

Utjecaj odabranih farmaceutika na ponašanje invazivnog signalnog raka, *Pacifastacus leniusculus* (Dana, 1852)

Razić, Matea

Master's thesis / Diplomski rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:235812>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-25**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



Sveučilište u Zagrebu

Prirodoslovno-matematički fakultet

Biološki odsjek

Matea Razić

Utjecaj odabranih farmaceutika na ponašanje invazivnog signalnog raka,
Pacifastacus leniusculus (Dana, 1852)

Diplomski rad

Zagreb, 2019.

Ovaj rad, izrađen u Laboratoriju za biologiju i ekologiju mekušaca i rakova na Zoologijskom zavodu biološkog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, pod vodstvom doc. dr. sc. Sandre Hudine, predan je na ocjenu Biološkom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu radi stjecanja zvanja magistra struke znanosti o okolišu.

Srdačno zahvaljujem svojoj mentorici doc. dr. sc. Sandri Hudini na korisnim savjetima te pomoći prilikom izrade praktičnog i pismenog dijela ovog diplomskog rada.

Zahvaljujem roditeljima, bratu, dečku i prijateljima na podršci i pomoći tijekom cijelog studija.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Diplomski rad

Utjecaj odabranih farmaceutika na ponašanje invazivnog signalnog raka, *Pacifastacus leniusculus* (Dana, 1852)

Matea Razić

Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

Zagađenje i invazivne strane vrste su jedni od glavnih čimbenika antropogeno uvjetovanih promjena u okolišu. Cilj ovog rada bio je istražiti kako farmaceutici prisutni u rijeci Savi, antidepresivi citalopram i nortriptilin te opojna droga amfetamin, utječu na antagonističko ponašanje najuspješnije invazivne strane vrste rakova u Europi, signalnog raka (*Pacifastacus leniusculus*). Agresivnost odnosno antagonističko ponašanje jedna je od ključnih odrednica invazivnog uspjeha signalnog raka. Tijekom 7 dana, rakovi su izlagani terapijskoj (visokoj) ili okolišno relevantnoj (niskoj) koncentraciji odabranih farmaceutika. Za potrebe istraživanja antagonističkog ponašanja, jedinke podjednake veličine stavljene su u parove koji su bili miješani (jedna jedinka u paru izložena spoju, a jedna kontrola) ili kontrolni (obje jedinke u paru kontrole). Snimanje antagonističkog ponašanja odvijalo se nakon 24 sata i nakon 7 dana izlaganja. Zabilježeni parametri ponašanja su: trajanje i broj borbi, vrijeme proteklo do prve borbe te identitet pobjednika i inicijatora borbi. Rezultati pokazuju da odabrani farmaceutici ne utječu na vrijeme proteklo do prve borbe te na dominaciju izloženih rakova u antagonističkim interakcijama. Međutim, izlaganje rakova visokim koncentracijama svih odabranih farmaceutika i niskoj koncentraciji amfetamina mijenja dinamiku antagonističkih interakcija na način da smanjuje broj i duljinu trajanja borbi u usporedbi s kontrolom.

(51 stranica, 25 slika, 3 tablice, 79 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)

Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici

Ključne riječi: invazivna strana vrsta, antidepresivi, opojna droga, antagonističke interakcije, invazivni uspjeh

Voditelj: Doc. dr. sc. Sandra Hudina

Ocjenitelji: Doc. dr. sc. Sandra Hudina

Doc. dr. sc. Luka Valožić

Prof. dr. sc. Blanka Cvetko Tešović

Prof. dr. sc. Jasenka Sremac

Rad prihvaćen: 18.09.2019.

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb
Faculty of Science
Division of Biology

Graduation thesis

Effects of selected pharmaceutical pollutants on behaviour of the invasive alien species signal crayfish, *Pacifastacus leniusculus* (Dana, 1852)

Matea Razić

Rooseveltova trg 6, 10000 Zagreb, Croatia

Pollution and invasive alien species are one of the main factors of anthropogenically induced environmental changes. The aim of this study was to examine whether pharmaceuticals present in the Sava River, antidepressants citalopram and nortriptyline, and illicit drug amphetamine could have an effect on behaviour of the most successful crustacean invader in Europe, signal crayfish (*Pacifastacus leniusculus*). Agonistic behaviour is one of the key determinants of invasive success of signal crayfish. Crayfish were exposed to environmentally relevant (low) or therapeutic (high) concentration of selected pharmaceuticals for 7 days. For analysis of agonistic behaviour, equal size individuals were placed in mixed pairs (one individual was exposed and the other was a control) or control pairs (both individuals were controls). Agonistic behaviour was recorded after 24 hours and 7 days of exposure. Recorded behavioral parameters included: duration and number of fights, time to first fight, identity of the winner and initiator of fights. Results show that selected pharmaceuticals have no effect on time to first fight or on dominance of exposed crayfish in agonistic interactions. However, exposure of crayfish to high concentrations of all selected pharmaceuticals and low concentration of amphetamine reduced the number and duration of fights compared to control.

(51 pages, 25 figures, 3 tables, 79 references, original in: Croatian)

Thesis deposited in the Central Biological Library

Key words: invasive alien species, antidepressants, illicit drug, agonistic interactions, invasive success

Supervisor: Dr. Sandra Hudina, Asst. Prof.

Reviewers: Dr. Sandra Hudina, Asst. Prof.

Dr. Luka Valožić, Asst. Prof.

Dr. Blanka Cvetko Tešović, Prof.

Dr. Jasenka Sremac, Prof.

Thesis accepted: 18.09.2019.

Sadržaj

1. UVOD	1
1.1. Ugroženost slatkovodnih ekosustava.....	1
1.1.1. Zagađenje slatkovodnih ekosustava.....	1
1.1.2. Invazivne vrste	4
1.2. Signalni rak.....	6
1.2.1. Sistematika.....	6
1.2.2. Rasprostranjenost.....	6
1.2.3. Biologija i ekologija vrste	7
1.2.4. Negativan utjecaj	9
1.3. Antagonističko ponašanje.....	10
2. CILJ ISTRAŽIVANJA	12
3. PODRUČJE ISTRAŽIVANJA	13
4. MATERIJALI I METODE	16
4.1. Odabir farmaceutika	16
4.2. Uzorkovanje rakova.....	16
4.3. Laboratorijska analiza.....	17
4.4. Metode održavanja rakova.....	18
4.5. Dodavanje spojeva.....	19
4.6. Metoda snimanja.....	20
4.7. Analiza snimki	21
4.8. Statistička obrada podataka	22
5. REZULTATI.....	23
5.1. Citalopram	23
5.1.1. Usporedba parametara antagonističkih interakcija s obzirom na koncentraciju citaloprama nakon 24 sata i 7 dana izlaganja.....	23
5.1.2. Usporedba parametara antagonističkih interakcija s obzirom na duljinu izlaganja niskoj i visokoj koncentraciji citaloprama	25

5.1.3. Utjecaj izlaganja citalopramu na dominaciju u antagonističkim interakcijama	27
5.2. Nortriptilin	28
5.2.1. Usporedba parametara antagonističkih interakcija s obzirom na koncentraciju nortriptilina nakon 24 sata i 7 dana izlaganja	28
5.2.2. Usporedba parametara antagonističkih interakcija s obzirom na duljinu izlaganja niskoj i visokoj koncentraciji nortriptilina	30
5.2.3. Utjecaj izlaganja nortriptilinu na dominaciju u antagonističkim interakcijama	32
5.3. Amfetamin	32
5.3.1. Usporedba parametara antagonističkih interakcija s obzirom na koncentraciju amfetamina nakon 24 sata i 7 dana izlaganja.....	32
5.3.2. Usporedba parametara antagonističkih interakcija s obzirom na duljinu izlaganja niskoj i visokoj koncentraciji amfetamina	34
5.3.3. Utjecaj izlaganja amfetaminu na dominaciju u antagonističkim interakcijama	37
6. RASPRAVA.....	38
7. ZAKLJUČAK	42
8. LITERATURA.....	43
9. ŽIVOTOPIS	51

1. UVOD

1.1. Ugroženost slatkovodnih ekosustava

Slatkovodni ekosustavi zauzimaju manje od 1 % Zemljine površine, no imaju vrlo veliku raznolikost vrsta i staništa. Procjenjuje se da slatkovodni ekosustavi osiguravaju stanište za najmanje 126 000 vrsta, od čega su brojne vrste endemi (Balian i sur., 2008). Slatkovodni ekosustavi pružaju i širok raspon usluga za ljude, kao što su zaštita od poplava, hrana, filtriranje vode, transport i dobivanje energije (Collen i sur., 2013). Međutim, sve je više istraživanja koja pokazuju da su vrste u slatkovodnim ekosustavima iznimno ugrožene antropogeno uvjetovanim promjenama u okolišu. Uz degradaciju staništa, regulaciju protoka i prekomjerno iskorištavanje vodenih resursa, glavne prijetnje slatkovodnim ekosustavima su i zagađenje te širenje invazivnih stranih vrsta (Dudgeon i sur., 2006). Nadalje, problem za slatkovodne ekosustave predstavljaju i klimatske promjene. Klimatske promjene svojim utjecajem na hidrološke značajke uzrokuju promjene u intenzitetu, vremenskom razmaku padalina i evapotranspiraciji te uzrokuju topljene ledenjaka. Sve to dovelo je do značajnog smanjenja slatkovodne bioraznolikosti u svijetu (Strayer i Dudgeon, 2010).

1.1.1. Zagađenje slatkovodnih ekosustava

Zagađenje je jedan od glavnih uzroka gubitka slatkovodne bioraznolikosti. Izvori zagađenja mogu biti točkasti i raspršeni. Neki od točkastih izvora su rafinerije, elektrane, rudnici, tvornice i postrojenja za pročišćavanje otpadnih voda. Tipičan primjer raspršenog izvora je gradsko padalinsko otjecanje kod kojeg je zagađenje zapravo zbroj velikog broja malih točkastih izvora unutar sliva. Raspršeni izvori zagađenja također mogu biti prijevozna sredstva. Iako je svako od njih točkasti izvor, kreću se i na taj način imaju široki utjecaj (Schweitzer i Noblet, 2018).

Ekotoksikološka istraživanja su od početka većinom bila usmjerena na štetne tvari koje su proizvedene u velikim količinama i koje se dugo zadržavaju u okolišu, poput metala, policikličkih aromatskih ugljikovodika, polikloriranih bifenila, dioksina, dibenzofurana i pesticida. Ove štetne tvari su zakonski regulirane nacionalnim i međunarodnim zakonodavstvom te su mnoge zabranjene ili zamijenjene tvarima koje nemaju toliko štetan utjecaj na okoliš i kraće se u njemu zadržavaju (Poynton i Robinson, 2018). Tijekom posljednjih desetljeća sve je više istraživanja koja obuhvaćaju i tvari koje su prisutne u niskim koncentracijama u okolišu, a potencijalno su štetne za ljude i životinje. Neka od tih zagađivala

su tek u novije vrijeme zakonski regulirana u Europskoj uniji putem WFD-a (Water Framework Directive) (Carere i sur., 2015). Iako se radi na uspostavljanju boljeg nadzora zagađivala specifičnih za svaki riječni sliv i dodavanju spojeva na prioritetne liste, još uvijek se zanemaruje većina pesticida, industrijskih aditiva, proizvoda za osobnu higijenu, farmaceutika i mješavina ovih spojeva (Brack i sur., 2018).

Skupini farmaceutika pripadaju ljudski i životinjski lijekovi, opojne droge i njihovi metaboliti (Cizmas i sur., 2015). Samo u Europskoj uniji koristi se preko 3000 različitih tvari u ljudskim lijekovima (Fent i sur., 2006). Najčešće korišteni farmaceutici su protuupalni lijekovi, antibiotici, beta blokatori, steroidi i srodni hormoni (Christen i sur., 2010). Porast upotrebe farmaceutika je uz neučinkovito uklanjanje iz otpadnih voda doveo do njihove pojave u vodenim ekosustavima (Brodin i sur., 2014). Najvažniji izvori ljudskih lijekova u vodenim ekosustavima su komunalne otpadne vode i otpadne vode iz medicinskih ustanova (Gavrilescu i sur., 2015). U vodu većinom dospijevaju farmakološki aktivni jer se izlučuju bez razgradnje. Iako su prisutni u relativno niskim koncentracijama, u rasponu od nekoliko ng/l do µg/l, dokazan je njihov utjecaj na ponašanje i fiziologiju slatkovodnih organizama (Brodin i sur., 2014).

1.1.1.1. Antidepresivi

Antidepresivi se koriste za liječenje širokog spektra poremećaja, kao što su depresija, anksioznost i bipolarni poremećaj. U većini zemalja, korištenje antidepresiva je u značajnom porastu. Istraživanja procjenjuju kako 1 od 10 osoba uzima antidepresive (Ford i Fong, 2015). Najčešće korištene skupine antidepresiva inhibiraju ponovnu pohranu serotonina i noradrenalina, s konačnim ciljem povišenja njihovih koncentracija u pojedinim regijama mozga. Antidepresivi čak i pri niskim koncentracijama mogu imati štetne učinke na vodene organizme. Razine serotonina utječu na fiziologiju i ponašanje brojnih kralješnjaka i beskrlešnjaka te imaju ključnu ulogu u agresivnosti, aktivnosti i reproduktivnom ponašanju (Brodin i sur., 2014). Povećana funkcija serotonina ima različite učinke na različite organizme, na primjer smatra se da smanjuje agresivnost kod kralješnjaka, dok suprotno vrijedi za beskrlešnjake (Huber, 2005). Osim toga, mogu se pojaviti sinergistički učinci kao rezultat istovremene izloženosti različitim spojevima (Cleuvers, 2003). Općenito, učinci antidepresiva nisu smrtonosni za vodene organizme, ali kroz utjecaj na ponašanje mogu neizravno utjecati na populacije i time na funkcioniranje cijelog ekosustava (Buřić i sur., 2018).

Citalopram je antidepresiv koji pripada skupini selektivnih inhibitora ponovne pohrane serotonina. Kod rakova serotonin ima ulogu u agresivnom ponašanju, aktivnosti, kontroli otpuštanja hiperglikemijskog hormona koji kontrolira razinu glukoze u hemolimfi, kontroli otpuštanja hormona koji mogu koncentrirati ili raspršiti pigmente unutar kromatofora, inhibirati presvlačenje i stimulirati razvoj spolnih stanica (Fong i Ford, 2014). Istraživanja su pokazala da bi djelovanje citaloprama moglo biti vrsno specifično (Brodin i sur., 2014). Neke vrste riba reagiraju na vrlo niske koncentracije citaloprama, primjerice kod koljuške (*Gasterosteus aculeatus*) zabilježena je povećana lokomotorna aktivnost (Kellner i sur., 2016). Suprotno tome, citalopram nije imao nikakav učinak na kalifornijsku pastrvu (*Oncorhynchus mykiss*) čak i pri puno višim koncentracijama (Holmberg i sur., 2011). Kod mramornog raka (*Procambarus virginalis*) zabilježena je smanjena aktivnost pri okolišno relevantnim koncentracijama citaloprama (Buřić i sur., 2018).

Notriptilin je triciklički antidepresiv koji djeluje kao neselektivni inhibitor ponovne pohrane serotonina i noradrenalina, a djeluje i na druge receptorske sustave. Izlaganje embrija šarana (*Cyprinus carpio*) tricikličkim antidepresivima tijekom 30 dana rezultiralo je značajnim porastom mortaliteta, morfološkim anomalijama te patološkim promjenama na mozgu, srcu i bubrezima već pri koncentracijama od 10 µg/l. Te promjene mogu biti posljedica kardiotoksičnosti i neurotoksičnosti koje su poznate nuspojave kod ljudi (Sehonova i sur., 2017). Zabilježen je i utjecaj tricikličkih antidepresiva na beskralješnjake. Triciklički antidepresivi inhibirali su mrijest i oplodnju kod raznolike trokutnjače (*Dreissena polymorpha*) (Hardege i sur., 1997).

1.1.1.2. Opojne droge

Opojne droge su legalna i ilegalna sredstva koja izazivaju ovisnost. Legalna sredstva ovisnosti koja su jako raširena su primjerice nikotin, kofein i alkohol. Ilegalna sredstva obuhvaćaju nezakonite droge za koje je nemedicinska uporaba zabranjena međunarodnim ugovorima o kontroli droga. Iako su opojne droge otkrivene u otpadnim vodama diljem svijeta, mali broj istraživanja uključuje procjenu njihovog učinka na slatkovodne ekosustave (Rosi-Marshall i sur., 2015).

Druga najčešće korištena skupina droga su amfetaminske supstance (Binelli i sur., 2012). Za razliku od droga kao što su kokain i heroin, čija se uporaba smanjuje, uporaba stimulansa amfetaminskog tipa je u porastu (Rosi-Marshall i sur., 2015). Amfetamin je stimulans središnjeg živčanog sustava koji potiče tjelesnu i mentalnu aktivnost. Približno 30 do 40 %

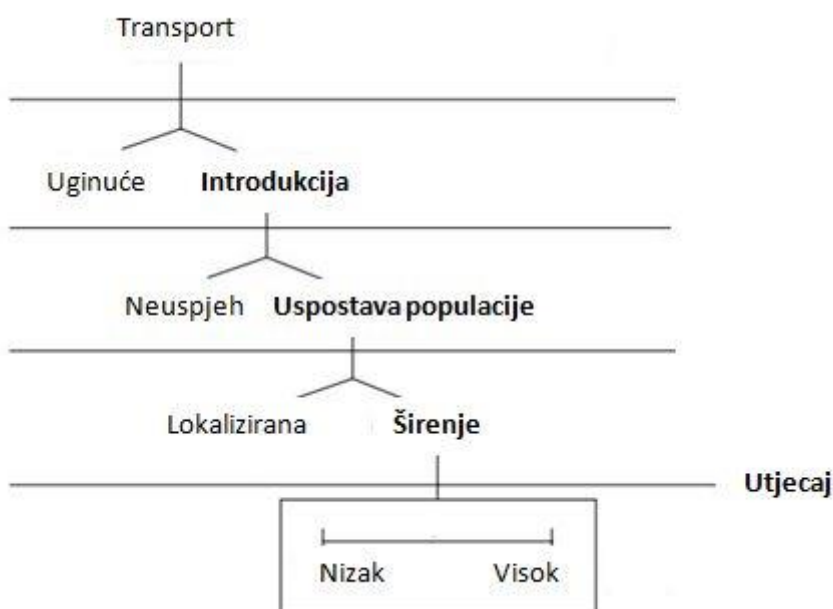
amfetamina izlučuje se urinom unutar 24 sata od konzumacije i to u nepromijenjenom obliku. Njegova prisutnost u otpadnim vodama ne može se pripisati samo ilegalnoj potrošnji jer se ponekad zakonski propisuje za poremećaje hiperaktivnosti i pretilost (Boles i Wells, 2010). Glavna mjesta djelovanja amfetamina kod rakova vjerojatno su mirisni režnjevi koji su pod utjecajem dopamina i serotonina. Kod deseteronožnih rakova vrste *Orconectes rusticus* amfetamin je povećao lokomotornu aktivnost, pomicanje antena te vrijeme provedeno stojeći na zadnjem paru nogu za hodanje (Alcaro i sur., 2011), dok je kod signalnog raka (*Pacifastacus leniusculus*) smanjio lokomotornu aktivnost i povećao broj otkucaja srca (Ložek i sur., 2019).

1.1.2. Invazivne strane vrste

Invazivne strane vrste su vrste unesene na novo područje izvan svog prirodnog areala rasprostranjenosti, gdje se nesmetano razmnožavaju i šire te uzrokuju ekonomske i ekološke štete. Smatra se da su invazivne strane vrste drugi vodeći uzrok gubitka biološke raznolikosti, nakon gubitka staništa. Biološke invazije započinju s nekoliko jedinki koje su premještene iz svog prirodnog areala na novo područje. Te jedinke nazivaju se propagule i one mogu biti unesene na novo područje mnoštvom različitih vektora. Unos propagula može biti namjeren ili slučajan. Namjerno unošenje uključuje uvoz organizama za hortikulturu, akvakulturu, rekreacijski lov i ribolov, biokontrolu drugih organizama, znanstvena istraživanja i kućne ljubimce. Nenamjeren unos rezultat je slučajnog transporta organizma pri namjernom transportu nekog proizvoda ili organizma. Najčešće se odnosi na transport balastnim vodama te ribarskim mrežama (Lockwood i sur., 2007).

Proces invazije sastoji se od nekoliko stadija (Slika 1). To su tri stadija kroz koje strana vrsta mora proći prije nego što može nanijeti ekološku i ekonomsku štetu. Prvi stadij odnosi se na introdukciju strane vrste iz prirodnog areala u novo područje. Nakon toga jedinke strane vrste moraju uspostaviti samoodrživu populaciju ili će nestati s novog područja. Ako uspostavljena strana populacija ne počne rasti i širiti svoj areal, ostat će lokalizirana. Kada takva raširena strana populacija počne imati negativan ekološki i ekonomski utjecaj proglašava se invazivnom (Lockwood i sur., 2007). Budući da prelazak između stadija zahtjeva savladavanje određenih ekoloških barijera, samo 5 do 20 % unesenih stranih vrsta uspješno prođe sve stadije invazije, a prosjek je 10 % (Williamson, 1996). Postotak je veći u slatkovodnim ekosustavima jer su oni osjetljiviji na invazije zbog velikog ljudskog utjecaja,

prirodne povezanosti rijeka i jezera, lakše disperzije jedinki i većeg stupnja endemizma (Nunes i sur., 2015; Wright, 2007).



Slika 1. Model procesa invazije (preuzeto i prilagođeno prema Lockwood i sur., 2007).

Deseteronožni rakovi su među najraširenijim invazivnim stranim vrstama slatkovodnih ekosustava. U nekim dijelovima Europe brojnost populacija invazivnih vrsta već je nadmašila brojnost populacija autohtonih vrsta deseteronožnih rakova (Holdich i sur., 2009). Invazivne vrste rakova uzrokuju pad brojnosti autohtonih populacija jer ranije dostižu spolnu zrelost, brže rastu i razmnožavaju se, agresivniji su i bolje podnose klimatske promjene (Tricarico i Aquiloni, 2016). Također, europske vrste su ugrožene i račjom kugom. Bolest uzrokuje gljivica *Aphanomyces astaci* koja je u Europu došla u 19. st. s alohtonim američkim vrstama slatkovodnih rakova koje su na nju otporne, za razliku od europskih vrsta koje lako obolijevaju i ugibaju (Alderman, 1996).

Hrvatsku nastanjuju četiri od pet autohtonih europskih slatkovodnih vrsta rakova iz porodice Astacidae: *Astacus astacus* (Linnaeus, 1758) - riječni ili plemeniti rak, *Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823 - uskoškari, barski ili turski rak, *Austropotamobius pallipes* (Lereboullet, 1858) - bjelonogi ili primorski rak, potočni rak ili rak kamenjar (*A. torrentium*) i *Austropotamobius torrentium* (Schrank, 1803) - potočni rak ili rak kamenjar te tri invazivne

strane vrste iz Sjeverne Amerike: *Faxonius limosus* (Rafinesque, 1817) – bodljobrati rak, *Procambarus virginalis* Lyko, 2017 – mramorni rak i *Pacifastacus leniusculus* (Dana, 1852) – signalni rak (Maguire i sur., 2011).

1.2. Signalni rak

1.2.1. Sistematika

Signalni rak opisan je 1852. godine unutar roda *Pacifastacus* (Tablica 1). Rod *Pacifastacus* obuhvaća 4 vrste, 3 podvrste i 2 izumrle vrste.

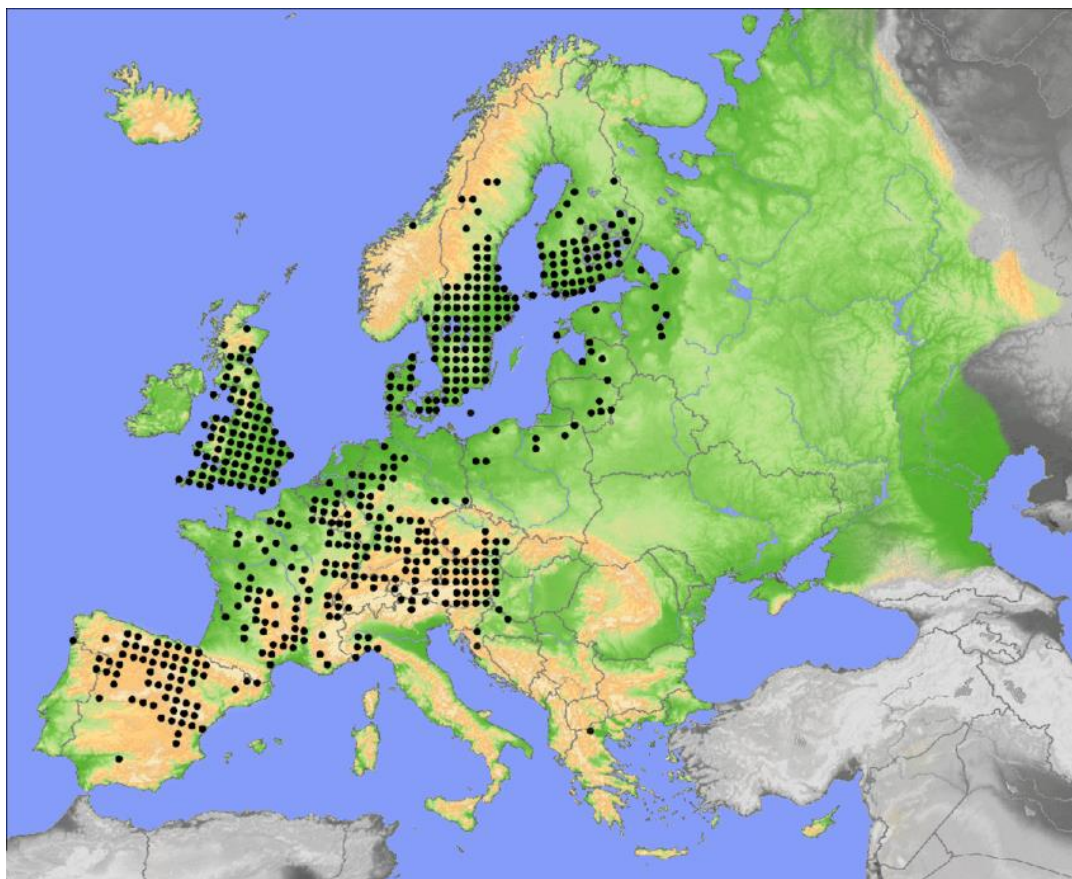
Tablica 1. Sistematika signalnog raka (prema www.itis.gov).

Sistematska kategorija	Naziv
Carstvo	Animalia
Koljeno	Arthropoda
Razred	Malacostraca
Podrazred	Eumalacostraca
Nadred	Eucarida
Red	Decapoda
Podred	Pleocyemata
Infrared	Astacidea
Porodica	Astacidae
Rod	<i>Pacifastacus</i>
Vrsta	<i>Pacifastacus leniusculus</i> (Dana, 1852)

1.2.2. Rasprostranjenost

Prirodni areal vrste je zapadno područje Sjeverne Amerike (Lewis, 2002). Na područje Europe i Japana signalni rak unesen je kako bi se nadomjestile populacije autohtonih rakova koje su značajno smanjene nakon širenja račje kuge. Međutim, tada nije bilo poznato da je i signalni rak jedan od prijenosnika račje kuge (Holdich i sur., 2014). Danas je signalni rak prisutan u najmanje 29 europskih zemalja što ga čini najraširenijom invazivnom vrstom rakova u Europi (Kouba i sur., 2014). Prvi put je unesen 1959. godine u Švedsku, od kuda se počeo širiti po okolnim europskim državama (Holdich i sur., 2014). Zatim je ilegalno unesen 1970. godine u Austriju (Pöckl, 1999). Iz austrijskog dijela rijeke Mure proširio se u slovenski te u hrvatski dio. U hrvatskom dijelu rijeke Mure prvi put je zabilježen 2008. godine (Maguire

i sur., 2008). Procijenjena nizvodna brzina širenja u rijeci Muri je 18-24,4 km godišnje, a to je ujedno najveća zabilježena brzina širenja ove vrste u Europi (Hudina i sur., 2009). Zahvaljujući velikoj brzini širenja, 2011. godine zabilježen je u rijeci Dravi. Iste godine zabilježen je i u rijeci Korani u koju je ilegalno unesen (Hudina i sur., 2013).



Slika 2. Rasprostranjenost signalnog raka u Europi (preuzeto iz Kouba i sur., 2014).

1.2.3. Biologija i ekologija vrste

Signalni rak je dobio ime po plavom obojenju na spoju pomičnog i nepomičnog prsta kliješta (Slika 3). Površina kliješta je glatka i s donje strane crvene boje. Karakteristični su i po tome što uz cervikalnu brazdu nemaju trnove. Tijelo ove vrste je crvenkasto-smeđe boje. Ženke obično narastu do 12 cm, a mužjaci do 16 cm, iako su rijetko zabilježene i jedinke s ukupnom duljinom tijela od 18 cm (Holdich i sur., 2014).



Slika 3. Izgled jedinke signalnog raka (foto: Sandra Hudina).

Životni ciklus signalnog raka je tipičan za rakove iz porodice Astacidae. Parenje i oplodnja odvijaju se tijekom jeseni, najčešće u listopadu. Ženka nosi jaja na nogama zatka, ispod repa, a broj im obično varira između 200 i 400 (Souty-Grosset i sur., 2006). Za inkubaciju jaja potrebno je između 166 i 280 dana. Nakon izlijevanja juvenilni rakovi ostaju pričvršćeni za majku, a postaju samostalni tek nakon što se dva puta presvuku. Učestalost presvlačenja ovisi o temperaturi, dostupnosti hrane, starosti i spolu jedinke. Tijekom prve godine jedinke signalnog raka presvlače se do 11 puta, u drugoj i trećoj godini života presvlače se najčešće dva puta, a od četvrte godine presvlače se samo jednom godišnje. Također, ženke koje nose jaja presvlače se manji broj puta godišnje (Lewis, 2002). Spolnu zrelost dostižu u drugoj do trećoj godini života pri ukupnoj duljini od 6 do 9 cm, s tim da mužjaci postaju spolno zreli prije ženki (Souty-Grosset i sur., 2006). Procijenjeni životni vijek im je do 16 godina (Belchier i sur., 1998).

Signalni rakovi imaju široku trofičku nišu te svoju prehranu prilagođavaju ovisno o dostupnim resursima u okolišu (Olsson i sur., 2009). Mogu biti herbivori, predatori i detritivori. Juvenilni rakovi većinom se hrane vodenim kukcima, a odrasli biljem. Signalni rakovi često mogu biti i plijen riba, ptica i sisavaca, posebno u vrijeme presvlačenja (Lewis,

2002). Aktivni su i hrane se uglavnom noću kako bi lakše izbjegli predatore (Guan i Wiles, 1998). Dnevno pojedu prosječno 3,12 % svoje tjelesne težine (Vaeßen i Hollert, 2015).

Prirodna staništa ove vrste su slatkovodne tekućice i stajaćice, iako mogu preživjeti i u bočatim vodama (Holdich i sur., 1997). Zabilježena je minimalna tolerancija temperature od 7,5 °C i maksimalna tolerancija temperature od 38 °C. Optimalna temperatura za razvoj je 22,8 °C (Firkins i Holdich, 1993). Danju se signalni rakovi zadržavaju u skloništima najčešće pod kamenjem i korijenjem bilja ili u rupama koje kopaju u obalama potoka, rijeka i jezera. Kopanje rupa zabilježeno je samo kod europskih populacija (Lewis, 2002). Manje jedinke uglavnom biraju plitka šljunčana staništa, dok veće jedinke preferiraju dublja sapropelna staništa. Signalni rakovi su prilično pokretni, a najaktivniji su veliki mužjaci koji u tjedan dana mogu proći do 300 m (Wutz i Geist, 2013). Mogu se kretati uzvodno i nizvodno po vodotoku te mogu preživjeti do 10 sati bez vode pri relativno visokoj temperaturi od 24 °C. Ta sposobnost im je omogućila lakše širenje u suhom dijelu godine (Banha i Anastácio, 2013).

1.2.4. Negativan utjecaj

Najveća prijetnja autohtonim europskim vrstama su invazivne vrste jer zauzimaju iste ekološke niše i u direktnoj su kompeticiji za hranu i stanište. Uz veći kompetitivni uspjeh koji je prisutan zbog veće agresivnosti, glavni mehanizam kojim signalni rakovi utječu na autohtone europske rakove je prijenos račje kuge (Lewis, 2002).

Signalni rak također može negativno utjecati na ribe kroz direktnu predaciju te kroz kompeticiju za hranu i stanište. Uz to signalni rak može indirektno utjecati na riblje populacije, primjerice redukcijom makrofita koji ribama služi za mrijest i kao sklonište te oslobađanjem sedimenta prilikom kopanja rupa koji se zatim taloži na riblja jaja, smanjuje dotok kisika i time smanjuje njihovu stopu preživljavanja (Holdich i sur., 2014).

Također, zabilježen je značajan pad biomase i raznolikosti makrofita te beskralješnjaka s povećanjem gustoće populacije signalnog raka. Neki beskralješnjaci ugroženi su direktnom predacijom, primjerice ličinke tulara i puževi, a neki smanjenjem brojnosti makrofita koje koriste kao skloništa (Usio i sur., 2009).

Signalni rak može imati utjecaj i na stanište. Stabilnost obala često je poremećena brojnim rupama koje signalni rakovi kopaju za skloništa. Erozijski obala ima negativne ekološke, ali i ekonomske posljedice uslijed povećanja troškova za održavanje drenažnih kanala i rijeka (Peay i sur., 2010). Signalni rakovi također mogu poremetiti sediment dna

trenutnim pokretima kao što su hodaње i bijeg od predatora te produljenim pokretima koji su prisutni u vrijeme borbi i prilikom hranjenja. Na taj način mijenjaju karakteristike sedimenta i mobiliziraju nutrijente te potencijalna zagađivala iz podloge (Harvey i sur., 2011).

1.3. Antagonističko ponašanje

Antagonističko ponašanje odnosi se na agresivne interakcije između jedinki iste vrste u kojima se jedinke bore za resurse poput hrane, staništa i partnera. Glavni rezultat antagonističkih interakcija je uspostavljanje dominacije među jedinkama. Dominacija ima različite evolucijske prednosti. Općenito, dominantne jedinke mogu steći više resursa i zadržati dulju kontrolu nad njima, što može rezultirati većim reproduktivnim uspjehom jedinke, a time i većim evolucijskim fitnessom (Moore, 2007).

Kod deseteronožnih rakova uzorci ulaska i eskalacije borbe su stereotipni i očuvani među različitim vrstama (Hudina i sur., 2011). Tipična interakcija započinje približavanjem rakova. Jedinka koja prva prilazi naziva se inicijator. Borba započinje kada se rakovi nađu na udaljenosti od jedne duljine tijela i reagiraju na prisutnost protivnika. Reakcija uključuje pokazivanje prijetnji poput podizanja prednjeg dijela tijela i širenja klijesta. Sljedeća razina agresije je međusobno guranje protivnika klijestima pri čemu još uvijek nema aktivnog zatvaranja klijesta. Osim guranja, u ovom stadiju prisutno je i mahanje antenama kojima naglo dodiruju protivnikov karapaks. Rakovi obično provode najveći dio vremena u ovom stadiju interakcije (Moore, 2007). Nakon toga borba postaje agresivnija. U ovom stadiju rakovi ne koriste klijesta samo za međusobno guranje, već i za preokretanje protivnika. U najintenzivnijem stadiju borbe rakovi neobuzdano koriste klijesta s ciljem ozljede ili uklanjanja protivnikovih klijesta, no takav ishod antagonističkih interakcija je rijedak. Borbe završavaju kada se jedinke međusobno udalje više od jedne duljine tijela i ne reagiraju na prisutnost protivnika (Huber i Kravitz, 1995; Gherardi i Cioni, 2004).

Rakovi u antagonističkim interakcijama stvaraju dominacijsku hijerarhiju. Dominacijska hijerarhija kod slatkovodnih rakova je linearna, što znači da je svaka jedinka u grupi dominantna nad onom ispod nje i podređena onoj iznad nje. Ukoliko se radi o jedinkama podjednake veličine, potrebno je nekoliko borbi za uspostavljanje hijerarhije. Borbe tijekom uspostavljanja hijerarhije većinom su duge i intenzivne. Nakon konačno uspostavljene hijerarhije podređene jedinke izbjegavaju ponovne borbe s pobjedničkim jedinkama

(Goessmann i sur., 2000). Interakcije između njih su tada pod utjecajem efekta pobjednika ili efekta gubitnika. Jedinka koja je prethodno pobjeđivala u borbama ima veću vjerojatnost pobjede i u sljedećem susretu. Nasuprot tome, jedinka koja je u prethodnim borbama gubila ima veću vjerojatnost gubitka u ponovnom susretu (Hock i Huber, 2006). Trajanje i snaga efekta pobjednika i gubitnika ovise o naknadnom pojačanju kroz ponovljene susrete. Efekt pobjednika i gubitnika jače djeluju na ishod antagonističkih interakcija od ostalih čimbenika (Moore, 2007).

Ishod antagonističkih interakcija ovisi o raznim unutarnjim i vanjskim čimbenicima. Unutarnji čimbenici su fiziološke ili fizičke značajke svojstvene rakovima. To su veličina tijela i klijesta, spol, reproduktivni stadij, prethodna antagonistička iskustva, glad, stadij presvlačenja (Moore, 2007). Primjerice, veći rakovi (Pavey i Filder, 1996) te oni s većim i netaknutim klijestima (Schroeder i Huber, 2001) češće pobjeđuju u antagonističkim interakcijama, a mužjaci su obično agresivniji od ženki, osim u slučaju kada ženke nose jaja (Figler i sur., 1995). Vanjski čimbenici uključuju kemijsku, vizualnu i mehaničku komunikaciju te dostupnost resursa. Također, različiti kemijski spojevi prisutni u vodenom okolišu mogu utjecati na antagonističko ponašanje slatkovodnih rakova. (Moore, 2007).

Invazivni rakovi često mogu nadjačati autohtone u borbama, iako su imali puno manje vremena za prilagodbu na uvjete novog staništa (Hale i sur., 2016; Dalosto i sur., 2015). Razlog tome su razlike u strategijama borbe između vrsta. Na primjer, jedinke signalnog raka pokazuju sklonost prema većoj razini intenziteta borbe, što rezultira ranijim povlačenjem manje agresivnih vrsta iz borbe i posljedično njihovim gubitkom. Premda manje agresivno ponašanje u utvrđenim populacijama može pomoći jedinkama u smanjenju troškova borbe, rizičnije ponašanje može bolje koristiti invazivnim stranim vrstama tijekom procesa invazije (Hudina i Hock, 2012).

2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Antropogeno uvjetovane promjene u okolišu, poput zagađenja i invazivnih stranih vrsta su jedne od glavnih prijetnji slatkovodnim ekosustavima. Zagađenje slatkovodnih ekosustava farmaceuticima može potencijalno utjecati na ponašanje slatkovodnih organizama pa tako i invazivnih stranih vrsta što u konačnici može utjecati na njihov invazivni uspjeh. Međutim, istraživanja koja povezuju ova dva važna čimbenika antropogeno uvjetovanih promjena u okolišu još uvijek su malobrojna i nedostatna.

Cilj ovog istraživanja je ispitati kako 3 odabrana farmaceutika (citalopram, nortriptilin i amfetamin) utječu na antagonističko ponašanje signalnog raka, koje je jedno od ključnih odrednica invazivnog uspjeha invazivnih stranih vrsta rakova. Snimanje antagonističkih interakcija omogućuje analizu i usporedbu parametara ponašanja između izložene i kontrolne skupine te unutar izložene skupine, između različitih duljina izlaganja i koncentracija farmaceutika.

Rezultati ovog istraživanja pridonijet će boljem razumijevanju zajedničkog utjecaja zagađenja i invazivnih stranih vrsta na slatkovodne ekosustave. Osim toga, razumijevanje utjecaja farmaceutika na invazivan uspjeh potrebno je za daljnje planiranje i poboljšavanje strategija upravljanja usmjerenih na kontrolu invazivnih stranih vrsta.

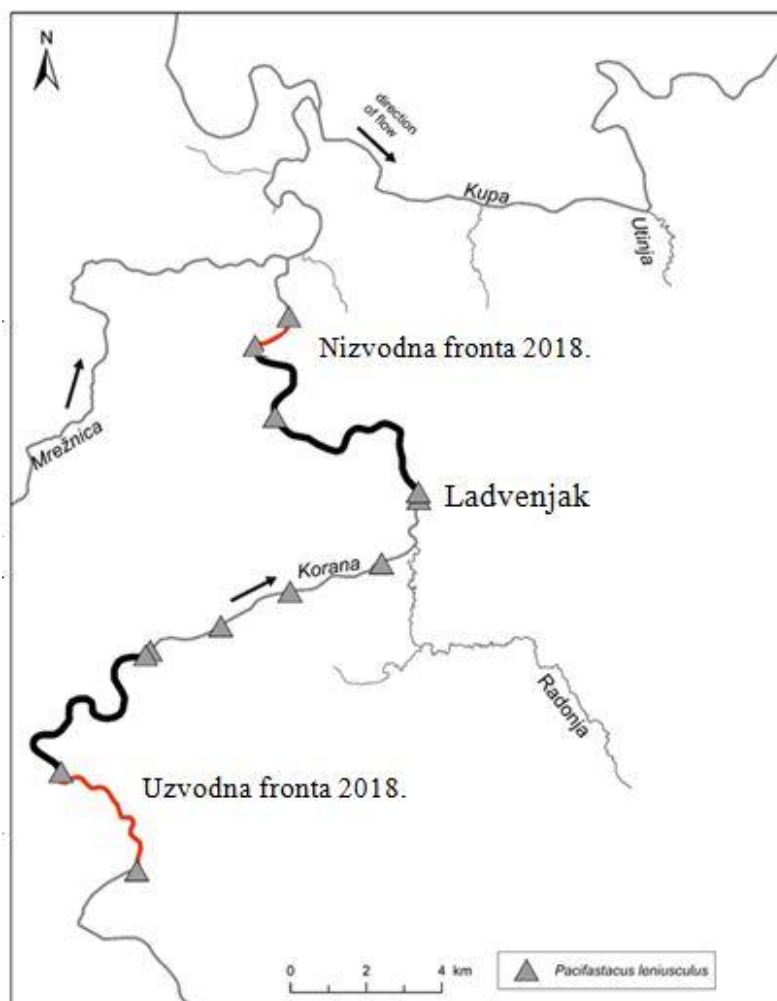
3. PODRUČJE ISTRAŽIVANJA

Korana je krška rijeka koja se nalazi u središnjem dijelu Hrvatske. Pripada crnomorskom slivu te slivnom području rijeke Save. Za nju je karakterističan kišno-snježni hidrološki režim, uvjetovan klimatskim specifičnostima i hidrogeološkim svojstvima porječja (Čanjevac, 2013). Rijeka Korana dugačka je 134 km, obuhvaća slivno područje površine 2297 km² s prosječnim protokom od 29 m³s⁻¹. Klima područja je blaga kontinentalna te djelomično vlažna s prosječnom godišnjom količinom padalina od 700 do 1100 mm i prosječnom godišnjom temperaturom od 11,1 °C. (Hudina, 2013).

Korana izvire u Nacionalnom parku Plitvička jezera, a ulijeva se u Kupu kraj Karlovca. Plitvička jezera završavaju slapovima Sastavcima, a podno njih počinje teći Korana. Korito rijeke je na početku usko s dnom prekrivenim pijeskom i sedrom. Rijeka Korana bogata je stalnim i povremenim pritocima te vrelima uz obale. Korana svojim velikim dijelom prolazi kroz uski kanjon koji je usječen je u gornjopliocenskoj usko-koranskoj zaravni (Roglić, 1951). Od utoka Toplice Korana ulazi u poplavnu ravnicu s rijekom Mutnicom iz Bosne i Hercegovine. Taj dio rijeke zagađen je otpadnim vodama iz obližnje prehrambene industrije. Nakon toga rijeka ponovno ulazi u Hrvatsku i blizu Slunja u nju se ulijeva rijeka Slunčica. Na tom području Korana postaje sve plića te se izmjenjuju kanjonska područja i riječne doline. Kod Karlovca se u Koranu ulijeva Mrežnica preko umjetnog betonskog slapa (Šafarek i Šolić, 2011).

U Korani i njenim pritocima prisutne su tri autohtone vrste rakova: riječni rak (*Astacus astacus*), potočni rak (*Austropotamobius torrentium*) i uskoškari rak (*Astacus leptodactylus*) (Hudina i sur., 2013).

Jedinke signalnog raka uzorkovala sam na postaji Ladvenjak u svibnju i lipnju 2018. godine (Slika 4). Za taj dio rijeke karakterističan je sporiji tok s bogatom vegetacijom makrofita i šumskom vegetacijom uz obalu (Slika 5). Budući da se postaja Ladvenjak nalazi na donjem toku rijeke Korane i predstavlja nizvodnu frontu širenja signalnog raka, a rijeka Korana se ulijeva u rijeku Kupu te rijeka Kupa u rijeku Savu, možemo pretpostaviti kako će se za neko vrijeme signalni rak proširiti i rijekom Savom.



Slika 4. Smještaj postaje Ladvenjak na rijeci Korani (preuzeto i prilagođeno prema Hudina i sur., 2013).



Slika 5. Izgled postaje Ladvenjak (foto: Sandra Hudina).

4. MATERIJALI I METODE

4.1. Odabir farmaceutika

Kombinacijom podataka iz ekotoksikoloških baza (ToxCast, ECOTOXicology) o potencijalnim učincima na metabolizam serotonina i ponašanje rakova te temeljem podataka dobivenih od Hrvatskih voda o koncentraciji i zastupljenosti 549 zagađivala na 13 postaja duž rijeke Save, izdvojili smo 3 prioriteta spoja. To su antidepresivi Citalopram i Nortriptilin te opojna droga Amfetamin.

4.2. Uzorkovanje rakova

Rakove sam sakupljala LiNi vršama (Slika 6) s mamcem na postaji Ladvenjak, na rijeci Korani koja pripada slivnom području rijeke Save. Uzorkovanje sam provodila u svibnju i lipnju 2018. godine. Vrše sam ostavljala u rijeci tijekom noći te sam ih sljedeće jutro vadila iz rijeke. Ulovljenim jedinkama odredila sam vrstu i spol. Autohtone vrste sam vratila u rijeku, a neozlijeđene mužjake signalnog raka sam stavila u kutiju obloženu vlažnom travom te sam ih transportirala u laboratorij na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu.



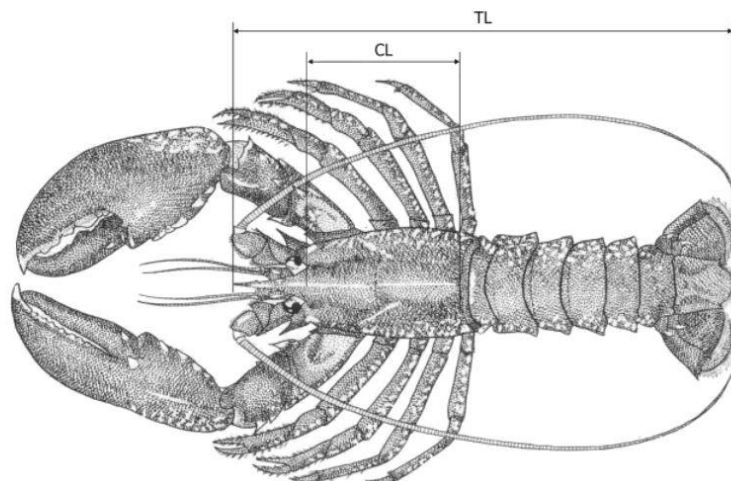
Slika 6. LiNi vrša (foto: Sandra Hudina).

4.3. Laboratorijska analiza

U laboratoriju sam svaku jedinku označila brojem na dorzalnoj strani glavopršnjaka (Slika 7). Za označavanje sam koristila voodootporan marker. Nakon toga sam signalne rakove izvagala te sam im digitalnim pomičnim mjerilom izmjerila ukupnu duljinu i postorbitalnu duljinu karapaksa. Ukupnu duljinu mjerila sam od vrha rostruma do kraja telzona, a postorbitalnu duljinu karapaksa od ruba koji se nalazi iza oka do stražnjeg ruba cefalotoraksa (Slika 8). S obzirom na to da veličina jedinki značajno utječe na ishod antagonističkih interakcija, svaki rak dobio je para podjednake veličine, s razlikama u težini, ukupnoj duljini i duljini karapaksa manjim od 10 %, što je u skladu s kriterijima za istraživanje antagonističkog ponašanja rakova (Hudina i sur. 2011). Od ukupno označenih 112 jedinki, napravila sam 56 parova koje sam rasporedila na sljedeći način (Tablica 2). Parovi za svaki spoj su miješani, što znači da je jedna jedinka iz para izlagana spojevima, a druga nije pa služi kao kontrola. Također, postojala je i kontrolna skupina u kojoj obje jedinke iz parova nisu bile izlagane spojevima.



Slika 7. Primjer označenog raka (foto: Sandra Hudina).



Slika 8. Mjerene morfometrijske značajke; TL = ukupna duljina, CL = postorbitalna duljina karapaksa (preuzeto iz Marčeta, 2016).

Tablica 2. Raspored parova po skupinama.

Farmaceutik	Broj parova	
	Niska koncentracija	Visoka koncentracija
Citalopram	8	8
Nortriptilin	8	8
Amfetamin	8	8
Kontrolna skupina	8	

4.4. Metode održavanja rakova

Budući da rakovi mogu uspostaviti dominaciju vizualno, kemijski i taktilno, smjestili smo ih pojedinačno u staklene akvarije oblijepljene neprozirnom folijom, dimenzija 20x12x15 cm. Sve akvarije napunili smo s 1 l vode koju smo za vrijeme trajanja eksperimenata mijenjali svaki dan. S obzirom na to da su rakovi potencijalno mogli biti nosioci račje kuge, otpadne vode iz akvarija nismo izlijevali izravno u odvod. Vodu iz akvarija najprije smo tretirali Izosan G sredstvom za dezinfekciju vode u kanti od 100 l. Koristili smo najveću dozu za dezinfekciju (2 g na 5 l vode). Prije izlijevanja u odvod ostavili smo da djeluje minimalno 24 sata kako bi klor ispario. Vodu u akvarijima održavali smo na 19 °C. Akvariji su uvijek bili prekriveni staklenim poklopcima i dodatno učvršćeni daskama kako bi se spriječilo bježanje rakova iz akvarija (Slika 9). Unutar svakog akvarija nalazio se prozračivač vode. Rakove smo hranili jednom tjedno s Nutrfin max peletima za pridnene ribe i beskralješnjake. Akvariji su bili osvijetljeni žaruljom kako bi bolje simulirali uvjete fotoperioda (12 h svjetlosti i 12 h

tame) i odijeljeni od ostatka laboratorija zavjesom. Za držanje signalnih rakova ishodili smo dozvolu Ministarstva zaštite okoliša i energetike (640-01/18-01/41) prema Zakonu o sprječavanju unošenja i širenja stranih te invazivnih stranih vrsta i upravljanju njima (NN 15/2018).



Slika 9. Izgled akvarija i opreme (foto: Katarina Buhin).

4.5. Dodavanje spojeva

Prije dodavanja spojeva svi rakovi su prošli period aklimatizacije na laboratorijske uvjete u trajanju od 2 tjedna. Period od dva tjedna također je služio kao socijalna izolacija kojom se nastoji spriječiti utjecaj posljednjih agonističkih interakcija na ishod novih interakcija koje će se promatrati (Huber i Kravitz, 1995). Nakon dva tjedna po jednog raka iz svakog para izlagala sam odabranom spoju kroz 7 dana, a za svaki spoj postojale su dvije skupine. Jedna skupina bila je izložena okolišno relevantnim (niskim) dozama, a druga terapijskim (visokim) dozama.

Farmaceutike smo držali u hladnjaku otopljene u etanolu u tamnim bocama, a svaki dan smo radili vodene otopine u ultračistoj vodi koje smo zatim dodavali mikropipetom u vodu odabranim rakovima kako bi se postigla određena koncentracija (Tablica 3). Parovima sam vodu u akvariju mijenjala svaki dan u isto vrijeme i ponovno sam odabranoj jedinki iz para

dodavala spojeve kako bi koncentracija farmaceutika ostala stalna, a kontroli sam dodavala istu količinu etanola.

Tablica 3. Informacije o upotrijebljenim spojevima.

Ime spoja	CAS broj	Proizvođač	Koncentracija stock otopine u etanolu	Koncentracija dnevne vodene otopine		Koncentracija u akvariju	
				Niska	Visoka	Niska	Visoka
Citalopram hidrobromid	59729-32-7	Sigma-Aldrich	1 g/l	1 mg/l	50 mg/l	1 µg/l	50 µg/l
Nortriptilin hidroklorid	894-71-3	Sigma-Aldrich	1 g/l	50 µg/l	50 mg/l	50 ng/l	50 µg/l
D-Amfetamin sulfat	51-63-8	Lipomed	0,2 g/l	20 µg/l	100 mg/l	20 ng/l	100 µg/l

4.6. Metoda snimanja

Antagonističko ponašanje proučavala sam snimanjem unaprijed definiranih parova jedinki. Snimanja su se odvijala 24 sata nakon izlaganja farmaceuticima i ponovno nakon 7 dana. Za potrebe snimanja koristila sam veći akvarij dimenzija 60x30x30 cm. Prije svakog para akvarij sam napunila s 10 l vode. Rakove sam zatim smjestila na suprotne strane akvarija te sam ih odijelila neprozirnom pregradom. Nakon 10 min aklimatizacije dizala sam pregradu te je tada započelo snimanje u trajanju od 15 min. Rakove sam snimala kamerom Sony HDR-CX570 (Slika 10). Za vrijeme aklimatizacije i snimanja napuštala sam prostoriju kako bi se izbjeglo ometanje rakova. Po isteku snimanja, rakove sam prebacila u pripadajuće manje akvarije, a akvarij korišten za snimanje sam isprala nakon svakog para kako bi se uklonili potencijalni kemijski signali stresa prijašnjih jedinki (Moore i Bergman, 2005).



Slika 10. Postav akvarija i kamere za snimanje antagonističkih interakcija (foto: Sandra Hudina).

4.7. Analiza snimki

Parametri ponašanja koje sam bilježila prilikom analize snimki su: broj borbi, ukupno trajanje borbi, vrijeme proteklo do prve borbe i identitet pobjednika u borbama miješanih parova. Kao početak borbe uzimala sam trenutak kada su se rakovi našli na udaljenosti od jedne duljine tijela i reagirali su na prisutnost protivnika. Završetak borbe bilježila sam kada su se rakovi međusobno udaljili više od jedne duljine tijela na najmanje 5 s. U borbama miješanih parova, s jednom izloženom jedinkom i jednom ne izloženom, bilježila sam koja je jedinka pobijedila. Pobjednik borbe je bila jedinka koja se nije povukla ili se povukla nakon što je protivnička jedinka pokazala podređeni pognuti i miran položaj. Ukupno trajanje borbi za pojedini par odredila sam zbrajanjem trajanja svih pojedinačnih borbi. Ukoliko je borba započela prije završetka snimke, ali nije završila unutar 15 min, trajanje te borbe nisam zabilježila.

4.8. Statistička obrada podataka

Za statističku obradu dobivenih podataka koristila sam program Statistica 13.3 (TIBCO Software Inc., 2017). Kako bi odabrala odgovarajuću statističku metodu za obradu podataka, provjerila sam normalnost raspodjele podataka. Dobivene podatke obradila sam neparametrijskim analizama jer podaci nisu odgovarali normalnoj raspodjeli. Značajne rezultate sam prikazala grafički, Box-Whisker Plot grafovima. U svim statističkim analizama nivo značajnosti je bio 5 % ($p < 0,05$).

Za usporedbu parametara antagonističkih interakcija (broj borbi, vrijeme proteklo do prve borbe i ukupno trajanje borbi) između izloženih miješanih parova i kontrolnih parova koji nisu bili izloženi nikakvom spoju koristila sam Kruskal-Wallis ANOVA test. Parametre antagonističkih interakcija usporedila sam s obzirom na duljinu izlaganja i koncentraciju farmaceutika. Kod usporedbi parametara između različitih duljina izlaganja koristila sam kontrolu koja je obuhvaćala obje duljine izlaganja jer Mann Whitney U test nije pokazao statistički značajne razlike u parametrima između kontrole nakon 24 sata i nakon 7 dana.

Ukoliko je Kruskal-Wallis ANOVA test pokazao statistički značajnu razliku između skupina ($p < 0,05$), koristila sam post hoc višestruke usporedbe srednjih vrijednosti rangova kako bih utvrdila koje skupine se značajno razlikuju.

Wilcoxon matched pairs testom utvrdila sam postoje li statistički značajne razlike između jedinki koje su inicirale borbe te pobjednika borbi u miješanim parovima između kontrolnih i izloženih jedinki.

5. REZULTATI

5.1. Citalopram

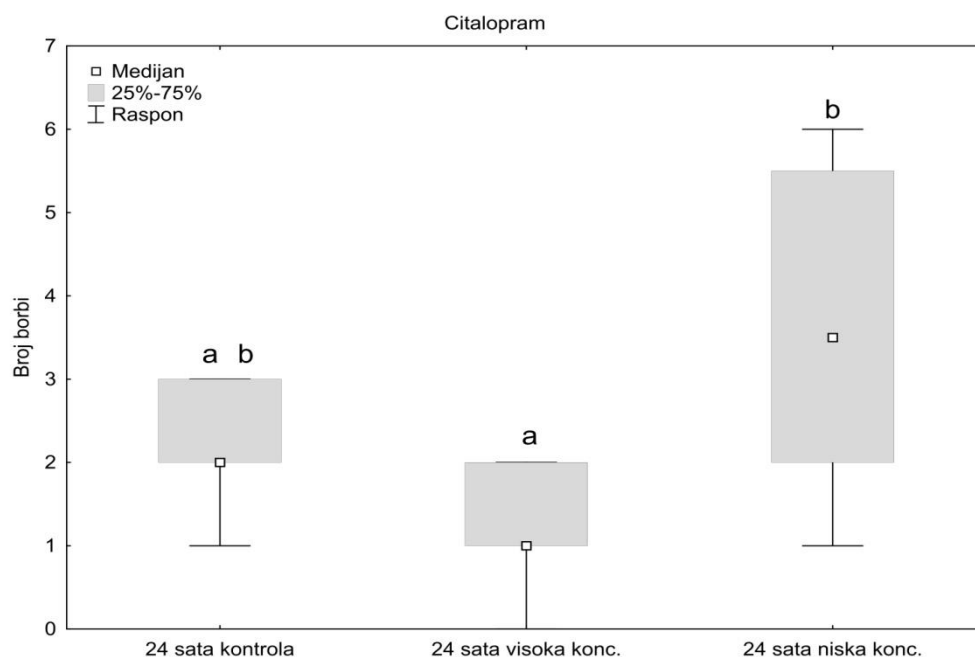
Pri visokoj koncentraciji citaloprama zabilježila sam smanjeni broj borbi nakon 24 sata i 7 dana izlaganja te kraće ukupno trajanje borbi nakon 7 dana izlaganja u odnosu na kontrolu.

5.1.1. Usporedba parametara antagonističkih interakcija s obzirom na koncentraciju citaloprama nakon 24 sata i 7 dana izlaganja

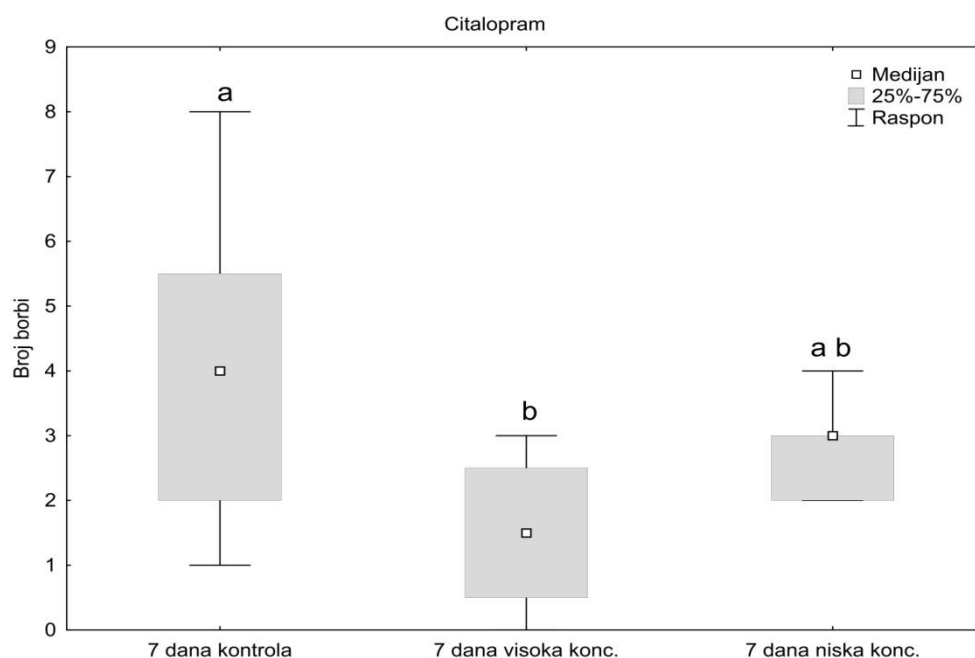
Korištenjem neparametrijskog Kruskal-Wallis ANOVA testa usporedila sam parametre antagonističkih interakcija (broj borbi, vrijeme proteklo do prve borbe i ukupno trajanje borbi) između miješanih parova nakon 24 sata izlaganja visokoj i niskoj koncentraciji citaloprama te kontrolnih parova nakon 24 sata. Također sam usporedila parametre antagonističkih interakcija između miješanih parova nakon 7 dana izlaganja visokoj i niskoj koncentraciji citaloprama te kontrolnih parova nakon 7 dana.

Nakon 24 sata nije bilo statistički značajnih razlika u vremenu proteklom do prve borbe i ukupnom trajanju borbi između miješanih parova izloženih visokoj koncentraciji citaloprama, miješanih parova izloženih niskoj koncentraciji citaloprama i kontrolnih parova, no statistički značajno se razlikovao broj borbi između parova ($H_{(2, 22)} = 9,19$, $p = 0,010$). Značajno veći broj borbi bio je kod parova nakon 24 sata izlaganja niskoj u usporedbi s visokom koncentracijom citaloprama (post hoc višestruka usporedba srednjih vrijednosti rangova $p = 0,011$; Slika 11).

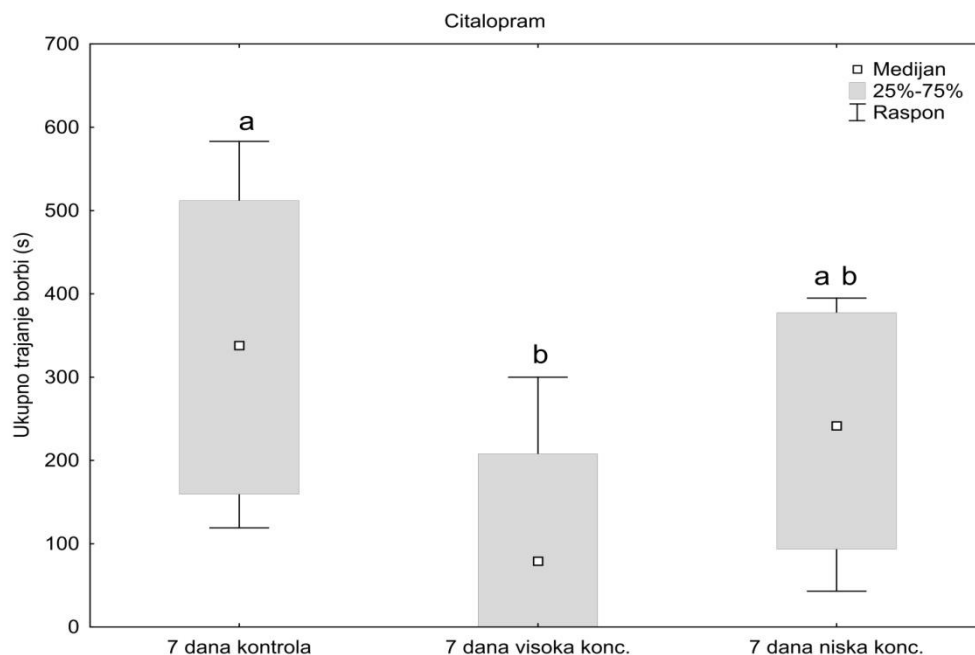
Nakon 7 dana nije bilo statistički značajne razlike u vremenu proteklom do prve borbe između miješanih parova izloženih visokoj koncentraciji citaloprama, miješanih parova izloženih niskoj koncentraciji citaloprama i kontrolnih parova, no statistički značajno su se razlikovali broj borbi ($H_{(2, 24)} = 6,91$, $p = 0,032$) i ukupno trajanje borbi ($H_{(2, 23)} = 6,85$, $p = 0,033$) između parova. Broj borbi je značajno manji (post hoc višestruka usporedba srednjih vrijednosti rangova $p = 0,036$; Slika 12), a ukupno trajanje borbi značajno kraće (post hoc višestruka usporedba srednjih vrijednosti rangova $p = 0,028$; Slika 13) pri visokoj koncentraciji citaloprama nakon 7 dana izlaganja u usporedbi s kontrolom nakon 7 dana.



Slika 11. Broj borbi u parovima izloženim 24 sata visokoj (50 $\mu\text{g/l}$) i niskoj (1 $\mu\text{g/l}$) koncentraciji citaloprama te u kontrolnim parovima. Broj borbi je značajno veći pri niskoj koncentraciji u odnosu na visoku. Različita slova označavaju značajne razlike dobivene post hoc višestrukom usporedbom srednjih vrijednosti rangova, $p = 0,011$.



Slika 12. Broj borbi u parovima izloženim 7 dana visokoj (50 $\mu\text{g/l}$) i niskoj (1 $\mu\text{g/l}$) koncentraciji citaloprama te u kontrolnim parovima. Broj borbi je značajno manji pri visokoj koncentraciji u odnosu na kontrolu. Različita slova označavaju značajne razlike dobivene post hoc višestrukom usporedbom srednjih vrijednosti rangova, $p = 0,036$.



Slika 13. Ukupno trajanje borbi u parovima izloženim 7 dana visokoj (50 $\mu\text{g/l}$) i niskoj (1 $\mu\text{g/l}$) koncentraciji citaloprama te u kontrolnim parovima. Ukupno trajanje borbi je značajno kraće pri visokoj koncentraciji u odnosu na kontrolu. Različita slova označavaju značajne razlike dobivene post hoc višestrukom usporedbom srednjih vrijednosti rangova, $p = 0,028$.

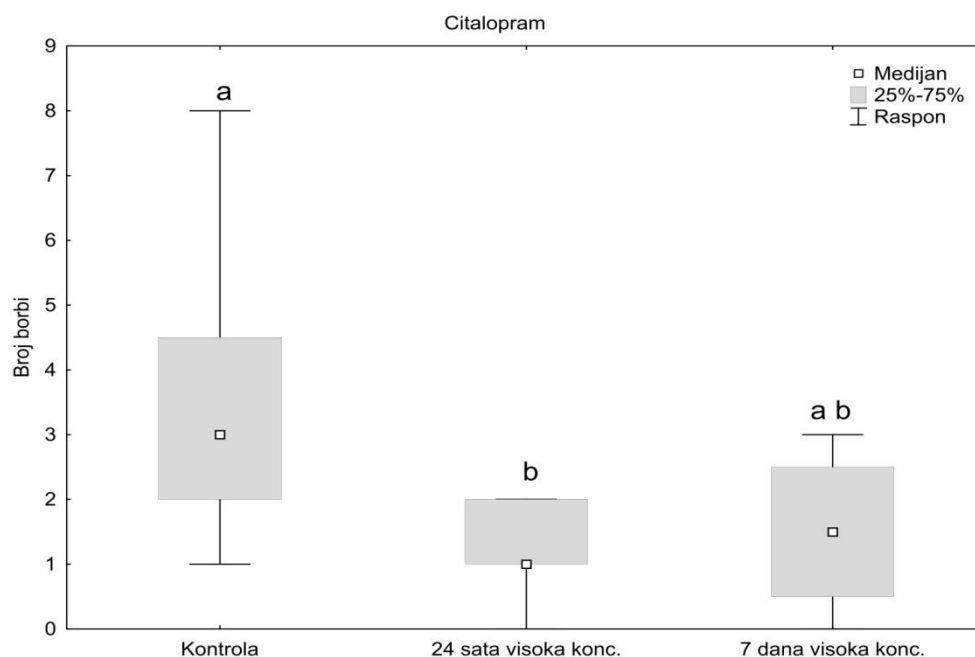
5.1.2. Usporedba parametara antagonističkih interakcija s obzirom na duljinu izlaganja niskoj i visokoj koncentraciji citaloprama

Korištenjem neparametrijskog Kruskal-Wallis ANOVA testa usporedila sam parametre antagonističkih interakcija (broj borbi, vrijeme proteklo do prve borbe i ukupno trajanje borbi) s obzirom na duljinu trajanja izlaganja. Za svaku koncentraciju usporedila sam 3 grupe: a) parovi nakon 24 sata izlaganja, b) isti parovi nakon 7 dana izlaganja i c) kontrolni parovi (objedinjeni podaci za kontrolne parove – poglavlje 4.8.)

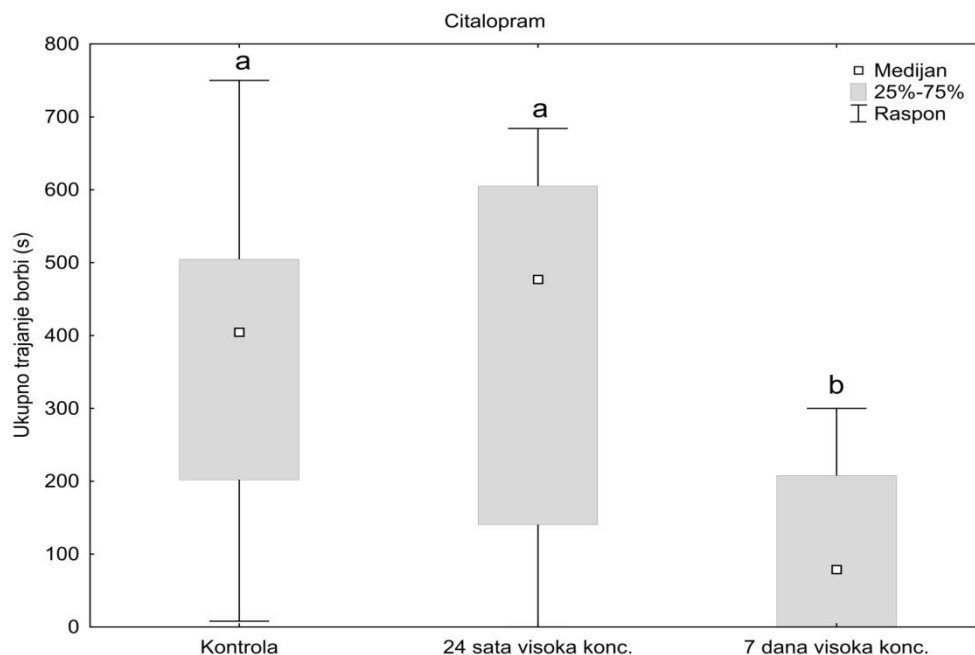
Pri niskoj koncentraciji citaloprama nije bilo statistički značajnih razlika u broju borbi, vremenu proteklom do prve borbe i ukupnom trajanju borbi između miješanih parova nakon 24 sata izlaganja, miješanih parova nakon 7 dana izlaganja i kontrolnih parova.

Pri visokoj koncentraciji citaloprama nije bilo statistički značajne razlike u vremenu proteklom do prve borbe između miješanih parova nakon 24 sata izlaganja, miješanih parova nakon 7 dana izlaganja i kontrolnih parova, no statistički značajno su se razlikovali broj borbi

($H_{(2, 31)} = 10,65$, $p = 0,005$) i ukupno trajanje borbi ($H_{(2,31)} = 8,60$, $p = 0,014$) između parova. Značajno manji broj borbi bio je kod miješanih parova nakon 24 sata izlaganja visokoj koncentraciji citaloprama u odnosu na kontrolne parove (post hoc višestruka usporedba srednjih vrijednosti rangova $p = 0,038$; Slika 14). Ukupno trajanje borbi je značajno kraće nakon 7 dana izlaganja visokoj koncentraciji citaloprama u odnosu na 24 sata izlaganja visokoj koncentraciji citaloprama i kontrolu (post hoc višestruka usporedba srednjih vrijednosti rangova $p = 0,038$ i $p = 0,018$; Slika 15).



Slika 14. Broj borbi u parovima izloženim 24 sata i 7 dana visokoj (50 $\mu\text{g/l}$) koncentraciji citaloprama te u kontrolnim parovima. Broj borbi je značajno manji nakon 24 sata izlaganja u odnosu na kontrolu. Različita slova označavaju značajne razlike dobivene post hoc višestrukom usporedbom srednjih vrijednosti rangova, $p = 0,038$.



Slika 15. Ukupno trajanje borbi u parovima izloženim 24 sata i 7 dana visokoj (50 µg/l) koncentraciji citaloprama te u kontrolnim parovima. Ukupno trajanje borbi je značajno kraće nakon 7 dana izlaganja u odnosu na 24 sata i kontrolu. Različita slova označavaju značajne razlike dobivene post hoc višestrukom usporedbom srednjih vrijednosti rangova, $p = 0,038$ i $p = 0,018$.

5.1.3. Utjecaj izlaganja citalopramu na dominaciju u antagonističkim interakcijama

Wilcoxon matched pairs testom utvrdili smo da ne postoje statistički značajne razlike između jedinki koje su inicirale borbe te pobjednika borbi u miješanim parovima između kontrolnih jedinki i jedinki izloženih citalopramu.

5.2. Nortriptilin

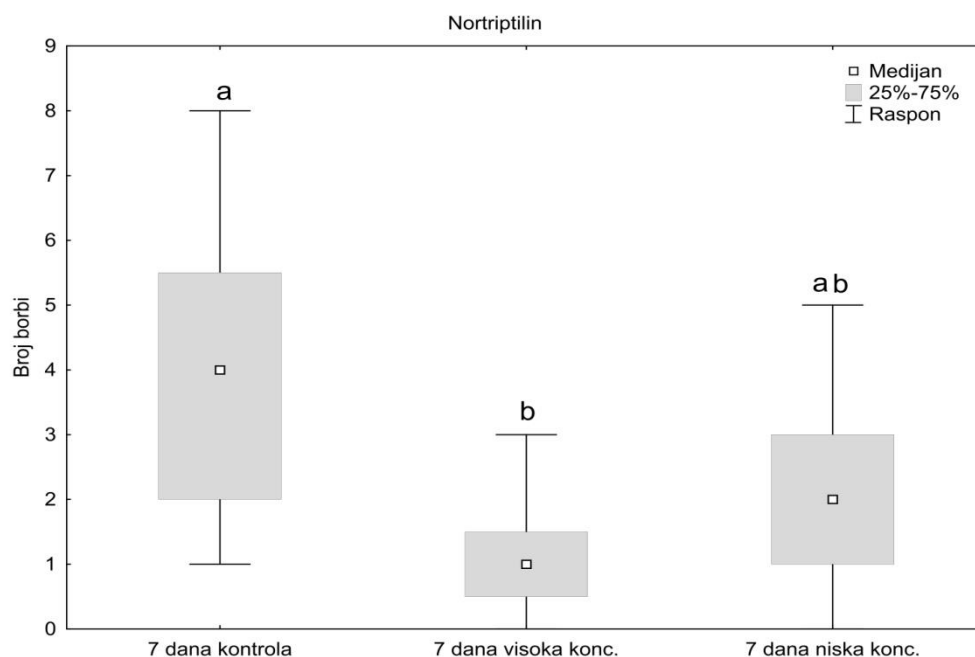
Pri visokoj koncentraciji nortriptilina zabilježila sam smanjeni broj borbi i ukupno trajanje borbi nakon 7 dana izlaganja u odnosu kontrolu.

5.2.1. Usporedba parametara antagonističkih interakcija s obzirom na koncentraciju nortriptilina nakon 24 sata i 7 dana izlaganja

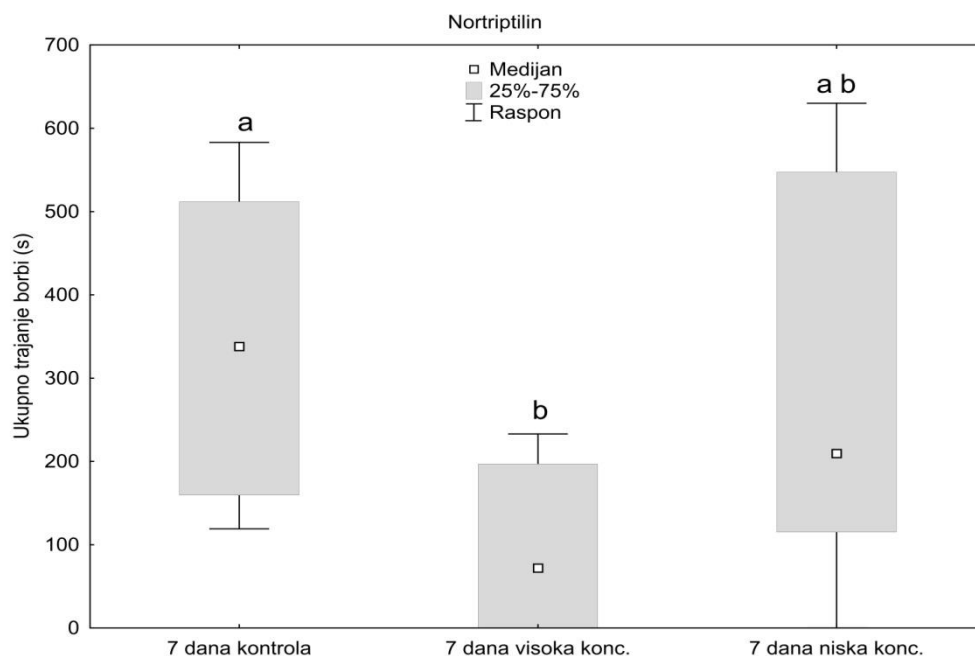
Korištenjem neparametrijskog Kruskal-Wallis ANOVA testa usporedila sam parametre antagonističkih interakcija (broj borbi, vrijeme proteklo do prve borbe i ukupno trajanje borbi) između miješanih parova nakon 24 sata izlaganja visokoj i niskoj koncentraciji nortriptilina te kontrolnih parova nakon 24 sata. Također sam usporedila parametre antagonističkih interakcija između miješanih parova nakon 7 dana izlaganja visokoj i niskoj koncentraciji nortriptilina te kontrolnih parova nakon 7 dana.

Nakon 24 sata nije bilo statistički značajnih razlika u broju borbi, vremenu proteklom do prve borbe i ukupnom trajanju borbi između miješanih parova izloženih visokoj koncentraciji nortriptilina, miješanih parova izloženih niskoj koncentraciji nortriptilina i kontrolnih parova.

Nakon 7 dana nije bilo statistički značajnih razlika u vremenu proteklom do prve borbe između miješanih parova izloženih visokoj koncentraciji nortriptilina, miješanih parova izloženih niskoj koncentraciji nortriptilina i kontrolnih parova, no statistički značajno su se razlikovali broj borbi ($H_{(2,24)} = 8,03$, $p = 0,018$) i ukupno trajanje borbi između parova ($H_{(2,23)} = 6,73$, $p = 0,035$). Značajno manji broj borbi bio je kod miješanih parova pri visokoj koncentraciji nortriptilina nakon 7 dana izlaganja u usporedbi s kontrolnim parovima nakon 7 dana (post hoc višestruka usporedba srednjih vrijednosti rangova $p = 0,017$; Slika 16). Značajno kraće ukupno trajanje borbi bilo je kod miješanih parova nakon 7 dana izlaganja visokoj koncentraciji nortriptilina u usporedbi s kontrolnim parovima nakon 7 dana (post hoc višestruka usporedba srednjih vrijednosti rangova $p = 0,040$; Slika 17).



Slika 16. Broj borbi u parovima izloženim 7 dana visokoj (50 $\mu\text{g/l}$) i niskoj (50 ng/l) koncentraciji nortriptilina te u kontrolnim parovima. Broj borbi je značajno manji nakon pri visokoj koncentraciji u odnosu na kontrolu. Različita slova označavaju značajne razlike dobivene post hoc višestrukom usporedbom srednjih vrijednosti rangova, $p = 0,017$.



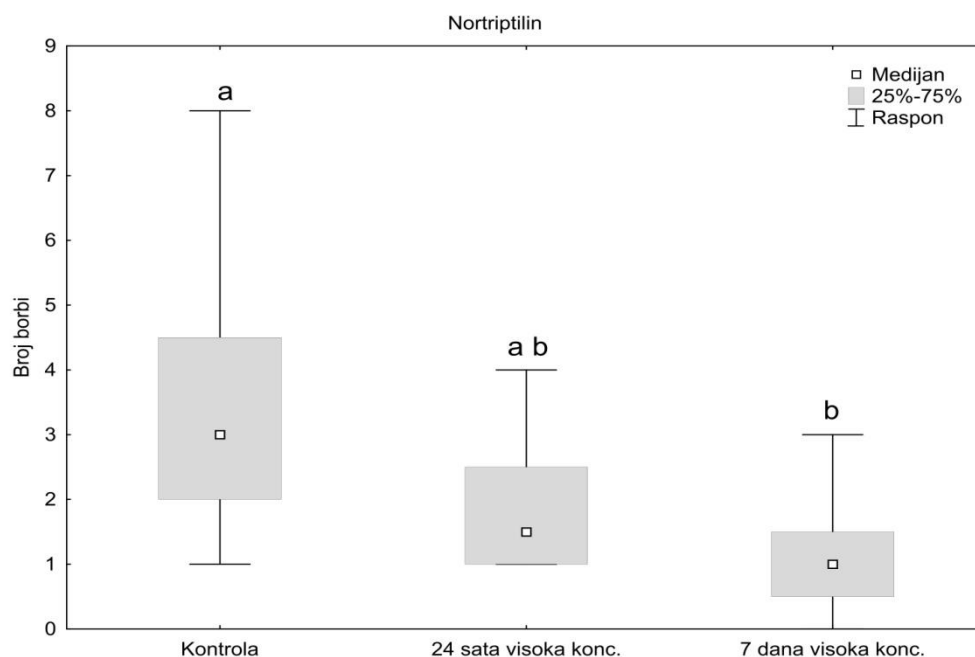
Slika 17. Ukupno trajanje borbi u parovima izloženim 7 dana visokoj (50 $\mu\text{g/l}$) i niskoj (50 ng/l) koncentraciji nortriptilina te u kontrolnim parovima. Ukupno trajanje borbi je značajno kraće pri visokoj koncentraciji u odnosu na kontrolu. Različita slova označavaju značajne razlike dobivene post hoc višestrukom usporedbom srednjih vrijednosti rangova, $p = 0,040$.

5.2.2. Usporedba parametara antagonističkih interakcija s obzirom na duljinu izlaganja niskoj i visokoj koncentraciji nortriptilina

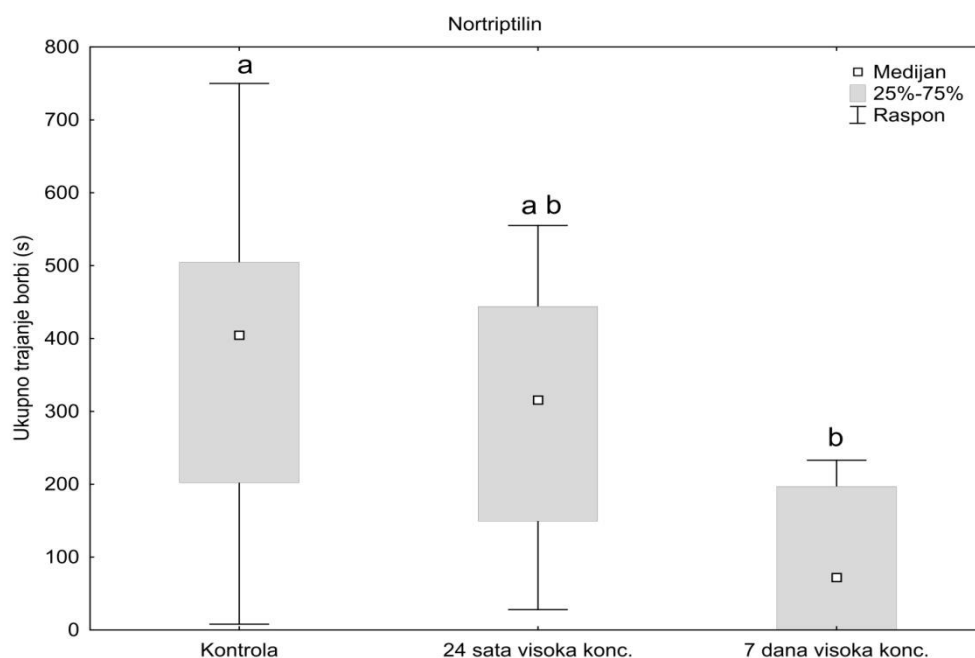
Korištenjem neparametrijskog Kruskal-Wallis ANOVA testa usporedila sam parametre antagonističkih interakcija (broj borbi, vrijeme proteklo do prve borbe i ukupno trajanje borbi) s obzirom na duljinu trajanja izlaganja. Za svaku koncentraciju usporedila sam 3 grupe: a) parovi nakon 24 sata izlaganja, b) isti parovi nakon 7 dana izlaganja i c) kontrolni parovi (objedinjeni podaci za kontrolne parove – poglavlje 4.8.)

Pri niskoj koncentraciji nortriptilina nije bilo statistički značajnih razlika u broju borbi, vremenu proteklom do prve borbe i ukupnom trajanju borbi između miješanih parova nakon 24 sata izlaganja, miješanih parova nakon 7 dana izlaganja i kontrolnih parova.

Pri visokoj koncentraciji nortriptilina nije bilo statistički značajnih razlika u vremenu proteklom do prve borbe između miješanih parova nakon 24 sata izlaganja, miješanih parova nakon 7 dana izlaganja i kontrolnih parova, no statistički značajno su se razlikovali broj borbi ($H_{(2,32)} = 10,44$, $p = 0,005$) i ukupno trajanje borbi ($H_{(2,31)} = 9,19$, $p = 0,010$) između parova. Značajno manji broj borbi bio je kod miješanih parova nakon 7 dana izlaganja visokoj koncentraciji nortriptilina u usporedbi s kontrolnim parovima (post hoc višestruka usporedba srednjih vrijednosti rangova $p = 0,007$; Slika 18). Značajno kraće ukupno trajanje borbi bilo je kod miješanih parova nakon 7 dana izlaganja visokoj koncentraciji nortriptilina u usporedbi s kontrolnim parovima (post hoc višestruka usporedba srednjih vrijednosti rangova $p = 0,008$; Slika 19).



Slika 18. Broj borbi u parovima izloženim 24 sata i 7 dana visokoj ($50 \mu\text{g/l}$) koncentraciji nortriptilina te u kontrolnim parovima. Broj borbi je značajno manji nakon 7 dana izlaganja u odnosu na kontrolu. Različita slova označavaju značajne razlike dobivene post hoc višestrukom usporedbom srednjih vrijednosti rangova, $p = 0,007$.



Slika 19. Ukupno trajanje borbi u parovima izloženim 24 sata i 7 dana visokoj ($50 \mu\text{g/l}$) koncentraciji nortriptilina te u kontrolnim parovima. Ukupno trajanje borbi je značajno kraće nakon 7 dana izlaganja u odnosu na kontrolu. Različita slova označavaju značajne razlike dobivene post hoc višestrukom usporedbom srednjih vrijednosti rangova, $p = 0,008$.

5.2.3. Utjecaj izlaganja nortriptilinu na dominaciju u antagonističkim interakcijama

Wilcoxon matched pairs testom utvrdili smo da ne postoje statistički značajne razlike između jedinki koje su inicirale borbe te pobjednika borbi u miješanim parovima između kontrolnih jedinki i jedinki izloženih nortriptilinu.

5.3. Amfetamin

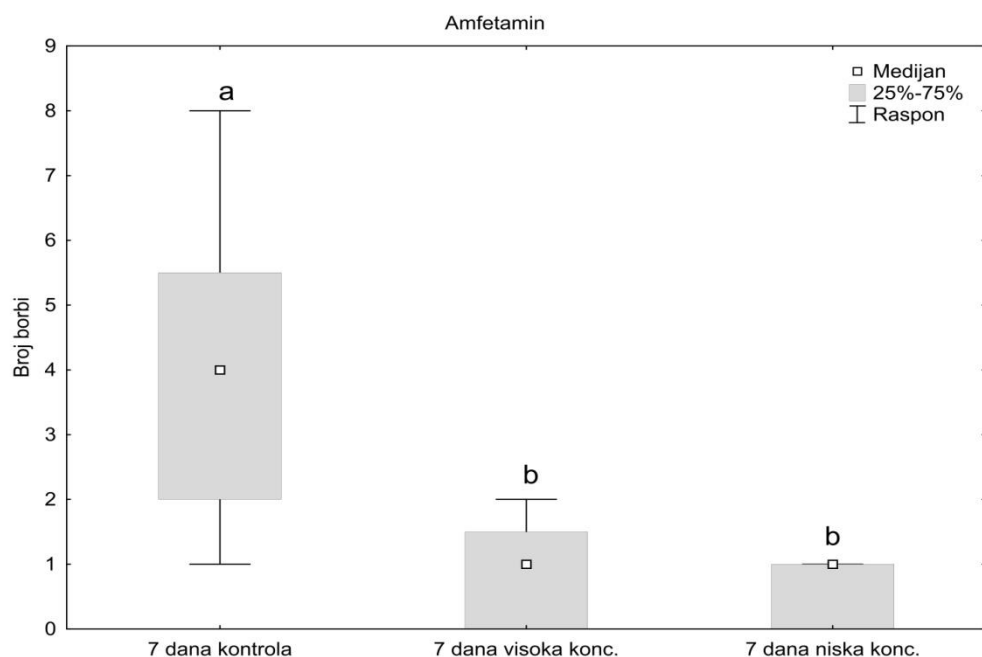
Pri niskoj i visokoj koncentraciji amfetamina zabilježila sam smanjeni broj borbi nakon 24 sata i 7 dana izlaganja u odnosu na kontrolu te kraće ukupno trajanje borbi nakon 7 dana izlaganja u odnosu na kontrolu.

5.3.1. Usporedba parametara antagonističkih interakcija s obzirom na koncentraciju amfetamina nakon 24 sata i 7 dana izlaganja

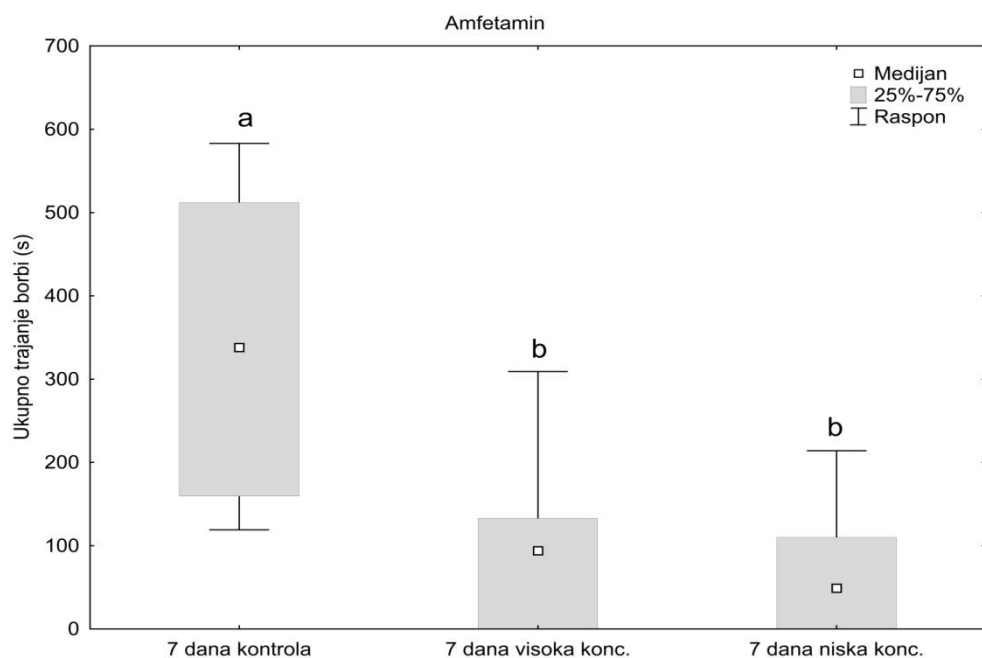
Korištenjem neparametrijskog Kruskal-Wallis ANOVA testa usporedila sam parametre antagonističkih interakcija (broj borbi, vrijeme proteklo do prve borbe i ukupno trajanje borbi) između miješanih parova nakon 24 sata izlaganja visokoj i niskoj koncentraciji amfetamina te kontrolnih parova nakon 24 sata. Također sam usporedila parametre antagonističkih interakcija između miješanih parova nakon 7 dana izlaganja visokoj i niskoj koncentraciji amfetamina te kontrolnih parova nakon 7 dana.

Nakon 24 sata nije bilo statistički značajnih razlika u broju borbi, vremenu proteklom do prve borbe i ukupnom trajanju borbi između miješanih parova izloženih visokoj koncentraciji amfetamina, miješanih parova izloženih niskoj koncentraciji amfetamina i kontrolnih parova.

Nakon 7 dana nije bilo statistički značajne razlike u vremenu proteklom do prve borbe između miješanih parova izloženih visokoj koncentraciji amfetamina, parova izloženih niskoj koncentraciji amfetamina i kontrolnih parova, no statistički značajno su se razlikovali broj borbi ($H_{(2, 23)} = 12,26$, $p = 0,002$) i ukupno trajanje borbi ($H_{(2, 22)} = 11,32$, $p = 0,004$) između parova. Značajno manji broj borbi bio je kod miješanih parova nakon 7 dana izlaganja visokoj i niskoj koncentraciji amfetamina u usporedbi s kontrolnim parovima nakon 7 dana (post hoc višestruka usporedba srednjih vrijednosti rangova $p = 0,015$ i $p = 0,008$; Slika 20). Značajno kraće ukupno trajanje borbi bilo je kod miješanih parova nakon 7 dana izlaganja visokoj i niskoj koncentraciji amfetamina u usporedbi s kontrolnim parovima nakon 7 dana (post hoc višestruka usporedba srednjih vrijednosti rangova $p = 0,014$ i $p = 0,011$; Slika 21).



Slika 20. Broj borbi u parovima izloženim 7 dana visokoj (100 µg/l) i niskoj (20 ng/l) koncentraciji amfetamina te u kontrolnim parovima. Broj borbi je značajno manji pri visokoj i niskoj koncentraciji u odnosu na kontrolu. Različita slova označavaju značajne razlike dobivene post hoc višestrukom usporedbom srednjih vrijednosti rangova, $p = 0,015$ i $p = 0,008$.



Slika 21. Ukupno trajanje borbi u parovima izloženim 7 dana visokoj (100 µg/l) i niskoj (20 ng/l) koncentraciji amfetamina te u kontrolnim parovima. Ukupno trajanje borbi je značajno kraće pri visokoj i niskoj koncentraciji u odnosu na kontrolu. Različita slova označavaju

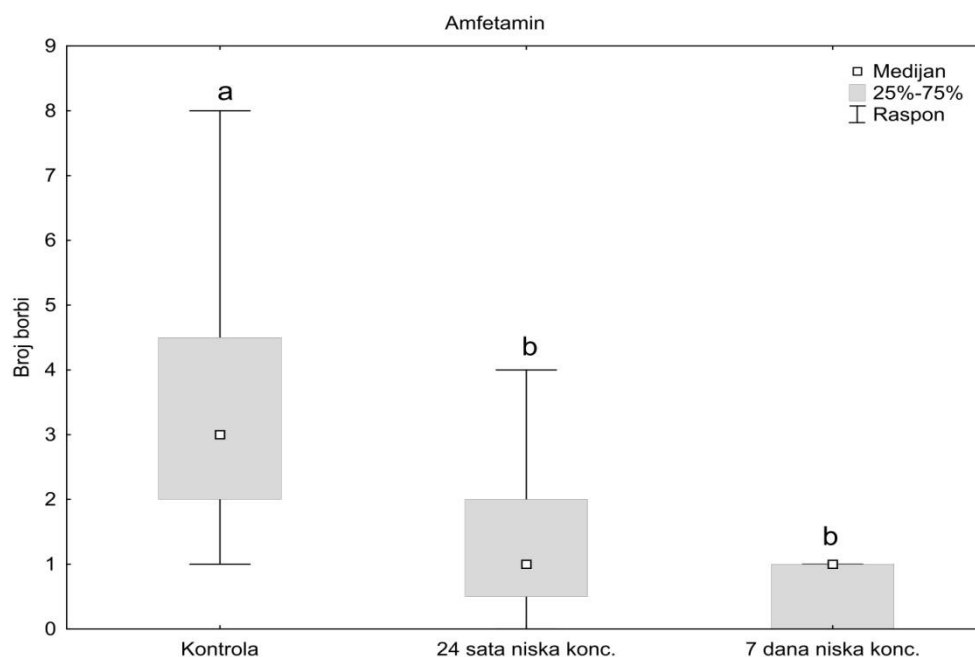
značajne razlike dobivene post hoc višestrukom usporedbom srednjih vrijednosti rangova, $p = 0,014$ i $p = 0,011$.

5.3.2. Usporedba parametara antagonističkih interakcija s obzirom na duljinu izlaganja niskoj i visokoj koncentraciji amfetamina

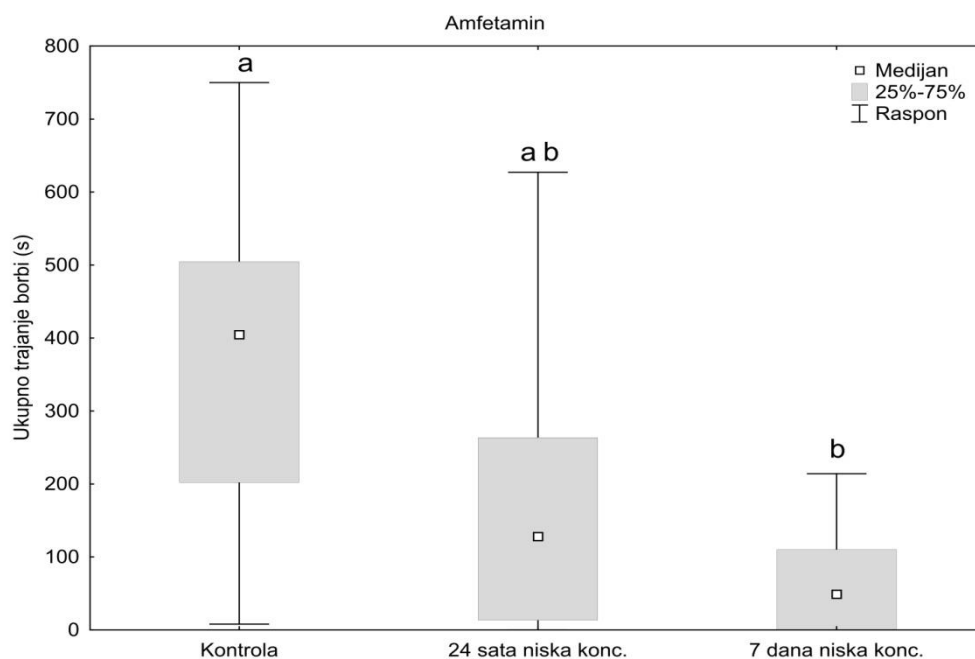
Korištenjem neparametrijskog Kruskal-Wallis ANOVA testa usporedila sam parametre antagonističkih interakcija (broj borbi, vrijeme proteklo do prve borbe i ukupno trajanje borbi) s obzirom na duljinu trajanja izlaganja. Za svaku koncentraciju usporedila sam 3 grupe: a) parovi nakon 24 sata izlaganja, b) isti parovi nakon 7 dana izlaganja i c) kontrolni parovi (objedinjeni podaci za kontrolne parove – poglavlje 4.8.)

Pri niskoj koncentraciji amfetamina nije bilo statistički značajnih razlika u vremenu proteklom do prve borbe između miješanih parova nakon 24 sata izlaganja, miješanih parova nakon 7 dana izlaganja i kontrolnih parova, no statistički značajno su se razlikovali broj borbi ($H_{(2, 31)} = 14,52$, $p = 0,001$) i ukupno trajanje borbi ($H_{(2, 31)} = 11,67$, $p = 0,003$) između parova. Značajno manji broj borbi bio je kod miješanih parova nakon 24 sata i nakon 7 dana izlaganja niskoj koncentraciji amfetamina u usporedbi s kontrolnim parovima (post hoc višestruka usporedba srednjih vrijednosti rangova $p = 0,033$ i $p = 0,002$; Slika 22). Značajno kraće ukupno trajanje borbi bilo je kod miješanih parova nakon 7 dana izlaganja niskoj koncentraciji amfetamina u usporedbi s kontrolnim parovima (post hoc višestruka usporedba srednjih vrijednosti rangova $p = 0,010$; Slika 23).

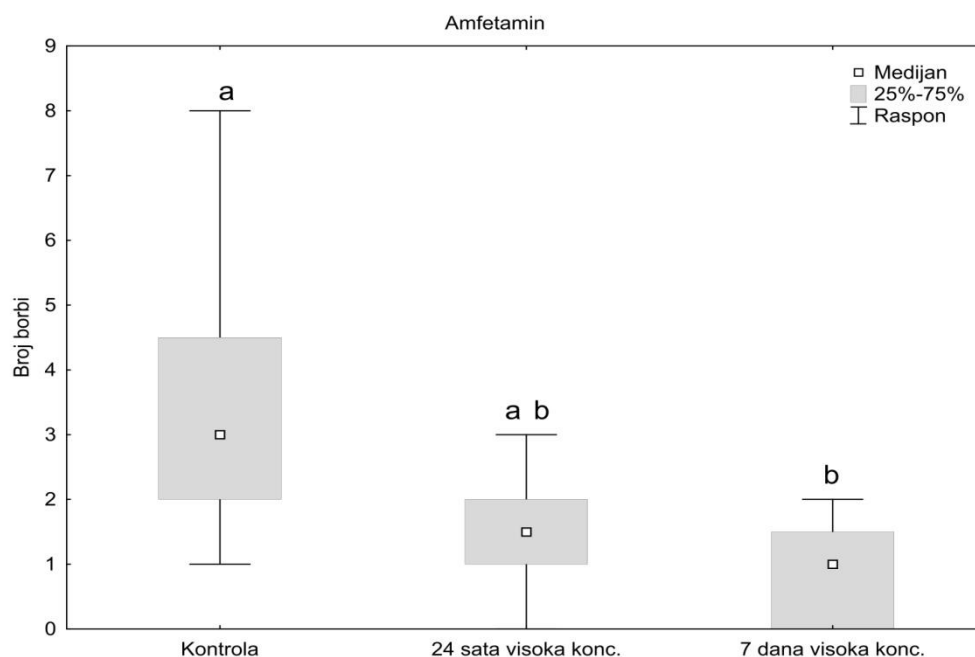
Pri visokoj koncentraciji amfetamina nije bilo statistički značajnih razlika u vremenu proteklom do prve borbe između miješanih parova nakon 24 sata izlaganja, miješanih parova nakon 7 dana izlaganja i kontrolnih parova, no statistički značajno se razlikovao broj borbi ($H_{(2, 32)} = 13,40$, $p = 0,001$) i ukupno trajanje borbi ($H_{(2, 32)} = 8,60$, $p = 0,014$) između parova. Značajno manji broj borbi bio je kod miješanih parova nakon 7 dana izlaganja visokoj koncentraciji amfetamina u usporedbi s kontrolnim parovima (post hoc višestruka usporedba srednjih vrijednosti rangova $p = 0,002$; Slika 24). Značajno kraće ukupno trajanje borbi bilo je kod miješanih parova nakon 7 dana izlaganja visokoj koncentraciji amfetamina u usporedbi s kontrolnim parovima (post hoc višestruka usporedba srednjih vrijednosti rangova $p = 0,021$; Slika 25).



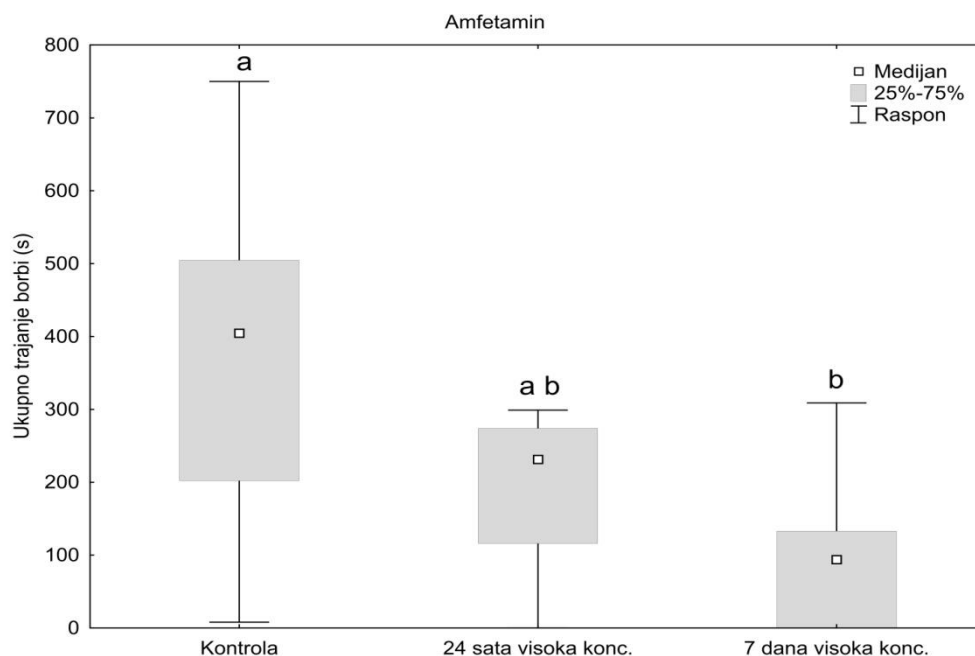
Slika 22. Broj borbi u parovima izloženim 24 sata i 7 dana niskoj (20 ng/l) koncentraciji amfetamina te u kontrolnim parovima. Broj borbi je značajno manji nakon 24 sata i 7 dana izlaganja u odnosu na kontrolu. Različita slova označavaju značajne razlike dobivene post hoc višestrukom usporedbom srednjih vrijednosti rangova, $p = 0,033$ i $p = 0,002$.



Slika 23. Ukupno trajanje borbi u parovima izloženim 24 sata i 7 dana niskoj (20 ng/l) koncentraciji amfetamina te u kontrolnim parovima. Ukupno trajanje borbi je značajno kraće nakon 7 dana izlaganja u odnosu na kontrolu. Različita slova označavaju značajne razlike dobivene post hoc višestrukom usporedbom srednjih vrijednosti rangova, $p = 0,010$.



Slika 24. Broj borbi u parovima izloženim 24 sata i 7 dana visokoj (100 µg/l) koncentraciji amfetamina te u kontrolnim parovima. Broj borbi je značajno manji nakon 7 dana izlaganja u odnosu na kontrolu. Različita slova označavaju značajne razlike dobivene post hoc višestrukom usporedbom srednjih vrijednosti rangova, $p = 0,002$.



Slika 25. Ukupno trajanje borbi u parovima izloženim 24 sata i 7 dana visokoj (100 µg/l) koncentraciji amfetamina te u kontrolnim parovima. Ukupno trajanje borbi je značajno kraće nakon 7 dana izlaganja u odnosu na kontrolu. Različita slova označavaju značajne razlike dobivene post hoc višestrukom usporedbom srednjih vrijednosti rangova, $p = 0,021$.

5.3.3. Utjecaj izlaganja amfetaminu na dominaciju u antagonističkim interakcijama

Wilcoxon matched pairs testom utvrdili smo da ne postoje statistički značajne razlike između jedinki koje su inicirale borbe te pobjednika borbi u miješanim parovima između kontrolnih jedinki i jedinki izloženih amfetaminu.

6. RASPRAVA

Antropogeno uvjetovane promjene u okolišu, kao što su zagađenje i invazivne strane vrste su jedne od glavnih prijetnji slatkovodnim ekosustavima, no istraživanja koja povezuju ova dva čimbenika još su malobrojna. Dosadašnja istraživanja pokazala su kako zagađenje vodenih ekosustava potencijalno može imati utjecaj na zavičajne i invazivne strane vrste pri čemu je utvrđeno da zagađenje može i povećati i smanjiti invazivan uspjeh (McKenzie i sur., 2012). U novije vrijeme veliki dio zagađenja čine farmaceutici koji premda su u slatkovodnim ekosustavima prisutni u niskim koncentracijama, dokazano utječu na ponašanje i fiziologiju ne-ciljanih slatkovodnih organizama, kako kralješnjaka tako i beskralješnjaka (Brodin i sur., 2014). Stoga je cilj ovog istraživanja bio ispitati kako 3 odabrana farmaceutika (citalopram, nortriptilin i amfetamin) utječu na antagonističko ponašanje signalnog raka, koje je jedno od ključnih odrednica invazivnog uspjeha invazivnih stranih vrsta rakova.

Ponašanje uvjetuje interakciju vrsta s okolišem te ima glavnu ulogu u prelasku stranih vrsta kroz stadije invazivnog procesa. Agresivno ponašanje se često povezuje s uspjehom invazivnih stranih vrsta u stadijima uspostave populacije i širenja. Invazivni uspjeh osim toga ovisi i fiziološkim karakteristikama invazivnih stranih vrsta, ali i o karakteristikama okoliša (Holway i Suarez, 1999). Prema Huber i Kravitz (1995) mjerila sam parametre koji su važni za određivanje agresivnosti kod rakova, a to su broj borbi (antagonistička interakcija započela je kada su se rakovi našli na udaljenosti od jedne duljine tijela i reagirali su na prisutnost protivnika, a završila je kada su se rakovi međusobno udaljili više od jedne duljine tijela na najmanje 5 s), ukupno trajanje borbi koje se pripisuje vremenu potrebnom za procjenu snage protivnika, vrijeme proteklo do prve borbe koje se koristi kao mjera spremnosti za ulazak u borbu i identitet pobjednika u borbama miješanih parova (pobjednik borbe bila je jedinka koja se nije povukla ili se povukla nakon što je protivnička jedinka pokazala podređeni pognuti i miran položaj). Rezultat antagonističkih interakcija je uspostavljanje dominacije. Pobjedničkim jedinkama dominacija u antagonističkim interakcijama osigurava prioritet pristupa resursima poput skloništa, hrane i partnera (Moore, 2007).

Ovim istraživanjem potvrdili smo da farmaceutici mogu utjecati na ponašanje signalnog raka već i pri koncentracijama koje su inače prisutne u vodenom okolišu. Pri visokim (terapeutskim) koncentracijama svi odabrani farmaceutici značajno smanjuju broj borbi i ukupno trajanje borbi nakon 7 dana izlaganja. Manji broj značajnih rezultata nakon 24 sata izlaganja rakova niskim koncentracijama antidepresiva u usporedbi s kontrolama upućuje na

odgođeno djelovanje antidepresiva. To je u skladu s očekivanjem s obzirom na to da odabrani antidepresivi i kod ljudi počinju tek kasnije djelovati, potrebno je oko tjedan dana da se njihova koncentracija u plazmi ustabi (Buřić i sur., 2018). Amfetamin je jedini farmaceutik u istraživanju koji smanjuje broj borbi i ukupno trajanje borbi već pri niskim (okolišno relevantnim) koncentracijama. Iako su svi odabrani farmaceutici utjecali na broj i ukupno trajanje borbi, niti jedan od njih nije imao nikakav učinak na identitet pobjednika ili gubitnika u borbama, niti na vrijeme proteklo do prve borbe tj. na spremnost rakova za ulazak u prvu borbu, bez obzira na koncentraciju farmaceutika i trajanje izlaganja. To znači da promjene u dinamici interakcija nisu niti povećale niti smanjile mogućnost dominacije u antagonističkim interakcijama. Kako su te interakcije bitne za osiguravanje resursa u okolišu, odnosno o njihovom ishodu ovisi prioritet pristupa resursima, pretpostavljamo da izlaganje ovim spojevima ne donosi kompetitivnu prednost signalnim rakovima te na taj način zaključujemo da spojevi nemaju izražen direktan utjecaj na njihov invazivni uspjeh. S druge strane, manji broj borbi i kraće ukupno trajanje borbi mogu značiti manje energetske ulaganje u kompeticiju, što može ostaviti više energije za druge životne funkcije kao što su rast i razmnožavanje te u konačnici imati pozitivan učinak na rast populacije invazivne vrste (Smith i Taylor, 1992). Također, rakovi koji više vremena provode u borbama u prirodi potencijalno su pod većim rizikom predacije jer im je pažnja usmjerena na borbu, tako da manji broj borbi i kraće ukupno trajanje borbi potencijalno mogu značiti manji rizik od predacije ili ozljeda (Hudina i sur., 2011).

Na temelju dosadašnjih istraživanja očekivali smo da odabrani farmaceutici povećavaju motivaciju rakova za ostajanje u borbama jer inhibicijom ponovne pohrane serotonina povećavaju razinu serotonina u tijelu rakova. Huber i Delago (1998) su direktnim injektiranjem serotonina povećali motivaciju riječnih rakova (*Astacus astacus*) za ostajanje u borbi i ukupno trajanje borbi. Također, u istraživanju Woodman i sur. (2016) rakovi vrste *Orconectes virilis* koji su 7 dana bili izloženi niskim koncentracijama antidepresiva sertalina značajno su više inicirali antagonističke interakcije od kontrola. U našem istraživanju nije bilo utjecaja farmaceutika na inicijaciju borbi i suprotno od očekivanog ukupno trajanje borbi je smanjeno. Moguće da je to posljedica različitih eksperimentalnih uvjeta, načina primjene spojeva, koncentracija spojeva, pristupa koji se koriste za utvrđivanje učinka spojeva na ponašanje i specifičnog učinka spojeva na pojedine vrste.

Za razliku od malog broja podataka za usporedbu rezultata antagonističkog ponašanja pod utjecajem farmaceutika, broj istraživanja o utjecaju odabranih farmaceutika na

lokomotornu aktivnost rakova je veći. Buřić i sur. (2018) su izlagali mramornog raka (*Procambarus virginalis*) okolišno relevantnim koncentracijama citaloprama 21 dan i zabilježili su smanjenu aktivnost u usporedbi s kontrolom u slučaju kada sklonište nije bilo prisutno. U našem istraživanju nije zabilježena statistički značajna razlika u niti jednom parametru antagonističkog ponašanja između signalnih rakova izloženih 7 dana okolišno relevantnim koncentracijama citaloprama i kontrola. S obzirom na to da smo pri visokim koncentracijama zabilježili utjecaj citaloprama na antagonističko ponašanje, pretpostavljamo da bi pri niskim koncentracijama utjecaj mogao biti značajan kada bi se produžilo vrijeme izlaganja primjerice na 21 dan kao u istraživanju aktivnosti koje su proveli Buřić i sur. (2018). U istraživanju Kubec i sur. (2019) mramorni rak (*Procambarus virginalis*) izlagan je okolišno relevantnim koncentracijama farmaceutika venlafaksina i oksazepama. Antidepresiv venlafaksin nije imao utjecaj na aktivnost rakova, a oksazepam je povećao njihovu aktivnost. Istraživanja aktivnosti rakova pod utjecajem amfetamina imaju suprotne rezultate. Kod rakova vrste *Orconectes rusticus* injektirane visoke koncentracije amfetamina povećale su aktivnost (Alcaro i sur., 2011), dok je kod signalnog raka (*Pacifastacus leniusculus*) okolišno relevantna koncentracija amfetamina unesena vodom smanjila njihovu aktivnost (Ložek i sur., 2019). Osim u ovom primjeru, ranija istraživanja su često pokazala različite rezultate među sličnim ili istim spojevima. Primjerice niska koncentracija citaloprama povećala je lokomotornu aktivnost kod koljuške (*Gasterosteus aculeatus*) (Kellner i sur., 2016), dok na kalifornijsku pastrvu (*Oncorhynchus mykiss*) nije imala nikakav učinak (Holmberg i sur., 2011).

Općenito, smanjeni broj borbi i kraće ukupno trajanje borbi ukazuju na promjenu dinamike antagonističkih interakcija signalnih rakova izloženih visokim (terapeutskim) koncentracijama svih odabranih farmaceutika te niskim (okolišno relevantnim) koncentracijama amfetamina. Međutim, odabrani farmaceutici ne utječu na vrijeme proteklo do prve borbe te na dominaciju izloženih rakova u antagonističkim interakcijama. Promjena dinamike borbi nije utjecala na dominaciju u antagonističkim interakcijama. Također, pretpostavljamo da bi smanjenje broja i trajanja borbi moglo donijeti neke druge prednosti poput već navedenog bržeg rasta i razmnožavanja te manjeg rizika od predacije, no potrebna su dugoročnija istraživanja i istraživanja u prirodnim populacijama kako bismo to zaista mogli utvrditi. Iako se agresivno ponašanje često povezuje s uspjehom invazivnih stranih vrsta u stadijima uspostave populacije i širenja, ponašanje je samo jedan od čimbenika koji su važni u određivanju invazivnog uspjeha, s obzirom na to da će on ovisiti i o fiziološkim

karakteristikama vrste te karakteristikama okoliša, posebice prisutnosti kompetitora i predatora. Stoga su potrebna dodatna istraživanja kako bismo utvrdili utjecaj farmaceutika na druge vrste slatkovodnih rakova s kojima je signalni rak u kompeticiji. Osim toga, za dobivanje potpunog uvida u utjecaj zagađenja farmaceuticima na ponašanje i invazivni uspjeh signalnog raka potrebno je odrediti utjecaj okolišnih mješavina spojeva. U ovom istraživanju koristili smo samo prioritetne farmaceutike i nismo uzeli u obzir sve spojeve koji bi potencijalno mogli imati utjecaj na ponašanje te njihove mješavine, iako su rakovi u prirodnim staništima izloženi velikom broju spojeva koji međusobno mogu imati aditivne, sinergističke i antagonističke utjecaje (Cleuvers, 2003). Iako odabrani farmaceutici nemaju izražen direktni utjecaj na invazivni uspjeh signalnih rakova, oni su i dalje velika prijetnja opstanku autohtonih populacija rakova zbog ranije utvrđene dominacije u antagonističkim interakcijama nad autohtonim europskim vrstama rakova (Hudina i sur., 2016; Söderbäck, 1991; Holdich i sur., 1995) te zbog prijenosa bolesti račje kuge na koju su signalni rakovi otporni, a autohtoni nisu (Vaeßen i Hollert, 2015).

7. ZAKLJUČAK

Broj borbi i ukupno trajanje borbi je značajno smanjeno nakon 7 dana izlaganja visokim (terapeutskim) koncentracijama svih odabranih farmaceutika. Pri niskim (okolišno relevantnim) koncentracijama broj borbi i ukupno trajanje borbi značajno je smanjeno samo pod utjecajem amfetamina.

Odabrani farmaceutici ne utječu na vrijeme proteklo do prve borbe te na dominaciju izloženih rakova u antagonističkim interakcijama, bez obzira na koncentraciju i trajanje izlaganja. Kako je dominacija u antagonističkim interakcijama važna za osiguravanje resursa u okolišu, pretpostavljamo da izlaganje ovim spojevima nema izražen utjecaj na invazivni uspjeh signalnih rakova.

Ovo istraživanje daje doprinos saznanjima o utjecaju farmaceutika na promjenu dinamike antagonističkih interakcija kod rakova i pruža temelj za daljnja slična istraživanja.

Buduća istraživanja trebala bi biti usmjerena na analizu utjecaja mješavina spojeva i dužeg izlaganja na antagonističko ponašanje signalnog raka te na analizu utjecaja spojeva na druge pokazatelje invazivnog uspjeha, kao što su fiziologija, rast i fekunditet. Osim toga, potrebno je odrediti utjecaj pojedinačnih spojeva i mješavina na antagonističko ponašanje autohtonih vrsta rakova.

8. LITERATURA

Alcaro A., Panksepp J., Huber R. 2011. D-amphetamine stimulates unconditioned exploration/approach behaviors in crayfish: Towards a conserved evolutionary function of ancestral drug reward. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* **99**, 75-80.

Alderman D. J. 1996. Geological spread of bacterial and fungal diseases of crustaceans. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)* **15**, 603–632.

Balian E.V., Segers H., Lévêque C., Martens K. 2008. The Freshwater Animal Diversity Assessment: an overview of the results. *Hydrobiologia* **595**, 627–637.

Banha F., Anastácio P. M. 2013. Desiccation survival capacities of two invasive crayfish. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems* **413**, 1-5.

Belchier M., Edsman L., Sheehy M. R. J., Shelton P. M. J. 1998. Estimating age and growth in long-lived temperate freshwater crayfish using lipofuscin. *Freshwater Biology* **39**, 439–446.

Binelli A., Pedriali A., Riva C., Parolini M. 2012. Illicit drugs as new environmental pollutants: Cyto-genotoxic effects of cocaine on the biological model *Dreissena polymorpha*. *Chemosphere* **86 (9)**, 906-911.

Boles T. H., Wells M. J. 2010. Analysis of amphetamine and methamphetamine as emerging pollutants in wastewater and wastewater-impacted streams. *Journal of Chromatography A* **1217 (16)**, 2561-2568.

Brack W., Escher B. I., Müller E., Schmitt-Jansen M., Schulze T., Slobodnik J., Hollert H. 2018. Towards a holistic and solution-oriented monitoring of chemical status of European water bodies: how to support the EU strategy for a non-toxic environment? *Environmental Sciences Europe* **30 (1): 33**, 1-11.

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* **369**, 1-10.

Buřič M., Grabicová K., Kubec J., Kouba I. A., Kuklina I., Kozák P., Grabic R., Randák T. 2018. Environmentally relevant concentrations of tramadol and citalopram alter behaviour of an aquatic invertebrate. *Aquatic Toxicology* **200**, 226-232.

Carere M., Polesello S., Kase R., Gawlik B.M. 2015. The Emerging Contaminants in the Context of the EU Water Framework Directive. U: Petrovic M., Sabater S., Eloisei A., Barceló D. (ur.) *Emerging Contaminants in River Ecosystems. The Handbook of Environmental Chemistry* **46**. Springer, Cham, 197-215.

Christen V., Hickmann S., Rechenberg B., Fent K. 2009. Highly active human pharmaceuticals in aquatic systems: A concept for their identification based on their mode of action. *Aquatic Toxicology* **96**, 167–181.

Cizmas L., Sharma V. K., Gray C. M., McDonald T. J. 2015. Pharmaceuticals and personal care products in waters: occurrence, toxicity, and risk. *Environmental Chemistry Letters* **13** (4), 381–394.

Cleuvers M. 2003. Aquatic ecotoxicity of pharmaceuticals including the assessment of combination effects. *Toxicology Letters* **142** (3), 185-194.

Collen B., Whitton F., Dyer E., Baillie J., Cumberlidge N., Darwall W., Pollock C. Dewhurst-Richman N., Soulsby A., Böhm M. 2013. Global patterns of freshwater species diversity, threat and endemism. *Global Ecology and Biogeography* **23**, 1-12.

Čanjevac I. 2013. Tipologija protočnih režima rijeka u Hrvatskoj. *Hrvatski geografski glasnik* **75**/1, 23-42.

Dalosto M. M., Palaoro A. V, Souty-Grosset C., Bueno Luiz de Siqueira S., Loureiro T., Almerão M., Araujo P. B., Santos S. 2015. One step ahead of the enemy: investigating aggressive interactions between invasive and native crayfish before the contact in nature. *Biological invasions* **17**, 3503-3515.

Dudgeon D., Arthington A. H., Gessner M. O., Kawabata Z.-I., Knowler D.J., Lévêque C., Naiman R.J., Prieur-Richard A.-H., Soto D., Stiassny M. L. J., Sullivan C. A. 2006. Freshwater biodiversity: importance, threats, status and conservation challenges. *Biological Reviews* **81**, 163–182.

Farré M., Perez S., Kantiani L., Barceló D. 2008. Fate and toxicity of emerging pollutants, their metabolites and transformation products in the aquatic environment. *Trends in Analytical Chemistry* **27** (11), 991-1007.

Fent K., Weston A. A., Caminada D. 2006. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquatic Toxicology* **76**, 122–159.

Figler M. H., Twum M., Finkelstein J. E., Peeke H.V.S. 1995. Maternal aggression in red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*, Girard): the relation between reproductive status and outcome of aggressive encounters with male and female conspecifics. *Behaviour* **132**, 107–125.

Firkins I., Holdich D. M. 1993. Thermal studies with three species of freshwater crayfish. *Freshwater Crayfish* **9**, 241–248.

Fong P. P., Ford A. T. 2014. The biological effects of antidepressants on the molluscs and crustaceans: a review. *Aquatic Toxicology* **151**, 4–13.

Ford A. T., Fong P. P. 2015. The effects of antidepressants appear to be rapid and at environmentally relevant concentrations. *Environmental Toxicology and Chemistry* **35** (4), 794-798.

Gavrilescu M., Demnerova K., Aamand J., Agathos S., Fava F. 2015. Emerging pollutants in the environment: present and future challenges in biomonitoring, ecological risks and bioremediation. *New Biotechnology* **32** (1), 147-156.

Gherardi F., Cioni A. 2004. Agonism and Interference Competition in Freshwater Decapods. *Behaviour* **141** (10), 1297-1324.

Goessmann C., Hemelrijk C., Huber R. 2000. The formation and maintenance of crayfish hierarchies: behavioral and self-structuring properties. *Behavioral Ecology and Sociobiology* **48**, 418– 428.

Guan R., Wiles P. R. 1998. Feeding ecology of the signal crayfish *Pacifastacus leniusculus* in a British lowland river. *Aquaculture* **169**, 177-193.

Hale P., Wilson J., Loughman Z., Henkanaththegedara S. 2016. Potential impacts of invasive crayfish on native crayfish: insights from laboratory experiments. *Aquatic Invasions* **11** (4), 451-458.

Hardege J. D., Duncan J., Ram J. L. 1997. Tricyclic antidepressants suppress spawning and fertilization in the zebra mussel, *Dreissena polymorpha*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology* **118** (1), 59-64.

- Harvey G. L., Moorhouse T. P., Clifford N. J., Henshaw A. J., Johnson M. F., Macdonald D. W., Reid I., Rice S. P. 2011. Evaluating the role of invasive aquatic species as drivers of fine sediment-related river management problems: the case of the signal crayfish (*Pacifastacus leniusculus*). *Progress in Physical Geography* **35** (4), 517–533.
- Hock K., Huber R. 2006. Modeling the acquisition of social rank in crayfish: winner and loser effects and self-structuring properties. *Behaviour* **143**, 325–346.
- Holdich D. M., James J., Jackson C., Peay S. 2014. The North American signal crayfish, with particular reference to its success as an invasive species in Great Britain. *Ethology Ecology & Evolution* **26**, 232-262.
- Holdich D. M., Reynolds J. D., Souty-Grosset C., Sibley P. J. 2009. A review of the ever increasing threat to European crayfish from non-indigenous crayfish species. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems* **11**, 394-395.
- Holdich D. M., Harlioglu, M. M., Firkins, I. 1997. Salinity adaptations of crayfish in British Waters with particular reference to *Austropotamobius pallipes*, *Astacus leptodactylus* and *Pasifastacus leniusculus*. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **44**, 147-154.
- Holdich D. M., Reader J. P., Rogers W. D., Harlioglu M. 1995. Interactions between three species of crayfish (*Austropotamobius pallipes*, *Astacus leptodactylus* and *Pacifastacus leniusculus*). *Freshwater Crayfish* **10**, 46-56.
- Holmberg A., Fogel J., Albertsson E., Fick J., Brown J., Paxéus N., Förlin L., Johnsson, J. Larsson J. 2011. Does waterborne citalopram affect the aggressive and sexual behaviour of rainbow trout and guppy?. *Journal of hazardous materials* **187**, 596-599.
- Holway D. A., Suarez A. V. 1999. Animal behavior: An essential component of invasion biology. *Trends in Ecology and Evolution* **14** (8), 328-330.
- Huber R. 2005. Amines and motivated behaviors: a simpler systems approach to complex behavioral phenomena. *Journal of Comparative Physiology A* **191**, 231-239.
- Huber R., Delago A. 1998. Serotonin alters decisions to withdraw in fighting crayfish, *Astacus astacus*: the motivational concept revisited. *Journal of Comparative Physiology* **182** (5), 573-583.

- Huber R., Kravitz E. A. 1995. A Quantitative Analysis of Agonistic Behavior in Juvenile American Lobsters (*Homarus americanus* L.). *Brain Behavior and Evolution* **46** (2), 72-83.
- Hudina S., Hock K., Radović A., Klobučar G., Petković J., Jelić M., Maguire I. 2016. Species-specific differences in dynamics of agonistic interactions may contribute to the competitive advantage of the invasive signal crayfish (*Pacifastacus leniusculus*) over the native narrow-clawed crayfish (*Astacus leptodactylus*). *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology* **49** (3), 147-157.
- Hudina S., Žganec K., Lucić A., Trgovčić K., Maguire I. 2013. Recent Invasion of the Karstic River Systems in Croatia Through Illegal Introductions of the Signal Crayfish. *Freshwater Crayfish* **19** (1), 21-27.
- Hudina S., Hock K. 2012. Behavioural determinants of agonistic success in invasive crayfish. *Behavioural Processes* **91**, 77-81.
- Hudina S., Galić N., Roessink I., Hock K. 2011. Competitive interactions between co-occurring invaders: identifying asymmetries between two invasive crayfish species. *Biological Invasions* **13** (8), 1791-1803.
- Hudina S., Faller M., Lucić A., Klobučar G., Maguire I. 2009. Distribution and dispersal of two invasive crayfish species in the Drava River basin, Croatia. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems* **394-395** (09), 1-11.
- Kellner M., Porseryd T., Hallgren S., Porsch Hällström I., Hansen S., Olsén H. 2016. Waterborne citalopram has anxiolytic effects and increases locomotor activity in the three-spine stickleback (*Gasterosteus aculeatus*). *Aquatic Toxicology* **173**, 19-28.
- Kouba A., Petrusek A., Kozák P. 2014. Continental-wide distribution of crayfish species in Europe: update and maps. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems* **413** (5).
- Kubec J., Hossain M. S., Grabicová K., Randák T., Kouba A., Grabic R., Roje S., Buřič M. 2019. Oxazepam Alters the Behavior of Crayfish at Diluted Concentrations, Venlafaxine Does Not. *Water* **11** (2), 196-206.
- Lewis S. 2002. *Pacifastacus*. U: Holdich D. M. (ur.) *Biology of Freshwater Crayfish*, 1st edn. Blackwell Science, London, 511-534.

Lockwood J. L., Hoopes M.F., Marchetti M.P. 2007. Invasion Ecology. Blackwell publishing, USA, 1-304.

Ložek F., Kuklina I., Císař P., Kubec J., Grabicová K., Randák T., Buřič M., Kozák P. 2019. Book of abstracts, Symposium for European Freshwater Sciences: June 30-July 5, Zagreb, Croatia, 77.

Maguire I., Jelić M., Klobučar G. 2011. Update on the distribution of freshwater crayfish in Croatia. Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems **401**, 31.

Maguire I., Klobučar G., Marčić Z., Zanella D. 2008. The first record of *Pacifastacus leniusculus* in Croatia. Crayfish news **30 (4)**, 4.

Marčeta B. 2016. Methodological explanations: Morphometrics and meristics. Biological database of the Fisheries Research Institute of Slovenia.

Moore P. A. 2007. Agonistic Behavior in Freshwater Crayfish: The Influence of Intrinsic and Extrinsic Factors on Aggressive Encounters and Dominance. U: Duffy J. E., Thiel M. (ur.) Evolutionary Ecology of Social and Sexual Systems: Crustaceans as Model Organisms, Oxford University Press, 90-114.

Nunes A. L., Tricarico E., Panov V. E., Cardoso A. C., Katsanevakis S. 2015. Pathways and gateways of freshwater invasions in Europe. Aquatic Invasions **10 (4)**, 359-370.

Olsson K., Stenroth P., Nyström P., Granéli W. 2009. Invasions and niche width: does niche width of an introduced crayfish differ from a native crayfish?. Freshwater Biology **54**, 1731–1740.

Pavey C. R., Fielder D. R. 1996. The influence of size differential on agonistic behaviour in the freshwater crayfish, *Cherax cuspidatus* (Decapoda: Parastacidae). Journal of Zoology **238**, 445–457.

Poynton H. C., Robinson W. E. 2018. Contaminants of emerging concern, with an emphasis on nanomaterials and pharmaceuticals. U: Török B., Dransfield T. (ur.) Green Chemistry: An Inclusive Approach, Elsevier, Amsterdam, 261-290.

Pöckl M. 1999. Distribution of Crayfish Species in Austria with Special Reference to Introduced Species. Freshwater Crayfish **12**, 733-750.

Roglić J. 1951. Unsko-koranska zaravan i Plitvička jezera – geomorfološka promatranja. Geografski glasnik **13**, 49-66.

Rosi-Marshall E. J., Snow D., Bartelt-Hunt S. L., Paspalof A., Tank J. L. 2015. A review of ecological effects and environmental fate of illicit drugs in aquatic ecosystems. Journal of Hazardous Materials **282**, 18-25.

Schroeder L., Huber R. 2001. Fight strategies differ with size and allometric growth of claws in crayfish, *Orconectes rusticus*. Behaviour **138**, 1437–1449.

Schweitzer L., Noblet J. 2018. Water contamination and pollution. U: Török B., Dransfield T. (ur.) Green Chemistry: An Inclusive Approach, Elsevier, Amsterdam, 261-290.

Sehonova P., Plhalova L., Blahova J., Doubkova V., Marsalek P., Prokes M., Tichy F., Skladana M., Fiorino E., Mikula P., Vecerek V., Faggio C., Svobodova Z. 2017. Effects of selected tricyclic antidepressants on early-life stages of common carp (*Cyprinus carpio*). Chemosphere **185**, 1072-1080.

Smith I. P., Taylor A. C. 1993. The energetic cost of agonistic behaviour in the velvet swimming crab, *Necora (=Liocarcinus) puber* (L.) Animal Behaviour **45**, 375-391.

Souty-Grosset C., Holdich D. M., Noel P. Y., Reynolds J. D., Haffner P. 2006. Atlas of crayfish in Europe. Museum National d'Histoire Naturelle, Paris.

Söderbäck B. 1991. Interspecific dominance relationship and aggressive interactions in the freshwater crayfishes *Astacus astacus* (L.) and *Pacifastacus leniusculus* (Dana). Canadian Journal of Zoology **69**, 1321-1325.

Strayer D. L., Dudgeon D. 2010. Freshwater biodiversity conservation: recent progress and future challenges. Journal of the North American Benthological Society **29 (1)**, 344-358.

Šafarek G., Šolić T. 2011. Rijeke Hrvatske. Veda d.o.o., Križevci, 197-201.

Tricarico E., Aquiloni L. 2016. How Behaviour Has Helped Invasive Crayfish to Conquer Freshwater Ecosystems. U: Weis J. S., Sol D. (ur.) Biological Invasions and Animal Behaviour. Cambridge University Press, UK, 291-308.

Usio N., Kamiyama R., Saji A., Takamura N. 2009. Size-dependent impacts of invasive alien crayfish on a littoral marsh community. Biological Conservation **142 (7)**, 1480-1490.

Vaeßen S. Hollert H. 2015. Impacts of the North American signal crayfish (*Pacifastacus leniusculus*) on European ecosystems. *Environmental Sciences Europe* **27 (1)**, 1-6.

Williamson M. 1996. *Biological invasions*. Chapman & Hall, London.

Woodman S. G., Steinkey D., Drew W. A., Burket S. R., Brooks B. W., Pyle G. G. 2016. Effects of sertraline on behavioral indices of crayfish *Orconectes virilis*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **134**, 31-37.

Wright D. 2007. Logistics of shipboard and dockside testing of ballast water treatment systems in the United States. U: Gerhardt F. (ur.) *Biological invaders in inland waters: Profiles, distribution, and threats*. Springer, Netherlands, 657-668.

Wutz S., Geist J. 2013. Sex- and size-specific migration patterns and habitat preferences of invasive signal crayfish (*Pacifastacus leniusculus* Dana). *Limnologica* **43 (2)**, 59-66.

www.itis.gov, pristupljeno 27.07.2019.

9. ŽIVOTOPIS

OBRAZOVANJE

Diplomski studij znanosti o okolišu, Prirodoslovno-matematički fakultet, Zagreb (2017. – 2019.)

Preddiplomski studij znanosti o okolišu, Prirodoslovno-matematički fakultet, Zagreb (2014. – 2017.)

OSOBNJE VJEŠTINE

Strani jezici: engleski – iskusni korisnik

njemački – početnik

Računalne vještine: poznavanje Microsoft Office paketa

poznavanje GIS-a (Geografskog informacijskog sustava)

DODATNE INFORMACIJE

Nagrada za učenicu generacije (2010. – 2014.)

Sudjelovanje u organizaciji znanstveno-popularne manifestacije „Noć biologije“ (održavanje radionica, edukacija, anketiranje)

Sudjelovanje i pomoć u organizaciji 3. Hrvatskog simpozija o invazivnim vrstama

Sudjelovanje na projektu „Utjecaj zagađenja na invazivni uspjeh strane vrste slatkovodnog raka“ (2017. – 2019.)