



## Leddjurs förmåga att känna smärta och uppleva lidande

Charlotte Berg, Eva Forsgren, Albin Gräns, Linda Keeling, Mikaela Lindberg, Frida Lundmark Hedman, Erika Roman, Lotta Rydhmer, Eva Sandberg, Evgenij Telezhenko, Anna Wallenbeck, Ivar Vågsholm, Elina Åsbjer

SLU:s vetenskapliga råd för djurskydd

Rapporter från SLU:s vetenskapliga råd för djurskydd, 2023:4

Uppsala 2023

## Namn på projekt

Charlotte Berg	Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för husdjurens miljö och hälsa, lotta.berg@slu.se
Eva Forsgren	Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för ekologi, eva.forsgren@slu.se
Albin Gräns	Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för husdjurens miljö och hälsa, albin,grans@slu.se
Linda Keeling	Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för husdjurens miljö och hälsa, linda.keeling@slu.se
Mikaela Lindberg	Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för husdjurens utfodring och vård, mikaela.lindberg@slu.se
Frida Lundmark Hedman	Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för husdjurens miljö och hälsa, frida.lundmark@slu.se
Erika Roman	Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi, erika.roman@slu.se
Lotta Rydhmer	Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för husdjursgenetik, lotta.rydhmer@slu.se
Eva Sandberg	Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi, eva.sandberg@slu.se
Anna Wallenbeck	Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för husdjurens miljö och hälsa, anna.wallenbeck@slu.se
Ivar Vågsholm	Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, ivar.vagsholm@slu.se
Elina Åsbjer	Sveriges lantbruksuniversitet, Nationellt centrum för djurvälstånd, elina.asbjer@slu.se
Evgenij Telezhenko	Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för biosystem och teknologi, evgenij.telezhenko@slu.se

**Utgivningsort:** Uppsala  
**Utgivningsår:** 2023  
**Serietitel:** Rapporter från SLU:s vetenskapliga råd för djurskydd  
**Delnummer i serien:** 2023:4  
**ISBN:** 978-91-8046-699-8  
**DOI:** <https://doi.org/10.54612/a.2esq8ac0vb>  
**Bibliografisk referens:** Berg, C., Forsgren, E., Gräns, A., Keeling, L., Lindberg, M., Lundmark Hedman, F., Roman, E., Rydhmer, L., Sandberg, E., Telezhenko, E., Wallenbeck, A., Vågsholm, I., Åsbjer, E. (2023). *Leddjurs förmåga att känna smärta och uppleva lidande*. Uppsala: Sveriges lantbruksuniversitet. (Rapporter från SLUs vetenskapliga råd för djurskydd, 2023:4).

**Nyckelord:** leddjur, artropoder, kräftdjur, decapoder, insekter, spindlar, smärta, lidande,  
**Keywords:** arthropodes, crustaceans, decapodes, insects, spiders, pain, suffering

**Sveriges lantbruksuniversitet**

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

SLU:s vetenskapliga råd för djurskydd

## Syfte och målgrupp

Denna rapport bygger på det yttrande som SLU:s vetenskapliga råd för djurskydd sammanställt på uppdrag av Jordbruksverket efter en önskan om att SLU:s vetenskapliga råd för djurskydd, nedan benämnt Rådet, ska sammanställa vetenskaplig forskning kring förmågan att känna smärta och lidande gällande relevanta arter eller grupper av leddjur (*arthropoda*). Yttrandet kommer användas som grund för huruvida leddjur ska omfattas av den svenska djurskyddslagstiftningen.

Det vetenskapliga rådet för djurskydd består av:

- Charlotte Berg, ordförande, professor, Institutionen för husdjurens miljö och hälsa
- Linda Keeling, professor, Institutionen för husdjurens miljö och hälsa
- Mikaela Lindberg, universitetslektor, Institutionen för husdjurens utfodring och vård
- Frida Lundmark Hedman, universitetsadjunkt, Institutionen för husdjurens miljö och hälsa
- Lotta Rydhmer, professor, Institutionen för husdjursgenetik
- Eva Sandberg, universitetslektor, Institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi
- Evgenij Telezhenko, forskare, Institutionen för biosystem och teknologi
- Anna Wallenbeck, universitetslektor, Institutionen för husdjurens miljö och hälsa
- Ivar Vågsholm, professor, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap
- Elina Åsbjer, kvalificerad handläggare, Nationellt centrum för djurvälstånd

Expertgruppen som sammanställt yttrandet består av:

- Eva Forsgren, universitetslektor, Institutionen för ekologi, SLU
- Albin Gräns, forskare Institutionen för husdjurens miljö och hälsa, SLU
- Erika Roman, professor, Institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi, SLU, samt
- Mikaela Lindberg och Elina Åsbjer från Rådet

## Sammanfattning

Uppdraget har varit att sammanställa vetenskaplig forskning kring förmågan att känna smärta och lidande för relevanta arter eller grupper av leddjur. Rådet har fokuserat på kräftdjur, insekter som hålls av människa, modellorganismer, respektive spindlar. Den svenska djurskyddslagen omfattar alla djur som hålls av människan, men det är kunskapen om djurs förmåga att känna smärta och uppleva lidande som är vägledande för i vilken grad olika bestämmelser i lagen är tillämpliga. Då det inte är klarlagt huruvida leddjur omfattas av djurskyddslagen saknas det specifika föreskrifter för leddjur.

Smärta är alltid en individuell upplevelse som i olika grad påverkas av biologiska, psykologiska och sociala faktorer. Nociception, dvs. nervsystemets förmåga att processa skadliga stimulus, och upplevelsen av smärta är två olika fenomen där smärta inte enbart kan härledas till aktivitet i känselneuron. Smärta kan uttryckas på olika sätt hos olika arter och även hos olika individer. Även om smärta har en adaptiv funktion, dvs. gör det möjligt för ett djur att anpassa sig och sitt beteende, så har smärta negativa effekter på djurets funktion och välmående.

Att vara en kännande varelse kan definieras som att ha förmågan att känna men också att vara medveten och ha subjektiva erfarenheter, men behöver inte innefatta avancerad kognitiv förmåga. Att ett djur uppvisar komplexa beteenden kan ses som en indikation på att djuret är en kännande varelse, med medvetande och vissa kognitiva förmågor, som därmed skulle kunna ha möjlighet att uppleva både fysiskt och psykiskt lidande.

Nervsystemet kan delas in i det centrala nervsystemet (hjärna och ryggmärg) och det perifera nervsystemet, som omfattar alla andra delar av nervsystemet. Leddjur har, i likhet med ryggradsdjur, en hjärna med olika centra, där vissa delar är centrala för inlärning, minne och s.k. sensorisk integration, vilket är den neurologiska process som bearbetar och samordnar olika sinnesintryck. Leddjuren har dock inte en ryggmärg då de saknar ryggrad, utan har istället en s.k. ventral nervsträng som har delvis samma funktion som ryggmärgen hos ryggradsdjur. Den ventrala nervsträngen förbinder hjärnan med nervcellskroppar/nervknutor i olika kroppssegment varifrån mer perifera nerver förgrenar sig.

Precis som hos ryggradsdjur sker kommunikationen i nervsystemet med hjälp av olika signalsubstanser, men signalsubstanserna hos leddjur kan delvis skilja sig åt, även om funktionen är densamma. Leddjuren har både signalsubstanser och receptorer motsvarande de som hos ryggradsdjur är delaktiga i smärtekänsl, stressreglering och kroppsegen smärtlindring. Leddjur har flera olika receptorer som kan reagera på olika former av stimulus inklusive smärtstimulus. Vilka receptorer som finns varierar mellan olika grupper av leddjur och funktionen hos samtliga receptorer är inte helt klarlagt.

Två rapporter (Birch *et al.* 2021 och Gibbons *et al.* 2022a) har sammanställt kräftdjurs och insekters förmåga att uppleva smärta och har då utgått från följande åtta kriterier: 1) Djuret har receptorer som är känsliga för skadliga stimulus, 2) djuret har hjärnregioner som kan integrera information från olika sensoriska källor, 3) djuret har nervbanor som förbinder receptorerna med hjärnregionerna 4) djurets beteenderespons på ett skadligt stimulus kan modifieras av kroppsegna eller utifrån tillförda substanser 5) djuret uppvisar beteendemässiga avvägningar där ett skadligt eller hotfullt stimulus vägs mot möjligheten till belöning, 6) djuret uppvisar ett flexibelt självskyddande beteende, 7) djuret uppvisar associativt lärande där skadliga stimulus associeras med neutrala stimulus, 8) djuret värdesätter förmodade smärtstillande eller bedövande medel när det skadats. Noterbart är att vart och ett av dessa kriterier sannolikt är nödvändiga, men var för sig inte tillräckliga som bevis för ett djurs förmåga att uppleva smärta. Samtidigt är avsaknad av bevis inte bevis för att djuret inte uppfyller kriteriet. Kriterierna används således bara för att styrka att det finns bevis för att ett djur kan uppleva smärta. Det är också viktigt att påpeka att inget enskilt kriterium ger i sig självt avgörande bevis för ett djurs förmåga att uppleva smärta utan att alla kriterier är relevanta och har vägts in i Rådets slutgiltiga bedömning. Rådets yttrande har för kräftdjur och insekter strukturerats i enlighet med ovan beskrivna kriterier.

**Kräftdjuren** är en stor och diversifierad grupp som omfattar cirka 70 000 arter. Rådet har fokuserat på ordningen tiofotade kräftdjur (*Decapoda*), vilken innefattar bland annat humrar, kräftor, krabbor och äkta räkor, men även klassen bladfotingar (*Branchiopoda*) vilka föds upp för fiskfoder och används som djurmodeller inom forskning.

Det finns studier som tyder på att decapoder har receptorer som är känsliga för skadliga stimulus. Vidare har samtliga decapoders hjärnor en struktur med potential att integrera information. Denna slutsats bygger dels på den omfattande sammankopplingen mellan hjärnstrukturer, dels på att vissa specifika hjärnstrukturer är kända för just den uppgiften, samt anses vara kopplade till minne och inläring, och dels att decapoder har signalsubstansen oktopamin som visat sig ha betydelse för inläring. Nervbanor förbinder sensoriska receptorer med de integrerade hjärnregionerna hos decapoder, men det saknas fortfarande bevis för att decapoder har specifika nervbanor som är involverade i överföringen av nociceptiv information. Det råder inga tvivel om att decapoder har relevanta signalsubstanser inklusive sådana som är involverade i fysiologisk stress och som hos däggdjur har en smärtlindrande funktion. Forskningen tyder på att opioider kan ha en dämpande effekt på negativa upplevelser såsom t.ex. smärta eller obehag hos decapoder, liksom att det finns belägg för att serotonin förmedlar reaktioner på stress hos decapoder, och att en sådan reaktion kan moduleras med ångstdämpande läkemedel.

Självskyddande beteenden, så som att vidröra eller gnida en skadad kroppsdel, har uppvisats hos flera arter av decapoder, bl.a. hos olika krabbarter, eremitkräftor och räkarter. Däremot råder det brist på studier som visar att decapoder uppvisar

motiverade avvägningar. Vissa studier har gjorts på eremitkräftor, men det är svårt att dra några slutsatser från dessa. Det råder brist på bra studier som studerat associativ inlärning hos decapoder. De studier som gjorts kan tyda på en associativ inlärning hos flera olika arter av både krabbor och kräftor. Det går dock inte att utesluta att andra faktorer kan ha påverkat djurens beteenderespons i dessa studier. Gällande kriteriet att värdesätta förmodat smärtstillande medel vid skada saknas helt forskning.

Sammanfattningsvis finns det för kräftdjur en hel del studier som stödjer att framförallt äkta krabbor (infraordning *Brachyura*) men även eremitkräftor och kungskrabbor (infraordning *Anomura*) är kännande varelser som kan uppleva smärta. Det finns även studier som stödjer att kräftor och humrar (infraordning *Astacidea*) uppfyller kraven för att uppleva smärta, även om dessa studier är färre. Det har även gjorts studier på arter inom grupperna *Penaeoidea* (jätteräkor), *Palinura* (languster) och *Caridea* (äkta räkor) men för dessa grupper är den tillgängliga informationen fragmentarisk och bristfällig. I de fall där ett eller flera kriterier inte är uppfyllt beror detta på brist på bevis, snarare än på tydliga bevis för att djuren inte uppfyller kriteriet. Ingen vetenskaplig litteratur i det undersökta ämnet hittades för världens mest fiskade räka (*Acetes japonicus*) eller någon annan art som ingår i överfamiljen *Sergestoidea*. Rådet fann ingen relevant forskning att sammanställa för klassen bladfotingar (*Branchiopoda*).

**Insekterna** är den största undergruppen inom leddjuren och det finns ca 900 000 arter i världen. I Sverige finns drygt 24 000 insektsarter. Rådet har i den här rapporten tagit upp insekter som ingår i ordningarna tvåvingar (*Diptera*), skalbaggar (*Coleoptera*), hopprätvingar (*Orthoptera*), steklar (*Hymenoptera*) och kackerlackor (*Blattodea*). Även fjärilar (*Lepidoptera*) har tagits med då hållande av silkesmask, d.v.s. larven av silkesfjäril (*Bombyx mori*) ses som relevant för uppdraget.

Flera studier har visat att det finns bevis för att vissa arter av insekter har genetiska förutsättningar för nociception och att vissa har utvecklade nociceptiva neuron som reagerar på skadliga och taktila stimulus både under utvecklingsstadierna och som vuxna. Även om de nociceptiva banorna inte har kartlagts i detalj, anses det sannolikt att samma generella struktur ligger till grund för de uppåtgående nociceptiva banorna hos alla vuxna insekter då deras hjärna är likartad över artgränserna. Samordningen av sinnesintrycken hos insekterna sker främst i den delen av hjärnan som kallas *protocerebrum*. Det område i *protocerebrum* som kallas det *centrala komplexet* har betydelse för bland annat rumsuppfattning, minne, kontroll av rörelser och nociceptiv sensorik. I det området samverkar flera nervceller vilket har betydelse för förmågan till multisensorisk känslighet hos flertalet insektordningar, t.ex. bin, kackerlackor, flugor och gräshoppor. De s.k. *svampkropparna* i hjärnan är centrala för sensorik hos insekter och finns hos alla arter utom hos hoppborstsvansar. En annan del av hjärnan har visat sig viktig för syn- och doftstimulus hos bl.a. bananflugor, gräshoppor och amerikansk kackerlacka. Under insekternas utvecklingsstadier, när de betecknas som juvenila,

anses förmågan till nociception och multisensorisk känslighet variera. Juvenila kackerlackor och hopprätvingar anses ha integrerade hjärnregioner med förmåga att samordna intryck, medan juvenila fjärilar, steklar och skalbaggar inte anses ha den förmågan i lika hög grad.

Studier på bananflugor, honungsbin och kackerlackor har visat att de har signalsubstanser som reglerar hur de svarar på skadliga stimulus. Det finns också indikationer på att insekter har kroppsegna funktioner som reglerar smärta. Tillförda smärtlindrande substanser kan påverka nociceptiva reaktioner hos vissa insekter. Denna förmåga anses vara hög hos vuxna och juvenila tvåvingar och vuxna kackerlackor, medelhög hos vuxna steklar och låg hos vuxna hopprätvingar, skalbaggar och fjärilar samt hos juvenila kackerlackor, skalbaggar, steklar, fjärilar och hopprätvingar. Det saknas dock vetenskaplig forskning inom området. Mer komplexa beteenden har setts hos bananflugor och humlor, där de sågs göra en motiverad avvägning i att undvika skadliga stimulus i samband med att de fick en belöning. Få studier finns på självskyddande beteenden hos insekter, men det finns vissa bevis på detta hos juvenila fjärilar och vuxna kackerlackor som försvarade eller vårdade en skadad kroppsdel. Inlärd beteenden som svar på skadliga stimulus har setts hos bl.a. honungsbin, vuxna kackerlackor, tvåvingar, steklar, fjärilar och hopprätvingar, samt hos juvenila tvåvingar och fjärilar.

Sociala insekter uppvisar en mängd sofistikerade och komplexa beteenden. Begreppsinnlärning är väl dokumenterat hos honungsbin, men kan även finnas hos andra sociala insekter med väl utvecklade minnessystem, flexibel mönsterigenkänning etc. Humlor är även kapabla till instrumentell inlärning men uppvisar även beteenden som liknar observationsinlärning liksom att de kan vara engagerade i beteenden som klassas som lek.

Sammanfattningsvis finns det för insekter starka eller betydande bevis för smärtupplevelser hos vuxna tvåvingar, kackerlackor, bin, gräshoppor och fjärilar samt vissa bevis för att vuxna skalbaggar känner smärta. För insekter under utvecklingsstadierna är bevisen generellt svagare, men det finns studier som visar på smärtupplevelser hos juvenila tvåvingar, kackerlackor, hopprätvingar och fjärilar. Det finns inga vetenskapliga studier som visar att insekter inte har känsselförnimmelser eller upplever smärta. De kunskapsluckor som finns inom området visar på att det finns ett stort forskningsbehov.

**Spindeldjur** omfattar spindlar (*Araneae*), lockespindlar (*Opiliones*), klokrypare (*Pseudoscorpiones*), kvalster (*Acari*), samt skorpioner (*Scorpiones*) och ytterligare några grupper som inte finns i Sverige. Totalt sett finns det cirka 48 000 upptäckta spindelarter i världen. Det finns en mindre omfattande sammanställning av spindlars förmåga att känna smärta baserat på följande fem kriterier: 1) Nociceptorer och centralt



nervsystem, 2) fysiologiska förändringar som svar på skadliga stimulus, 3) skyddande motoriska reaktioner vilket kan inkludera minskat användande av skadat område, 4) inlärt undvikande och 5) kognitiva förmågor. Sammanställningen är på intet sätt fullständig då det verkar saknas vetenskapliga studier inom området och Rådet har inte funnit så mycket forskning om spindlars förmåga att känna smärta och uppleva lidande.

Det saknas kunskap om nociceptorer hos spindlar och hur nociceptiv information processas i centrala nervsystemet. Dock utövar spindlar tillbakadragande beteenden eller flyktbeteenden, samt beteenden som anses vara mer komplicerade än enbart reflektiva, som svar på nociceptiv stimulus, varpå det finns skäl att anta att de har nociceptorer. Vidare har spindlar signalsubstanser som förändras under och efter situationer som kan härröra till fara, vilket kan vara tecken på att djuren har ett stressystem som aktiveras som svar på aversiva stimulus. Spindlar kan liksom andra leddjur även visa på självskyddande beteenden vid olika kroppsskador, men även självamputation som svar på skada. Spindlar kan även lära sig att undvika faror genom att associera dofter eller visuella stimulus med aversiva stimulus. De har även förmåga att adaptivt modifiera sina beteenden i förhållande till födosök, väva nät, sociala interaktioner och navigering.

Sammanfattningsvis så finns det för spindlar, trots bristande forskning, skäl att anta att spindlar har möjlighet till nociceptiv smärta och att de därmed kan ha förmåga att uppleva lidande. Rådet har inte hittat någon specifik information om smärta och lidande hos skorpioner.

Det finns en del studier som visar på komplexa beteenden som tyder på förmåga att uppleva positiva känslor, framför allt hos sociala insekter. Förmåga att uppleva positiva känslor, liksom att djuren besitter signalsubstanser överensstämmande med fysiologisk stress hos däggdjur, kan även tyda på att djuren kan uppleva negativa känslor. Att det saknas bevis på komplexa beteenden och förmåga att uppleva positiva känslor ska inte ses som ett bevis på att dessa beteenden och känslor inte finns och ska således heller inte ses som ett bevis på att djuren inte har möjlighet att uppleva sådant som mental stress och lidande.

## **Slutsatser**

- Det finns betydande bevis för att både decapoder och flertalet grupper av insekter har förmåga att uppleva smärta och därmed fysiskt lidande.
- Forskningen kring spindlars förmåga att uppleva smärta och lidande är bristfällig men det finns skäl att anta att även spindlar har förmåga att uppleva smärta och fysiskt lidande.

- Att det saknas bevis för vissa angivna smärtekriterier är inte ett bevis på att förmåga till smärtupplevelse saknas. Mer forskning behövs inom vissa områden.
- Komplexa beteenden, fysiologiska förutsättningar för stressrespons, liksom möjlig förmåga till positiva känslor (t.ex. lek-beteenden) kan tyda på att djuren även har förmåga till negativa upplevelser.
- Att komplexa beteenden ännu inte har rapporterats vetenskapligt är inte ett bevis på att sådana beteenden saknas.

### **Rekommendationer**

- Baserat på rådande forskningsbaserade kunskapsläge rekommenderar Rådet att leddjur betraktas som kännande varelser.
- Försiktighetsprincipen bör råda för djurarter och utvecklingsstadier hos leddjur där forskning eller tillräcklig evidens som styrker deras förmåga att uppleva smärta och lidande saknas. Avsaknad av bevis innebär inte att dessa förmågor inte finns.
- Baserat på vad som framkommit i Rådets yttrande om leddjurs förmåga att uppleva smärta och lidande så är det Rådets rekommendation att vid hållande av leddjur bör hänsyn tas till deras artspecifika behov så att djuren inte hålls på ett sätt som leder till att de riskerar bli sjuka och skadade, får onormala/avvikande beteenden eller är förhindrade att uppvisa naturliga beteenden.

## **Opinion of the Scientific Council for Animal Welfare on the ability of arthropods to feel pain and perceive suffering**

The task has been to compile scientific research on the ability of relevant species or groups of arthropods to feel pain and perceive suffering. The council has focused on crustaceans, insects kept by humans, model organisms and spiders, respectively. The Swedish Animal Welfare Act covers all animals kept by humans, but it is the knowledge of animals' ability to feel pain and to experience suffering that guides the degree to which various provisions in the law are applicable. Since it is not clear whether arthropods are covered by the Animal Welfare Act, there are no specific regulations for arthropods.

Pain is always an individual experience, influenced to varying degrees by biological, psychological and social factors. Nociception, i.e. the nervous system's ability to process harmful stimuli, and the experience of pain are two different phenomena, as the experience of pain is not only derived from sensory neuron activity. Pain can be expressed in different ways in different species and even in different individuals. Although pain has an adaptive function, in that it enables an animal to adapt its behaviour, pain has negative effects on the animal's function and well-being.

A sentient being can be defined as one having the ability to feel, but also to be aware and have subjective experiences. It does not need to include advanced cognitive abilities. Complex behaviour can be seen as an indicator that the animal is a sentient being, with consciousness and some cognitive abilities, and which therefore has the potential to experience both physical and psychological suffering.

The nervous system can be divided into the central nervous system (brain and spinal cord) and the peripheral nervous system, which includes all other parts of the nervous system. Arthropods, like vertebrates, have a brain divided into different centres, where certain parts are central for learning, memory and for so-called sensory integration, which is the neurological processing and coordination of different sensory impressions. Arthropods do not have a spinal cord as they lack a backbone, but they have a ventral nerve cord that serves partially the same function as the spinal cord in vertebrates. The ventral nerve cord connects the brain with nerve cell bodies/nerve nodes in various body segments from where more peripheral nerves branch off.

As in vertebrates, communication in the nervous system takes place through different neurotransmitters. These may differ from those in vertebrates even if the function is the same. Arthropods have neurotransmitters and receptors similar to those, which in vertebrates, are involved in pain sensation, stress regulation and endogenous pain relief. Arthropods have several different receptors that can react to different forms of stimuli, including pain. Which receptors are present varies between different groups of arthropods, and the function of all receptors is not fully understood.

Two reports (Birch *et al.* 2021 and Gibbons *et al.* 2022a) have compiled literature on the ability of crustaceans and insects to experience pain based on the following eight criteria: 1) The animal has receptors that are sensitive to noxious stimuli, 2) the animal has brain regions which can integrate information from different sensory organs, 3) the

animal has neural pathways that connect receptors and brain regions (4) the animal's behavioural response to a noxious stimulus can be modified by endogenous or externally added substances, 5) the animal exhibits behavioural trade-offs where a noxious or threatening stimulus is weighed against the possibility of reward, 6) the animal exhibits a flexible self-protective behaviour, 7) the animal exhibits associative learning where noxious stimuli are associated with neutral stimuli, and 8) the animal values presumed analgesics or anaesthetics when injured. Notably, each of these criteria is likely necessary, but individually not sufficient as evidence of an animal's ability to experience pain. At the same time, lack of evidence is not evidence that an animal does not meet the criterion. The criteria are thus only used to strengthen that there is evidence that an animal can experience pain. Additionally to this, it is important to point out that no single criterion alone provides conclusive evidence of an animal's ability to experience pain, but that all criteria are relevant and have been weighed in the Council's final assessment. The Council's opinion on crustaceans and insects has been structured according to the criteria described above.

**Crustaceans** are a large and diversified group comprising approximately 70 000 species. The Council has focused on the decapod order of crustaceans (*Decapoda*), which includes lobsters, crayfish, crabs and true shrimp, but also the class of leaf-footed crustaceans (*Branchiopoda*) which are used as animal models in research and raised as feed for fish.

There are studies indicating that decapods have receptors sensitive to noxious stimuli. Furthermore, the brains of all decapods have a structure with the potential to integrate information. This conclusion is based partly on the extensive interconnection between brain structures, partly on the fact that certain specific brain structures are known for just that particular task and are considered to be linked to memory and learning, and partly on the fact that decapods have the neurotransmitter octopamine, which has been shown to be important for learning. Neural pathways connect sensory receptors to the integrative brain regions of decapods, but evidence that decapods have specific neural pathways involved in the transmission of nociceptive information is still lacking. There is no doubt that decapods have relevant neurotransmitters, including those involved in physiological stress, which in mammals have a pain-relieving function. Research suggests that opioids can have an alleviating effect on negative experiences, such as pain or discomfort in decapods, and there is evidence that serotonin mediates responses to stress in decapods, and that such a response can be modulated by anxiolytic drugs.

Self-protective behaviour, such as touching or rubbing an injured body part, has been shown in several species of decapods, e.g. in various crab species, hermit crabs and shrimp species. On the other hand, there is a lack of studies showing that decapods exhibit motivated trade-offs. Some studies have been done on hermit crabs, but it is difficult to draw any conclusions from these. There is a lack of studies on associative

learning in decapods. The studies that have been done may indicate associative learning in several different species of both crabs and crayfish. However, it cannot be ruled out that other factors may have influenced the animals' behavioural responses in these studies. There is a complete lack of research regarding the criterion for the appreciation of supposed analgesics in case of injury.

In summary, there are many studies supporting that mainly true crabs (infraorder *Brachyura*), but also hermit crabs and king crabs (infraorder *Anomura*), are sentient beings that can experience pain. There are also studies supporting that crayfish and lobsters (infraorder *Astacidea*) meet the requirements to experience pain, although these studies are fewer. There have been studies on species within the groups *Penaeoidea* (giant prawns), *Palinura* (langoustines/Norway lobsters) and *Caridea* (true prawns), but for these groups the available information is fragmentary or lacking. In cases where one or more criteria are not met, this is due to a lack of evidence, rather than the presence of clear evidence that the animals do not meet the criterion. No scientific literature was found regarding the world's most fished shrimp (*Acetes japonicus*) or any other species included in the superior family Sergestoidea. The Council found no relevant research for the class Branchiopoda (*Branchiopoda*).

**Insects** are the largest subgroup within the arthropods and there are approximately 900 000 species in the world. There are roughly 24 000 insect species in Sweden. In this report, the council has addressed insects in the orders flies (*Diptera*), beetles (*Coleoptera*), grasshoppers (*Orthoptera*), e.g. wasps, bees and ants (*Hymenoptera*), cockroaches (*Blattodea*) and butterflies (*Lepidoptera*).

There is evidence from several studies that some species of insects have genetic predispositions for nociception and that some have developed nociceptive neurons that respond to noxious and tactile stimuli both during the developmental stages and as adults. Although the nociceptive pathways have not been mapped in detail, it is considered likely that the same general structure underlies the ascending nociceptive pathways in all adult insects as their brains are similar across species. The coordination of sensory impressions in insects takes place mainly in the part of the brain called the *protocerebrum*. The area in the *protocerebrum* called *the central complex* is important for spatial perception, memory, control of movements and nociceptive sensors, among other things. In this area, several nerve cells work together, which is important for multisensory sensitivity in the majority of insect orders, e.g. bees, cockroaches, flies and grasshoppers. The so-called *mushroom bodies* (*corpora pedunculata*) in the brain are central to sensory perception in insects and are found in all species except jumping bristletails. Another part of the brain has been shown to be important for visual and olfactory stimulation, e.g. in the banana fly, grasshopper and American cockroach. During the developmental stages, when they are termed juvenile, the capacity of insects for nociception and multisensory sensitivity is thought to vary. Juvenile cockroaches and grasshoppers are thought to have integrated brain regions capable of coordinating

impressions, while juvenile butterflies, wasps and beetles are not thought to have this ability to the same degree.

Studies on fruit flies, honey bees and cockroaches have shown that they have neurotransmitters regulating how they respond to noxious stimuli. There are also indications that insects have innate functions that regulate pain, and administering pain-relieving substances can affect nociceptive reactions in some insects. This ability is considered high in adult and juvenile flies and adult cockroaches, medium in adult wasps, and low in adult jumping bristletails, beetles and butterflies, and in juvenile cockroaches, beetles, wasps, butterflies and jumping bristletails. However, there is a lack of scientific research in the area. More complex behaviours have been seen in fruit flies and bumblebees, where they were seen to make motivated trade-offs in avoiding noxious stimuli in the context of receiving a reward. Studies on self-protective behaviours in insects are scarce, but there is some evidence of this in juvenile butterflies and adult cockroaches that defended or nursed an injured body part. Learned behaviours in response to harmful stimuli have been seen in, e.g. honeybees, adult cockroaches, flies, wasps, butterflies and jumping bristletails, as well as in juvenile flies and butterflies.

Social insects exhibit a variety of sophisticated and complex behaviours. Concept learning is well documented in honey bees, but can also be seen in other social insects with well developed memory systems, flexible pattern recognition, etc. Bumblebees are capable of instrumental learning, but also exhibit behaviours similar to observational learning as well as being able to engage in behaviours classified as play.

In conclusion, there is strong or substantial evidence for the experience of pain in adult flies, cockroaches, bees, grasshoppers and butterflies, and some evidence that adult beetles feel pain. The evidence is generally weaker for insects during the developmental stages, but there are studies showing pain experiences in juvenile flies, cockroaches, grasshoppers and butterflies. There are no scientific studies that show that insects do not have sensations or experience pain. The knowledge gaps that exist in the area indicate a great need for research.

**Arachnids** includes spiders (*Araneae*), harvestmen (*Opiliones*), pseudoscorpions (*Pseudoscorpiones*), mites (*Acari*), scorpions (*Scorpiones*) and a few other groups not found in Sweden. In total, there are about 48 000 discovered spider species in the world. There is a less comprehensive compilation of evidence around spiders' ability to experience pain based on the following five criteria: 1) Nociceptors and central nervous system, 2) physiological changes in response to a noxious stimulus, 3) protective motor responses which may include reduced use of an injured area, 4) learned avoidance and 5) cognitive abilities. The overview is by no means complete, as there seems to be a lack of scientific studies in the area and the Council has not found much research on the ability of spiders to feel pain and experience suffering.

There is a lack of knowledge about nociceptors in spiders and how nociceptive information is processed in the central nervous system. However, spiders perform withdrawal or escape behaviours, as well as behaviours considered to be more complex than a mere reflex in response to a nociceptive stimulus, giving reason to assume that they have nociceptors. Furthermore, spiders have neurotransmitters that change during and after dangerous situations, which may be a sign that the animals have a stress system that is activated in response to aversive stimuli. Spiders, like other arthropods, can show self-protective behaviours in the event of various body injuries, but also use self-amputation in response to injury. Spiders can learn to avoid danger by associating scents or visual stimuli with aversive stimuli. They also have the adaptive ability to modify their behaviours in relation to foraging, weaving webs, social interactions and navigation.

In summary, despite a lack of research, there are reasons to assume that spiders have the possibility of nociceptive pain and may thus have the ability to experience suffering. The Council has not found any specific information about pain and suffering in scorpions.

There are some studies showing complex behaviours that indicate the ability to experience positive emotions, especially in social insects. The ability to experience positive emotions, as well as possessing neurotransmitters consistent with physiological stress in mammals, may also indicate that the animals can experience negative emotions. Lack of evidence of complex behaviours and of the ability to experience positive emotions should not be seen as evidence that these behaviours and emotions do not exist in an animal, and should not be seen as evidence that the animals do not have the opportunity to experience such things as mental stress and suffering.

## **Conclusions**

- There is considerable evidence that both decapods and most groups of insects are capable of experiencing pain and thus physical suffering.
- Research around spiders' ability to experience pain and suffering is lacking, but there are reasons to assume that spiders also have the ability to experience pain and physical suffering.
- Lack of evidence for certain specified pain criteria is not evidence of inability to experience pain. More research is needed in certain areas.
- Complex behaviours, physiological prerequisites for stress responses, as well as possible capacity for positive emotions (e.g. play behaviour) may indicate that the animals also have the capacity for negative experiences.
- The fact that complex behaviours have not yet been scientifically reported is not proof that such behaviours do not exist.

**Recommendations**

- Based on the current research-based state of knowledge, the Council recommends that arthropods are regarded as sentient beings.
- The precautionary principle should prevail for animal species and developmental stages of arthropods where research or sufficient evidence support their ability to experience pain and suffering is lacking. Lack of evidence does not mean that these abilities do not exist.
- Based on what emerged in the Council's opinion on the ability of arthropods to experience pain and suffering, it is the Council's recommendation that when keeping arthropods, their species-specific needs should be taken into account so that the animals are not kept in ways that put them at risk of getting sick and injured, developing abnormal/deviant behaviours, or are prevented from exhibiting natural behaviours.



## Innehållsförteckning

1	Definitioner .....	19
2	Inledning .....	20
2.1	Uppdraget .....	20
2.2	Rådets avgränsningar.....	20
2.3	Djurskydd, stress och lidande.....	21
2.4	Relevant lagstiftning och förarbeten .....	22
2.5	Litteratur .....	23
3	Smärta och lidande.....	24
4	Generell smärtfysiologi hos däggdjur.....	25
4.1	Nervsystemet .....	25
4.2	Smärtfysiologi .....	26
5	Leddjurens nervsystem.....	26
6	Kriterier för bedömning av smärta och smärtupplevelser hos leddjur .....	30
7	Krätdjur ( <i>Crustacea</i> ).....	32
7.1	Har decapoder receptorer som är känsliga för skadliga stimulus (nociceptorer)? 33	
7.2	Har decapoder integrerande hjärnregioner som kan integrera information från olika sensoriska källor?.....	34
7.3	Har decapoder nervbanor som förbinder nociceptorerna med de integrerande hjärnregionerna?.....	35
7.4	Påverkas decapoders beteendemässiga reaktion på ett skadligt stimulus av kemiska föreningar som påverkar nervsystemet?.....	36
7.5	Uppvisar decapoder beteendemässiga avvägningar, där det negativa värdet av en skadlig eller hotfull stimulus vägs mot värdet av en möjlighet till belöning?37	
7.6	Uppvisar decapoder ett flexibelt självskydds-beteende? .....	38
7.7	Uppvisar decapoder associativ inlärning där skadliga stimulus associeras med neutrala stimulus och/eller där nya sätt att undvika skadliga stimulus lärs in genom förstärkning?.....	39
7.8	Visar decapoder att de värdesätter ett förmodat smärtstillande medel när de skadas? .....	41
7.9	Sammanfattning decapoder .....	41
7.10	Bladfotingar (Branchiopoda) .....	42
8	Insekter ( <i>Insecta</i> ).....	43
8.1	Har insekter receptorer som är känsliga för skadliga stimulus (nociceptorer)? 43	
8.2	Har insekter integrerande hjärnregioner som kan integrera information från olika sensoriska källor? .....	44
8.3	Har insekter nervbanor som förbinder nociceptorerna med de integrerande hjärnregionerna?.....	45

8.4	Påverkas insekters beteendemässiga reaktion på ett skadligt stimulus av kemiska föreningar som påverkar nervsystemet?.....	48
8.5	Uppvisar insekter beteendemässiga avvägningar, där det negativa värdet av en skadlig eller hotfull stimulus vägs mot värdet av en möjlighet till belöning?51	
8.6	Uppvisar insekter ett flexibelt självskydds beteende? .....	52
8.7	Uppvisar insekter associativ inlärning där skadliga stimulus associeras med neutrala stimulus och/eller där nya sätt att undvika skadliga stimulus lärs in genom förstärkning?.....	53
8.8	Visar insekter att de värdesätter ett förmodat smärtstillande medel när de skadas? 55	
8.9	Insekters kognitiva förmågor.....	56
8.10	Sammanfattning insekter.....	57
9	Spindlar ( <i>Arachnida</i> ).....	59
9.1	Nociceptorer och centralt nervsystem .....	59
9.2	Fysiologiska förändringar som svar på nociceptivt stimulus.....	59
9.3	Skyddande motoriska reaktioner.....	60
9.4	Inlärt undvikande.....	60
9.5	Kognitiva förmågor .....	60
9.6	Sammanfattning spindeldjur .....	61
10	Arbetsmiljöaspekter .....	61
11	Ekonomiska aspekter .....	61
12	Vidare forskningsbehov.....	61
13	Referenser .....	62

## 1 Definitioner

Agonist	Ett ämne som binder till en receptor och utövar en effekt.
Analgesi	Smärtlindring
Analgetika	Smärtstillande medel
Antagonist	Ett ämne som kan binda till samma receptor som agonisten utan att utöva egen effekt, men hindrar agonisten från att utöva en effekt.
Associativ inlärning	Principen att ting som upplevs samtidigt förknippas med varandra. Innefattar både klassisk betingning och instrumentell inlärning (operant betingning).
Aversiv	Saker och situationer som framkallar olust, obehag, fara och som människor eller djur undflyr eller undviker.
Endogen	Kroppsegen
Instrumentell inlärning (operant betingning)	Individen lär sig genom att koppla ett beteende till en viss konsekvens (positiv eller negativ).
Juvenil	Ännu ej fortplantningsmogna organismer, dvs. ett utvecklingsstadium före det vuxna.
Neuron	Nervcell
Nociception	Aktivering av nociceptorer av mekaniska, kemiska eller termiska stimulus.
Nociceptiv smärta	Smärta orsakad av faktisk eller hotande vävnadsskada genom aktivering av nociceptorer.
Nociceptorer	Receptorer som aktiveras av olika typer av intensiva, ofta skadliga, stimulus.
Nocifensivt beteende	Ett beteendemässigt svar på ett skadligt eller smärtsamt stimulus.
Sensorik	Känsl

## 2 Inledning

### 2.1 Uppdraget

Jordbruksverket uppdrog den 29 april 2022 åt Sveriges lantbruksuniversitets (SLU:s) vetenskapliga råd för djurskydd (Rådet) att sammanställa vetenskaplig forskning kring förmåga att känna smärta och lida gällande relevanta arter eller grupper av leddjur (*Arthropoda*). Eftersom leddjuren består av ett mycket stort antal grupper och arter av djur angav Jordbruksverket att Rådet fokuserar sammanställningen enligt följande kriterier:

- Djurarter eller grupper som hålls av människan, t.ex. kräftdjur såsom krabbor, humrar och kräftor, insekter som humlor, bin och kackerlackor, samt spindlar som hålls för sällskap och hobby.
- Djur där det finns tillgänglig vetenskaplig information om smärta eller lidande. Uppdraget behöver av nödvändighet styras av vilken vetenskaplig information som finns tillgänglig, och att avgöra vad som är möjligt blir som vi ser det en del i Rådets uppdrag. Även information om att det saknas underlag för vissa arter eller grupper av djur är värdefull information i detta uppdrag. Rådet får alltså själva bedöma och avgränsa uppdraget utifrån vad Rådet ser är möjligt när sökning av information påbörjas, så länge detta motiveras tydligt i rapporten. Sådana frågor kan också stämmas av och diskuteras med Jordbruksverket under uppdragets gång.

Uppdraget ska redovisas till Jordbruksverket senast 5 maj 2023.

### 2.2 Rådets avgränsningar

Leddjuren tillhör de ryggradslösa djuren och är den största gruppen inom djurriket och inkluderar insekter, kräftdjur och spindlar (Pollo & Vitale, 2019).

Kräftdjur: Avgränsas till djur som hålls av människa för livsmedel, forskning, och som foder till andra djurslag (*Decapoda*, *Artemia* och *Daphnia*).

Insekter: Avgränsningarna är djur som hålls av människa för forskning, livsmedelsproduktion, som foder till andra djurslag eller för sällskap/hobby och som ingår i ordningarna tvåvingar (*Diptera*), skalbaggar (*Coleoptera*), hopprätvingar (*Orthoptera*), steklar (*Hymenoptera*) och kackerlackor (*Blattodea*). Även fjärilar (*Lepidoptera*) ingår där larven av silkesfjäril (*Bombyx mori*) kan ses som relevant för uppdraget.

Spindeldjur: Avgränsas till spindlar och skorpioner.

I övrigt tittar Rådet främst på de modellorganismer som finns, t.ex. bananflugor, samt vilka slutsatser som kan dras från t.ex. evolutionära aspekter på smärtutveckling. Visar det sig att någon djurgrupp är väl studerad så kommer detta tas med.

Med begreppet "hållande" avses i yttrandet djur som regelbundet hålls permanent eller tillfälligt (inklusive levandeförvaring av vildfångade djur) av människor för produktion av livsmedel, forskning, och som foder till andra djurslag.

### **2.3 Djurskydd, stress och lidande**

I detta yttrande har begreppet "djurskydd" använts när det handlar om människans handlingar och ansvar; vad människor gör, inte gör eller borde göra för djuren. Ordet "djurvälstånd" används när det gäller det individuella djurets upplevelse och hur väl det kan hantera sin situation. Mer specifikt används den definition av djurvälstånd som Världsgesundhetsorganisationen för djurhälsa (WOAH) antagit, som anger att "Djurvälstånd syftar på det fysiska och mentala tillståndet hos ett djur i relation till de omständigheter under vilka det lever och dör" (OIE, 2019). Yttrandet fokuserar på vetenskapliga rön om djurs välfärd och i viss utsträckning djurskydd, men det kan också vara lämpligt att belysa människans intressen, eller olika miljöaspekter, inom ramen för uppdraget.

"Stress" är ett allmänt begrepp som betecknar en serie standardmässiga fysiologiska reaktioner, ofta åtföljda av beteendeförändringar. Stress kan orsakas av många olika slags stimulus och olika individer kan reagera olika i samma situation. Det som avgör hur omfattande stressreaktionen blir är hur individen upplever situationen och individens förmåga att förutse och kontrollera situationen. Stress är en naturlig reaktion som syftar till att skydda individen, men kan bli ett välfärdsproblem om inte individen har förmåga att hantera situationen. Upprepad eller långvarig stress orsakar en fysiologisk belastning vilket bland annat kan resultera i påfrestningar på hjärt-kärlsystemet och ett nedsatt immunförsvar vilket kan orsaka sjukdom. Stressreaktioner kan mätas och delvis förstås genom fysiologiska parametrar och beteendeobservationer.

"Lidande" är en mental upplevelse av en fysisk eller psykisk plåga av betydande intensitet och varaktighet. Lidande kan involvera stress, men måste inte göra det. Medan stressreaktioner ofta kan mätas kan individens subjektiva upplevelse – och därmed även graden av lidande – vara svårare att tolka och bedöma. Begreppet "onödigt lidande" används bland annat i den svenska djurskyddslagen (2018:1192), men det saknas en enhetlig definition av begreppet.

Rådet ska arbeta riskvärderande. I strikt bemärkelse är "riskvärdering" (också kallat riskbedömning) ett ramverk för att på ett systematiskt, vetenskapligt och transparent sätt ge underlag för att hantera specifika problem genom att bedöma risken för framför allt de negativa (icke önskvärda) konsekvenserna. En fullständig riskvärdering tar hänsyn till alla kända faktorer som kan påverka de aktuella konsekvenserna, liksom sannolikheten för dessa konsekvenser ifall en eller flera faktorer förekommer. Den beräknade risken är en kombination av allvarligheten hos en konsekvens och sannolikheten för den i den undersökta populationen. Ju mer fullständig och tillförlitlig

den tillgängliga vetenskapliga informationen är, desto säkrare blir riskvärderingen. Riskvärdering ska skiljas från "riskhantering", som istället handlar om hur riskerna hanteras och vilka beslut som eventuellt behöver fattas för att förebygga dem. Riskhantering ingår inte i Rådets uppdrag.

#### **2.4 Relevant lagstiftning och förarbeten**

Djurskyddslagen (2018:1192) är tillämplig på djur som hålls av människan.

Vid tillkomsten av den tidigare djurskyddslagen (1988:534) ansågs, liksom inför 1944 års lag, att det inte fanns anledning att uttryckligen begränsa lagen till vissa högre stående djur eftersom det låg i sakens natur att lagens bestämmelser i allmänhet bara kunde tillämpas på högre stående djur (Regeringens proposition 1987/88:93).

I regeringens proposition (2017/18:147) till gällande djurskyddslag (2018:1192) står att läsa "Regeringen anser inte heller att det i nuläget bör införas en taxonomisk undre gräns som uttryckligen utesluter vissa arter från djurskyddslagens tillämpningsområde. Liksom tidigare bör dock lagens bestämmelser inte tillämpas på alla kategorier av djur. Djurskyddslagens grundläggande syfte är fortfarande, som har angetts i avsnitt 6.1, att förebygga och förhindra att djur utsätts för lidande. Det är naturligt att kunskapen om djurs förmåga att känna smärta och uppleva lidande får vara vägledande för i vilken grad olika bestämmelser i lagen är tillämpliga. Genom den forskning som bedrivs ökar kontinuerligt kunskapen om olika djurarter. Nya vetenskapliga rön och förändringar av den faktiska djurhållningen kan medföra att det uppstår ett behov av mer detaljerade bestämmelser om hållande och hantering av vissa djur som i dag inte regleras särskilt."

Eftersom det inte varit klarlagt huruvida leddjur omfattas av djurskyddslagen saknas det således specifika föreskrifter för hållande av leddjur. Däremot finns det både lag, förordning och föreskrifter gällande sjukdomar honungsbin och förebyggande och kontroll av smittsamma sjukdomar hos dessa. Länsstyrelserna har dock gjort en gemensam tolkning av att honungsbin (tambin) omfattas av djurskyddslagen då de hålls av människa. Det ställs inga krav på daglig tillsyn men länsstyrelserna menar att honungsbin kan omhändertas i det fall bikupor övergivits av ägaren och att personer med djurförbud inte heller skulle tillåtas hålla honungsbin.

Leddjuren omfattas inte heller av försöksdjurslagstiftningen, varken på europeisk eller nationell nivå där dock rundmunnar som är primitiva ryggradsdjur (ryggsträngsdjur) samt bläckfiskar ingår (Europaparlamentets och rådets direktiv 2010/63/EU; Djurskyddsförordning 2019:66).

Enligt Europaparlamentets och rådets förordning (EU) 2015/2283 är både hela och delar av insekter nya livsmedel som får säljas efter godkännande av EU-kommissionen.

Mjölmask (*Tenebrio molitor*), europeisk vandringsgräshoppa (*Locusta migratoria*), hussyrsa (*Acheta domesticus*) och buffalolarv (*Alphitobius diaperinus*) är godkända att säljas som livsmedel (Livsmedelsverket, 2023). Utöver dessa arter är även drönarpuppa (*Apis mellifera*) och svart soldatfluga (*Hermetia illucens*) godkända som livsmedel under en övergångsperiod.

## 2.5 Litteratur

Litteratursökningar gjordes i t.ex. Web of Science, Google Scholar och PubMed. Facklitteratur i bokform har också utnyttjats.

Följande sökord har använts i olika böjningar och kombinationer:

Nociception, pain, welfare, sentience, perception, nervous system, stress, pain, suffer, cognition, complex behaviors, cognitive abilities, health, welfare, crustaceans, decapod, arthropod, insect, drosophila melanogaster, social insects, arachnid, spider, Apis mellifera, Bombus Malacostraca, Penaeoidea, Sergestoidea, Acetes japonicas, Anomura, Astacidea, Brachyura, Caridea, Palinura, Daphnia, Artemia, Branchiopoda, crab, crayfish, lobster, langust, shrimp, prawn, vannemei, nephrops.

Nya sökningar har även gjorts utifrån referenslistor i funna, relevanta artiklar och rapporter.

Totalt ingår 181 vetenskapliga artiklar samt 29 övriga rapporter, böcker, och andra hänvisningar i referenslistan.

Det finns en rapport som sedan tidigare sammanställt aktuell forskning gällande förmåga till smärta och lidande hos kräftdjur. The London Schools of Economics and Political Science publicerade år 2021 rapporten "Review of the Evidence of Sentience in Cephalopod Molluscs and Decapod Crustaceans" (Birch *et al.* 2021). I rapporten har man gått igenom över 300 vetenskapliga artiklar samt tagit fram ett ramverk för att utvärdera bevis för förmågan till att känna smärta och uppleva stress hos cephalopoder (bläckfisk m.fl.) och decapoder (tiofotande kräftdjur såsom krabbor, kräftor, hummer och räkor), dvs. utvärdera bevis för huruvida dessa djur är kännande varelser. Rådet har gått igenom rapporten som används och refereras till i lämpliga delar gällande decapoder. Vidare finns en rapport som sedan tidigare sammanställt aktuell forskning gällande förmåga till smärta hos insekter, "Can insects feel pain? A review of the neural and behavioural evidence" (Gibbons *et al.* 2022a). Rådet har gått igenom rapporten som används och refereras till i lämpliga delar gällande insekter. Slutligen har Sneddon *et al.* (2014) gjort en omfattande litteratursammanställning avseende förmåga att uppleva smärta hos däggdjur, fåglar, reptiler, amfibier, fiskar, mollusker och artropoder (decapoder respektive insekter). Även denna sammanställning hänvisas till i valda

delar. I boken *The Welfare of Invertebrates* (Carere & Mather, 2019) finns också en av mindre sammanställning av spindlars förmåga att känna smärta, stress och lidande (se Kralj-Fišer & Gregorič (2019)).

### 3 Smärta och lidande

The International Association for the Study of Pain (IASP) definierar smärta som “An unpleasant sensory and emotional experience associated with, or resembling that associated with, actual or potential tissue damage” (Raja *et al.*, 2020). I den nya definitionen från 2020 finns även adderat sex noteringar till definitionen (Raja *et al.*, 2020), fritt översatt som:

- Smärta är alltid en individuell upplevelse som påverkas i olika grad av biologiska, psykologiska och sociala faktorer.
- Smärta och nociception är olika fenomen. Smärta kan inte enbart härledas från aktivitet i sensoriska neuron (känselfeurope).
- Individerna lär sig om smärta genom livserfarenheter.
- En individs upplevelse av smärta ska respekteras.
- Trots att smärta ofta fyller en adaptiv funktion kan smärta ha negativa effekter på funktion samt socialt och psykiskt välmående.
- Verbal beskrivning är bara ett av flera sätt för att uttrycka smärta; oförmåga att kommunicera utesluter inte möjligheten att en människa eller ett djur kan uppleva smärta.

En central förändring i den nya definitionen, jämfört med den tidigare från 1979, är att definitionen inte längre baseras på terminologi som utgår från individens förmåga att verbalt beskriva smärtupplevelsen (Raja *et al.* 2020).

Smärta delas in i olika typer beroende på orsak och ursprung. Nociceptiv smärta härrör från faktisk eller hotande vävnadsskada och orsakas av aktivering av nociceptorer. Neuropatisk smärta orsakas av skador eller sjukdomar som drabbar det sensoriska nervsystemet (det sensoriska och viljestyrda motoriska nervsystemet). Nociplastisk smärta uppstår genom förändrad nociception i avsaknad av faktisk eller hotande vävnadsskada och tillhörande retning av nociceptorer eller skador eller sjukdomar i det sensoriska nervsystemet (Raja *et al.* 2020), dvs. smärtan är inte av nociceptivt eller neuropatiskt ursprung. När Rådet i yttrandet nämner smärta så avser det nociceptiv smärta och upplevelsen därav. Att kunna uppleva smärta innebär att djuret skulle kunna uppleva ett fysiskt lidande beroende på smärtans intensitet och varaktighet (se definition av lidande under 2.3).

Att vara en kännande varelse (sentient being) kan definieras som att ha förmågan att känna men också att vara medveten och ha subjektiva erfarenheter, men behöver inte



innefatta avancerad kognitiv förmåga, vilket bl.a. framförs av Vallortigara (2017). Broom (2013) beskrev kännande varelser som djur som har möjlighet att skilja mellan sina egna handlingar och andras, och som kan handla utefter minne och erfarenhet. Att ett djur kan uppvisa komplexa beteenden indikerar att ett djur är en kännande varelse med medvetande och vissa kognitiva förmågor, och att djuret därmed skulle kunna ha möjlighet att uppleva fysiskt och psykiskt lidande. Pollo & Vitale (2019) menar dock att för mycket fokus på kognitiva och intellektuella delar av medvetenhet kan ta fokus från andra lika viktiga aspekter, och att det inte krävs mycket mental kapacitet för att uppleva sådant som smärta, rädsla och hunger.

Djurs förmåga att uppleva smärta och lidande har betydelse för hur vi håller dem eftersom djurskyddslagen är en förebyggande lagstiftning som ska skydda djur mot onödigt lidande och sjukdom. Djur som anses vara kännande varelser med förmåga att uppleva lidande behöver således hållas på ett sätt som tar hänsyn till deras artspecifika behov och på ett sätt som inte riskerar att leda till att djuren blir sjuka och skadade, får onormala eller avvikande beteenden eller är förhindrade att uppvisa naturliga beteenden.

## **4 Generell smärtfysiologi hos däggdjur**

### **4.1 Nervsystemet**

Nervsystemets celler kallas nervceller eller neuron. I den mänskliga hjärnan beräknas antalet nervceller uppgå till över 100 miljarder. Utöver nervceller utgörs nervvävnaden även av stödjeceller (glia-celler) och deras volym utgör > 50 % av nervvävnaden. Kommunikationen i nervsystemet sker genom kemiska signalsubstanser som frisätts från nervcellen och binder till mottagarenheter (receptorer) för att utöva en effekt på mottagande cell, som kan vara en annan nerv-, körtel- eller muskelcell. Däggdjurens nervsystem delas in i det centrala nervsystemet och det perifera nervsystemet. Centrala nervsystemet delas i sin tur in i hjärna och ryggmärg, medan perifera nervsystemet utgörs av hjärn- och ryggmärgsnerver (Sjaastad *et al.* 2016).

Däggdjurens hjärna delas in i storhjärnan, mellanhjärnan, hjärnstammen och lillhjärnan. Storhjärnan består av två hjärnhalvor. Det yttersta lagret av storhjärnan utgörs av hjärnbarken, som i sin tur delas in i motoriska och sensoriska områden. De sensoriska områdena mottar information om syn, hörsel och känsel, inklusive smärta. I mellanhjärnan återfinns många olika strukturer, bland annat hypotalamus som är överordnad det endokrina (hormonella) systemet och det autonoma nervsystemet. Hjärnstammen förmedlar information mellan ryggmärgen och hjärnan. I lillhjärnan sker samordnandet av muskelrörelser och kontroll av kroppsställningen. Ryggmärgen förbinder hjärnan med det perifera nervsystemet. Ryggmärgen sänder ut motoriska nerver till musklerna och mottar information från sensoriska nerver som leder

sensoriska impulser, inklusive smärtimpulser, från kroppens olika delar för vidare tolkning i storhjärnan (Sjaastad *et al.* 2016).

Perifera nervsystemet omfattar alla delar av nervsystemet som inte utgörs av hjärnan och ryggmärgen, inklusive hjärn- och ryggmärgsnerverna. De somatomotoriska nervcellerna är viljestyrda och styr skelettmuskulaturen och därmed kroppens rörelser. Det autonoma nervsystemet delas in i det sympatiska och det parasympatiska nervsystemet, är inte viljestyrt och påverkar aktiviteten i glatt muskulatur, hjärtmuskulatur och körtlar. Tillsammans med det endokrina (hormonella) systemet är autonoma nervsystemet ansvarigt för att upprätthålla kroppens inre miljö (homeostas). En förändring i kroppens inre miljö registreras av sinnesceller, som skickar informationen till centrala nervsystemet (Sjaastad, *et al.* 2016).

#### **4.2 Smärtfysiologi**

I däggdjurens hud, muskulatur, benhinnor, inre organ och många andra vävnader finns specifika sinnesreceptorer, s.k. nociceptorer. Dessa svarar på olika typer av vävnadsirritation eller vävnadsskada. Nociceptorerna aktiveras av termiska (skadligt höga respektive låga temperaturer) och mekaniska (exempelvis tryck och slag) stimulus, samt kemiska mediatorer. Kemiska mediatorer inkluderar ett antal ämnen (ex. prostaglandiner, bradykininer och histamin) som frisätts i samband med vävnadsskada och aktiverar eller potentierar nociceptorerna. Det finns två olika typer av perifera nervfibrer som leder smärtstimulus, A $\alpha$ - och C-fibrer. A $\alpha$ -fibrer har snabb ledningsförmåga och förmedlar skarp och vällokaliserad smärta, medan C-fibrerna har långsammare ledningsförmåga och förmedlar dov och mer diffus smärta. A $\alpha$ - och C-fibrer leder impulsen in till ryggmärgen och sedan vidare till hjärnan. I hjärnan når impulsen delar av hjärnbarken och andra områden för upplevelse av lokalisering och intensitet samt eventuella affektiva/emotionella och kognitiva aspekter (Brodin *et al.*, 2016; Sjaastad, *et al.*, 2016). Centrala nervsystemet innehåller även nedåtgående smärthämmande banor som via olika signalsubstanser och mekanismer hämmar smärtimpulsen i ryggmärgen från att nå hjärnan (Brodin *et al.*, 2016).

### **5 Leddjurens nervsystem**

Det finns många kunskapsluckor att fylla rörande leddjurens nervsystem. Vidare finns en stor variation mellan olika ordningar och arter eftersom olika arter har anpassats till olika och i många fall vitt skilda livsmiljöer (Barth, 2002; Birch *et al.* 2021; Gibbons *et al.* 2022a).

Liksom hos däggdjur utgörs cellerna i leddjurens nervsystem av nervceller (neuron). Leddjurens nervsystem är segmenterat och kan grovt delas in i hjärnan som återfinns i huvudet, och den ventrala nervsträngen som löper från huvudet mot buken och

förbinder nervcellskroppar/nervknutor i varje kroppssegment varifrån mer perifera nerver förgrenar sig. Den ventrala nervsträngen är den funktionella motsvarigheten till ryggmärgen hos ryggradsdjur och det är den som koordinerar neurala signaler från hjärnan till kroppen och vice versa, och integrerar sensorisk input och rörelseeffekt (Smarandache-Wellman, 2016). Till och från centrala nervsystemet går motoriska och sensoriska nerver.

Hjärnan (supraesophagala gangliet) består av tre huvudsakliga samlingar av neuropiler (d.v.s. tätt sammanflätade neuroner) som är sammankopplade med varandra via ett centralt komplex (Barth, 2002; Birch *et al.*, 2021; Sandeman *et al.*, 2014; Smarandache-Wellman, 2016; Utting *et al.*, 2000).

Den främre regionen i hjärnan kallas protocerebrum och bearbetar i första hand visuell information (Barth, 2002; Birch *et al.*, 2021; Sandeman *et al.*, 1995; Smarandache-Wellman, 2016). I protocerebrum finns några framträdande områden som står för merparten av den sensoriska integreringen: svampkropparna, det centrala komplexet och de laterala hornen (Gibbons *et al.*, 2022a; Smarandache-Wellman, 2016). Svampkropparna är framträdande nervcellslobor (Karolinska institutet, 2023) som förekommer i de flesta undersökta leddjuren, undantaget t.ex. decapoder och hoppborstsvansar (*Archaeognatha*). Decapodernas motsvarighet till svampkroppar kallas hemiellipsoidkroppar, och hos både decapoder och insekter är hemiellipsoidkroppar respektive svampkroppar centrala för inläring, minne och sensorisk integration. Sensorisk integration är den neurologiska process som bearbetar och samordnar olika sinnesintryck från både kropp och omgivning (Birch *et al.*, 2021; Gibbons *et al.*, 2022a; Smarandache-Wellman, 2016). Även hos spindlar är svampkropparna och det centrala komplexet delar av protocerebrum, men spindlarnas svampkroppar anses inte vara homologa med svampkropparna hos decapoder och insekter. Även det centrala komplexet skiljer sig. Hos spindlar är det centralt för motorisk funktion (Barth, 2002), medan det hos insekter, beroende på insektsordning svarar på visuell, olfaktorisk, proprioceptiv (från kroppens egna vävnader/kroppsdelar), mekanosensorisk eller nociceptiv information (Gibbons *et al.*, 2022a). Vidare är protocerebrum hos spindlar placerad tillsammans med det chelicerala gangliet, vilket anses vara spindlarnas motsvarighet till decapodernas andra antenn (Barth, 2002).

Den andra regionen i hjärnan är deutocerebrum, som tar emot information från decapoders och insekters första uppsättning antenner, vilket omfattar olfaktorisk, kemosensorisk och mekanisk information. I deutocerebrum ingår också s.k. accessoriska lobor, som hos vissa decapoder och insekter hjälper till att integrera taktill och olfaktorisk information med visuell information från protocerebrum (Birch *et al.*, 2021; Sandeman *et al.*, 1995; Smarandache-Wellman, 2016). Till skillnad från decapoder och insekter, så saknar spindlar antenner vilket gör att deutocerebrum, som hanterar information från antennerna, har förenats med protocerebrum och därför saknas som separat region hos spindlar (Barth, 2002).

Den tredje regionen i hjärnan kallas tritocerebrum, och bearbetar kemisk och mekanisk information från det andra paret antenner, mundelarna och från resten av kroppen hos decapoder och insekter (Birch *et al.*, 2021; Sandeman *et al.*, 2014; Smarandache-Wellman, 2016).

Hos spindlar innehåller protocerebrum tillsammans med det chelicerala gangliet ca 50 000 neuron. Detta är betydligt färre än hos insekter där hjärnan hos europeisk vandringsgräshoppa innehåller minst 360 000 nervceller och supraesofagiala gangliet hos honungsbin ca 960 000 neuron (Barth, 2002). Hos spindlar utgör protocerebrum ca 15 % av centrala nervsystemet, medan resterande 85 % utgörs av ventrala nervsträngen. Till skillnad från hjärnan hos decapoder och insekter, så mottar spindlarnas hjärna direkta signaler endast från ett sinnesorgan (ögonen). Ventrala nervsträngen är central för övriga sensoriska banor hos spindlar (Barth, 2002; Smarandache-Wellman, 2016).

Hos både ryggradsdjur och ryggradslösa djur sker den kemiska kommunikationen i centrala nervsystemet via olika signalsubstanser. Vissa signalsubstanser kan fungera som neurotransmittorer när de frisätts lokalt i centrala nervsystemet men också verka som hormoner när de frisätts ut i blodbanan (däggdjur) eller hemolymfan (leddjur) (Blenau & Baumann, 2001; Sjaastad, *et al.*, 2016; Ritter *et al.*, 2019). Leddjur har, till skillnad från däggdjur, öppna kärlsystem. De har därmed inget blod och ingen interstitialvätska utan i stället en vätska utanför cellerna som kallas hemolymfa. Hemolymfa utövar motsvarande funktioner hos leddjuren som blodet gör hos däggdjur (Lunds universitet, 2016). Stora och viktiga grupper av signalsubstanser avhandlas i texten nedan, medan ytterligare ämnen avhandlas efter relevans i texten.

Två signalsubstanser verkar som hjärnans "gas" respektive "broms"; glutamat är stimulerande (excitatorisk) och gamma-aminosmörtsyra (GABA) är hämmande (inhibitorisk) (Ritter *et al.*, 2019; Sjaastad *et al.*, 2016). Aktivering av GABA är förknippat med lugnande, sövande och ångestdämpande effekter hos däggdjur (Ritter *et al.*, 2019). GABA-systemet är evolutionärt konserverat och fungerar på likartat sätt hos både däggdjur (Ritter *et al.*, 2019; Sjaastad, *et al.*, 2016), decapoder och insekter (Birch *et al.*, 2021; Gibbons *et al.*, 2022a), medan funktionen hos spindlar är mer okänd (Barth, 2022), men kan antas vara densamma som hos decapoder och insekter.

En annan viktig grupp signalsubstanser utgörs av biogena aminer (adrenalin, noradrenalin, dopamin, serotonin och histamin). De kontrollerar och modulerar olika fysiologiska funktioner som exempelvis cirkadiska rytmer/dygnsrytmer, mentala tillstånd, endokrin/hormonell reglering, sexuellt beteende samt inlärning och minne (Ritter *et al.*, 2019; Sjaastad *et al.*, 2016). Vissa biogena aminer återfinns hos både ryggradsdjur och ryggradslösa djur (dopamin, serotonin och histamin), medan andra återfinns hos den ena eller andra gruppen; adrenalin och noradrenalin hos ryggradsdjur

och oktopamin och tyramin hos ryggradslösa djur inklusive leddjur. Noradrenalin och oktopamin är kemiskt närbesläktade och det har därför föreslagits att det noradrenerga/adrenerga systemet hos ryggradsdjur motsvaras av det tyraminerga/oktopaminerga systemet hos ryggradslösa djur inklusive leddjur. Lite är känt om den fysiologiska funktionen hos tyramin. Oktopamin fungerar som neurotransmittor, -modulator och -hormon hos insekter och oktopamin anses bland annat vara central för leddjurens stressreglering ("fight or flight" system). Hos insekter fungerar histamin som en sensorisk neurotransmittor (Blenau & Baumann, 2001). Serotonin, oktopamin och histamin finns hos spindlar, men den fysiologiska funktionen är okänd (Barth, 2002).

Endogena opioida peptider är kroppsegna morfinlika substanser som binder till opioida receptorer, varav en av dessa är den huvudsakliga receptorn för utifrån tillförda läkemedel av morfintyp. Hos däggdjur är opioida receptorer vitt spridda i hjärnan och ryggmärgen (Ritter *et al.*, 2019; Sjaastad, *et al.*, 2016). De är involverade i bland annat positiv förstärkning/inläring tillsammans med dopamin i belöningsnätverk (Ritter *et al.*, 2019; Sjaastad, *et al.*, 2016) och är centrala för endogen smärthämning via aktivering av nedåtgående smärthämmande banor, som resulterar i att överföringen av smärtimpulsen i ryggmärgen hämmas (Brodin *et al.*, 2016; Sjaastad, *et al.* 2016). Läkemedel av morfintyp är de mest effektiva smärthämmande läkemedlen vid nociceptiv smärta (Ritter *et al.*, 2019). Endogena opioider återfinns hos decapoder (Birch *et al.*, 2021), men insekter saknar opioidreceptorer (Elphick *et al.*, 2018; Jékely, 2013; Kreienkamp *et al.*, 2002; Mirabeau & Joly, 2013).

På motsvarande sätt som att det finns kroppsegna morfinlika substanser (endogena opioida peptider) så finns det kroppsegna cannabisliknande substanser (endocannabinoider) (Ritter *et al.* 2019). Utöver ryggradsdjur, finns dessa i ett antal olika ryggradslösa djur inklusive leddjur (Paulsen & Burrell, 2019; Ritter *et al.*, 2019). Ryggradslösa djur har receptorer som liknar ryggradsdjurens cannabinoida receptorer, men endocannabinoiderna verkar även via andra mål inklusive TRP-kanaler (se nedan), samt receptorer för serotonin och endogena opioider. Cannabinoider har främst förknippats med deras smärtstillande egenskaper, men på senare tid har de även rapporterats besitta smärtframkallande egenskaper. Mekanismen tros vara att endocannabinoider har olika effekt på nociceptiva och icke-nociceptiva neuron i ryggmärgen, att endocannabinoider har smärtstillande effekter genom att hämma nociceptiva signaler och smärtframkallande effekter genom att minska anti-nociceptiva signaler. Bevis för dessa teorier har hittats i ett mindre komplext nervsystem i blodiglar (*Hirudo medicinalis*), men verkar även finnas hos andra ryggradslösa djur, gnagare och människa (Paulsen & Burrell, 2019). Om endocannabinoider finns fortfarande mycket att lära.

Familjen "transient receptor potential"-kanaler, förkortat TRP-kanaler, utgörs hos däggdjur av 28 olika jonkanaler (hos människa 27) som fyller en rad olika fysiologiska

funktioner. TRP-kanaler finns inte hos bakterier (*Bacteriae*) eller arkéer (*Archaea*; encelliga organismer). TRP-kanalerna upptäcktes först i bananflugan (*Drosophila melanogaster*) och har sedan dess studerats flitigt i olika djurslag. TRP-kanalerna delas in i olika subfamiljer. Ett antal TRP-kanaler (exempelvis olika typer av TRPV-kanaler) karaktäriseras av deras känslighet för temperatur, i ett intervall från skadligt varmt till skadligt kallt. Det är även olika TRP-kanaler som ger upphov till de sensoriska effekterna av senapsolja, mentol, kamfer eller capsaicin (ämnet som ger "hetta" i chilifrukt). TRP-kanaler är även bindningsställen för kroppsegna cannabinoider (endocannabinoider) och delta-9-tetrahydrocannabinol (delta-9-THC), som är det huvudsakliga psykoaktiva ämnet i cannabis (Nilius & Szallasi, 2014; Ritter *et al.*, 2019). Vilken roll TRP-kanalerna spelar för direkt aktivering av mekaniska stimulus hos däggdjur är inte helt klart (Nilius & Szallasi, 2014). Hos andra grupper är det känt att TRP-kanaler aktiveras av en rad av olika mekanismer och stimulus inklusive termiska, mekaniska och kemiska stimulus, men många funktioner är fortfarande okända (Himmel & Cox, 2020). Flera undergrupper återfinns enbart hos leddjur eller insekter (inte däggdjur). Hos insekter är TRPV-kanalen även känslig för fukt och mekaniska stimulus (Himmel and Cox, 2020). Om TRP-kanaler finns fortfarande mycket att lära.

## **6 Kriterier för bedömning av smärta och smärtupplevelser hos leddjur**

Det har pågått en intensiv debatt i litteraturen (Adamo, 2016, 2019; Barron & Klein, 2016; Elwood, 2016; Klein & Barron, 2016; Sneddon *et al.*, 2014; Walters & Williams, 2019) om huruvida leddjur är kännande varelser, på motsvarande sätt som däggdjur, med förmåga till subjektiva upplevelser av exempelvis smärta. När det kommer till smärta hos djur ligger svårigheten i att avgöra om djuret reagerar med en reflex på en skadlig stimulus eller om djuret upplever smärta, där smärtupplevelsen kan utgöra en subjektiv upplevelse förknippad med negativa affektiva tillstånd (Sneddon *et al.*, 2014).

Den mest använda definitionen av smärta hos djur är (fritt översatt) en aversiv sensorisk upplevelse orsakad av faktisk eller potentiell vävnadsskada som utlöser skyddande och vegetativa (d.v.s. icke viljestyrda kroppsliga funktioner som andning och hjärtfrekvens) reaktioner, resulterar i inlärda beteenden och kan resultera i påverkan på artspecifika beteenden. Vidare ska djur med akut smärta nästan omedelbart, som en reflex, förflytta sig bort från det smärtframkallande stimuli och lära sig att undvika det. Slutligen ska djuret uppvisa bestående förändringar i beteende i skyddande syfte för att minska ytterligare skada och smärta, förhindra att skadan inträffar igen och främja läkning och återhämtning (se Sneddon, 2009; Sneddon *et al.*, 2014).

När olika leddjurs förmåga att uppleva smärta bedömts har följande kriterier använts (fritt översatt från Birch *et al.*, 2021 och Gibbons *et al.*, 2022a (modifierade från tidigare använda kriterier av Sneddon *et al.*, 2014 och Smith & Boyds, 1991):

1. Nociceptorer: Djuret har receptorer som är känsliga för skadliga stimulus (nociceptorer).
2. Integrerade hjärnregioner: Djuret har hjärnregioner som kan integrera information från olika sensoriska källor.
3. Integrerad nociception: Djuret har neuronala banor som förbinder nociceptorerna med hjärnregionerna.
4. Analgesi: Djurets beteenderespons på ett skadligt stimulus moduleras av kemiska ämnen som påverkar nervsystemet på ett eller båda av följande sätt:
  - a) Kroppseget: Djuret har kroppsegna signalsubstanser som modulerar beteenderesponsen på hotande eller faktiskt skadliga stimulus på ett sätt som överensstämmer med upplevelsen av smärta, stress eller skada.
  - b) Utifrån tillförda substanser: Förmodade lokalanestetika, smärtstillande medel (ex. opioider), ångstdämpande medel eller antidepressiva medel modifierar ett djurs beteenderespons på hotande eller faktiskt skadliga stimulus på ett sätt som överensstämmer med hypotesen att dessa substanser dämpar upplevelsen av smärta, stress eller skada.
5. Beteendemässiga avvägningar: Djuret visar beteendemässiga avvägningar, där värdet av ett skadligt eller hotfullt stimulus vägs mot värdet av en möjlighet till belöning, och resulterar i ett flexibelt beslutsfattande. Tillräcklig flexibilitet måste visas för att indikera centralnervös, integrerad behandling av information som inbegriper en utvärdering.
6. Flexibelt självskydd: Djuret visar ett flexibelt självskyddande beteende (t.ex. sårvård och/eller skyddande, putsning eller gnuggning av smärtande kroppsdel) av en typ som sannolikt innebär att representera den kroppsdel som utsatts för skadliga stimulus.
7. Associativt lärande: Djuret visar associativt lärande där skadliga stimulus blir associerade med neutrala stimulus och/eller där nya sätt att undvika skadliga stimulus lärs in genom förstärkning.
8. Preferens för analgesi: Djuret visar att de värdesätter ett förmodat smärtstillande eller bedövande medel när det skadas på ett eller flera av följande sätt:
  - a) Självadministrering: Djuret självadministrerar (intar frivilligt) analgetika eller bedövningsmedel när de skadas.
  - b) Betingad platspreferens: Djuret associerar och föredrar en plats där analgetika eller bedövningsmedel kan nås framför en neutral plats.
  - c) Prioritering: Djuret prioriterar att få smärtstillande eller bedövande medel framför andra behov, som mat, när det skadas.

Kriterierna som används är tydliga, kan testas empiriskt och är utformade för att bedöma just ryggradslösa djurs förmåga att uppleva smärta. Kriterierna 5, 6 och 7 är exempel på komplexa beteenden. I slutet på kapitel 7 och 8 finns sammanställningar av Birch *et al.* (2021) och Gibbons *et al.* (2022a) slutgiltiga bedömning av "graden av

säkerhet” när det gäller bevis för olika leddjurs förmåga att känna smärta enligt de 8 olika smärtekriterierna. Noterbart är att vart och ett av dessa kriterier sannolikt är nödvändiga, men var för sig inte alltid tillräckliga som bevis för ett djurs förmåga att uppleva smärta. Samtidigt är avsaknad av bevis inte bevis för att djuret inte uppfyller kriteriet. Kriterierna används således bara för att styrka att det finns bevis för att ett djur kan uppleva smärta. Det är också viktigt att påpeka att inget enskilt kriterium ger i sig självt avgörande bevis för ett djurs förmåga att uppleva smärta utan att alla kriterier är relevanta och har vägts in i Rådets slutgiltiga bedömning.

Även om det finns kritiker som menar att användningen av denna typ av kriterier lägger ribban för smärta så pass ”låg” att det inte längre motsvarar hur ordet smärta definieras, används och förstås av människor (Diggles, 2019) så har Rådet i följande avsnitt gått igenom de åtta kriterier som angetts ovan under kap. 6 och som föreslagits utgöra bevis för att djur har de förmågor som krävs för att anses vara en kännande varelse och kunna uppleva smärta. En sammanställning av dessa bevis redovisas även i tabellerna 1 och 2.

## 7 Kräftdjur (*Crustacea*)

En stor och varierad understam av leddjuren är kräftdjuren (*Crustacea*). Gruppen omfattar cirka 70 000 arter och innefattar allt från hoppkräftor som bara är några få mm stora till japanska spindelkrabbor som med sina cirka 4 m är det största kända levande leddjuret. Även när det kommer till levnadssätt så finns det stora variationer inom kräftdjuren. De flesta är vattenlevande och störst är artrikedomen i havet, men det finns även landlevande kräftdjur, så som en del gråsuggor och krabbor. En del lever fästa vid ett underlag, som havstulpaner, medan de flesta är frilevande. Det finns både arter som simmar fritt i vattnet (antingen solitära eller i stim) och de som är bottenlevande. Kräftdjur livnär sig också på många olika sätt. Vissa är rovdjur, andra är asätare och det finns de som är filtrerare eller lever av att beta alger och andra mikroorganismer. Det finns även en del kräftdjur som lever som parasiter (t.ex. laxlus).

Traditionellt delar man upp kräftdjuren i fem klasser: *Remipedia*, *Branchiopoda*, *Malacostraca*, *Ostracoda*, *Maxillopoda*. Här kommer vi framför allt fokusera på klassen *Malacostraca* (högre kräftdjur eller storkräftor) och ordningen *Decapoda* (tiofotade kräftdjur) som infattar bland annat humrar, krabbor, kräftor och äkta räkor, vilka på många håll i världen är av stor ekonomisk betydelse för fisket. Den modernare systematiken för Decapoder varierar en del men här har vi använt den indelning som följer Martin & Davis (2001). Här är decapoderna indelade i de två underordningarna *Dendrobranchiata* och *Pleocyemata*. I *Dendrobranchiata* ingår två överfamiljer som är av intresse för rapporten: *Penaeoidea* (där jätteräkor ingår) och *Sergestoidea* (världens mest fiskade räka *Acetes japonicus* ingår). I underordningen *Pleocyemata* ingår de kommersiellt viktiga infraordningarna *Anomura* (kungskrabbor, eremitkräftor m.fl.),



*Astacidea* (kräftor och humrar), *Brachyura* (äkta krabbor), *Caridea* (äkta räkor) och *Palinura* (languster).

Förutom Decapoder, vilka framför allt nyttjas för humankonsumtion, har vi även gjort en systematisk genomgång av kunskapsläget gällande släktena *Daphnia* och *Artemia*, båda inom klassen *Branchiopoda* (bladfotingar). Båda dessa släkter används i hög grad av människor genom att de odlas som foder för fiskar, hålls som hobbydjur eller används som djurmodell inom forskning (t.ex. vid ekotoxikologiska undersökningar).

Decapoderna är den överlägset mest undersökta ordningen bland kräftdjuren och tidigare samanställningar i ämnet inkluderar Sherwin (2001), AHAW (2005), Elwood *et al.* (2009), Gherardi (2009), Broom (2014), Sneddon *et al.* (2014), Sneddon (2015), Burrell (2017), Walters (2018), Elwood (2019a, b), Birch *et al.* (2021) och Crump *et al.* (2022).

### **7.1 Har decapoder receptorer som är känsliga för skadliga stimulus (nociceptorer)?**

Den vanligaste metoden för att påvisa förekomsten av nociceptorer är genom identifiering av perifera sensoriska neuroner som svarar på en potentiellt skadlig stimulus genom förändrad elektrisk aktivitet. Detta har man ännu inte gjort för någon art bland decapoderna (Sneddon *et al.*, 2014; Walters, 2018). Det starkaste beviset för att nociceptorer förekommer hos decapoder kommer från en studie av Puri & Faulkes (2015) där de, genom extracellulära mätningar, visade att antenner från arten röd sumpkräfta (*Procambarus clarkii*) svarade på värmebehandling med ökad elektrisk aktivitet jämfört med en kontrollbehandling. Den ökade elektriska aktiviteten var dock inte ett generellt svar på all typ av potentiella skadliga stimulus, då samma forskargrupp på samma art, inte lyckades påvisa några bevis för att nociceptorer i kräftans antenner reagerade på extrema pH-värden från lut (natriumhydroxid, NaOH) och saltsyra (HCl), capsaicin (den "heta" kemikalien som finns i chilipeppar) eller isotiocyanat (den "heta" kemikalien som finns i wasabi) (Puri & Faulkes, 2010, 2015). Här bör dock tilläggas att för att en nociceptor ska utvecklas i en djurgrupp så bör också stimulit vara evolutionärt relevant för djuret. Om detta förklarar resultaten i de ovannämnda studierna är dock oklart. I en annan elektrofysiologisk studie som inte syftade till att upptäcka nociceptorer, utan undersökte den elektriska känsligheten för stimulering av sensoriska receptorer på benklorna hos en stenkräfta (*Austropotamobius torrentium*) noterade författarna att kräftan hade mekanoreceptorer som endast reagerade på "starka mekaniska stimulus" (Altner *et al.*, 1983). Författarna hävdade inte att de hade hittat nociceptorer, men resultaten kan tyda på förekomst av mekaniska nociceptorer.

Det finns även en del indirekta molekylära bevis för att det förekommer nociceptorer hos decapoder. I en studie från 2020 kunde man visa att karibisk langust (*Panulirus argus*), amerikansk hummer (*Homarus americanus*), röd sumpkräfta och blåkrabba

(*Callinectes sapidus*) uttrycker TRPA-kanaler (Kozma *et al.*, 2018, 2020). TRPA-kanaler är viktiga eftersom vissa av dess varianter fungerar som receptorer för en mängd olika skadliga stimulus hos andra djurgrupper, från plattmaskar (Arenas *et al.*, 2017) till människor (Kádková *et al.*, 2017). Bland annat så uttrycker de fyra undersökta arterna TRPV1 (Kozma *et al.*, 2020), vilket anses vara en evolutionärt välbevarad jonkanal som är involverad i nociception hos däggdjur (Smith & Lewin, 2009). Förekomsten av TRPA-kanaler är dock inte ett bevis för förekomst av nociceptorer, eftersom samma jonkanaler kan ha olika funktioner i olika arter och i olika vävnader inom samma djur (Birch *et al.* 2021).

Sammanfattningsvis anser Birch *et al.* (2021) att graden av säkerhet för kriterium 1 är hög. Detta grundas i de genetiska bevis som finns tillsammans med bevis från andra leddjur. För att uppnå en väldigt hög grad av säkerhet så skulle behövas direkta neurofysiologiska bevis.

## **7.2 Har decapoder integrerande hjärnregioner som kan integrera information från olika sensoriska källor?**

Det är tydligt att kräftdjurens hjärnstruktur har potential att integrera information, dels på grund av den omfattande sammankopplingen av dessa olika hjärnregioner (Utting *et al.*, 2000), samt att vissa specifika strukturer (t.ex. hemiellipsoidkroppar) också är kända för att just integrera information (Strausfeld *et al.* 2020).

Ytterligare bevis för att hemiellipsoidkroppar har en högre bearbetningsfunktion gjordes i en studie på en art av krabba (*Neohelice granulata*) där forskarna visade att det var möjligt att färga in hemiellipsoidkroppar med antikroppar mot proteiner som är associerade med minnesprocesser, samt att de kunde se en ökad hemiellipsaktivitet kopplat till beteenden som författarna tolkade som inlärning och skapande av minne (Maza *et al.*, 2016).

En annan neural mekanism som skulle kunna möjliggöra decapoders förmåga att prioritera viktig information, involverar en typ av interneuroner som kallas "parasolceller". Dessa celler finns i den hemiellipsoida kroppen hos decapoder och har förmågan att förstärka signaler (DeForest Mellon, 2003). När ett kraftigt stimulus aktiverar en parasolcell uppstår en explosion av ökad aktivitet i den cellen och i angränsande celler, även om de angränsande cellerna inte tog emot den ursprungliga stimulusinmatningen (DeForest Mellon, 2003). Neurala mekanismer som denna skulle kunna möjliggöra hela organismens uppfattning, inlärning och beslutsfattande vid potentiella skador (Birch *et al.* 2021).

Vissa decapoder har mer utvecklade hemiellipsoidkroppar än andra vilket också kan påverka deras förmåga till att integrera information. Bland 19 studerade grupper hade krabbor (*Brachyura*) proportionellt sett de största hemiellipsoida kropparna följt av

eremitkräftor (*Anomura*), följt av olika räkor i underordningen äkta räkor (*Caridea*) (Strausfeld *et al.*, 2020; Machon *et al.*, 2019). Det är dock inte bara de hemiellipsoida kropparna som kan integrera information hos decapoder. Till exempel har man visat att astaciderna, kräftor och humrar, (*Astacidea*), som har en relativt små hemiellipsoidkroppar, kan integrera information med hjälp av den accessoriska loben inom deutocerebrum (Sandeman *et al.*, 2014; Sandeman *et al.*, 1995). Kombinationen av relativt små hemiellipsoidkroppar med stora accessoriska lober hos astaciderna skiljer sig mot andra decapoder där man sett det motsatta förhållandet med en liten accessorisk lob och en mycket stor hemiellipsoidkropp (Krieger *et al.*, 2010). Det är möjligt att integrationen av information kan ske antingen främst i accessorieloben, som hos kräftor och hummer, eller främst i de hemiellipsoida kropparna, som hos krabbor, eremitkräftor och vissa räkarter (Sandeman *et al.*, 2014).

Sammanfattningsvis anser Birch *et al.* (2021) att det finns väldigt hög grad av säkra bevis på att kriterium 2 uppfylls av äkta kräftor (*Brachyura*), eremitkräftor och kungskrabbor (*Anomura*), humrar och kräftor (*Astacidea*) och äkta räkor (*Caridea*). Den kan också uppfyllas av andra decapod-infraordningar, men inga andra har studerats i detalj.

### **7.3 Har decapoder nervbanor som förbinder nociceptorerna med de integrerande hjärnregionerna?**

För en generell beskrivning av decapodernas nervsystem se kap. 5. Det som inte avhandlas där är att det finns olikheter i nervsystemets organisation om man jämför långsträckta arter, som hummer och räkor, med mer kompakta arter som krabbor. Hos långsträckta arter är hjärnan kopplad till den ventrala nervsträngen, som löper längs med kroppens längd. Varje kroppssegment innehåller ett ganglion, och den ventrala nervsträngen förbinder dessa med varandra och förmedlar information till och från hjärnan (Ruppert & Barnes, 1994; Smarandache-Wellmann, 2016). Hos de mer kompakta arterna är de segmentala ganglierna inte ordnade linjärt längs en nervtråd, utan bildar istället en enda massa, det s.k. thoracala gangliet (Ruppert & Barnes, 1994; Smarandache-Wellmann, 2016). Även om det är visat att nervbanor förbinder andra sensoriska receptorer med de integrerande hjärnregionerna hos decapoder (Sandeman *et al.*, 2014), så saknas det fortfarande neurologiska bevis för att decapoder har specifika nervbanor som är involverade i överföringen av nociceptiv information (Birch *et al.* 2021).

Samanfattningsvis anser Birch *et al.* (2021) att det finns lågt grad av säkerhet för att decapoder uppfyller kriterium 3. Detta beror enbart på avsaknad på studier och bevis.

#### **7.4 Påverkas decapoders beteendemässiga reaktion på ett skadligt stimulus av kemiska föreningar som påverkar nervsystemet?**

Det råder inga tvivel om att decapoder har endogena neurotransmittersystem, inklusive endogena opioid-, serotonerga, dopaminerga och oktopaminerga (motsvarighet till noradrenalin och involverade i fight or flight hos ryggradslösa djur) system (se Harlioğlu *et al.*, 2020). Vad vi söker här är information om dessa signalsubstansers möjliga roll i att modulera djurens reaktioner på hotande eller faktiska skadliga stimulus.

Hos äkta krabbor (*Brachyura*) är dessa mekanismer framför allt undersökta för krabbarten *N. granulatus*. Studier har visat att djurens flyktreaktioner (Valeggia *et al.*, 1989; Romano *et al.*, 1990; Maldonado *et al.*, 1989; Godoy & Maldonado, 1995) och försvarsreaktioner (Lozada *et al.*, 1988) hämmades om de behandlades med en opioid. Vidare så har man visat att effekten av en opioid kan försvinna om djuren också behandlas med naloxon (en substans som blockerar effekterna av opioider) (Lozada *et al.*, 1988; Maldonado *et al.*, 1989). Sammantaget, så styrker resultaten att opioider kan ha en dämpande effekt på ett aversivt tillstånd även hos decapoder. Samtidigt har resultaten väckt frågan om huruvida effekten av opioiderna är att generellt hämma reaktionsförmågan på stimulus (Birch *et al.*, 2021; Diggles, 2019). Detta fenomen har påvisats för strandkrabba (*Carcinus maenas*) medan studier på krabbarten *N. granulatus* inte hittat bevis för att behandling med en opioid gav upphov till en allmän försämring av den motoriska förmågan som inte var relaterad till reaktioner på fara (Barr & Elwood, 2011; Tomsic & Maldonado, 1990, Tomsic *et al.*, 1991). Hur omfattande variationen är mellan olika decapoders känslighet för opioider är fortfarande okänt.

Det finns också belegg för att serotonin förmedlar reaktioner på stress hos decapoder. I en studie som publicerades i tidskriften Science visade Fossat *et al.* (2014) att röda sumpkräftor som utsattes för ett stressande elektriskt fält undvek att söka skydd i en arenas mörka delar, även efter att det elektriska fältet har avlägsnats. Efter att djuren injicerades med det ångstdämpande preparatet klordiazepoxid, återfick de sitt normala beteende och började åter söka skydd av mörker. De stressade djuren hade ökade nivåer av neurotransmittorn serotonin i hjärnan, och injektioner av serotonin framkallade ångstliknande beteende hos kontroldjuren. Forskarna tolkade detta som att kräftorna uppvisar en primitiv form av ångest som delar en mekanism med de mer komplexa känslor som uppvisas av ryggradsdjur. En uppföljningsstudie visade en positiv korrelation mellan mängden serotonin i hjärnan och graden av ljusundvikande, och visade återigen att administrering av klordiazepoxid upphävde ljusundvikande beteende (Fossat *et al.*, 2015). En annan studie från samma laboratorium på samma art som undersökte ljusundvikande beteende som framkallats av aggression från ett annat djur visade liknande resultat. Här kunde de se att stressade djur hade betydligt högre nivåer av serotonin i hjärnan och uppvisade betydligt större ljusundvikande beteende men att effekten återigen upphävdes genom att man gav kräftorna klordiazepoxid (Bacqué-Cazenave *et al.*, 2017). Liknade försök med liknande resultat har även gjorts på de två krabbarterna (infraordning *Brachyura*) *N. granulatus* och den randiga strandkrabban

(*Pachygrapsus crassipes*) (Aggio *et al.*, 1996; Hamilton *et al.*, 2016). Sammanfattningsvis har detta tolkats som högkvalitativa bevis för att serotonin reglerar ljusundvikande beteende som induceras av fysiologisk stress hos decapoder, på ett sätt som kan moduleras av ångestdämpande läkemedel (Birch *et al.*, 2021).

Hos den välstuderade krabban *N. granulatus* har man också visat att behandling med oktopamin, som ofta betraktas som ryggradslösa djurs motsvarighet till noradrenalin, kan leda till en förbättrad positiv inläring och försämrade aversiv inläring, vilket tolkats som ett stöd för hypotesen att det underlättar upplevelser av belöning men dämpar aversiva upplevelser (Kaczer & Maldonado, 2009; Kaczer *et al.*, 2011). Vidare har man visat att dopamin spelar ungefär den motsatta rollen jämfört med oktopamin, och förbättrar aversiv inläring och försämrar positiv inläring hos krabban *N. granulatus* på ett sätt som överensstämmer med hypotesen att det förstärker aversiva upplevelser och dämpar attraktiva upplevelser (Klappenbach *et al.*, 2012). Det finns också visst belegg för att det lokalbedövande medlet lidokain modulerar reaktioner på skador hos räkorna *Litopenaeus vannamei* och *Macrobrachium americanum* (Diarte-Plata *et al.* 2012; Taylor *et al.*, 2004).

Sammanfattningsvis anser Birch *et al.* (2021) att det finns väldigt hög grad av säkerhet för att kriterium 4 uppfylls av äkta krabbor (*Brachyura*) samt kräftor och humrar (*Astacidea*) och att det finns medelhög grad av säkerhet för att kriteriet uppfylls av äkta räkor (*Caridea*) och jätteräkor (*Penaeidae*). För andra taxa finns det inte tillräckligt med bevis för att kunna uppnå medelhög, hög eller väldigt hög grad av säkerhet.

### **7.5 Uppvisar decapoder beteendemässiga avvägningar, där det negativa värdet av en skadlig eller hotfull stimulus vägs mot värdet av en möjlighet till belöning?**

Vad som eftersöks här är studier som visar tecken på att ett djur är motiverat att undvika ett skadligt stimulus och att denna motivation vägs mot andra motiv i ett s.k. flexibelt beslutssystem.

En stor del av forskningen som gjorts i ämnet har fokuserat på eremitkräftor (*Pagurus bernhardus*) som modelldjur. Eremitkräftor lever i skal som producerats av andra djur. De föredrar vissa typer av skal framför andra och byter ut ett skal av låg kvalitet mot ett av hög kvalitet, vilket i sig självt en form av flexibelt beslutsfattande (Elwood *et al.*, 1979; Elwood, 1995). Det har också visat sig att eremitkräftor är mindre benägna att lämna ett skal av hög kvalitet än ett skal av låg kvalitet när de exponeras för en elektrisk stöt, vilket tolkats som bevis för att det negativa värdet av en skadlig stimulus vägs mot andra preferenser (Appel & Elwood, 2009a, 2009b). Studierna har dock fått motta en del kritik, dels eftersom det finns potentiella förväxlingsfaktorer (dvs. andra faktorer som skulle kunna påverka att djuret byter skal), dels för de statistiska analysmetoder som använts (Birch *et al.*, 2021; Diggles, 2019; Magee & Elwood, 2016a).

I ett annat försökt undersökte samma forskargrupp om eremitkräftor är mindre benägna att lämna sitt skal när de får en elchock om det omgivande vattnet innehåller lukten av ett rovdjur (Magee & Elwood, 2016a). Här fann forskarna inga kopplingar mellan elchockens styrka, och djurens benägenhet utrymma skalet mellan eremitkräftor som utsattes för lukten av ett rovdjureller inte. Dock fann de att eremitkräftor som utsattes för lukten av ett rovdjur var betydligt mer benägna att stanna kvar i sitt skal, även när de fick elchocker, än de som inte utsattes för någon lukt. Märkligt nog gav även en stark lukt av föda (en mussla) samma effekt (Magee & Elwood, 2016a). Resultaten tolkas som att ett beslut om evakuering av skalet påverkas av lukt men lyckas inte, på ett övertygande sätt, visa att eremitkräftorna kan avväga det relativa värdet av att undvika en elektrisk stöt mot att undvika ett rovdjur (Birch *et al.*, 2021).

Sammanfattningsvis anser Birch *et al.* (2021) att det finns medelhög grad av säkerhet för kriterium 5 för eremitkräftor och kungskrabbor (*Anomura*) men att det inte finns tillräckligt med bevis för att uppnå en medelhög, hög eller väldigt hög grad av säkerhet högre grad av säkerhet för andra taxa.

### **7.6 Uppvisar decapoder ett flexibelt självskydds beteende?**

Det vi letar efter här är studier som på ett övertygande sätt visar att decapoder har självskyddande beteenden som går utöver reflexer. För att uppfylla detta kriterium bör djuret kunna variera sin reaktion på ett målinriktat sätt, beroende på var på kroppen den skadliga stimulansen ges.

Applicering av ättiksyra i munnen på strandkrabbor ledde till att krabborna flyttade sina mundelar, skrapade på munnen med sina klor och försökte fly betydligt mer än en kontrollgrupp (Elwood *et al.*, 2017). När syran istället applicerades på ögonen såg forskarna liknande reaktioner fast riktade mot ögonen. Ett annat exempel på sårvårdande beteende har beskrivits hos krabbtaska (*Cancer pagurus*), där individer som fått ena klon avlägsnad genom att man helt enkelt dragit av den (ett tillvägagångssätt som används inom kommersiellt fiske) var betydligt mer benägna att röra vid såret med den kvarvarande klon eller de främre gångbenen jämfört med individer som förlorat en klo genom autotomi (självavlägsnande) (McCambridge *et al.*, 2016). I artikeln tillägger författarna även att krabbor som fått en klo manuellt avbruten skyddade sitt sår genom att placera den kvarvarande klon framför det skadade området (McCambridge *et al.*, 2016).

Även en injektion av formalin i en klo hos blåskrabba (*Hemigrapsus sanguineus*) har visat sig leda till aktiv gnidning av klon med den andra klon, till skillnad mot krabbor som injicerats med saltlösning som inte utförde detta beteende i lika stor omfattning (Dyuzen *et al.*, 2012). De observerade också att de krabbor som injicerats med formalin under en period undvek att använda den "skadade" klon när de gick.

Även i en tidigare studie där man injicerat formalin i en klo på en blåskrabba har man beskrivit att djuren riktar självskyddande beteenden mot den lem som är skadad, snarare än att skydda alla lemmar lika mycket (Kotsyuba *et al.*, 2010).

Vidare så har beteenden som tolkats som självskyddande beteenden beskrivits hos en del andra decapoder. Man har t.ex. sett att eremitkräftor ibland putsar sin buk efter att de tömt sitt skal då de utsatts för en elektrisk stöt (Appel & Elwood, 2009b). Man har också funnit att en betydande majoritet av räkor (*Macrobrachium americanum*) gnuggade sitt sår efter det att de utsatts för ögonstjälksborttagning (Diarte-Plata *et al.*, 2012). Även applicering av lut (natriumhydroxid, NaOH) och saltsyra (HCl) på en antenn har visat sig kunna leda till putsning och gnidning av den utsatta kroppsdelen hos kortfingrad tångräka (*Palaemon elegans*) (Barr *et al.*, 2008). Extremt pH verkar dock inte vara något som generellt orsakar dessa beteenden hos decapoder då resultatet inte kunde upprepas i en senare studie på tre andra arter av decapoder, jätteräkan (*Litopenaeus setiferus*), spökräkan (*Palaemonetes sp.*) och röd sumpkräfta (Puri & Faulkes, 2010).

Sammanfattningsvis anser Birch *et al.* (2021) att det finns väldigt hög grad av säkerhet för att äkta krabbor (*Brachyura*) uppfyller kriterium 6, hög grad av säkerhet för att eremitkräftor och kungskrabbor (*Anomura*) uppfyller kriteriet och medelhög grad av säkerhet för att äkta räkor (*Caridea*) uppfyller kriteriet.

### **7.7 Uppvisar decapoder associativ inläring där skadliga stimulus associeras med neutrala stimulus och/eller där nya sätt att undvika skadliga stimulus lärs in genom förstärkning?**

Här eftersöks resultat som tyder på att decapoder kan skapa associationer mellan skadliga stimulus och neutrala stimulus genom att till exempel lära sig att associera en viss plats eller en i övrigt neutral lukt med ett skadligt stimulus samt tecken på att decapoder kan lära sig ett nytt beteende som gör att de kan undvika ett skadligt stimulus (s.k. associativ inläring) (Birch *et al.*, 2021).

Undersökningar av associativ inläring har utförts med hjälp av en s.k. ögonuttagsreflexen hos strandkrabban (Abramson *et al.*, 1988). Här kombinerades en vibration (förmodat neutral) mot karapaxen (del av exoskelettet på djurets ryggsida) med en luftpuff riktad mot ögat (förmodat aversiv) och resultaten visade att strandkrabbor var betydligt mer benägna att dra in ögat som svar på enbart en vibration jämfört med kontrollkrabbor. En invändning mot studien är att forskarna beskrev vibrationen i karapax som en neutral stimulus, när den kan vara aversiv. Om så var fallet skulle resultaten istället kunna förklaras av sensibiliseringseffekten av ett dubbelt aversivt stimulus (Birch *et al.* 2021).

I tre anmärkningsvärda studier har en grupp forskare undersökt associativ inlärning hos krabban *N. granulatus*. I den första studien visade forskarna att krabbor som fick en elektrisk chock i en ljus kammare därefter tog längre tid på sig för att gå in i den kammaren från en mörk kammare (Denti *et al.*, 1988). Detta är inte i sig ett övertygande bevis på undvikande inlärning eftersom det är svårt att utesluta att fysiologiskt stressade krabbor är mindre benägna att utforska en ljus kammare (Birch *et al.*, 2021; Magee & Elwood, 2013). I en andra studie från samma forskargrupp försökte man utesluta den alternativa förklaringen genom att använda en försöksdesign med s.k. yokade kontrolldjur (d.v.s. att djuren som fungerade som försöksdjur fick möjlighet att lära sig ett orsakssamband mellan ett beteende och ett oftast aversivt stimulus t.ex. en elektrisk chock, d.v.s. associativ inlärning, medan djuren som fungerade som kontroller inte har möjlighet att lära sig detta samband men "straffas" med samma aversiva stimulus som försöksdjuren). De yokade kontrollkräftor som stannade kvar i den mörka kammaren fick exakt samma chocker som kräftorna som "straffades" när de gick in i ljuskammaren. De krabbor som fick elchocken i ljuskammaren tog därefter betydligt längre tid på sig för att komma in i ljuskammaren än djuren i kontrollgruppen som inte fått möjligheten att associera ljuskammaren med den aversiva elchocker (Fernandez-Duque *et al.*, 1992). I den tredje studien fick forskarna liknande resultat genom att istället för aversiva elchocker använda en positiv förstärkare i form av mat. Då kunde de visa att krabbor som fick mat i den ljusa kammaren var betydligt snabbare att gå in i den jämfört med kontroller som hade fått samma mängd mat i den mörka kammaren (Dimant & Maldonado 1992). Även dessa resultat har fått kritik där man menat att den elektiska chocken ökade en naturlig motvilja mot att gå in i det ljusa området, vilket skulle tyda på en hämmad vilja att röra sig snarare än av inlärning (Magee & Elwood, 2013). Detta förklarar dock inte skillnaden mellan försöksdjuren och de yokade kontrolldjur som inte givits möjlighet till associativ inlärning (Dimant & Maldonado, 1992; Fernandez-Duque *et al.*, 1992).

I en annan studie undersöktes om strandkrabbor som placeras i en starkt upplyst kammare lärde sig att undvika ett av två mörka skydd om ett av skydden konsekvent ledde till att djuren fick en elektrisk chock. Resultaten visade att krabborna undvek chocken genom att gå in i ett ljusområde som de annars normalt undviker (Magee & Elwood, 2013). En begränsning i denna experimentdesign är att krabbor kan flytta mellan olika skydd vilken gör det svårt att utesluta alternativa förklaringar eftersom det här är omöjligt att jämföra en testgrupp och en kontrollgrupp som har mött exakt samma stimulus (Magee & Elwood 2016b). Fördelen med denna experimentdesign jämfört med den latensbaserade designen som används i de tre ovannämnda studierna är att ett påtvingat val mellan två olika skyddsrum inte kan påverkas av en allmän minskning av aktiviteten.

Förutom de ovannämnda studierna som alla utförts på olika arter av äkta krabbor (infraordning *Brachyura*) har även associativ inlärning undersökts hos några andra decapoder. I en studie på karibiska languster undersökte forskarna om djuret kunde



lära sig att associera en ursprungligen attraktiv lukt (räkor) med ett avskräckande stimulus (ett mörkt, snabbt närmande föremål), så att lukten utlöser ett undvikande beteende (Fine-Levy *et al.*, 1988). Forskarna beskrev resultaten som bevis för associativ inläring men tolkningen har ifrågasatts då det inte är tydligt huruvida försöksdjuren uppvisade dessa beteenden i betydligt högre grad än kontrollerna (Birch *et al.* 2021).

Associativ inläring har även undersökts hos röda sumpkräftor och rostkräftor (*Orconectes Rusticus*). Resultaten visade att röda sumpkräftorna reagerade signifikant mycket snabbare på varningslampan då de utsattes för många upprepade milda (6,5 V) elchocker (Kawai *et al.*, 2004). Utifrån dessa resultat är det dock svårt att utesluta förklaringar som hänvisar till sensibilisering (d.v.s. ett utvecklande av känslighet) snarare än associativ inläring, särskilt med tanke på det mycket stora antalet elchocker som användes (20 ggr per dag i 32 dagar) (Birch *et al.* 2021). I en liknande studie, utsattes en grupp rostkräftor för en mild elchock (6 V) varje gång de besökte ett specifikt markerat område av en arena. I det här försöket ingick även en yokad kontrollgrupp, som fick exakt samma elchocker som de kräftor som ingick i inläringstestet men som inte själva besökte det markerade området och således inte hade någon möjlighet att associera området med ett aversivt stimulus (Bhimani & Huber, 2016). Resultatet visade att kräftorna snabbt började undvika det elchockframkallande området, medan djuren i den yokade kontroldjuren fortsatte att utforska hela arenan (Bhimani & Huber 2016).

Sammanfattningsvis anser Birch *et al.* (2021) att det finns hög grad säkerhet om att äkta krabbor (*Brachyura*) uppfyller kriterium 7, medelhög grad säkerhet för att hummer och kräftor (*Astacidea*) uppfyller kriterium 7 men att det saknas bevis för andra taxa.

### **7.8 Visar decapoder att de värdesätter ett förmodat smärtstillande medel när de skadas?**

Det finns ingen forskning att sammanställa eller granska i detta fall.

Sammanfattningsvis anser Birch *et al.* (2021) att graden av säkerhet är väldigt låg för några decapoder uppfyller kriterium 8 eftersom det saknas bevis.

### **7.9 Sammanfattning decapoder**

Enligt de kriterier som följts finns en hel del studier som stödjer att framför allt äkta krabbor (infraordning *Brachyura*) men även eremitkräftor och kungskrabbor (infraordningen *Anomura*) är kännande varelser som kan uppleva smärta. Det finns även studier som stödjer att kräftor och humrar (infraordning *Astacidea*) uppfyller

kraven, även om dessa är färre. Det har även gjorts studier på arter inom överfamiljen *Penaeoidea* (jätträkor) samt infraordningarna *Palinura* (languster) och *Caridea* (äkra räkor) men för dessa grupper är den tillgängliga informationen fragmentarisk och bristfällig. I de fall där ett eller flera kriterier inte är uppfyllt beror detta på brist på positiva bevis, snarare än på tydliga bevis för att djuren inte uppfyller kriteriet. Ingen vetenskaplig litteratur i det undersökta ämnet hittades för världens mest fiskade räka (*Acetes japonicus*) eller någon annan art som ingår i överfamiljen *Sergestoidea*.

**Tabell 1.** En sammanställning från Birch *et al.* (2021) av graden av säkerhet när det gäller bevis för olika decapoders förmåga att känna smärta. Bokstäverna representerar konfidensnivå för varje taxon för smärtekriterier 1–8. För beskrivningar av kriterierna, se kap. 6. Låg eller väldigt låg konfidens innebär endast att de vetenskapliga bevisen är svaga, och inte nödvändigtvis att djuret inte uppfyller eller sannolikt inte kommer att uppfylla kriteriet.

	Kriterier för smärtupplevelser							
	1	2	3	4	5	6	7	8
<i>Brachyura</i> (äkra krabbor)	H	VH	L	VH	L	VH	H	VL
<i>Anomura</i> (eremitkräftor m.fl.)	H	VH	L	L	M	H	L	VL
<i>Astacidea</i> (kräftor och humrar)	H	VH	L	VH	L	L	M	VL
<i>Palinura</i> (languster)	H	VH	L	L	L	L	M	VL
<i>Caridea</i> (äkra räkor)	H	VH	L	M	L	M	L	VL
<i>Penaeoidea</i> (jätträkor m.fl.)	H	L	L	M	L	L	L	VL

VH anger väldigt hög grad av säkerhet, H anger hög grad av säkerhet, M anger medelhög grad av säkerhet, L anger låg grad av säkerhet och VL anger väldigt låg grad av säkerhet.

### 7.10 Bladfotingar (*Branchiopoda*)

Förutom de högre kräftdjuren vilka framför allt nyttjas för humankonsumtion har vi även gjort en systematisk genomgång av kunskapsläget gällande släktena *Dafnien* och *Artemia* som båda tillhör klassen *Branchiopoda* (bladfotingar) som används som foderdjur och i forskning. De kan även hållas som hobbydjur.

Med det ökade intresset för framför allt *Artemia* har en del studier gjorts för att främja deras tillväxt och hälsa (Gui *et al.*, 2022), samt för att ta fram rekommendationer för bedövning och avlivning (Darbyshire *et al.*, 2019). Det har även gjorts studier för att undersöka nervsystemet hos *Dafnien* och *Artemia* (Kress *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 1997). Rådet fann dock ingen för uppdraget relevant forskning att sammanställa eller granska gällande dessa släkten av kräftdjur.

## 8 Insekter (Insecta)

Insekterna är den största understammen inom leddjuren och även den artrikaste med cirka 900 000 arter. I Sverige finns drygt 24 000 insektsarter fördelade på 26 insektordningar: hoppborstsvansar (*Archaeognatha*), silverborstsvansar (*Zygentoma*), dagsländor (*Ephemeroptera*), trollsländor (*Odonata*), bäcksländor (*Plecoptera*), tvestjärtar (*Dermaptera*), hopprätvingar (*Orthoptera*), kackerlackor (*Blattodea*), stövsländor (*Psocoptera*), tripsar (*Thysanoptera*), djurlöss (*Phthiraptera*), halvvingar (*Hemiptera*), steklar (*Hymenoptera*), skalbaggar (*Coleoptera*), vridvingar (*Strepsiptera*), halssländor (*Raphidioptera*), vattennätvingar (*Megaloptera*), nätvingar (*Neuroptera*), näbbsländor (*Mecoptera*), loppor (*Siphonaptera*), tvåvingar (*Diptera*), nattsländor (*Trichoptera*), fjärilar (*Lepidoptera*). I resten av världen finns ytterligare ett antal ordningar.

De insekter som Rådet fokuserar på ingår i ordningarna tvåvingar (*Diptera*), skalbaggar (*Coleoptera*), hopprätvingar (*Orthoptera*), steklar (*Hymenoptera*) och kackerlackor (*Blattodea*). Eftersom Gibbons *et al.* (2022a) även har inkluderat fjärilar (*Lepidoptera*) i sin sammanställning så inkluderas även sådan information. I ordningen fjärilar är det företrädesvis silkesmask, d.v.s. larven av silkesfjäril (*Bombyx mori*) som kan ses som relevant för uppdraget.

### 8.1 Har insekter receptorer som är känsliga för skadliga stimulus (nociceptorer)?

Bananflugans (*Drosophila melanogaster*) larver genomgår tre larvstadier (Naturhistoriska riksmuseet, 2023). Gibbons *et al.* (2022a) sammanfattar bevis för nociceptiva neuron, som aktiveras av skadliga stimulus men inte av icke-skadliga taktila stimulus, redan i första larvstadiet, och man har sett att aktivering av dessa neuron utlöser ett korskruvsliknande, rullande nocifensivt beteende hos larver i tredje larvstadiet. Om neuronens funktion blockeras genom genetisk manipulation hämmas det beteendet och dessa neuron anses därför vara nociceptorer (Gibbons *et al.*, 2022a). Bananflugans larver har även en annan typ av neuron som aktiveras av skadligt kalla stimulus, liksom icke-skadliga taktila stimulus. Det har därför tolkats som att bananflugans larver har olika typer av neuron som aktiveras av olika typer av skadliga stimulus (Gibbons *et al.*, 2022a).

Även vuxna bananflugor visar nocifensiva beteenden, t.ex. att de "hoppar" om de placeras på ett varmt underlag. Gibbons *et al.* (2022a) konstaterar därför att det finns bevis för nociceptorer även hos vuxna bananflugor, men att den specifika neurontypen ännu inte identifierats.

Det finns även bevis för nociceptiva neuron i larver av tobakssvärmare (*Manduca sexta*), som aktiveras av termiska och mekaniska stimulus (Gibbons *et al.*, 2022a).

Studier av den amerikanska kackerlackan (*Periplaneta americana*) visar att aktivitet i den sensoriska, uppåtgående nerven varierar beroende på om de utsätts för skadliga stimulus eller icke-skadliga taktila stimulus, vilket har tolkats som förekomst av nociceptiva sensoriska neuron (Emanuel & Libersat, 2019). Författarna tolkar detta som att dessa neuron troligen har en liknande uppbyggnad som de neuron som hittats hos tobakssvärmarens larver. Gibbons *et al.* (2022a) sammanfattar även ytterligare studier som styrker att den amerikanska kackerlackan har nociceptiva nervceller.

Så kallade TRP-kanaler är centrala för nociception. Gibbons *et al.* (2022a) sammanfattar att insekter i ordningarna tvåvingar, skalbaggar, hopprätvingar, fjärilar och kackerlackor har TRPA1-gener som på olika sätt medverkar i nociceptiv sensorik. Vidare har även gener för andra TRP-kanaler som på olika sätt medverkar i smärtsensorik påvisats i flera arter av ordningarna fjärilar, steklar och tvåvingar. Vidare sammanfattar Gibbons *et al.* (2022a) att det finns både funktionella och genetiska bevis för nociceptiva jonkanaler och/eller specifika sensoriska nervceller som aktiveras av skadliga stimulus hos juvenila stadier av arter i ordningarna tvåvingar och fjärilar, samt vuxna insekter av ordningarna skalbaggar, tvåvingar, steklar och fjärilar. Dessa ordningar uppfyller därför detta kriterium med mycket hög säkerhet. I juvenila och vuxna insekter av ordningen kackerlackor och hopprätvingar, liksom juvenila stadier av skalbaggar och steklar saknas studier om fysiologisk funktion. Därför konkluderar Gibbons *et al.* (2022a) att dessa ordningar och stadier endast med hög säkerhet uppfyller detta kriterium.

## **8.2 Har insekter integrerande hjärnregioner som kan integrera information från olika sensoriska källor?**

Som tydliggjorts tidigare i yttrandet så är det en skillnad mellan nociception och smärta, genom att smärta är en medveten upplevelse som kräver integrerad information mellan olika hjärnregioner. Den strukturella organisationen av de vuxna insekternas hjärna är bibehållen över artgränser och redovisas i kap. 5.

Den del av hjärnan som kallas laterala hornet har hos bananfluga visats ta emot information om syn, smak, temperatur och ljud. Flera liknande svar på syn- och doftstimulus har observerats hos gräshoppan *Schistocera americana* och hos den amerikanska kackerlackan. Tillsammans tolkar Gibbons *et al.* (2022a) detta som att samordning av intryck från flera sinnen i den delen av hjärnan finns bevarat hos vuxna insekter av många ordningar.

Svampkropparna, det centrala komplexet och laterala hornet finns inte alltid under den juvenila utvecklingen. Utan dessa områden kan juvenila insekter inom samtliga ordningar inte uppfylla kriterier om integrerade hjärnregioner. Hos insekter som genomgår ofullständig metamorfos (de tre stadierna ägg, nymf och vuxen) och saknar puppstadium, finns dessa integrerade hjärnregioner efter nymfstadiet, även om

utvecklingen fortsätter. Juvenila kackerlackor och hopprätvingar anses därför ha samma integrerade hjärnregioner som vuxna, även om funktionell forskning på tidiga utvecklingsstadier till stor del saknas. Hos insekter som genomgår fullständig metamorfos (de fyra stadierna ägg, larv, puppa och vuxen) är hjärnan ofullständigt utvecklad efter larvstadiet och genomgår en påtaglig förändring under puppstadiet. Tiden för denna förändring skiljer sig åt mellan olika ordningar. En förklaring till detta är att kognitiva utmaningar och krav skiljer sig åt för exempelvis honungsbiets larver som tas omhand av vuxna inne i kupan och insekter som i tidigt nymfstadium ska hitta föda och undvika rovdjur (Gibbons *et al.*, 2022a).

Sammanfattningsvis, för att uppfylla kriteriet för sensorisk integration med mycket hög grad av säkerhet, måste ordningen ha minst en av ovanstående, och i kap. 5 redovisade, integrerade hjärnregioner, samt att dessa hjärnregioner måste antingen visa sig kunna ta emot intryck från olika sinnen eller att intryck från olika sinnen på något sätt syns samverka. Gibbons *et al.* (2022a) anser att alla vuxna insekter i ordningarna kackerlackor, skalbaggar, tvåvingar, steklar, fjärilar, hopprätvingar, och juvenila tvåvingar uppfyller båda villkoren. Hos juvenila insekter i ordningarna kackerlackor och hopprätvingar, vilka genomgår fullständig metamorfos, har sensorisk integration inte påvisats, men de har liknande integrerade hjärnregioner som vuxna individer. Därför bedöms dessa endast med hög grad av säkerhet ha integrerade hjärnregioner.

Juvenila skalbaggar och juvenila fjärilar i första utvecklingsstadiet har ett ofullständigt utvecklat, men aktivt signalerande, centralt komplex i hjärnan, men dess roll gällande samordning av intryck från flera sinnen är inte känd. Skalbaggar har delvis utvecklade svampkroppar, medan de hos fjärilar är underutvecklade, och inte hos någon av dessa insektordningar har samordning av intryck påvisats. Gibbons *et al.* (2022a) anser därför att det är låg grad av sannolikhet för samordning av intryck i dessa ordningar och stadier. Hos juvenila steklar i första stadiet är det centrala komplexet och svampkropparna båda utvecklade, och Gibbons *et al.* (2022a) anser därför att det är mycket låg grad av sannolikhet för samordning av intryck hos dessa. Svampkropparna utvecklas under metamorfosen hos både juvenila fjärilar och steklar, men samordning av intryck har inte påvisats i dessa stadier. Därför anser Gibbons *et al.* (2022a) att det är medelstor grad av säkerhet för integrerade hjärnregioner hos juveniler i sista utvecklingsstadiet i dessa insektordningar.

### **8.3 Har insekter nervbanor som förbinder nociceptorerna med de integrerade hjärnregionerna?**

Ett krav för smärtupplevelse är att aktivering av nociceptorer (kriterium 1) ska leda till att den nociceptiva signalen integreras i hjärnan (kriterium 2). Detta kräver kopplingar mellan nociceptorerna och integrerade hjärnregioner. Således kan en insektordning i ett visst livsstadium inte ha en högre sannolikhet för kriterium 3 än för antingen kriterium

1 eller 2. Dessutom kan vissa nocifensiva reaktioner hos insekter såväl som ryggradsdjur uppstå utan att involvera hjärnan. Genom att klargöra kopplingar mellan nociceptorerna och hjärnan kan nociceptiva reflexer skiljas från möjliga smärtupplevelser.

Nociception är en av många typer av perifer sensorisk information som integreras i hjärnan. De uppåtgående nervbanorna är relativt lika för alla typer av sensorisk information, även om de olika cellerna kan skilja sig åt. Som sammanfattats av Gibbons *et al.* (2022a) finns det kanaler som aktiveras av stimulus som finns på de sensoriska neuronerna (kriterium 1). Dessa neuron signalerar till den ventrala nervsträngen och i några få fall direkt till hjärnan (Tsubouchi *et al.* 2017). På så sätt når perifer sensorisk information de integrerade hjärnregionerna. Även om de nociceptiva banorna i de flesta ordningar av insekter inte har kartlagts exakt, anser Gibbons *et al.* (2022a) det sannolikt att samma generella struktur ligger till grund för de uppåtgående nociceptiva banorna hos vuxna insekter som uppfyller de två första kriterierna.

En uppåtgående nociceptiv bana har beskrivits för den amerikanska kackerlackan (Emanuel & Libersat, 2019). Mätningar visar på mycket varierande aktivitet i de sensoriska neuron som utsätts för icke-skadliga taktila stimulus jämfört med skadlig värme. Vidare observerades en svag respons som resultat av en kontinuerlig beröring och en stark och ihållande respons på skadlig värme. Hos kackerlackor utan huvuden eller med skadad nacke sågs ingen komplett nocifensiv respons. Den isolerade, lokala nervbanan i kroppen kunde bara koordinera skrämreflexen och inte någon aktiv flyktrespons, vilket tyder på en roll för det centrala komplexet i hjärnan (Emanuel & Libersat 2019). I en uppföljande studie avaktiverades neuroner i det centrala komplexet med kemisk injektion, dvs aktiviteten i det centrala komplexet hämmades. Detta resulterade i ett påtagligt lägre nocifensivt svar, trots att nerven fortfarande skickade signaler till hjärnan. Författarnas tolkning är att uppåtgående banor integrerar nociceptiv information i det centrala komplexet för att koordinera fullständiga, nocifensiva motoriska svar (Rana *et al.* 2022).

De flesta studier som hittills genomförts för att kartlägga nervbanor från nociceptorerna till hjärnan har utförts på bananflugelarver i tredje utvecklingsstadiet och fokuserat på ett nocifensivt, rullande beteende. Detta beteende utförs dock inte av larver i första och andra utvecklingsstadiet (Gibbons *et al.*, 2022a), även om ett allmänt undvikande av skadliga stimulus ändå förekommer (Sulkowski *et al.*, 2011). Denna skillnad i beteende tillsammans med den kontinuerliga utvecklingen av hjärnan under den juvenila perioden, tyder, enligt Gibbons *et al.* (2022a), på att information om uppåtgående nociceptiva banor i tredje utvecklingsstadiet inte bör tillämpas på bananflugelarver i det första utvecklingsstadiet. Gibbons *et al.* (2022a) har inte heller funnit några direkta bevis på kopplingar mellan nociceptorerna och hjärnregioner i bananflugelarver i första utvecklingsstadiet.

I den vuxna bananflugan finns ett flertal olika celltyper som förmedlar nociceptiva signaler till hjärnan (protocerebrum), både via direkta och indirekta banor. Exempelvis skickar neuron i buken signaler direkt till ventrala nervsträngen medan värmekänsliga neuron i benen skickar signaler både till ventrala nervsträngen och direkt till hjärnan (Gibbons *et al.*, 2022a). På samma sätt som hos den amerikanska kackerlackan, krävs även hos den vuxna bananflugan ett huvud för att utlösa en komplett flyktrespons som svar på ett nociceptivt termisk stimulus (Emanuel & Libersat, 2019; Khuong *et al.*, 2019), d.v.s. det är inte en reflex.

Hos den vuxna bananflugan krävs integrerade hjärnregioner för såväl medfödda som betingade svar på skadliga stimulus, vilket tyder på att det finns kopplingar mellan nociceptorerna och dessa hjärnregioner (Gibbons *et al.* 2022a). Medfödda svar på en elektrisk chock eller på värme involverar flera olika delar av hjärnan. Detta tolkar Gibbons *et al.* (2022a) som att hjärnan har kopplingar till nociceptorerna. Något som ytterligare stöder Gibbons tolkning är betingade responser. Om en sensorisk stimulus (t.ex. en doft) associeras med en skadlig stimulus (ex. en elektrisk chock) sker en doft-chockinlärning som gör att insekten sedan reagerar som om doften i sig var skadlig (Gibbons *et al.* 2022a).

En specifik bana till hjärnan har beskrivits särskilt väl från experiment med bananflugelarver i tredje utvecklingsstadiet (Gibbons *et al.*, 2022a; Khuong *et al.*, 2019). Även andra specifika kopplingar och neuron mellan nociceptorerna och hjärnan har beskrivits för bananflugelarver i tredje utvecklingsstadiet (Gibbons *et al.*, 2022a). Men Gibbons *et al.* (2022a) påpekar att trots att det är tydligt att bananflugelarver i tredje utvecklingsstadiet har specifika kopplingar mellan nociceptorerna och hjärnan så har det inte studerats vilka specifika delar av de integrerade hjärnregionerna (andra kriteriet) som är involverade i varje nociceptivt sammanhang eller exakt hur den nociceptiva sensoriska informationen når hjärnan.

Hos tobakssvärmarens larver i femte utvecklingsstadiet kan man se ett nocifensivt anfallsbeteende (eng. *striking response*) där anfallet riktas mot den punkt på kroppen som utsätts för ett nociceptivt stimulus (Gibbons *et al.*, 2022a; Sulkowski *et al.*, 2011; Walters *et al.*, 2001). Enligt Gibbons *et al.* (2022a) saknas dock studier på nervbanors och hjärnans roll i detta beteende, men tiden det tar för att utföra beteendet antyder att hjärnfunktioner är viktiga, annars skulle endast en snabb motorisk reflex observeras.

När chock-doft-träning utfördes på tobakssvärmarens larver i tredje utvecklingsstadiet, genom att en elektrisk chock associerades med en specifik doft och en doftaversion etablerats, observerades en associativ inlärning som varade hela larvstadiets utveckling. Både larver i tredje och femte utvecklingsstadiet lärde sig chock-doft-associationen, men det var bara den betingade doftaversionen under det femte larvstadiet som resulterade i ett minne som fanns kvar hos den vuxna svärmaren (Blackiston *et al.*, 2008). Hos fjärilar utvecklas svampkropparna under juvenil

utveckling. Gibbons *et al.* (2022a) tolkar därför resultaten som att en utveckling av svampkropparna möjliggör associativ inläring under tredje utvecklingsstadiet, medan en senare utveckling är viktigt för ett etablerat minne efter puppstadiet. De påpekar dock att specifika banor mellan neuron och svampkroppar inte påvisats. Mer forskning behövs därför för att kunna konfirmera hypotesen.

Sammanfattningsvis anser Gibbons *et al.* (2022a) att det finns en mycket hög grad av säkerhet för integrerad nociception hos vuxna tvåvingar och kackerlackor, samt hos juvenila kackerlackor. Hos sista utvecklingsstadiet av juvenila tvåvingar finns bevis för samordning av intryck i hjärnan, men eftersom kopplingar till hjärnan (andra kriteriet) inte beskrivits är det medelstor grad av säkerhet för integrerad nociception hos juvenila tvåvingar. Hos sista utvecklingsstadiet av juvenila fjärilar finns belägg för nocieptiva svar och för att associativa minnen kan formas. Sannolikt finns banor som kopplar nociceptorerna till högre hjärnregioner i de senare utvecklingsstadierna, men direkta bevis för detta saknas. Därför anser Gibbons *et al.* (2022a) att det är låg grad av säkerhet för att sista utvecklingsstadiet av fjärilar uppfyller detta kriterium. För vuxna fjärilar och första utvecklingsstadiet av juvenila fjärilar, för vuxna och juvenila insekter av ordningarna skalbaggar, steklar och hopprätvingar, samt för första utvecklingsstadiet av tvåvingar bedömer Gibbons *et al.* (2022a) att det är mycket låg grad av säkerhet för integrerad nociception vilket grundar sig i en total avsaknad av vetenskaplig litteratur.

#### **8.4 Påverkas insekters beteendemässiga reaktion på ett skadligt stimulus av kemiska föreningar som påverkar nervsystemet?**

Kroppsegna signalsubstanser som modulerar svar på skadliga stimulus antyder att djuret kan ha mekanismer för att minska smärta (inte bara nociception). Neuronala system, beteenden eller farmakologiska bevis kan tala för att sådana system finns.

I bananflugan anses flera olika signalsubstanser reglera nocieptiva svar. Man har exempelvis visat att den hämmande signalsubstansen GABA modulerar skadligt varma stimulus (Manev & Dimitrijevic, 2004).

Leukokininer är en familj av neuropeptider med många olika fysiologiska funktioner hos insekter och andra ryggradslösa djur (Nässel & Wu, 2021), bland annat födointagsbeteende hos bananflugan (Nässel, 2021). Allatostatin-C är insekternas motsvarighet till däggdjurens somatostatin. Hos däggdjur är somatostatin involverat i smärthämning (Gibbons *et al.*, 2022a). Om receptorerna för allatostatin-C slås ut flyr bananflugor snabbare från skadliga värmestimulus (Bachtel *et al.*, 2018), vilket antyder att allatostatin-C minskar nocieptivt svar hos insekter (Gibbons *et al.*, 2022a). Dessa resultat tolkar Gibbons *et al.* (2022a) som att vuxna bananflugor har kroppsegna signalsubstanser som reglerar svaret på skadliga stimulus.



Farmakologiska studier indikerar också att det finns kroppsegna, smärtmodulerande system hos insekter. Hos vuxna amerikanska kackerlackor hämmas flyktresponser som svar på smärta av ett stick i hjärnan av den giftiga parasitstekeln (*Ampulex compressa*). Stekelns gift höjer också tröskeln för en reaktion på skadliga stimulus hos kackerlacka (Gibbons *et al.* 2022a). En komponent i stekelns gift utgörs av ett ämne som kan moduleras av opioider. Om en opioidantagonist injiceras före ett stick från stekeln så återställs kackerlackans reaktion på skadliga stimulus, medan en opioidagonist leder till en effekt som liknar den som ses efter stekelns stick (Emanuel & Libersat, 2019). Om honungsbin (*Apis mellifera*) injiceras med en substans (isopentylacetat) som ingår i det naturliga alarmferomon som honungsbin avger vid försvar, höjs tröskeln för när en elektrisk chock utlöser bistick medan en injektion från en opioidantagonist återställer tröskelvärdet (Núñez *et al.*, 1997). Dessa data är dock svårtolkade i ljuset av att genetiska studier visar att insekter saknar gener för opioida receptorer (Gibbons *et al.* 2022a; Kreienkamp *et al.*, 2002) och att opioida systemet troligen utvecklades och diversifierades hos tidiga ryggradsdjur (Mirabeau & Joly, 2013). När bananflugans arvsmassa undersöktes avseende förekomst av gener motsvarande däggdjurens opioidreceptorer fann man att gensekvensen med störst likhet var den för allatostatin-C-receptorer (Kreienkamp *et al.*, 2002). Gibbons *et al.* (2022a) summerar tidiga studier som med olika tekniker trodde sig påvisa opioida receptorer och bindningsställen hos insekter, men där en genomisk kartläggning gjort att tolkningarna av dessa studier kan ifrågasättas. Det är därför oklart hur opioida agonister och antagonister fungerar i insekter. Gibbons *et al.* (2022a) konkluderar att ytterligare forskning behövs för att utröna hur dessa ämnen modulerar nociception hos insekter.

Även bananflugans larver antas ha ett kroppsegnet smärtmodulerande system. Gibbons *et al.* (2022a) summerar de olika gener som modifierats hos larver i tredje utvecklingsstadiet och antyder att de har motsvarigheten till däggdjurens somatostatin och andra neuropeptider.

En förmodad lokalbedövande eller smärtlindrande substans ska minska nocifensiva beteenden. Hos honungsbin resulterade administrering av etanol i en dosberoende höjning av tröskeln för när en elektrisk chock utlöser en stickrespons och en dosberoende ökning av den tid som bina uppehöll sig nära elektriska stötar, vilket författarna tolkade som en smärtlindrande effekt från etanol (Giannoni-Guzmán *et al.*, 2014).

Trots att insekter saknar opioida receptorer så framkallar många opioider (ex. morfin) effekter som tolkas som analgetiska, troligen genom att binda till andra receptorer. Gibbons *et al.* (2022a) summerar studier på honungsbin, amerikansk kackerlacka och en familj av syrsor (*Pteronemobius sp.*) som visar på effekter av morfin på skadliga stimulus och studier där olika opioida peptider (ex. met-enkefalin, ett kroppsegnet ämne hos däggdjur (Sjaastad *et al.*, 2016)) modifierar beteenderesponsen på skadliga stimulus hos amerikansk kackerlacka. Samtidigt summerar Gibbons *et al.* (2022a) att

några av de opioida peptider som framkallar anti-nociceptiva effekter på amerikansk kackerlacka saknar dessa effekter hos honungsbin och konstaterar att det är oklart varför det föreligger olikheter i effekter mellan dessa insektordningar.

Gibbons *et al.* (2022a) konstaterar att en brist i många av de farmakologiska studier som ingår i översikten, är att man inte kontrollerat påverkan på rörelseaktivitet. Rådet instämmer i kritiken som framförs av Gibbons *et al.* (2022a) baserat på den extensiva litteratur som finns på däggdjur, inklusive människa, som visar att både etanol och opioider kan inducera sederande effekter och därmed påverka rörelseaktiviteten negativt (Ritter *et al.*, 2019). De resultat som lyfts måste därför tolkas i ljuset av att sedativa effekter kan förekomma. Vidare lyfter Gibbons *et al.* (2022a) en kritik mot de studier som baseras på minne för att utvärdera nocifensiva beteenden eftersom analgetiska substanser kan påverka inlärning och minne (Izquierdo *et al.*, 1980) och föreslår att framtida studier ska utföras med tester som inte förlitar sig på inlärning eller minskade rörelser.

Förutom smärtlindrande (analgetiska) och sövande (anestetiska) effekter, så kan många substanser ha antidepressiva och ångestdämpande effekter hos insekter. Det ser Gibbons *et al.* (2022a) inte som ett bevis för smärta utan som subjektiva, aversiva tillstånd i en bredare kontext. Gibbons *et al.* (2022a) nämner flera studier där "forced-swim test" använts för studier på bananflugor. "Forced-swim test" utvecklades ursprungligen för råttor och innebär att råttan placeras i en vattenfylld cylinder som den inte kan fly från. Det som mäts är tiden det tar för råttan att sluta simma och istället inta en orörlig, passiv, flytande position, tolkat som uppgivenhet (Porsolt *et al.*, 1977). Det immobile beteendet kunde påverkas av substanser med antidepressiva egenskaper (Porsolt *et al.*, 1977), varför det i litteraturen ofta ses som ett test för "depressionslikt beteende" (Gibbons *et al.*, 2022a). Testet används frekvent för mus och råttor i olika syften (Hånell & Marklund, 2014), och har även anpassats till bananflugor för studier av olika stressfaktorers inverkan (Neckameyer & Nieto-Romero, 2015). Gibbons *et al.* (2022a) sammanfattar studier där bananflugor stressats eller givits psykedeliska eller antidepressiva substanser, och menar att resultaten pekar på en minskning av "depressionslikt" beteende hos bananflugor. Enligt Rådet ska dessa resultat tolkas med försiktighet givet att testet 1) är utvecklat för råttor, som är en naturlig simmare, och här anpassats till bananflugor utan en ingående diskussion om vad det innebär för en bananflugor att placeras i vatten (Neckameyer & Nieto-Romero 2015), och 2) den litteratur på gnagare som intensivt diskuterar vad testet egentligen mäter och där litteraturen just nu anser att det är stresshanteringsmekanismer snarare än någon form av "depressionslikt beteende" (Molendijk & de Kloet, 2015, 2019, 2021).

Många bytesdjur, inklusive mus och råttor (Hånell & Marklund, 2014), zebrafisk (Stewart *et al.*, 2014) och bananflugor (Neckameyer & Nieto-Romero, 2015), föredrar mörka och/eller skyddade områden framför öppna/ljusa ytor vilket utnyttjas i olika beteendetester. Detta beteende tolkas ofta som ett "ångestlikt beteende" (Gibbons *et*

*al.* 2022a) baserat på att flera av testerna initialt validerats med bensodiazepiner (GABA<sub>A</sub>-agonister), substanser med goda ångestdämpande effekter, men som idag inte är förstahandsläkemedel i Sverige vid behandling av ångestsjukdomar på människa (Läkemedelsverket, 2016). Gibbons *et al.* (2022a) för en diskussion om "ångestlikt beteende" hos bananflugor efter administrering av en bensodiazepin (diazepam) och en selektiv serotoninåterupptagshämmare (fluoxetin) och sammanfattar att mer forskning behövs om effekter av olika ångestdämpande substanser på insekters beteende.

Sammanfattningsvis så anser Gibbons *et al.* (2022a) att det är mycket hög grad av säkerhet för att detta kriterium uppfylls hos vuxna och juvenila insekter av ordningen tvåvingar. Hos vuxna insekter av ordningen kackerlackor uppfylls detta kriterium med hög grad av säkerhet. Baserat på sammanfattningen anser Gibbons *et al.* (2022a) vidare att kriteriet uppfylls med medelhög grad av säkerhet för vuxna steklar. Den slutsatsen grundas på den kritik som Gibbons *et al.* (2022a) lyfter rörande det experimentella upplägget i flera studier. För vuxna hopprätvingar finns bara enstaka, begränsade studier genomförda. Därför sammanfattar Gibbons *et al.* (2022a) att de med låg grad av säkerhet uppfyller kriteriet. För vuxna insekter av ordningarna skalbaggar och fjärilar eller juvenila kackerlackor, skalbaggar, steklar, fjärilar och hopprätvingar så saknas forskning om endogena signalsubstanser och effekter av utifrån tillförda substanser varför Gibbons *et al.* (2022a) sammanfattar det som mycket låg grad av säkerhet för att dessa ordningar och utvecklingsstadier uppfyller kriteriet.

### **8.5 Uppvisar insekter beteendemässiga avvägningar, där det negativa värdet av en skadlig eller hotfull stimulus vägs mot värdet av en möjlighet till belöning?**

Nociceptiva avvägningar uppstår när konkurrerande motivation (som t.ex. att skaffa mat) påverkar insektens beteendesvar på ett nociceptivt stimulus (Fields, 2006; Navratilova & Porreca, 2014). Sådana avvägningar kan tyda på smärta, eftersom det visar på flexibilitet, kontextberoende och involvering av hjärnan (Appel & Elwood, 2009a; Elwood och Appel, 2009; Millsopp & Laming, 2008). Ett vanligt argument mot smärta hos insekter är att de enbart reagerar reflexmässigt på skada (Eisemann *et al.*, 1984). Men Gibbons *et al.*, 2022a konkluderar att "om djuret byter ut ett nociceptivt svar mot ett annat, tävlande motivationskrav kan beteendet inte vara en enkel reflex".

Studier gjorda på bananflugor ger vissa bevis för nociceptiva, motiverande avvägningar. Endast flugor med inaktiverade nociceptiva gener korsade en het yta för att nå en attraktiv ljuskälla (Aldrich *et al.*, 2010). I en annan, mer komplex studie "tränades" bananflugor att associera en lukt med något aptitretande (etanol eller sackaros). De utsattes sedan för enbart doften, och kunde bara nå belöningen genom att passera en elektrisk barriär. Otränade flugor undvek barriären medan de tränade flugorna

passerade för att nå belöningen (Kaun *et al.*, 2011). Den här studien visar alltså på en nociceptiv motiverande avvägning hos bananflugor.

Ett annat, mer komplext försök med mörk jordhumla (*Bombus terrestris*), visade nociceptivt motiverande avvägningar som inte baserades på konkurrerande stimulus utan på minne (Gibbons *et al.*, 2022b). Humlorna kunde välja mellan att äta från skadligt varma (55°C) matare med 40% sackaroslösning eller uppvärmda matare med lägre sackaroskoncentration. Matarna var märkta med olika färger och fanns i olika rum, och humlorna lärde sig matarnas innehåll baserat på detta. När alla matarna innehöll samma höga sackaroskoncentration undvek humlorna den som var varm, men när de uppvärmda matarna innehöll lägre koncentrationer var det färre humlor som undvek den varma mataren. Dessutom fortsatte humlorna göra detta trots att matarna varken innehöll sackaros eller var uppvärmda. Humlorna gjorde alltså avvägningen baserat enbart på sitt minne (Gibbons *et al.*, 2022b).

Sammanfattningsvis så anser Gibbons *et al.* (2022a) med hög säkerhet att vuxna tvåvingar och steklar uppvisar komplexa motiverande avvägningar och uppfyller kriterium 5. Däremot saknas forskning och information om dessa avvägningsbeteenden för vuxna stadier av insekter i ordningarna kackerlackor, skalbaggar, fjärilar och hopprätvingar.

### **8.6 Uppvisar insekter ett flexibelt självskydds beteende?**

Egenvård eller "self-grooming" är vanligt hos insekter som exempelvis bananflugor, kackerlackor och honungsbin (El-Awami & Dent, 1995; Ringo, 2020; Russo *et al.*, 2020) men mycket få studier har undersökt om insekter vårdar en sårad eller skadad kroppsdel. Eisemann *et al.* (1984) och Wigglesworth (1980) listade flera anekdotiska redogörelser för skadade insekter som inte uppenbart utför något skydds beteende. Till exempel verkade en insekt med en krossad tarsus (d.v.s. det segment på en insekts ben som sitter längst ifrån kroppen) fortsätta gå på den med samma kraft som med ett oskadat ben (Eisemann *et al.*, 1984). Däremot gavs inga experimentella bevis för denna beteendeobservation vilket gör att det inte kan räknas som bevis på bristande självskyddande beteende hos insekter. Frånvaro av bevis i specifika sammanhang där smärtbeteendet kan vara undertryckt är inte bevis på frånvaro i andra sammanhang (Gibbons & Sarlak, 2020). Walters *et al.* (2001) rapporterade anekdotiska bevis på "sårvård" hos nattfjärilslarver (*Manduca sexta*). När man producerade ett synligt sår på djurens framben placerade larverna sina huvuden nära såret och vidrörde upprepade gånger området med sina öppna mundelar. De ökade också sin defensiva respons även som svar på ofarlig beröring. Det kan tyda på att de försvarade kroppsdelarna från ytterligare skador (Walters *et al.*, 2001). Man har också visat att vuxna individer av amerikansk kackerlacka som får sticksår i buken "vårdar" platsen för såret (Hentschel & Penzlin, 1982).

Även om det i sig inte är ett självskydds beteende så brukar myror av arten *Megaponera analis* se till sår hos andra, skadade medlemmar i myrsamhället efter angrepp av termiter (Frank *et al.*, 2017). Skadade myror avger ett "hjälp-feromon" (doftämne) och lockar till sig oskadade myror som bär dem tillbaka till boet. Den hjälpande myran ser till stället för skadan, ibland i flera minuter, vilket ökar överlevnaden av skadade myror med 70 %. Däremot finns det inga rapporterade observationer om myror som sett till sina egna sår (Gibbons *et al.*, 2022a)

Sammanfattningsvis så anser Gibbons *et al.* (2022a) att det finns bevis som med hög grad av säkerhet uppfyller kriterium 6 hos juvenila fjärilar och vuxna kackerlackor. Däremot finns det ingen forskning som rör självskyddande beteende hos juvenila kackerlackor, vuxna eller första stadiets juvenila fjärilar och vuxna/juvenila skalbaggar, tvåvingar, steklar eller hopprätvingar.

### **8.7 Uppvisar insekter associativ inlärning där skadliga stimulus associeras med neutrala stimulus och/eller där nya sätt att undvika skadliga stimulus lärs in genom förstärkning?**

Ett djur som lär sig av aversiva upplevelser kan undvika sådana upplevelser i framtiden. Även om det i sig inte är ett bevis på medvetenhet (sentience) så är det mer än en reflexliknande reaktion på skadliga stimulus (Gibbons *et al.*, 2022a). Det pågår en debatt om vilka former av associativt lärande som är kopplat till känsla och medvetenhet (Ginsburg & Jablonka, 2019; Skora *et al.*, 2021; Travers *et al.*, 2018; Droege *et al.*, 2021). Gibbons *et al.* (2022a) lämnar plats för den debatten och granskar i stället, "utan att ta ställning", klassisk betingning och mer komplexa former av betingning eller inlärning för att eventuellt ge starkare bevis för medvetenhet. Det finns mycket litteratur om insekters associativa inlärning (sammanställd i Giurfa, 2015) baserat på belönande (t.ex. sockerlösning) eller aversiva stimulus (t.ex. kinin), men det är bara inlärning baserad på skadliga stimulus som elektriska stötar eller mycket höga temperaturer som uppfyller kriterium 7 eftersom det ska kunna kopplas till smärta (Giurfa *et al.*, 2015).

Klassisk inlärning som svar på skadliga stimulus har visats i flera insektordningar. Vuxna bananflugor som exponerades för två olika dofter och fick elchocker i kombination med den ena undvek den doften 95 % av tiden i ett efterföljande labyrinttest (Tully & Quinn, 1985; Quinn *et al.*, 1974). Det finns också bevis för inlärning som svar på skadliga stimulus hos honungsbin (Abramson, 1986; Nouvian & Galizia, 2019; Roussel *et al.*, 2012; Vergoz *et al.*, 2007; Junca & Sandoz, 2015), hästmyror (*Camponotus aethiops*; Desmedt *et al.*, 2017) och kammajordflyn (*Agrotis ipsilon*; Murmu *et al.*, 2020). Ytterligare bevis för klassisk inlärning finns för juvenila tvåvingar som exempelvis bananflugelarver, nattfjäril och vecklare (*Grapholita molesta*). Hos dessa två fjärilsarter kan de associativa minnen som bildades under larvstadiet bestå i

vuxen ålder (Aceves-Piña & Quinn, 1979; Khurana *et al.*, 2012; Blackiston *et al.*, 2008; Sant'Ana *et al.*, 2021).

Associativ inlärning är också utbredd hos insekter, exempelvis vuxna bananflugors respons på skadlig värme (Brembs, 2003; Putz & Heisenberg, 2002; Wustmann *et al.*, 1996). Den amerikanska kackerlackan och honungsbiet har också visat kunna lära sig de beteenden som behövs för att till exempel undvika en plats där de får skadliga elchocker (Barraco *et al.*, 1981; Abramson *et al.*, 2004). Gräshoppor av arten *Schistocerca americana* lär sig att ta bort benet från en saltlösning där de får elchocker (Punzo, 1980), och att flytta benet för att undvika skadlig värmestimulering av sina huvuden (Forman, 1984).

Några äldre studier har anförts som bevis för att inlärd svar på skadliga stimulus hos insekter inte kräver en hjärna. Horridge (1962) beskrev hur huvudlösa kackerlackor och europeiska vandringsgräshoppor (*Locusta migratoria*) kunde "lära sig" en benställning för att undvika att få en elchock. De huvudlösa insekterna drog tillbaka sina ben oftare och under längre tid jämfört med de intakta kontrollinsekterna. Det isolerade gangliet som kontrollerar lemrörelser var tillräckligt för att "lära sig" att dra tillbaka benet (Aranda & Luco, 1969; Eisenstein & Carlson, 1994; Eisenstein & Cohen, 1965). Men Church & Lerner (1976) menar att de påvisade skillnaderna kan bero på ett fel i experimentets design. Datorsimuleringar har visat att skillnaderna kan bero på reflexer hos de huvudlösa kroppsdelarna snarare än på inlärning, och därför bör liknande studier inte ses som bevis för instrumentell inlärning (Gibbons *et al.*, 2022a).

Mer komplexa former av klassisk betingning/inlärning kan ge bättre bevis för medvetenhet hos insekter (Birch *et al.*, 2020, 2021; Ginsburg & Jablonka, 2019). Ett exempel är så kallad spårinlärning, en form av klassisk inlärning med ett tidsintervall mellan den inlärd eller betingade stimulusen och en annan, obetingad stimulus (Droege *et al.*, 2021). Denna form av inlärning kräver att djuret minns den betingade stimulansen efter att den har upphört vilket i sin tur kräver medvetenhet om både stimulus och tidsintervall (Dylla *et al.*, 2013; Bellebaum & Daum, 2004; Knuttinen *et al.*, 2001). Enligt Dylla *et al.* (2013) kan insekter vara snabbare än ryggradsdjur gällande denna typ av inlärning vilket gör dem idealiska för att studera detta beteende (Dylla *et al.*, 2017; Galili *et al.*, 2014; Shuai *et al.*, 2011).

En annan medvetenhetsbunden typ av inlärning/betingning som har diskuterats när det gäller insekter är så kallad omvänd inlärning. Omvänd inlärning bygger på förmågan att aktivt undertrycka en belöningsrelaterad respons och avbryta ett pågående beteende. Denna typ av lärande har påvisats hos exempelvis bananflugor (McCurdy *et al.*, 2021; Shuai *et al.*, 2011; Tully & Quinn, 1985; Wu *et al.*, 2012; Guo & Guo, 2005; Ren *et al.*, 2012) och kackerlackarterna *Nauphoeta cinerea* och *Periplaneta americana* (Longo 1964; Balderrama, 1980). Ett flertal studier har också genomförts med honungsbin och humlor (*Bombus* spp; Boitard *et al.*, 2015; Chittka 1998; Dyer *et al.*, 2014; Raine &

Chittka, 2012). I en studie om omvänd inläring hos honungsbin misslyckades man att uppfylla kriterier för "Learning to reverse learn" (Mota & Giurfa, 2010), men motsatsen har också visats av Chittka (1998), dock med en enda humla av arten *Bombus impatiens*. Det finns trots detta inte tillräckligt med bevis för omvänd inläring hos dessa insektsgrupper och för andra grupper har inga experiment gjorts.

Sammantaget enligt Gibbons *et al.* (2022a) finns det flera studier som visar på nociceptiv associativ inläring hos vuxna kackerlackor, tvåvingar, steklar, fjärilar och hopprätvingar, såväl som sista stadiet juvenila tvåvingar och fjärilar, alltså väldigt hög grad av säkerhet. Enligt Gibbons *et al.* (2022a) finns det däremot inga bevis för nociceptiv associativ inläring hos vuxna eller juvenila skalbaggar, juvenila kackerlackor, skalbaggar, steklar, hopprätvingar eller första stadiet juvenila tvåvingar och fjärilar.

### **8.8 Visar insekter att de värdesätter ett förmodat smärtstillande medel när de skadas?**

*(a) Djuret lär sig att själv administrera förmodade analgetika eller anestetika när det är skadat*

När ett skadat djur självadministrerar ett smärtstillande ämne visar det att djuret är motiverat att stoppa den nociceptiva process som är relaterad till skadan. Om ett djur självadministrerar ett lokalt bedövningsmedel som fungerar perifert, tyder det på att djuret på något sätt är motiverat till att förhindra den nociceptiva signalen från skadan. En drog som verkar i hjärnan, möjligen i de områden som är involverade i smärtupplevelse, skulle tyda på att djuret är motiverat till att förhindra den eventuella känslan av smärta (Gibbons *et al.*, 2022a).

För att självadministrera smärtstillande medel måste ett skadat djur känna till: (1) det beteende som krävs för att administrera läkemedlet, och (2) läkemedlets smärtstillande effekt. Hos ryggradsdjur tränas det första vanligtvis genom att associera en betingad stimulus (t.ex. färger, rumsliga platser) med den obetingade (t.ex. smärtstillande läkemedel eller kontroll). När det gäller det andra presenteras det smärtstillande medlet och kontrollsubstansen successivt så att det finns tid för läkemedlet att verka. Detta säkerställer att djuret bara associerar analgetikumets effekt med den läkemedelsbetingade stimulansen och inte kontrollstimulansen.

De experiment som rör ryggradsdjur och presenteras i litteraturen uppfyller strikt båda dessa villkor. Tyvärr uppfyller inte den enda insektsstudien som publicerats villkor nummer 2. Groening *et al.* (2017) erbjöd sockerlösning innehållande antingen morfinsulfat (analgetikum) eller inget morfin (kontroll) till skadade och friska honungsbin. Skadade bin använde inte morfinmatarna mer än friska bin, så författarna drog slutsatsen att skadade honungsbin inte självadministrerar morfin. Men båda

matarna presenterades samtidigt. Om morfins smärtstillande effekter inte var omedelbara och bina inte använde läkemedelsmataren när effekten satte in skulle bina inte associera drogens effekt med morfinmataren. Dessutom valde Groening *et al.* (2017) att använda ett morfinsulfat i studien, men insekter saknar, som vi tidigare beskrivit, opioidreceptorer (Elphick *et al.*, 2018; Jékely, 2013; Kreienkamp *et al.*, 2002; Mirabeau & Joly, 2013). Därför bör framtida studier använda analgetika som är validerade för insekter, såsom GABA-agonister (Bowery, 2006).

Enligt Gibbons *et al.* (2022a) finns alltså inga ytterligare studier om självadministration av analgetika eller anestetika hos insekter. En studie fann dock att parasiterade jordhumlor, självmedicinerar nikotin som har antimikrobiella egenskaper (Baracchi *et al.*, 2015). Flera studier visar också självadministrering av etanol och psykotropa droger (substanser som påverkar centrala nervsystemet och orsakar förändringar i humör, medvetande och beteende etc.) i bananflugor (Devineni & Heberlein, 2009; Rigo *et al.*, 2021). Dessa studier använde dock friska, oskadade flygare, vilket gör att det därför inte uppfyller kriteriet.

*(b) Djuret lär sig att föredra en plats där analgetika eller bedövningsmedel är åtkomligt när det skadats.*

Det finns inga publicerade studier om detta hos insekter.

*(c) Djuret prioriterar att få dessa medel framför andra behov (såsom mat) när det är skadat.*

Det finns inga publicerade studier om detta hos insekter.

Sammantaget kan man konstatera att det är brist på bevis när det gäller självadministration av analgetika/anestetika hos skadade insekter. Detta visar på en stor kunskapslucka.

### **8.9 Insekters kognitiva förmågor**

Sociala insekter som honungsbin och humlor uppvisar en mängd sofistikerade och komplexa beteenden. Exempelvis är begreppsinnlärning, som betraktas som en hörnsten i mänsklig kognition, en förmåga som numera är väl dokumenterad hos honungsbin (Giurfa, 2021). Författaren till artikeln anser att även andra sociala insekter med väl utvecklade minnessystem, flexibel mönsterigenkänning och förmåga att navigera i vissa strukturella miljöer skulle kunna besitta liknande kapacitet (Giurfa, 2021). Sammantaget visar detta att djur med förhållandevis små nervsystem, ändå kan



vara kapabla att känna igen regelbundet förekommande företeelser vilket är grunden för all konceptbildning. Framtida forskning bör ha som mål att identifiera mekanismerna bakom honungsbins begreppsinnläring.

Sociala insekter som humlor uppvisar även sofistikerade beteenden som liknar observationsinnläring (Alem *et al.*, 2016). I ett försök undersöktes om mörk jordhumla kunde tränas att dra i en tråd för att komma åt en belöning (sockerlösning). Några få humlor löste uppgiften direkt medan de flesta kunde lära sig att dra i snöret när de tränades stegvis. Dessutom visade det sig att otränade humlor kunde lära sig uppgiften genom att observera en annan, tränad humla dra i snöret. Författarnas slutsats var att bin kanske inte skiljer sig avsevärt från fåglar, hundar och primater när det gäller observationsinnläring (Alem *et al.*, 2016).

Att humlor är kapabla till instrumentell innläring är väl dokumenterat (Chittka & Thomson, 2005; Raine & Chittka, 2007). Ett tydligt exempel på detta är ett försök från 2015 som har visat att en annan humleart (*Bombus impatiens*), som är en vanlig, kommersiell pollinatör i Nordamerika, kan lära sig rotera ett pussel medurs eller moturs baserat på pusslets färg (Mirwan *et al.*, 2015). Humlorna kunde associera riktningen av de roterande skivorna med färgsignaler och de gjorde det snabbt och konsekvent.

Många djur interagerar med livlösa föremål "för skojs skull" eller "leker" vilket anses vara en viktig aspekt av djurs välbefinnande (Held & Spinka, 2011). De flesta exemplen på detta har observerats hos däggdjur och fåglar, men en artikel av Dona *et al.*, (2022) beskriver ett liknande beteende hos mörk jordhumla. Fem kriterier, som tidigare tagits fram för att kunna jämföra fenomenet "lek" mellan djurarter (Burghart, 2005), har undersökts. Man observerade att humlorna rullade små bollar: 1) utan att det bidrog till deras omedelbara överlevnad, 2) utan att det var omedelbart belönande, 3) att det skilde sig från annat funktionellt beteende, 4) att det upprepades men inte blev stereotyp, och 5) att det initierades under stressfria förhållanden. Studien var dessutom designad så att man kunde utesluta att rullandet av bollen drevs av att humlorna letade efter mat, städade eller att det ingick i parningsbeteende. Forskarna kunde också se skillnader i beteendet mellan olika åldersgrupper och kön: unga humlor rullade fler bollar och hanar rullade bollarna under längre tid än honorna. Författarna konkluderar att "bollrullningen" i sig var en givande aktivitet för humlorna i försöket (Dona *et al.*, 2022). Detta tyder på att djuren kan uppleva positiva känslor.

### **8.10 Sammanfattning insekter**

Med utgångspunkt från Birch *et al.* (2021) granskade Gibbons *et al.* (2022) bevisen för känselförnimmelser (sentience), specifikt med avseende på smärta, i juvenila och vuxna insekter i sex olika ordningar. Gibbons *et al.* (2022) fann bevis som med väldigt hög grad av säkerhet stöder förekomst av smärtupplevelser hos vuxna insekter av två

ordningar, *diptera* (flugor och myggor) och *blattodea* (kackerlackor och termiter). De fann också med hög grad av säkerhet bevis för detta hos vuxna *hymenoptera* (bin, getingar, myror och sågflugor), *orthoptera* (syrsor och gräshoppor) och *lepidoptera* (fjärilar och nattfjärilar) och med medelhög säkerhet stöd för förekomst av smärta hos vuxna *coleoptera* (skalbaggar). Bevisen var generellt sett svagare för juvenila stadier, men hög grad av säkerhet med avseende på juvenila *blattodea* och *diptera*, såväl som sista utvecklingsstadiet *lepidoptera*, och medelhög säkerhet för juvenila *orthoptera*. Juvenila *hymenoptera* och *coleoptera*, såväl som första utvecklingsstadiet *lepidoptera*, kategoriserades som "okänd smärtupplevelse" i brist på vetenskapliga studier. Gibbons *et al.* (2022a) hittade inga vetenskapliga belägg som talade emot känsselförnimmelser, eller specifikt smärtupplevelse, i någon insektordning eller något utvecklingsstadium. Lägre säkerhet återspeglar undantagslöst frånvaro av vetenskapliga belägg snarare än negativa belägg. Mer forskning är avgörande för att fylla dessa kunskapsluckor, samt för att undersöka och minimera potentiella välfärdsproblem.

Sociala insekter uppvisar en mängd sofistikerade och komplexa beteenden, så som olika former av inlärning och lekbeteende varav det sistnämnda tyder på förmåga att uppleva positiva känslor.

**Tabell 2.** En sammanställning från Gibbons *et al.* (2022a) av grad av säkerhet när det gäller bevis för vuxna individer av olika insekters förmåga att känna smärta. Bokstäverna representerar grad av säkerhet för varje taxon för smärtekriterier 1–8. För beskrivningar av kriterierna, se huvudtexten. Låg eller väldigt låg säkerhet innebär endast att de vetenskapliga bevisen är svaga, och inte nödvändigtvis att djuret inte uppfyller eller sannolikt inte kommer att uppfylla kriteriet.

	Kriterier för smärtupplevelser							
	1	2	3	4	5	6	7	8
<b><i>Blattodea</i> (kackerlackor)</b>	H	VH	VH	H	VL	H	VH	VL
<b><i>Coleoptera</i> (skalbaggar)</b>	VH	VH	VL	VL	VL	VL	VL	VL
<b><i>Diptera</i> (tvåvingar)</b>	VH	VH	VH	VH	H	VL	VH	VL
<b><i>Hymenoptera</i> (steklar)</b>	VH	VH	VL	M	H	VL	VH	VL
<b><i>Lepidoptera</i> (fjärilar)</b>	VH	VH	LV	VL	VL	VL	VH	VL
<b><i>Orthoptera</i> (hopprätvingar)</b>	H	VH	VL	L	VL	VL	VH	VL

VH anger väldigt hög grad av säkerhet, H anger hög grad av säkerhet, M anger medelhög grad av säkerhet, L anger låg grad av säkerhet och VL anger väldigt låg grad av säkerhet.

## 9 Spindlar (*Arachnida*)

Spindeldjur omfattar spindlar (*Araneae*), lockespindlar (*Opiliones*), klokrypare (*Pseudoscorpiones*), kvalster (*Acari*) samt skorpioner (*Scorpiones*) och ytterligare några grupper som inte finns i Sverige. Totalt sett finns det cirka 48 000 upptäckta spindelarter (*Araneae*) i världen. Familjen fågelspindlar (*Theraphosidae*) omfattar 843 arter i 13 underfamiljer (Herpers Choice, 2023).

Spindlars (*Araneae*) huvudsakliga sensoriska organ är ögonen, slit/spaltsensiller (en form av sträckkänsliga och vibrationskänsliga mekanoreceptorer i exoskelettet, som antingen är solitära eller arrangerade i grupper eller som s.k. lyriforma organ), trichobotria (känsehår som kan känna av elektrostatiska fält och luftvibrationer), samt kemosensoriska organ (Kralj-Fišer & Gregorič, 2019). De har även hygmoreceptorer som registrerar fukt samt termoreceptorer som registrerar värme. Känselhåren, trichobotria, är enligt extremt känsliga (Kralj-Fišer & Gregorič, 2019). Olika sinnesorgan är olika väl utvecklade hos olika spindelarter och är lokaliserade på olika delar av kroppen. Benen har generellt fler sinnesorgan än övriga kroppen.

Kralj-Fišer & Gregorič (2019) har gjort en liknande men mycket mindre omfattande sammanställning som Birch *et al.* (2021) och Gibbons *et al.* (2022a) baserat på kriterier från Sneddon *et al.* (2014): 1) Nociceptorer och centralt nervsystem, 2) fysiologiska förändringar som svar på nociceptivt stimulus, 3) skyddande motoriska reaktioner vilket kan inkludera minskat användande av affekterat område, 4) inlärt undvikande (avoidance learning), och 5) kognitiva förmågor. Rådet har nedan utgått från dessa fem kriterier.

### 9.1 Nociceptorer och centralt nervsystem

Enligt Kralj-Fišer & Gregorič (2019) saknas det kunskap om nociceptorer hos spindlar och hur nociceptiv information processas i nervsystemet. Författarna menar dock att spindlar, när de utsätts för nociceptivt stimulus, utövar tillbakadragande beteenden eller flyktbeteenden. Författarna menar vidare att spindlar även utövar beteenden som kan vara mer komplicerade än enbart reflektiva, såsom att hoppa, skaka nätet eller självamputation (autotomi).

### 9.2 Fysiologiska förändringar som svar på nociceptivt stimulus

Kralj-Fišer & Gregorič (2019) lyfter inga studier som visar på fysiologisk stressrespons som svar på nociceptivt stimulus. Däremot hänvisar författarna till att detektion av vibrationer (vilket skulle kunna orsakas av en predator) leder till ökade nivåer av oktopamin (analogt till noradrenalin hos däggdjur) hos spindlar, samt att både oktopamin och serotonin minskade efter agonistiska möten hos hanliga fågelspindlar.

Detta menar författarna är tecken på aktivering av djurets stresssystem som en respons på aversiva stimulus, motsvarande vad som ses hos ryggradsdjur.

### **9.3 Skyddande motoriska reaktioner**

Spindlar använder sig regelbundet av autotomi av ben i farliga situationer (Kralj-Fišer & Gregorič, 2019). De kan också självamputera andra skadade kroppsdelar, liksom slicka eller gnida på sårskador. Kralj-Fišer & Gregorič (2019) hänvisar också till ett experiment där substanser kända för att orsaka smärta hos människor injicerades i benen på spindlar (genus *Argiope*). Flera av dessa substanser framkallade autotomi hos spindlarna, men inte alla. I experimentet testades även tre substanser som inte framkallar smärta hos människa. Dessa substanser föranledde ingen autotomi.

### **9.4 Inlärt undvikande**

Kralj-Fišer & Gregorič (2019) menar att det finns rikligt med bevis för inlärt undvikande hos spindlar. Till exempel kan vargspindlar (*Schizocosa avida*) som överlevt en skorpionattack lära sig att undvika skorpiondoft. Hoppspindlar kan lära sig undvika visuella stimulus (färger) som de lärt sig associera med hetta, elektriska chocker eller vibrationer.

### **9.5 Kognitiva förmågor**

Enligt Kralj-Fišer & Gregorič (2019) finns det en mängd bevis för spindlars förmåga till inläring. Flera spindelarter har förmågan att adaptivt modifiera sina beteenden i förhållande till födosök, väva nät, sociala interaktioner och navigering och författarna hänvisar till flera litteratursammanställningar på området. En av dessa (Japyassú & Laland, 2017) lyfter att hoppspindlar har en viss planeringsförmåga när fångsten av ett byte kräver ett arbetsminne. Samma författare skriver att spindlar har en förmåga till inläring, t.ex. kan de lära sig att undvika faror men också komma ihåg egenskaper hos ett infångat byte och kan även ändra egenskaperna och storleken på sitt nät i förhållande till tidigare fångster. Det vill säga, spindlar kan modifiera sitt beteende baserat på tidigare erfarenheter. Hoppspindlar kan även lära sig hur de kan lura andra spindlar (vilka är potentiella byten för hoppspindeln) genom att använda olika vibrationer, modifierat efter tilltänkt byte, för att locka till sig bytet så att de sedan kan attackera det (Jackson & Cross, 2011; Japyassú & Laland, 2017).

## **9.6 Sammanfattning spindeldjur**

Rådet har inte hittat så mycket forskning om spindlar eller spindeldjurs förmåga att känna smärta. Kralj-Fišer & Gregorič (2019) sammanställning är på intet sätt fullständig, då det helt enkelt verkar saknas vetenskapliga studier inom området. Utifrån vad som framgår av Kralj-Fišer & Gregorič (2019) finns det dock skäl att anta att spindlar har möjlighet till nociceptiv smärta. Rådet har inte hittat specifik information om smärta och lidande hos skorpioner (*Scorpiones*).

## **10 Arbetsmiljöaspekter**

I det fall leddjur kommer att omfattas av djurskyddslagen så är det möjligt att det kommer att ställas andra krav på skötsel och hantering av dessa djur. Detta kan komma att påverka arbetsmiljön för de som ska arbeta med djuren. Utökade krav skulle t.ex. kunna innebära utökade skötselmoment och en ökad tidsåtgång för skötsel. Även det direkta handhavandet, på det sätt djuren får hanteras, skulle kunna påverka personalens arbetsmiljö. Förändrad arbetsmiljö behöver dock inte vara negativ för de inblandade.

## **11 Ekonomiska aspekter**

I det fall leddjur kommer att omfattas av djurskyddslagen så skulle utökade krav kunna komma att ställas på djurhållningsformer, skötsel, hantering etc. Sådana förändringar skulle kunna leda till ökade kostnader för de som håller djuren, både avseende kraven på inhyssning under hållande och transport, men även i form av ökade personalkostnader om tiden för att sköta djuren ökar. Vidare kan ökade krav om hänsyn till djuren som kännande varelser förändra hur djuren t.ex. får avlivas, vilket kan leda till förändrade kostnader inom t.ex. livsmedelssektorn.

## **12 Vidare forskningsbehov**

Även om mängden forskning som behandlar smärta och lidande hos leddjur är begränsad så tyder befintlig forskning på att grupper av leddjur kan uppleva smärta och lidande. Leddjuren utgör dock en stor och heterogen grupp av djur, där få arter är studerade. Det finns således enormt mycket mer att lära om dessa arter för att bättre förstå fysiologiska funktioner, kognitiva förmågor och beteenden. Rådet har inte hittat någon forskning som tyder på att leddjur saknar förmåga att uppleva smärta och lidande.

### 13 Referenser

- Abramson, C.I. 1986. Aversive conditioning in honeybees (*Apis mellifera*). *Journal of Comparative Psychology*. 100, 108–116.
- Abramson, C.I., Armstrong, P.M., Feinman, R.A., & Feinman, R.D. 1988. Signaled avoidance in the eye withdrawal reflex of the green crab. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*. 50, 483-492.
- Abramson, C.I., Morris, A.W., Michaluk, L.M. & Squire, J. 2004. Antistatic foam as a shocking surface for behavioral studies with honey bees (*Steklar* (Hymenoptera): *Apidae*) and American cockroaches (*Hopprätvingar* (Orthoptera): *Blattelidae*). *Journal of Entomological Science*. 39, 562–566.
- Aceves-Piña, E.O. & Quinn, W.G. 1979. Learning in normal and mutant *Drosophila* larvae. *Science*. 206, 93–96.
- Adamo, S.A. 2016. Do insects feel pain? A question at the intersection of animal behaviour, philosophy and robotics. *Animal Behaviour*. 118, 75–79.
- Adamo, S.A. 2019. Is it pain if it does not hurt? On the unlikelihood of insect pain. *The Canadian Entomologist*. 151, 685–695.
- Aggio, J., Ratikin, A., & Maldonado, H. 1996. Serotonin-induced short- and long-term sensitization in the crab *Chasmagnathus*. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*. 53, 441-448.
- Aldrich, B.T., Kasuya, J., Faron, M., Ishimoto, H. & Kitamoto, T. 2010. The amnesiac gene is involved in the regulation of thermal nociception in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Neurogenetics*. 24, 33–41.
- Alem, S., Perry, C.J., Zhu, X.F., Loukola, O.J., Ingraham, T., Sovik, E., and Chittka, L. 2016. Associative mechanisms allow for social learning and cultural transmission of string pulling in an insect. *Public Library of Science Biology*, 14: e1002564.
- Altner, I., Hatt, H., & Altner, H. 1983. Structural properties of bimodal chemo- and mechanosensitive setae on the pereopod chelae of the crayfish, *Austropotamobius torrentium*. *Cell and Tissue Research*. 228, 357-374.
- Animal Health and Animal Welfare Panel of the European Food Standards Agency [AHAW]. (2005). Aspects of the biology and welfare of animals used for experimental and other scientific purposes (EFSA-Q-2004-105). Annex to the EFSA Journal. 292, 1-136.

- Appel, M., & Elwood, R. W. 2009a. Motivational trade-offs and potential pain experience in hermit crabs. *Applied Animal Behaviour Science*. 119, 120–124.
- Appel, M., & Elwood, R. W. 2009b. Gender differences, responsiveness and memory of a potentially painful event in hermit crabs. *Animal Behaviour*. 78(6), 1373-1379.
- Aranda, L.C. & Luco, J.V. 1969. Further studies on an electric correlate to learning. Experiments in an isolated insect ganglion. *Physiology & Behaviour*. 4, 133–137.
- Arenas, O. M., Zaharieva, E. E., Para, A., Vásquez-Doorman, C., Petersen, C. P., & Gallio, M. 2017. Activation of planarian TRPA1 by reactive oxygen species reveals a conserved mechanism for animal nociception. *Nature Neuroscience*. 20, 1686-1693.
- Bachtel, N.D., Hovsepian, G.A., Nixon, D.F. & Eleftherianos, I. 2018. Allatostatin C modulates nociception and immunity in *Drosophila*. *Scientific Reports*, 14, 8, 7501.
- Bacqué-Cazenave, J., Cattaert, D., Delbecque, J. P. & Fossat, P. 2017. Social harassment induces anxiety-like behaviour in crayfish. *Scientific Reports*. 7, 1-7.
- Balderrama, N. 1980. One trial learning in the American cockroach, *Periplaneta americana*. *Journal of Insect Physiology*. 26, 499–504.
- Baracchi, D., Brown, M.J.F. & Chittka, L. 2015. Behavioural evidence for self-medication in bumblebees? *F1000Research*. 4, 73.
- Barr, S., & Elwood, R. W. 2011. No evidence of morphine analgesia to noxious shock in the shore crab, *Carcinus maenas*. *Behavioural Processes*. 86, 340-344.
- Barr, S., Laming, P. R., Dick, J. T., & Elwood, R. W. 2008. Nociception or pain in a decapod crustacean? *Animal Behaviour*. 75, 745-751.
- Barraco, D.A., Lovell, K.L. & Eisenstein, E.M. 1981. Effects of cycloheximide and puromycin on learning and retention in the cockroach, *P. americana*. *Pharmacology Biochemistry and Behaviour*. 15, 489–494.
- Barron, A.B. & Klein, C. 2016. What insects can tell us about the origins of consciousness. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 113, 4900–4908.
- Barth, F.G. 2002. *A Spider's World: Senses and Behavior*. Berlin, Heidelberg, Springer-Verlag.
- Bellebaum, C. & Daum, I. 2004. Effects of age and awareness on eyeblink conditional discrimination learning. *Behavioral Neuroscience*. 118, 1157–1165.

Bhimani, R., & Huber, R. 2016. Operant avoidance learning in crayfish, *Orconectes rusticus*: Computational ethology and the development of an automated learning paradigm. *Learning and Behavior*. 44, 239-249.

Birch, J. 2020. The search for invertebrate consciousness. *Noûs*. 56, 133–153.

Birch, J., Burn, C., Schnell, A., Browning, H. & Crump, A. 2021. Review of the evidence of sentience in cephalopod molluscs and decapod crustaceans. The London School of Economics and Political Science. London, LSE Enterprise Ltd.

Blackiston, D.J., Casey, E.S. & Weiss, M.R. 2008. Retention of memory through metamorphosis: can a moth remember what it learned as a caterpillar? *Plos One*. 3, e1736.

Blenau, W. & Baumann, A. 2001. Molecular and pharmacological properties of insect biogenic amine receptors: Lessons from *Drosophila melanogaster* and *Apis mellifera*. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 48:13–38.

Boitard, C., Devaud, J.M., Isabel, G. & Giurfa, M. 2015. GABAergic feedback signaling into the calyces of the mushroom bodies enables olfactory reversal learning in honey bees. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*. 9, 198.

Bowery, N.G. 2006. GABAB receptor: a site of therapeutic benefit. *Current Opinion in Pharmacology*. 6, 37–43.

Brembs, B., 2003. Operant conditioning in invertebrates. *Current Opinion in Neurobiology*. 13, 710–717.

Brodin, E., Ernberg, M. & Olgart, L. 2016. Neurobiology: General considerations – from acute to chronic pain. *Den Norske Tannlegeforenings Tidende*. 126, 28–33.

Broom, D.M. 2013. The welfare of invertebrate animals such as insects, spiders, snails and worms. I: *Animal Suffering: from Science to Law*, International Symposium. (Red: T.A. Van der Kemp & M. Lachance). 135-152. Paris, Éditions Yvon Blais.  
Broom, D.M. 2014. *Sentience and animal welfare*. Wallingford, CABI.

Burghardt 2005. *The genesis of animal play: Testing the limits*. The MIT Press

Burrell, B.D. 2017. Comparative biology of pain: what invertebrates can tell us about how nociception works. *Journal of Neurophysiology*. 117, 1461-1473.



Chittka, L. 1998. Sensorimotor learning in bumblebees: long-term retention and reversal training. *Journal of Experimental Biology*. 201, 515–524.

Chittka L, Thomson JD (eds) (2005) Cognitive ecology of pollination. In: *Animal behavior and floral evolution*. Cambridge University Press, Cambridge

Church, R.M. & Lerner, N.D., 1976. Does the headless roach learn to avoid? *Physiological Psychology*. 4, 439–442.

Crump, A., Browning, H., Schnell, A., Burn, C., & Birch, J. 2022. Sentience in decapod crustaceans: A general framework and review of the evidence. *Animal Sentience*. 7, 1.

Darbyshire, A.K., Oliver, K.H., Dupont, W.D., Plummer, W.D., Jones, C.P. & Boyd, K.L. 2019. Anesthesia and euthanasia of brine shrimp (*Artemia franciscana*). *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*. 58, 58-64.

DeForest Mellon, J. 2003. Dendritic initiation and propagation of spikes and spike bursts in a multimodal sensory interneuron: The crustacean parasol cell. *Journal of Neurophysiology*. 90, 2465-2477.

Denti, A., Dimant, B., & Maldonado, H. 1988. Passive avoidance learning in the crab *Chasmagnathus granulatus*. *Physiology & Behavior*. 43, 317-320.

Devineni, A.V. & Heberlein, U. 2009. Preferential ethanol consumption in *Drosophila* models features of addiction. *Current Biology*. 19, 2126–2132.

Desmedt, L., Baracchi, D., Devaud, J.-M., Giurfa, M. & d’Ettorre, P. 2017. Aversive learning of odor–heat associations in ants. *Journal of Experimental Biology*. 220, 4661–4668.

Diarte-Plata, G., Sainz-Hernández, J. C., Aguiñaga-Cruz, J. A., Fierro-Coronado, J. A., Polanco-Torres, A., & Puente-Palazuelos, C. 2012. Eyestalk ablation procedures to minimize pain in the freshwater prawn *Macrobrachium americanum*. *Applied Animal Behaviour Science*. 140, 172-178.

Diggles, B.K. 2019. Review of some scientific issues related to crustacean welfare. *ICES Journal of Marine Science*. 76, 66-81.

Dimant, B., & Maldonado, H. 1992. Habituation and associative learning during exploratory behavior of the crab *Chasmagnathus*. *Journal of Comparative Physiology A*. 170, 749-775.

Djurskyddslag (2018:1192)

Djurskyddsförordning (2019:66)

Droege, P., Weiss, D.J., Schwob, N. & Braithwaite, V. 2021. Trace conditioning as a test for animal consciousness: a new approach. *Animal Cognition*. 24, 1299–1304.

Dyer, A.G., Dorin, A., Reinhardt, V., Garcia, J.E. & Rosa, M.G.P. 2014. Bee reverse-learning behavior and intra-colony differences: simulations based on behavioral experiments reveal benefits of diversity. *Ecological Modelling*. 277, 119–131.

Dylla, K., Galili, D., Szyszka, P. & Lüdke, A. 2013. Trace conditioning in insects—keep the trace! *Frontiers in Physiology*. 4, 67.

Dylla, K.V., Raiser, G., Galizia, C.G. & Szyszka, P. 2017. Trace conditioning in *Drosophila* induces associative plasticity in mushroom body Kenyon cells and dopaminergic neurons. *Frontiers in Neural Circuits*. 11, 42.

Dyuzen, I.V., Kotsyuba, E.P. & Lamash, N.E. 2012. Changes in the nitric oxide system in the shore crab *Hemigrapsus sanguineus* (Crustacea, Decapoda) CNS induced by a nociceptive stimulus. *Journal of Experimental Biology*. 215, 2668–2676.

Eisemann, C., Jorgensen, W., Merritt, D., Rice, M., Cribb, B., Webb, P. & Zalucki, M. 1984. Do insects feel pain? — a biological view. *Experientia*. 40, 164–167.

Eisenstein, E.M. & Carlson, A.D. 1994. Leg position learning in the cockroach nerve cord using an analog technique. *Physiology & Behavior*. 56, 687–691.

Eisenstein, E.M. & Cohen, M.J. 1965. Learning in an isolated prothoracic insect ganglion. *Animal Behaviour*. 13, 104–108.

El-Awami, I.O. & Dent, D.R. 1995. The interaction of surface and dust particle size on the pick-up and grooming behaviour of the German cockroach *Blattella germanica*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 77, 81–87.

Elwood, R.W. 1995. Motivational change during resource assessment by hermit crabs. *Journal of Experimental Marine Biology & Ecology*, 193, 41–55.

Elwood, R.W. 2016. Might insects experience pain? *Animal Sentience*. 133.

Elwood, R.W. 2019a. Discrimination between nociceptive reflexes and more complex responses consistent with pain in crustaceans. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B*. 374, 20190368.

Elwood, R.W. 2019b. Assessing the potential for pain in crustaceans and other invertebrates. I: The Welfare of Invertebrate Animals C. (Ed: C. Carere & J. Mather). Cham, Schweiz, Springer.

- Elwood, R.W. & Appel, M. 2009. Pain experience in hermit crabs? *Animal Behaviour*. 77, 1243–1246.
- Elwood, R.W., Barr, S., & Patterson, L. 2009. Pain and stress in crustaceans? *Applied Animal Behaviour Science*. 118, 128-136.
- Elwood, R.W., Dalton, N., & Riddell, G. 2017. Aversive responses by shore crabs to acetic acid but not to capsaicin. *Behavioural Processes*. 140, 1-5.
- Elwood, R. W., McClean, A., & Webb, L. 1979. The development of shell preferences by the hermit crab, *Pagurus bernhardus*. *Animal Behaviour*. 27, 940–946.
- Emanuel, S. & Libersat, F. 2019. Nociceptive pathway in the cockroach *Periplaneta americana*. *Frontiers in Physiology*. 10, 1100.
- Elphick, M.R., Mirabeau, O. & Larhammar, D. 2018. Evolution of neuropeptide signaling systems. *Journal of Experimental Biology*. 221.
- Europaparlamentets och rådets direktiv 2010/63/EU av den 22 september 2010 om skydd av djur som används för vetenskapliga ändamål.
- Europaparlamentets och rådets förordning (EU) 2015/2283 av den 25 november 2015 om nya livsmedel och om ändring av Europaparlamentets och rådets förordning (EG) nr 258/97 och kommissionens förordning (EG) nr 1852/2001.
- Fernandez-Duque, E., Valeggia, C., & Maldonado, H. 1992. Multitrial inhibitory avoidance learning in the crab *Chasmagnathus*. *Behavioral & Neural Biology*. 57, 189-197.
- Fields, H. 2006. A motivation-decision model of pain: the role of opioids. In: *Proceedings of the 11th world Congress on Pain*. 449–459.
- Fine-Levy, J.B., Girardot, M.N., Derby, C.D., & Daniel, P.C. 1988. Differential associative conditioning and olfactory discrimination in the spiny lobster *Panulirus argus*. *Behavioral & Neural Biology*. 49, 315-331.
- Forman, R.R. 1984. Leg position learning by an insect. A heat avoidance learning paradigm. *Journal of Neurobiology*. 15, 127–140.
- Fossat, P., Bacqué-Cazenave, J., De Deurwaerdère, P., Delbecq, J. P., & Cattaert, D. 2014. Anxiety-like behavior in crayfish is controlled by serotonin. *Science*. 344, 1293-1297.

- Fossat, P., Bacqué-Cazenave, J., De Deurwaerdère, P., Cattaert, D., & Delbecque, J.P. 2015. Serotonin, but not dopamine, controls the stress response and anxiety-like behavior in the crayfish *Procambarus clarkii*. *Journal of Experimental Biology*. 218, 2745-2752.
- Frank, E.T., Schmitt, T., Hovestadt, T., Mitesser, O., Stiegler, J., Linsenmair, K.E., 2017. Saving the injured: rescue behavior in the termite-hunting ant *Megaponera analis*. *Science Advances*. 3, e1602187.
- Galili, D.S., Dylla, K.V., Lüdke, A., Friedrich, A.B., Yamagata, N., Wong, J.Y.H., Ho, C.H., Szyszka, P. & Tanimoto, H. 2014. Converging circuits mediate temperature and shock aversive olfactory conditioning in *Drosophila*. *Current Biology*. 24, 1712–1722.
- Gherardi, F. 2009. Behavioural indicators of pain in crustacean decapods. *Annali dell'Istituto Superiore di Sanità*. 45, 432-438.
- Giannoni-Guzmán M.A., Giray T., Agosto-Rivera J.L., Stevison, B.K., Freeman, B., Ricci, P., Brown, E.A. & Abramson C.I. 2014. Ethanol-Induced Effects on Sting Extension Response and Punishment Learning in the Western Honey Bee (*Apis mellifera*). *PLoS ONE*. 9, e100894.
- Gibbons, M., Crump, A., Barrett, M., Sarlak, S., Birch, J. & Chittka, L. 2022a. Can insects feel pain? A review of the neural and behavioural evidence. *Advances in Insect Physiology*. 63:155–229.
- Gibbons, M. & Sarlak, S. 2020. Inhibition of pain or response to injury in invertebrates and vertebrates. *Animal Sentience*. 29, 34.
- Gibbons, M., Versace, E., Crump, A., Baran, B. & Chittka, L. 2022b. Motivational trade-offs and modulation of nociception in bumblebees. *Proceedings of the National Academy of Science*. 119.
- Ginsburg, S. & Jablonka, E. 2019. *The Evolution of the Sensitive Soul: Learning and the Origins of Consciousness*. Cambridge, MA, USA, MIT Press.
- Giurfa, M., 2015. Learning and cognition in insects. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Cognitive Science*. 6, 383–395.
- Giurfa, M. 2021. Learning of sameness/difference relationships by honey bees: performance, strategies and ecological context. *Current Opinion in Behavioral Sciences*. 37, 1-6.

- Godoy, A. M. & Maldonado, H. 1995. Modulation of the escape response by [D-Ala<sup>2</sup>]met-enkephalin in the crab *Chasmagnathus*. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*. 50, 445-451.
- Groening, J., Venini, D. & Srinivasan, M.V. 2017. In search of evidence for the experience of pain in honeybees: a self-administration study. *Scientific Reports*. 7, 45825.
- Gui, L., Xu, L., Liu, Z. Y., Zhou, Z. G., & Sun, Z. 2022. Carotenoid-rich microalgae promote growth and health conditions of *Artemia nauplii*. *Aquaculture*. 546, 737289.
- Guo, J., Guo, A. 2005. Crossmodal interactions between olfactory and visual learning in *Drosophila*. *Science*. 309, 307–310.
- Hamilton, T. J., Kwan, G. T., Gallup, J., & Tresguerres, M. 2016. Acute fluoxetine exposure alters crab anxiety-like behaviour, but not aggressiveness. *Scientific Reports*. 6, 19850.
- Harlioğlu, M.M., Farhadi, A. & Harlioğlu, A.G. 2020. Roles of neurotransmitters in decapod reproduction. *Thalassas*. 36, 633–639.
- Held S.D.E. & Špinka M. 2011. Animal play and animal welfare. *Animal Behaviour*. 81, pp. 891-899.
- Hentschel, E. & Penzlin, H. 1982. Beeinflussung des putzverhaltens bei *Periplaneta Americana* (L.) durch wundsetzung, naloxon-, morphin-, und met-Enkephalingaben. *Zoologische Jahrbücher Abteilung für allgemeine Zoologie und Physiologie der Tiere*. 86, 361-370.
- Herpers Choice. 2023. <https://www.herperschoise.se/index.html>, använd 2023-02-23.
- Himmel, N.J. & Cox, D.N. 2020. Transient receptor potential channels: current perspectives on evolution, structure, function and nomenclature. *Proceedings of the Royal Society B*. 287: 20201309.
- Horridge, G.A. 1962. Learning of leg position by the ventral nerve cord in headless insects. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B*. 157, 33–52.
- Hånell, A. & Marklund, N. 2014. Structured evaluation of rodent behavioral tests used in drug discovery research. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*. 8, 252.

- Izquierdo, I., Dias, R.D., Souza, D.O., Carrasco, M.A., Elisabetsky, E. & Perry, M.L. 1980. The role of opioid peptides in memory and learning. *Behavioural Brain Research*. 1, 451–468.
- Jackson, R.R. & Cross, F.R. 2011. Spider cognition. *Advances in Insect Physiology*. 41, 115-174.
- Japyassú, H.F. & Laland, K.N. 2017. Extended spider cognition. *Animal Cognition*. 20, 375-395.
- Jékely, G. 2013. Global view of the evolution and diversity of metazoan neuropeptide signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 110, 8702–8707.
- Junca, P. & Sandoz, J.-C. 2015. Heat perception and aversive learning in honey bees: putative involvement of the thermal/chemical sensor AmHsTRPA. *Frontiers in Physiology*. 6, 316.
- Kádková, A., Synytsya, V., Krusek, J., Zímová, L., & Vlachová, V. 2017. Molecular basis of TRPA1 regulation in nociceptive neurons. A review. *Physiological Research*. 66, 425-439.
- Kaczer, L., Klappenbach, M., & Maldonado, H. 2011. Dissecting mechanisms of reconsolidation: octopamine reveals differences between appetitive and aversive memories in the crab *Chasmagnathus*. *European Journal of Neuroscience*. 34, 1170–1178.
- Kaczer, L. & Maldonado, H. 2009. Contrasting Role of Octopamine in Appetitive and Aversive Learning in the Crab *Chasmagnathus*. *PLoS ONE*. 4, e6223.
- Kaun, K.R., Azanchi, R., Maung, Z., Hirsh, J., Heberlein, U. 2011. A *Drosophila* model for alcohol reward. *Nature Neuroscience*. 14, 612–619.
- Karolinska institutet. 2023. <https://mesh.kib.ki.se/term/D024521/mushroom-bodies>, använd 2023-03-06.
- Kawai, N., Kono, R., & Sugimoto, S. 2004. Avoidance learning in the crayfish (*Procambarus clarkii*) depends on the predatory imminence of the unconditioned stimulus: a behavior systems approach to learning in invertebrates. *Behavioural Brain Research*. 150, 229-237.
- Khuong, T.M., Wang, Q.P., Manion, J., Oyston, L.J., Lau, M.-T., Towler, H., Lin, Y.Q. & Neely, G.G. 2019. Nerve injury drives a heightened state of vigilance and neuropathic sensitization in *Drosophila*. *Science Advances*. 5, eaaw4099.

Khurana, S., Robinson, B.G., Wang, Z., Shropshire, W.C., Zhong, A.C., Garcia, L.E., Corpuz, J., Chow, J., Hatch, M.M., Precise, E.F., Cady, A., Godinez, R.M., Pulpanyawong, T., Nguyen, A.T., Li, W.-K., Seiter, M., Jahanian, K., Sun, J.C., Shah, R., Rajani, S., Chen, W.Y., Ray, S., Ryazanova, N.V., Wakou, D., Prabhu, R.K. & Atkinson, N.S. 2012. Olfactory conditioning in the third instar larvae of *Drosophila melanogaster* using heat shock reinforcement. *Behavior Genetics*. 42, 151–161.

Klappenbach, M., Maldonado, H., Locatelli, F., & Kaczer, L. 2012. Opposite actions of dopamine on aversive and appetitive memories in the crab. *Learning & Memory*. 19, 73–83.

Klein, C. & Barron, A.B. 2016. Insects have the capacity for subjective experience. *Animal Sentience*. 9, 100.

Knuttnen, M.-G., Power, J.M., Preston, A.R. & Disterhoft, J.F. 2001. Awareness in classical differential eyeblink conditioning in young and aging humans. *Behavioral Neuroscience*. 115, 747–757.

Kotsyuba, E.P., Dyuzhen, I.V. & Lamash, N.E. 2010. Stress-induced changes in the nitric oxide system of shore crabs living under different ecological conditions. *Russian Journal of Marine Biology*. 36, 201-208.

Kozma, M.T., Ngo-Vu, H., Wong, Y.Y., Shukla, N.S., Pawar, S.D., Senatore, A., Schmidt, M., & Derby, C.D. 2020. Comparison of transcriptomes from two chemosensory organs in four decapod crustaceans reveals hundreds of candidate chemoreceptor proteins. *PLoS ONE*. 15, e0230266.

Kozma, M.T., Schmidt, M., Ngo-Vu, H., Sparks, S.D., Senatore, A. & Derby, C.D. 2018. Chemoreceptor proteins in the Caribbean spiny lobster, *Panulirus argus*: Expression of ionotropic receptors, gustatory receptors, and TRP channels in two chemosensory organs and brain. *PLoS ONE*. 13, e0203935

Kralj-Fišer, S. & Gregorič, M. 2019. *Spider Welfare. I: The Welfare of Invertebrate Animals.* (Ed: C. Carere & J. Mather). Cham, Schweiz, Springer.

Kreienkamp, H.-J., Larusson, H.J., Witte, I., Roeder, T., Birgul, N., Honck, H.-H., Harder, S., Ellinghausen, G., Buck, F. & Richter, D. 2002. Functional annotation of two orphan G-protein-coupled receptors, Drostar1 and -2, from *Drosophila melanogaster* and their ligands by reverse pharmacology. *Journal of Biological Chemistry*. 277, 39937–39943.

Kress, T., Harzsch, S., & Dircksen, H. 2016. Neuroanatomy of the optic ganglia and central brain of the water flea *Daphnia magna* (Crustacea, Cladocera). *Cell and Tissue Research*. 363, 649-677.

Krieger, J., Sandeman, R.E., Sandeman, D.C., Hansson, B.S., & Harzsch, S. 2010. Brain architecture of the largest living land arthropod, the giant robber crab *Birgus latro* (Crustacea, Anomura, Coenobitidae): Evidence for a prominent central olfactory pathway? *Frontiers in Zoology*. 7, 25.

Livsmedelsverket, 2023. [Insekter - Kontrollwiki \(livsmedelsverket.se\)](https://www.livsmedelsverket.se/insekter) Använd 2023-02-01.

Longo, N. 1964. Probability learning and habit-reversal in the cockroach. *The American Journal of Psychology*. 77, 29–41.

Lozada, M., Romano, A., & Maldonado, H. 1988. Effect of morphine and naloxone on a defensive response of the crab *Chasmagnathus granulatus*. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*. 30, 635-640.

Lunds universitet, 2016.

(<https://www.djur.cob.lu.se//Djurartiklar/Info/insektshjarta.html>), använd 2023-03-06.

Läkemedelsverket. 2016. Läkemedelsbehandling av depression, ångestsyndrom och tvångssyndrom hos barn och vuxna. Information från Läkemedelsverket. 6, 26–65

Machon, J., Krieger, J., Meth, R., Zbinden, M., Ravaux, J., Montagné, N., Chertemps, T. & Harzsch, S. 2019. Neuroanatomy of a hydrothermal vent shrimp provides insights into the evolution of crustacean integrative brain centers. *eLife*, 8, e47550.

Magee, B., & Elwood, R.W. 2013. Shock avoidance by discrimination learning in the shore crab (*Carcinus maenas*) is consistent with a key criterion for pain. *Journal of Experimental Biology*. 216, 353-358.

Magee, B., & Elwood, R.W. 2016a. Trade-offs between predator avoidance and electric shock avoidance in hermit crabs demonstrate a non-reflexive response to noxious stimuli consistent with prediction of pain. *Behavioural Processes*. 130, 31–35.  
Magee, B. & Elwood, R.W. 2016b. No discrimination shock avoidance with sequential presentation of stimuli but shore crabs still reduce shock exposure. *Biology Open*. 5, 883-888.

Maldonado, H., Romano, A. & Lozada, M. 1989. Opioid action on response level to a danger stimulus in the crab (*Chasmagnathus granulatus*). *Behavioral Neuroscience*. 103, 1139.



- Manev, H. & Dimitrijevic, N. 2004. *Drosophila* model for in vivo pharmacological analgesia research. *European Journal of Pharmacology*. 491, 207–208.
- Martin, J.W. & Davis, G.E. 2001. An updated classification of the recent Crustacea. Vol. 39. Los Angeles, Natural History Museum of Los Angeles County.
- Maza, F.J., Sztarker, J., Shkedy, A., Peszano, V.N., Locatelli, F.F., & Delorenzi, A. 2016. Context-dependent memory traces in the crab's mushroom bodies: Functional support for a common origin of high-order memory centers. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 113, E7957-E7965.
- McCambridge, C., Dick, J.T., & Elwood, R.W. 2016. Effects of autotomy compared to manual declawing on contests between males for females in the edible crab *Cancer pagurus*: implications for fishery practice and animal welfare. *Journal of Shellfish Research*. 35, 1037-1044.
- McCurdy, L.Y., Sareen, P., Davoudian, P.A. & Nitabach, M.N. 2021. Dopaminergic mechanism underlying reward-encoding of punishment omission during reversal learning in *Drosophila*. *Nature Communications*. 12, 1115.
- Millsopp, S. & Laming, P. 2008. Trade-offs between feeding and shock avoidance in goldfish (*Carassius auratus*). *Applied Animal Behaviour Science*. 113, 247–254.
- Mirabeau, O. & Joly, J.-S. 2013. Molecular evolution of peptidergic signaling systems in bilaterians. *Proceedings of the National Academy Science U.S.A.* 110, E2028–E2037.
- Mirwan, H.B., Mason, G.J. & Kevan, P.G. 2015. Complex operant learning by worker bumblebees (*Bombus impatiens*): detour behaviour and use of colours as discriminative stimuli. *Insectes Sociaux*. 62, 365–377.
- Molendijk, M.L. & de Kloet, E.R. 2015. Immobility in the forced swim test is adaptive and does not reflect depression. *Psychoneuroendocrinology*. 62, 389–391.
- Molendijk, M.L. & de Kloet, E.R. 2019. Coping with the forced swim stressor: Current state-of-the-art. *Behavioral Brain Research*. 364, 1–10.
- Molendijk, M.L. & de Kloet, E.R. 2021. Forced swim stressor: Trends in usage and mechanistic consideration. *European Journal of Neuroscience*. 1–19.
- Mota, T. & Giurfa, M. 2010. Multiple reversal olfactory learning in honeybees. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*. 4, 48.

Murmu, M.S., Hanoune, J., Choi, A., Bureau, V., Renou, M., Dacher, M. & Deisig, N. 2020. Modulatory effects of pheromone on olfactory learning and memory in moths. *Journal of Insect Physiology*. 127, 104159.

Naturhistoriska riksmuseet. 2023. [www.nrm.se](http://www.nrm.se), använd 2023-03-06.

Navratilova, E. & Porreca, F. 2014. Reward and motivation in pain and pain relief. *Nature Neuroscience*. 17, 1304–1312.

Neckameyer, W.S. & Nieto-Romero A.R. 2015. Response to stress in *Drosophila* is mediated by gender, age and stress paradigm. *Stress*. 18, 254–266.

Nilius, B. & Szallasi, A. 2014. Transient receptor potential channels as drug targets: From the science of basic research to the art of medicine. *Pharmacological Reviews*. 66, 676–814.

Nouvian, M. & Galizia, C.G. 2019. Aversive training of honey bees in an automated Y-maze. *Frontiers in Physiology*. 10, 678.

Núñez, J., Almeida, L., Balderrama, N. & Giurfa, M. 1997. Alarm pheromone induces stress analgesia via an opioid system in the honeybee. *Physiology & Behavior*. 63, 75–80.

Nässel, D.R. 2021. Leucokinin and associated neuropeptides regulate multiple aspects of physiology and behavior in *Drosophila*. *International Journal of Molecular Sciences*. 22, 1940.

Nässel, D.R. & Wu, S.F. 2021. Leucokinins: Multifunctional Neuropeptides and Hormones in Insects and Other Invertebrates. *International Journal of Molecular Sciences*. 3, 22, 1531.

OIE. The World Organisation for Animal Health. (2019). Activity report: their health, our future.

Paulsen, R.T. & Burrell, B.D. 2019. Comparative studies of endocannabinoid modulation of pain. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*. 374: 20190279.

Pollo, S. & Vitale, A. 2019. *Invertebrates and Humans: Science, Ethics and Policy. I: Welfare of Invertebrates*. (Red: C. Carere & J. Mather) Cham, Schweiz, Springer.

Porsolt, R.D., Le Pichon, M. & Jalfre, M. 1977. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature*. 266, 730–732.

Punzo, F. 1980. Neurochemical changes associated with learning in *Schistocerca Americana* (Hopprätvingar (Orthoptera): Acrididae). *Journal of Kansas Entomological Society*. 53, 787–796.

Puri, S., & Faulkes, Z. 2010. Do decapod crustaceans have nociceptors for extreme pH? *PLoS ONE* 5: e10244.

Puri, S., & Faulkes, Z. 2015. Can crayfish take the heat? *Procambarus clarkii* show nociceptive behaviour to high temperature stimuli, but not low temperature or chemical stimuli. *Biology Open*. 4, 441-448.

Putz, G., Heisenberg, M., 2002. Memories in *Drosophila* heat-box learning. *Learning & Memory*. 9, 349–359.

Quinn, W.G., Harris, W.A. & Benzer, S. 1974. Conditioned behavior in *Drosophila melanogaster*. *Proceedings of the National Academy of Science U.S.A.* 71, 708–712.

Raine, N.E. & Chittka, L. 2007. Pollen foraging: learning a complex motor skill by bumblebees (*Bombus terrestris*). *Naturwissenschaften*. 94:459–464

Raine, N.E. & Chittka, L. 2012. No trade-off between learning speed and associative flexibility in bumblebees: a reversal learning test with multiple colonies. *PLoS ONE*. 7, e45096.

Raja, S.N., Carr, D.B., Cohen, M., Finnerup, N.B., Flor, H., Gibson, S., Keefe, F.J., Mogil, J.S., Ringkamp, M., Sluka, K.A., Song, X.J., Stevens, B., Sullivan, M.D., Tutelman, P.R., Ushida, T. & Vader K. 2020. The revised International Association for the Study of Pain definitions of pain: concepts, challenges and compromises. *Pain* 161:1976–1982.

Rana, A., Emanuel, S., Adams, M.E., Libersat, F. 2022. Suppression of host nocifensive behavior by parasitoid wasp venom. *Frontiers in Physiology*. 13, 1511.

Regeringens proposition 1987/88:93 om djurskyddslag m.m.

Regeringens proposition 2017/18:147 Ny djurskyddslag.

Ren, Q., Li, H., Wu, Y., Ren, J., Guo, A., 2012. A GABAergic inhibitory neural circuit regulates visual reversal learning in *Drosophila*. *Journal of Neuroscience*. 32, 11524–11538.

- Rigo, F., Filosevic, A., Petrovic, M., Jovic, K., Andretic Waldowski, R. 2021. Locomotor sensitization modulates voluntary self-administration of methamphetamine in *Drosophila melanogaster*. *Addiction Biology*. 26, e12963.
- Ringo, J.M. 2020. How do flies keep clean? Head grooming in *Drosophila*. *Journal of Ethology*. 38, 167–172.
- Ritter, J.M., Flower, R.J., Henderson, G., Loke, Y.K., MacEwan, D. & Rang, H.P. 2019. *Rang & Dale's Pharmacology*. London, Elsevier.
- Romano, A., Lozada M., & Maldonado, H. 1990. Effect of naloxone pretreatment on habituation in the crab *Chasmagnathus granulatus*. *Behavioral & Neural Biology*. 53, 113-122.
- Roussel, E., Padie, S., Giurfa, M. 2012. Aversive learning overcomes appetitive innateresponding in honeybees. *Animal Cognition*. 15, 135–141.
- Ruppert, E.E., & Barnes, R.D. 1994. *Invertebrate zoology*. New York, Saunders College Publishing.
- Russo, R.M., Liendo, M.C., Landi, L., Pietronave, H., Merke, J., Fain, H., Muntaabski, I., Palacio, M.A., Rodriguez, G.A., Lanzavecchia, S.B., Scannapieco, A.C. 2020. Grooming behavior in naturally varroa-resistant *Apis mellifera* colonies from north-Central Argentina. *Frontiers in Ecology and Evolution*. 8, 590281.
- Sandeman, D.C., Kenning, M., & Harzsch, S. 2014. Adaptive trends in malacostracan brain form and function related to behavior. I: Crustacean nervous system and their control of behaviour. (Red: C. Derby & M. Thiel). New York, Oxford University Press.
- Sandeman, D., Beltz, B., & Sandeman, R. 1995. Crayfish brain interneurons that converge with serotonin giant cells in accessory lobe glomeruli. *Journal of Comparative Neurology*. 352, 263-279.
- Sant'Ana, J., Tognon, R., Pires, P.D.S. & Grego' rio, P.L.F. 2021. Associative learning and memory through metamorphosis in *Grapholita molesta* (Busck) (Fjärilar (Lepidoptera): Tortricidae). *The Canadian Entomologist*. 153, 666–671.
- Sherwin, C.M. 2001. Can invertebrates suffer? Or, how robust is argument-by-analogy? *Animal Welfare*. 10, 103-118.
- Shuai, Y., Hu, Y., Qin, H., Campbell, R.A.A. & Zhong, Y. 2011. Distinct molecular underpinnings of *Drosophila* olfactory trace conditioning. *Proceedings of the National Academy of Science U. S. A.* 108, 20201–20206.

- Sjaastad ØV, Sand O & Hove K. 2016. Physiology of domestic animals, 3<sup>rd</sup> edition. Scandinavian Veterinary Press.
- Skora, L.I., Yeomans, M.R., Crombag, H.S. & Scott, R.B. 2021. Evidence that instrumental conditioning requires conscious awareness in humans. *Cognition*. 208, 104546.
- Smarandache-Wellmann, C.R. 2016. Arthropod neurons and nervous system. *Current Biology*. 26, R960-R965
- Smith, J.A., & Boyd, K.M. (Eds.). 1991. *Lives in the balance: The ethics of using animals in biomedical research*. Oxford, Oxford University Press.
- Smith, E.S.J. & Lewin, G.R. 2009. Nociceptors: A phylogenetic view. *Journal of Comparative Physiology A*. 195, 1089-1106.
- Sneddon, L.U. 2009. Pain perception in fish: indicators and endpoints. *ILAR Journal* 50: 338-42.
- Sneddon, L.U. 2015. Pain in aquatic animals. *Journal of Experimental Biology*. 218, 967–976.
- Sneddon, L.U., Elwood, R.W., Adamo, S.A., & Leach, M.C. 2014. Defining and assessing animal pain. *Animal Behaviour*. 97, 201-212.
- Strausfeld, N. J., Wolff, G. H., & Sayre, M. E. 2020. Mushroom body evolution demonstrates homology and divergence across Pancrustacea. *eLife*. 9, e52411.
- Stewart, A.M., Brauback, O., Spitsbergen, J., Gerlai, R. & Kalueff, A.V. 2014. Zebrafish models for translational neuroscience research: from tank to bedside. *Trends in Neurosciences*. 37, 264–278.
- Sulkowski, M.J., Kurosawa, M.S. & Ox, D.N. 2011. Growing pains: development of the larval nocifensive response in *Drosophila*. *Biology Bulletin*. 221, 300–306.
- Taylor, J., Vinatea, L., Ozorio, R., Schuweitzer, R. & Andreatta, E. R. 2004. Minimizing the effects of stress during eyestalk ablation of *Litopenaeus vannamei* females with topical anesthetic and a coagulating agent. *Aquaculture*. 233, 173–179.
- Tomsic, D., & Maldonado, H. 1990. Central effect of morphine pretreatment on short- and long-term habituation to a danger stimulus in the crab *Chasmagnathus*. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*. 36, 787-793.
- Tomsic, D., Maldonado, H., & Rakitin, A. 1991. Morphine and GABA: Effects on perception, escape response and long-term habituation to a danger stimulus in the crab *Chasmagnathus*. *Brain Research Bulletin*. 26, 699-706.

- Travers, E., Frith, C.D. & Shea, N. 2018. Learning rapidly about the relevance of visual cues requires conscious awareness. *Quarterly Journal of Experimental Psychology*. 71, 1698–1713.
- Tsubouchi, A., Yano, T., Yokoyama, T.K., Murtin, C., Otsuna, H. & Ito, K. 2017. Topological and modality-specific representation of somatosensory information in the fly brain. *Science*. 358, 615–623.
- Tully, T. & Quinn, W.G. 1985. Classical conditioning and retention in normal and mutant *Drosophila melanogaster*. *Journal of Comparative Physiology A*. 157, 263–277.
- Utting, M., Agricola, H.-J., Sandeman, R. & Sandeman, D. 2000. Central complex in the brain of crayfish and its possible homology with that of insects. *Journal of Comparative Neurology*. 416, 245-261.
- Valeggia, C., Fernandez-Duque, E., & Maldonado, H. 1989. Danger stimulus-induced analgesia in the crab *Chasmagnathus granulatus*. *Brain Research*. 481, 304-308.
- Vallortigara, G. 2017. Sentience does not require “higher” cognition. Commentary on Marino on *Thinking Chickens*. *Animal Sentience*. 17, 6.
- Vergoz, V., Roussel, E., Sandoz, J.-C. & Giurfa, M. 2007. Aversive learning in honeybees revealed by the olfactory conditioning of the sting extension reflex. *Plos One*. 2, e288.
- Walters, E., Illich, P., Weeks, J. & Lewin, M. 2001. Defensive responses of larval *Manduca sexta* and their sensitization by noxious stimuli in the laboratory and field. *Journal of Experimental Biology*. 204, 457–469.
- Walters, E.T. 2018. Nociceptive biology of molluscs and arthropods: Evolutionary clues about functions and mechanisms potentially related to pain. *Frontiers in Physiology*. 9, 1049.
- Walters, E.T. & Williams A.C.de C. 2019. Evolution of mechanisms and behaviour important for pain. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*. 374, 20190275.
- Wigglesworth, V.B. 1980. Do insects feel pain? *Antenna*. 4, 8–9.
- Wu, Y., Ren, Q., Li, H. & Guo, A. 2012. The GABAergic anterior paired lateral neurons facilitate olfactory reversal learning in *Drosophila*. *Learning & Memory Cold Spring Harbor Perspective in Biology Collection*. 19, 478–486.

Wustmann, G., Rein, K., Wolf, R., Heisenberg, M., 1996. A new paradigm for operant conditioning of *Drosophila melanogaster*. *Journal of Comparative Physiology A*. 179, 429–436.

Zhang, Q., Keller, R., & Dirksen, H. 1997. Crustacean hyperglycaemic hormone in the nervous system of the primitive crustacean species *Daphnia magna* and *Artemia salina* (Crustacea: Branchiopoda). *Cell and tissue research*. 287, 565-576.





SLU:s vetenskapliga råd för djurskydd är en åtgärd inom livsmedelsstrategins strategiska område Regler och villkor och ska bistå med vetenskapligt stöd för djurskyddsarbete. Det vetenskapliga rådet ska utgöra en riskvärderande instans vad gäller djurskydd och identifiera, sammanställa och utvärdera vetenskaplig forskning om djurskydd och därtill angränsande frågor, som produktionsekonomi och arbetsmiljö, på uppdrag av t.ex. Jordbruksverket.



SLU:s vetenskapliga råd för djurskydd