom att fiskar kan visa avvikande beteenden mot vissa medel. Trots att preparaten för med sig en positiv effekt på både hanteringsmoment och djurvälstånd genom att kunna reducera risker för mekanisk skada och annan stress, så är befintlig litteratur inte tillräcklig för att helt kartlägga hur de fungerar. Därför bör fler studier göras för att förstå deras effekter bättre.

Referenser

- Araújo, E.R.L. de, da Silva e Silva, J., Lopes, L.M., Torres, M.F., da Costa, B.M.P.A., do Amarante, C.B., Hamoy, M., Barbas, L.A.L. & Sampaio, L.A. (2021). Geraniol and citronellol as alternative and safe phytoconstituents to induce immobilization and facilitate handling of fish. *Aquaculture*, 537, 736517. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736517>
- Bahrekazemi, M. & Yousefi, N. (2017). Plasma enzymatic, biochemical and hormonal responses to clove oil, 2-phenoxy ethanol, and MS-222 exposed to Caspian brown trout (*Salmo trutta caspius*, kessleri). *Iranian Journal of Aquatic Animal Health*, 3 (1), 47–60. <https://doi.org/10.18869/acadpub.ijaah.3.1.47>
- Barata, M., Soares, F., Aragão, C., Almeida, A.C., Pousão-Ferreira, P. & Ribeiro, L. (2016). Efficiency of 2-phenoxyethanol and Clove Oil for Reducing Handling Stress in Reared Meagre, *Argyrosomus regius* (Pisces: Sciaenidae). *Journal of the World Aquaculture Society*, 47 (1), 82–92. <https://doi.org/10.1111/jwas.12245>
- Berg, A.-G.T., Haagenen, E. & Horsberg, T.E. (2012). Anesthesia during Vaccination of Atlantic Salmon: Compliance with Recommended Procedures. *Journal of the World Aquaculture Society*, 43 (1), 120–127. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2011.00546.x>
- Berg, C., Axelsson, M., Gräns, A., Hansson, H., Herlin, A., Jacobsson, M., Jarmar, A., Keeling, L., Hedman, F.L., Sandberg, E., Steen, M., Wall, H. & Åsbjer, E. (u.å.). Bedövning vid slakt av fisk. 2021, 2021, 45
- Bolasina, S.N., de Azevedo, A. & Petry, A.C. (2017). Comparative efficacy of benzocaine, tricaine methanesulfonate and eugenol as anesthetic agents in the guppy *Poecilia vivipara*. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2017.04.002>
- Bowman, J., Hjelmstedt, P. & Gräns, A. (2019). Non-invasive recording of brain function in rainbow trout: Evaluations of the effects of MS-222 anaesthesia induction. *Aquaculture Research*, 50 (11), 3420–3428. <https://doi.org/10.1111/are.14300>
- Brunelli, E. & Tripepi, S. (2005). Effects of Low pH acute exposure on survival and gill morphology in *Triturus italicus* larvae. *Journal of Experimental Zoology Part A: Comparative Experimental Biology*, 303A (11), 946–957. <https://doi.org/10.1002/jez.a.221>
- Burka, J.F., Hammell, K.L., Horsberg, T.E., Johnson, G.R., Rainnie, D.J. & Speare, D.J. (1997). Drugs in salmonid aquaculture – A review. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 20 (5), 333–349. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2885.1997.00094.x>
- Coyle, S.D., Dasgupta, S., Tidwell, J.H., Beavers, T., Bright, L.A. & Yasharian, D.K. (2005). Comparative Efficacy of Anesthetics for the Freshwater Prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 36 (3), 282–290. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2005.tb00332.x>
- Cuesta, A., Meseguer, J. & Esteban, M.A. (2004). Total serum immunoglobulin M levels are affected by immunomodulators in seabream (*Sparus aurata* L.). *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 101 (3), 203–210. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2004.04.021>

- Davis, K.B. & Griffin, B.R. (2004a). Physiological responses of hybrid striped bass under sedation by several anesthetics. *Aquaculture*, 233 (1–4), 531–548. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2003.09.018>
- Davis, K.B. & Griffin, B.R. (2004b). Physiological responses of hybrid striped bass under sedation by several anesthetics. *Aquaculture*, 233 (1–4), 531–548. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2003.09.018>
- Davis, M.W., Stephenson, J. & Noga, E.J. (2008). The Effect of Tricaine on Use of the Fluorescein Test for Detecting Skin and Corneal Ulcers in Fish. *Journal of Aquatic Animal Health*, 20 (2), 86–95. <https://doi.org/10.1577/H07-023.1>
- Ehrlich, O., Karamalak, A., Krylov, A.J., Dudezig, S., Hassell, K.L. & Jusuf, P.R. (2019). Clove Oil and AQUI-S Efficacy for Zebrafish Embryo, Larva, and Adult Anesthesia. *Zebrafish*, 16 (5), 451–459. <https://doi.org/10.1089/zeb.2019.1737>
- Gilderhus, P.A. (1989). Efficacy of Benzocaine as an Anesthetic for Sahnonid Fishes. *North American Journal of Fisheries Management*, 9 (2), 150–153. [https://doi.org/10.1577/1548-8675\(1989\)009<0150:EOBAAA>2.3.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8675(1989)009<0150:EOBAAA>2.3.CO;2)
- Iversen, M., Finstad, B., McKinley, R.S. & Eliassen, R.A. (2003). The efficacy of metomidate, clove oil, Aqu-STM and Benzoak[®] as anaesthetics in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts, and their potential stress-reducing capacity. *Aquaculture*, 221 (1), 549–566. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00111-X](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00111-X)
- Iwama, G.K., McGeer, J.C. & Pawluk, M.P. (1989). The effects of five fish anaesthetics on acid–base balance, hematocrit, blood gases, cortisol, and adrenaline in rainbow trout. *Canadian Journal of Zoology*, 67 (8), 2065–2073. <https://doi.org/10.1139/z89-294>
- Jerez-Cepa, I., Fernández-Castro, M., Del Santo O'Neill, T.J., Martos-Sitcha, J.A., Martínez-Rodríguez, G., Mancera, J.M. & Ruiz-Jarabo, I. (2019b). Transport and Recovery of Gilthead Seabream (*Sparus aurata* L.) Sedated With Clove Oil and MS-222: Effects on Stress Axis Regulation and Intermediary Metabolism. *Frontiers in Physiology*, 0. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00612>
- Jäderberg, C. (2020). Avel och genetik inom kompensationsodling. 33
- Lambooy, B., Pilarczyk, M., Bialowas, H., Reimert, H., André, G. & Vis, H.V.D. (2009). Anaesthetic properties of Propiscin (Etomidat) and 2-phenoxyethanol in the common carp (*Cyprinus carpio* L.), neural and behavioural measures. *Aquaculture Research*, 40 (11), 1328–1333. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02233.x>
- Lindsjö, J., Cvek, K., Spangenberg, E.M.F., Olsson, J.N.G. & Stéen, M. (2019). The Dividing Line Between Wildlife Research and Management—Implications for Animal Welfare. *Frontiers in Veterinary Science*, 6. <https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00013>
- Machnik, P., Schirmer, E., Glueck, L. & Schuster, S. (2018). Recordings in an integrating central neuron provide a quick way for identifying appropriate anaesthetic use in fish. *Scientific Reports*, 8, 17541. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-36130-8>
- Neiffer, D.L. & Stamper, M.A. (2009). Fish Sedation, Anesthesia, Analgesia, and Euthanasia: Considerations, Methods, and Types of Drugs. *ILAR Journal*, 50 (4), 343–360. <https://doi.org/10.1093/ilar.50.4.343>
- Packer, R. (1979). Acid-base balance and gas exchange in brook trout (*Salvelinus fontinalis*) exposed to acid environments. *J. Exp. Biol.*, 79
- Popovic, N.T., Strunjak-Perovic, I., Coz-Rakovac, R., Barisic, J., Jadan, M., Berakovic, A.P. & Klobucar, R.S. (2012). Tricaine methane-sulfonate (MS-222) application in fish anaesthesia. *Journal of Applied Ichthyology*, 28 (4), 553–564. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2012.01950.x>

- Priborsky, J. & Velisek, J. (2018). A Review of Three Commonly Used Fish Anesthetics. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 26 (4), 417–442. <https://doi.org/10.1080/23308249.2018.1442812>
- Readman, G.D. (2015). *Advances in anaesthetics for fish : greater understanding of species specific welfare associated with induction and efficacy*. (Ph.D.). University of Bristol. <https://ethos.bl.uk/OrderDetails.do?uin=uk.bl.ethos.685922> [2021-05-16]
- Readman, G.D., Owen, S.F., Knowles, T.G. & Murrell, J.C. (2017a). Species specific anaesthetics for fish anaesthesia and euthanasia. *Scientific Reports*, 7 (1), 7102. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-06917-2>
- Readman, G.D., Owen, S.F., Knowles, T.G. & Murrell, J.C. (2017b). Species specific anaesthetics for fish anaesthesia and euthanasia. *Scientific Reports*, 7 (1), 7102. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-06917-2>
- Ross, L.G. & Ross, B. (2008). *Anaesthetic and Sedative Techniques for Aquatic Animals Third Edition*. https://www.academia.edu/14764475/Anaesthetic_and_Sedative_Techniques_for_Aquatic_Animals_Third_Edition [2021-05-11]
- Sneddon, L.U. (2003). The evidence for pain in fish: the use of morphine as an analgesic. *Applied Animal Behaviour Science*, 83 (2), 153–162. [https://doi.org/10.1016/S0168-1591\(03\)00113-8](https://doi.org/10.1016/S0168-1591(03)00113-8)
- Sneddon, L.U. (2012). Clinical Anesthesia and Analgesia in Fish. *Journal of Exotic Pet Medicine*, 21 (1), 32–43. <https://doi.org/10.1053/j.jepm.2011.11.009>
- Soldatov, A.A. (2021). Functional Effects of the Use of Anesthetics on Teleostean Fishes (Review). *Inland Water Biology*, 14 (1), 67–77. <https://doi.org/10.1134/S1995082920060139>
- Stoskopf, M. & Posner, L.P. (2008). Chapter 21 - Anesthesia and Restraint of Laboratory Fish. I: Fish, R.E., Brown, M.J., Danneman, P.J., & Karas, A.Z. (red.) *Anesthesia and Analgesia in Laboratory Animals (Second Edition)*. San Diego: Academic Press. 519–534. <https://doi.org/10.1016/B978-012373898-1.50025-5>
- Zahl, I.H., Samuelsen, O. & Kiessling, A. (2012). Anaesthesia of farmed fish: implications for welfare. *Fish Physiology and Biochemistry*, 38 (1), 201–218. <https://doi.org/10.1007/s10695-011-9565-1>

Tack

Först och främst vill jag rikta ett tack till min handledare Albin Gräns, som möjliggjort för mig att skriva om ett spännande ämne och inspirerat även i de stunder då skrivandet har utmanat.

Fortsättningsvis vill jag tacka Sebastian, som varit vid min sida och stöttat hela vägen. Hädanefter tar vi oss ann nya utmaningar tillsammans.