



Miljøministeriet
Miljøstyrelsen

Clopyralid i dansk honning og pollen fra vinterraps

Bekæmpelsesmiddel-
forskning nr. 208

Marts 2022

Udgiver: Miljøstyrelsen

Forfattere:

Lise Hansted, Københavns Universitet
Christian Andreasen, Københavns Universitet

Fotos:

Lise Hansted
Marie-Louise Olsen
Morten Dürr Resen

ISBN: 978-87-7038-404-9

Der er pr. juni 2022 indsat et forbehold i denne rapport

Miljøstyrelsen offentliggør rapporter og indlæg vedrørende forsknings- og udviklingsprojekter inden for miljøsektoren, som er finansieret af Miljøstyrelsen. Det skal bemærkes, at en sådan offentliggørelse ikke nødvendigvis betyder, at det pågældende indlæg giver udtryk for Miljøstyrelsens synspunkter. Offentliggørelsen betyder imidlertid, at Miljøstyrelsen finder, at indholdet udgør et væsentligt indlæg i debatten omkring den danske miljøpolitik.

Må citeres med kildeangivelse

Indhold

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 1. | Forord | 4 |
| 2. | Sammenfatning | 6 |
| 3. | Summary | 7 |
| 4. | Introduktion | 9 |
| 4.1 | Baggrund | 9 |
| 4.2 | Hypoteser | 11 |
| 4.3 | Forskningsproblem | 11 |
| 5. | Materialer og metoder | 12 |
| 5.1 | Lokaliteter | 12 |
| 5.2 | Indsamling af nektar- og pollen prøver fra forsøgsmarker i Taastrup. | 12 |
| 5.2.1 | Indsamling fra kommercielle rapsmarker. | 15 |
| 5.2.2 | Rapspollen reference | 16 |
| 5.2.3 | Analyser | 17 |
| 5.2.4 | Beregninger | 18 |
| 5.2.5 | Statistiske analyser | 19 |
| 6. | Resultater og diskussion | 20 |
| 6.1 | Honning fra kommercielle rapsmarker | 20 |
| 6.2 | Pollen fra kommercielle rapsmarker | 21 |
| 6.3 | Nektar fra Taastrup | 21 |
| 6.4 | Pollen fra Taastrup | 23 |
| 6.5 | Konklusion og perspektivering | 23 |
| 7. | Anerkendelser | 25 |
| 8. | Litteratur | 26 |
| 9. | Appendix | 29 |
| 9.1 | Nektar fra rapsblomster Taastrup | 29 |
| 9.2 | Pollen fra rapsblomster i Taastrup | 34 |
| 9.3 | Pollen fra kommercielle rapsmarker | 37 |
| 9.4 | Honning fra kommercielle rapsmarker | 39 |
| 9.5 | Godkendte produkter indeholdende clopyralid | 42 |
| 9.6 | Kort over markernes placering | 43 |

1. Forord

I 2017 fandt man for første gang clopyralid i dansk honning. Clopyralid er et aktivstof, der indgår i en række ukrudtsmidler (f.eks. Matrigon 72 SG, reg. nr. 64-74 og Galera reg. nr. 64-71), som har været anvendt i vinterraps og vårraps til bekæmpelse af ukrudt fra kurvblomstfamilien, som er udbredte og almindelige i Danmark (Andreasen & Stryhn, 2007). Midlerne er godkendt til anvendelse i raps hvert 4. år. Der er på EU plan sat en maksimal grænseværdi (kaldet MRL; Maximum Residue Level) for, hvor stor en rest, der må være af et givent aktivstof i en given afgrøde produceret til fødevarer og for fødevarer inkl. honning, men ikke for andre biavlsprodukter¹ (Reg. (EU) 396/2005). For clopyralid i honning er MRL sat til 0,05 mg/kg. På grund af manglende restanalyseforsøg er den baseret på den analytiske detektionsgrænse LOD (Limit of Detection). Ifølge EU (SANTE 12682/2019) er usikkerheden for pesticid-analyser generelt sat til $\pm 50\%$ af analyseværdien. Det betyder, at honningprøver med et restindhold af clopyralid på maksimalt 0,10 mg/kg ikke anses for at overskride MRL signifikant, og derfor overholder lovgivningen. Da næsten 50% af den danske honning stammer fra nektar indsamlet fra vinterraps, kan restkoncentrationer af clopyralid i honning, der er højere end 0,1 mg/kg, udgøre et alvorligt økonomisk problem for danske biavlere, da de potentielt kan miste en stor del af deres forventede indtægter fra rapshonningen. I 2017 blev flere partier honning afvist, fordi indholdet af clopyralid var højere end 0,10 mg/kg.

I Danmark er midlerne godkendt til anvendelse i raps senest i vækststadiet BBCH 55, som er det tidspunkt, hvor man kan se de første individuelle blomsterknopper på hovedstænglen af rapsplanterne, men hvor de endnu ikke er sprunget ud. Clopyralid er et systemisk pesticid, der primært optages gennem bladene. Det har auxinvirkning og fremkalder en ukontrolleret kraftig vækst i følsomme arter som for eksempel lugtløs kamille, mens der sker en inaktivering af herbicidet i tolerante afgrøder. Den bedste bekæmpelseeffekt opnås, når ukrudt og afgrøde er i god vækst, samtidig med, at afgrøden ikke er blevet så stor, at den dækker over ukrudtet. Det skal være tørt og rimeligt varmt, minimum 10–12°C og optimalt 15°C (<https://www.corteva.dk/produkter/plantevaern/matrigon-72sg.html>). Det kan være vanskeligt at finde dage i det tidlige forår, hvor klimaforholdene og planternes vækst og vækststadiet tillader udbringning. Clopyralid transporteres rundt i planten via ledningsvævet (Devine et al., 1990), og da planten er i god vækst på sprøjtetidspunktet, er der en risiko for, at herbicidet ender i blomsternes nektar og pollen, hvorfra bierne kan indsamle det. Clopyralid har ingen herbicidvirkning på raps i den godkendte dosis, men da halveringstiden (DT50) i jord under danske forhold er 24 dage, baseret på worst-case værdi fra feltstudier (EFSA, 2018) repræsentative for danske forhold, kan det være til stede i rapsplanterne på blomstringstidspunktet. En DT50 i jorden på 24 dage viser, at clopyralid er til stede i jorden i den periode hvor rapsplanterne udvikler blomster. Planterne vil muligvis løbende kunne optage aktivstoffet ud over det, som de har optaget, når stoffet har ramt planten ved udbringningen, og som transporteres rundt i planten, og hvoraf noget kan forventes at ville havne i blomsternes nektar og pollen.

Dette projekt havde til formål at teste følgende hypoteser 1) nektar og pollen, opsamlet fra blomster af vinterraps, der er sprøjtet med clopyralid før blomstring og senest i vækststadiet BBCH 55 kan indeholde clopyralid, 2) honning og pollen, opsamlet fra bistader opstillet ved siden af vinterrapsmarker, der er sprøjtet med clopyralid senest i vækststadiet BBCH 55, kan indeholde clopyralid.

Vi vil gerne takke 1) de mange landmænd, der har deltaget i projektet for tilladelse til at gennemføre forsøgene i deres marker og for at hjælpe med oplysninger og billeder om udbringningen af clopyralid, 2) biavlerne, der satte honningbier ud til markerne og gjorde en stor indsats midt i en aktiv periode af biavlssæsonen, 3) Corteva Agrisciences Denmark A/S for at stille Matrigon 72 SG, reg. nr. 64-74 gratis til rådighed for landmændene og 4) Miljøstyrelsen for økonomiske midler til projektet (MST-667-00197). Vi vil også gerne takke personalet på PlanteFaciliteter & Værksteder, Institut for Plante- og Miljøvidenskab, Københavns Universitet for løbende at holde øje med

¹ Der gælder ikke maksimalgrænseværdier for andre biavlsprodukter, før de enkelte produkter er blevet identificeret og opført på listen i bilag I til forordning 396/2005.

udviklingen af planterne og for den tætte kontakt via e-mail og telefon i en vigtig del af forsøgsperioden, hvor adgangen til mark og laboratorier var stærkt begrænset pga. Covid-19 restriktioner, samt ledelsen på Institut for Plante- og Miljøvidenskab og PlanteFaciliteter & Værksteder for stor samarbejdsvillighed, der muliggjorde gennemførelsen af forsøgene i marken med passende restriktioner pga. Covid-19.

2. Sammenfatning

Dette projekt havde til formål at teste følgende hypoteser 1) nektar og pollen, opsamlet fra blomster af vinterraps, der er sprøjtet med clopyralid før blomstring og senest i vækststadiet BBCH 55 (første individuelle blomsterknopper på hovedstængelen synlige, men stadig lukkede) kan indeholde clopyralid, 2) honning og pollen, opsamlet fra bistader opstillet ved siden af vinterrapsmarker, der er sprøjtet med clopyralid senest i vækststadiet BBCH 55, kan indeholde clopyralid.

Forsøgene blev gennemført på en forsøgsmark med vinterraps i Taastrup og på ti kommercielle vinterrapsmarker i 2019. I 2020 blev en anden forsøgsmark med vinterraps i Taastrup undersøgt samt ti andre kommercielle vinterrapsmarker. I forsøgsmarkerne i Taastrup blev der hvert år indsamlet fire nektarprøver á 50 µl/plot og fire pollenprøver á 200 mg/plot fra hver af otte forsøgsparceller, heraf fire sprøjtet med clopyralid og fire kontroller, hvor der ikke var udbragt clopyralid. Der blev indsamlet en honningprøve og en pollenprøve fra en bifamilie placeret ved hver af de kommercielle vinterrapsmarker. Nektaren blev indsamlet vha. mikropipetter, pollenet fra blomsterne ved at slå blomster mod en si, pollenet fra bifamilier ved hjælp af pollenfælder påsat bistaderne, og honning ved at høste en honningtavle indsamlet af bierne under rapsens blomstring. Prøverne blev analyseret for indhold af clopyralid vha. LCMS QqQ på Institut for Plante- og Miljøvidenskab, sektion for Molekylær Plantebiologi på Københavns Universitet, og honningprøverne blev desuden analyseret for både clopyralid og indhold af rapspollen vha. metoderne DFG S19 og QuEChERS også i henhold til AOAC metode 2007.01. på Quality Services International GmbH, Flughafendamm 9a, 28199 Bremen i Tyskland.

Der er på EU plan sat en maksimal grænseværdi (kaldet MRL; Maximum Residue Level) for hvor stor en rest der må være af et givent aktivstof i en given fødevarer inkl. honning (Reg. (EU) 396/2005). For clopyralid i honning er MRL 0,05 mg/kg. På grund af manglende restanalyseforsøg er den baseret på LOD (Limit of Detection). Ifølge EU (SANTE 12682/2019) er usikkerheden for pesticid-analyser generelt sat til ±50% af analyseværdien. Det betyder, at honningprøver med et restindhold af clopyralid på maksimalt 0,10 mg/kg ikke overskrider MRL signifikant, og derfor overholder lovgivningen. I dette projekt, blev der fundet rester af clopyralid i samtlige nektar-, pollen- og honningprøver fra sprøjtede plots fra forsøgsmarken og fra de øvrige marker, og i en stor del af dem var værdien højere end 0,1 mg/kg, som betyder, at honningen ikke overholder lovgivningen.

I hvor høj grad pesticider optages i nektar og pollen afhænger især af dosen af pesticider og timingen af udbringningen (Gierer et al., 2019). Vi vil derfor anbefale, at der gennemføres undersøgelser over effekten af lavere koncentrationer af clopyralid på både restkoncentrationerne i honning og pollen og på bekæmpelsen af ukrudtet samt af effekten af at udbringe clopyralid i et tidligere udviklingsstadium eller ved pletsprøjtning.

En fastlæggelse af en MRL-værdi for clopyralid i honning, som baseres på restanalyseforsøg, kan medføre en forhøjelse af MRL-værdien, og dermed en mindre risiko for at honningen skal kasseres. Det kan dog også medføre, at nogle forbrugere vil fravælge at købe honning.

Et alternativ til Matricon 72 SG, reg. nr. 64-74 kunne være herbicidet Galera, reg. nr. 64-71. Det kan anvendes tidligere end Matricon 72 SG (Galera kan udbringes ved 8°C) (<https://www.corteva.dk/produkter/plantevaern/galera.html>) og risikoen for kontaminering af nektar, pollen og honning må derfor antages at være mindre. Da der udbringes den samme mængde clopyralid per ha for de to midler, er det dog sandsynligt, at der også ved brug af Galera kan komme rester af clopyralid i honning.

Hvis ikke det er muligt at nedsætte restkoncentrationen af clopyralid i honning tilstrækkeligt ved at ændre dosis, pletsprøjtning og/eller ændre udbringningstidspunkt samtidig med at der bevares en effektiv ukrudtsbekæmpelse, anbefaler vi, at brugen af clopyralid i vinterraps stoppes. Alternativt bør man fastsætte en specifik MRL i honning.

3. Summary

This project aimed to test the following hypotheses 1) nectar and pollen, collected from flowers of winter oilseed rape sprayed with clopyralid before flowering and latest in growth stage BBCH 55 (individual flower buds on the main inflorescence visible but still closed) may contain clopyralid; 2) honey and pollen collected from beehives placed next to winter oilseed rape fields sprayed with clopyralid at the latest in stage BBCH 55 may contain clopyralid.

The study was carried out on an experimental field with winter oilseed rape in Taastrup and based on ten agricultural fields with winter oilseed rape in 2019. In 2020, another experimental field with winter oilseed rape in Taastrup was investigated and ten other winter oilseed rapeseed fields belonging to farmers. In the experimental field in Taastrup, four nectar samples of 50 µl/plot and four pollen samples of 200 mg/plot were collected each year from each of eight experimental plots, of which four were sprayed with clopyralid and four were unsprayed controls. At each farmer's field a honey sample and a pollen sample were collected from a bee colony. The nectar was collected using micropipettes, the pollen from the flowers by striking flowers against a sieve, pollen from bee colonies by pollen traps attached to the hives, and honey by harvesting a honeycomb collected by the bees during the rapeseed flowering period. The samples were analysed for clopyralid content using LCMS QqQ at the Department of Plant and Environmental Sciences, Section for Molecular Plant Biology at the University of Copenhagen, and the honey samples were also analysed for both clopyralid and rapeseed pollen content using the DFG S19 and QuEChERS methods also in accordance to AOAC method 2007.01. at Quality Services International GmbH, Flughafenweg 9a, 28199 Bremen in Germany.

At EU level, a maximum limit value (called MRL; Maximum Residue Level) has been set for how large a residue may be of an active substance in a given food, inclusive honey but not for other bee products (Reg. (EU) 396/2005). For clopyralid in honey the MRL is 0.05 mg/kg, which is based on LOD (Limit of Detection) due to lack of residue data. According to the EU (SANTE 12682/2019), the uncertainty for pesticide analysis is set to $\pm 50\%$ of the analytical value. This means that honey samples with residues of clopyralid on a maximum 0.10 mg/kg do not significantly exceed the MRL and therefore comply with the law. In this project, residues of clopyralid were found in all nectar, pollen and honey samples from treated plots and fields. In a large part of the samples, more than 0.1 mg clopyralid/kg was detected, which would have resulted in a ban on the sale of honey.

The dose and timing of pesticide application are some of the main reasons for differences in the extent to which pesticides are absorbed into nectar and pollen (Gierer et al., 2019). We therefore recommend that studies on the effect of lower concentrations of clopyralid on both the residues in honey and pollen and on the control of weeds, as well as on the effect of applying clopyralid at an earlier developmental stage should be undertaken. Another solution might be only to patch spray with clopyralid.

Determination of a MRL for honey based on data from residue trials may result in an increase of MRL that reduces or eliminates the risk of discarding honey. It may, however, also deter some customers from buying honey.

An alternative to Matrigon 72 SG reg. no. 64-74 might be to use the herbicide Galera reg. no. 64-71 containing the active ingredients 267g/l clopyralid and 67 g/l picloram, which can be applied earlier in the season than Matrigon 72 SG (Galera can be applied at 8°C) (<https://www.corteva.dk/produkter/plantevaern/galera.html>), and which may reduce the risk of contaminating nectar, pollen and honey. However, as the same amount of clopyralid per hectare is applied by the two agents, it is likely that clopyralid residues in honey may also be present with the use of Galera.

If it is not possible to reduce the residuals of clopyralid in honey sufficiently by changing the dose and/or application time, or by patch spraying while maintaining an efficient weed control, it is recommended that the use of

clopyralid should be stopped in winter oil seed rape. Alternatively, a MRL value specifically for honey should be set.

4. Introduktion

4.1 Baggrund

Pesticider anvendes ofte til afgrøder i konventionelt landbrug (f.eks. mod ukrudt, insekter og sygdomme, og til vækstregulering), og i mindre grad i økologisk landbrug (og aldrig mod ukrudt) for at opretholde en høj produktion og kvalitet af de høstede produkter. For forbrugere af landbrugsprodukter er eksponering til pesticider derfor uundgåeligt. På EU-plan er der sat grænseværdier for pesticider i alle afgrøder til fødevarer. Dette er gjort for at sikre, at der ikke vil være en sundhedsrisiko forbundet ved indtag af fødevarer dyrket med pesticider. Derfor risikovurderes alle pesticider på baggrund af deres anvendelse (f.eks. sprøjtning i rapsmarker) og for deres potenti-ale til at være tilstede i de høstede afgrøder. Dette gøres for at sikre, at der ikke er flere rester i fødevarerne, end hvad der maksimalt bør forventes ud fra God Landbrugsmæssig Praksis (GAP). Et middel kan kun godkendes, hvis dette restindhold er sundhedsmæssigt acceptabelt

I de senere år har bekymring over den globale tilbagegang af bestøvere ført til en øget forskning i virkningen af pesticider på honningbier og vilde bier (Mulvey & Cresswell, 2020; Fajta et al., 2018; Lundin et al., 2015; Stanley et al., 2015), såvel som på rester i nektar og pollen i blomster (Gierer et al., 2019; Botias et al., 2015; Bonmatin et al., 2015) og i pollen og honning samlet af honningbier (El-Nahhal, 2020; Raimets et al., 2020; Mitchell et al., 2017; Mullin et al., 2010; Simon-Delso et al., 2017). I 2016 angav IPBES (The Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services), at pesticider sammen med fald i levesteder og ændret landskabsfiguration er de vigtigste årsager til tilbagegangen af bestøvere (IPBES, 2016). En dansk undersøgelse har vist, at humlebier er udsat for pesticider i landbruget, men sandsynligvis i doser, der er for lave til at dræbe dem, da mængden af pesticider er lavere end den dødelige dosis for honningbier (Bruus et al., 2013). De kan dog have subletale effekter i de fundne mængder, da Spurgeon et al. (2016) har vist, at humlebier ikke er mere følsomme end honningbier, når det gælder dødelighed, men at de er det, når det gælder subletale effekter som påvirkning af f.eks. orienteringsevne og formeringsevne. Derudover, har EU Kommissionen givet mandat til Den Europæiske Fødevarer sikkerhedsautoritet (EFSA) til at revidere vejledningen for risikovurderingen af honningbier. Arbejdet forventes afsluttet i 2021 (<https://www.efsa.europa.eu/en/news/guidance-bees-and-pesticides-work-plan-published>).

Pesticidrester i honning og pollen i bifamilierne afhænger af forekomsten af rester i blomster (nektar og pollen) og i andre næringsemner, som bierne indsamler, f.eks. vand (Bonmatin et al., 2003; 2015). Restniveauet i honning, der indsamles fra bifamilierne, kan være enten lavere eller højere end restniveauet i nektar indsamlet direkte fra blomsterne, og restniveauet i pollen kan være lavere i pollen indsamlet af bier end i pollen indsamlet direkte fra blomster (Bonmatin et al., 2015; Byrne et al., 2014; Schmuck et al., 2001). Mekanismerne for forskellene i nektar og honning kendes ikke sikkert, men de kan bl.a. skyldes en fortyndingseffekt, der forekommer, når bierne blander forurenede nektar med ren nektar i staderne og en koncentreringsseffekt, når bierne inddamper nektaren. Forskellene i restniveauet i pollen kan skyldes en fortyndingseffekt, når bierne blander forurenede og rent pollen (Bonmatin et al., 2015).

I 2017 blev clopyralid for første gang fundet i dansk honning, da honning fra 2016 fra hele Danmark for første gang blev testet herfor. Rester af clopyralid i honning er efterfølgende fundet i Estland (Raimets et al., 2020; Karise et al., 2017) og Israel (Bommuraj et al., 2019).

EU's maksimalgrænseværdi (MRL) for clopyralid i honning er på 0,05* mg/kg, hvor stjernen indikerer, at MRL er sat til den analytiske detektionsgrænse (Reg. (EU) 2018/1514). Hvis myndighedskontrollen i Danmark finder fund af clopyralid i honning over 0,05 mg/kg, så sendes honningen til toksikologisk vurdering hos DTU. Hvis honningen vurderes at være sundhedsskadelig, skal den tilbagekaldes fra markedet. Hvis honningen ikke vurderes som sundhedsskadelig, så skal honningen ikke tilbagekaldes forudsat at fundet af clopyralid er maksimalt 0,10 mg/kg. Ifølge EU (SANTE 12682/2019) er usikkerheden for pesticid-analyser generelt sat til ±50% af analyseværdien.

Det betyder, at honningprøver med et restindhold af clopyralid på maksimalt 0,10 mg/kg ikke anses for at overskride MRL signifikant, og derfor overholder lovgivningen. I 2017 blev der fundet clopyralid i 81% af 55 danske honningprøver fra 2016, som blev testet af grossister på tre internationalt anerkendte laboratorier. For 60% af honningprøverne var mængden af clopyralid højere end MRL på 0,05 mg/kg, og for 31% var det over 0,1 mg/kg (Landbrugsinfo.dk, 2017). For 14 danske forårshonninger fra 2017, som blev testet af Danmarks Biavlerforening, var der clopyralid i 93%. I 64% af honningerne var der over 0,05 mg/kg, og i 50 % var det højere end 0,1 mg/kg (Rune Havgaard Sørensen, personlig kommunikation). Honning er inkluderet i den danske veterinær- og fødevarere-administrations analyser af pesticidrester i fødevarer, men der analyseres ikke for clopyralid. Næsten 50% af den danske honning stammer fra nektar indsamlet fra raps (Kryger et al., 2011). Ifølge Danmarks Biavlerforening kan brugen af clopyralid udbragt i raps udgøre et alvorligt økonomisk problem for danske biavlere, og allerede i 2017 blev salget af flere forårshonning-partier afvist af en grossist pga. af for højt indhold af clopyralid (Rune Havgaard Sørensen, Danmarks Biavlerforening, personlig meddelelse). Produkter indeholdende clopyralid godkendt til vinterraps i Danmark fremgår Tabel S8. En oversigt over markedsførte pesticider indeholdende clopyralid findes i bekæmpelsesmiddeldatabasen (BMD). I raps bruges clopyralidprodukter i foråret til bekæmpelse af ukrudtsarter tilhørende kurvblomstfamilien, hovedsageligt lugtløs kamille (*Tripleurospermum inodorum*), vellugtende kamille (*Matricaria recutita*) og skivekamille (*Matricaria discoidea*), som er udbredte og almindelige ukrudtsarter i de fleste afgrøder i Danmark (Andreasen & Stryhn, 2007). Clopyralid optages primært gennem bladene. Den bedste effekt opnås, når ukrudt og afgrøde er i god vækst, samtidig med, at afgrøden ikke er blevet så stor, at den dækker over ukrudtet. Det skal være tørt og rimeligt varmt, minimum 10–12°C og optimalt 15°C (<https://www.corteva.dk/produkter/plantevaern/matrigon-72sg.html>). I raps er midlerne godkendt til anvendelse senest i vækststadiet BBCH 55, som er det tidspunkt, hvor man kan se de første blomsterknopper på hovedstænglen af rapsplanterne, men hvor de endnu ikke er sprunget ud (Canola Council of Canada, 2017, Lancashire et al., 1991). Clopyralid optages primært gennem bladene. Clopyralid transporteres rundt i planten via ledningsvævet (Devine et al., 1990), og da planten er i god vækst på sprøjtetidspunktet, er der en risiko for, at herbicidet ender i blomsternes nektar og pollen, hvorfra bierne kan indsamle det. Clopyralid har ingen herbicidvirkning på raps i den anbefalede dosis, men da halveringstiden (DT50) i jord under danske forhold er 24 dage baseret på worst-case værdi fra feltstudier repræsentative for danske forhold (EFSA 2018) kan det være til stede i rapsplanterne på blomstringstidspunktet. En DT50 i jorden på 24 dage viser, at clopyralid er tilstede i jorden i den periode, hvor rapsplanterne udvikler blomster, og at planterne muligvis løbende vil kunne optage aktivstoffet ud over det, som den muligvis har optaget ved udbringningen af stoffet, og som transporteres rundt i planten. En del af det forventes at ville havne i blomsternes nektar og pollen, mens en del formentlig vil blive metaboliseret af rapsplanterne.

Ifølge EFSA er eksponeringsvejene for bier blevet rangeret fra 0 (ingen eksponeringsvej) til 4 (meget relevant eksponeringsvej). Både nektar og pollen fik den højeste score (4), og de er begge blandt de mest sandsynlige eksponeringsveje for plantebeskyttelsesmidler til bier (EFSA, 2012). Der er blevet identificeret flere pesticider i nektar og pollen (Bonmatin et al., 2015; EFSA, 2012) fra forskellige plantearter.

Formålet med projektet var at undersøge indholdet af clopyralid i nektar og pollen fra rapsblomster og i honning og pollen, som honningbier har indsamlet under rapsens blomstring ved korrekt udbringelse af pesticidet, og på grundlag heraf at belyse om den nuværende godkendelse af clopyralidprodukter sikrer en overholdelse af MRL-værdien for honning.

Dette projekt havde til formål at teste følgende hypoteser 1) nektar og pollen, opsamlet fra blomster af vinterraps, der er sprøjtet med clopyralid før blomstring og senest i vækststadiet BBCH 55 kan indeholde clopyralid, 2) honning og pollen, opsamlet fra bistader opstillet ved siden af vinterrapsmarker, der er sprøjtet med clopyralid senest i vækststadiet BBCH 55, kan indeholde clopyralid.

4.2 Hypoteser

Dette projekt havde til formål at teste følgende hypoteser 1) nektar og pollen, opsamlet fra blomster af vinterraps, der er sprøjtet med clopyralid før blomstring og senest i vækststadiet BBCH 55 (første individuelle blomsterknopper på hovedstængelen synlige, men stadig lukkede) kan indeholde clopyralid; 2) honning og pollen, opsamlet fra bistader opstillet ved siden af vinterrapsmarker, der er sprøjtet med clopyralid senest i vækststadiet BBCH 55, kan indeholde clopyralid.

4.3 Forskningsproblem

Clopyralid er fundet i dansk honning. Vi ønsker at undersøge, om clopyralid kan detekteres i honning, nektar og pollen fra vinterraps, når herbiciderne anvendes korrekt i forhold til godkendelsen.

5. Materialer og metoder

5.1 Lokalteter

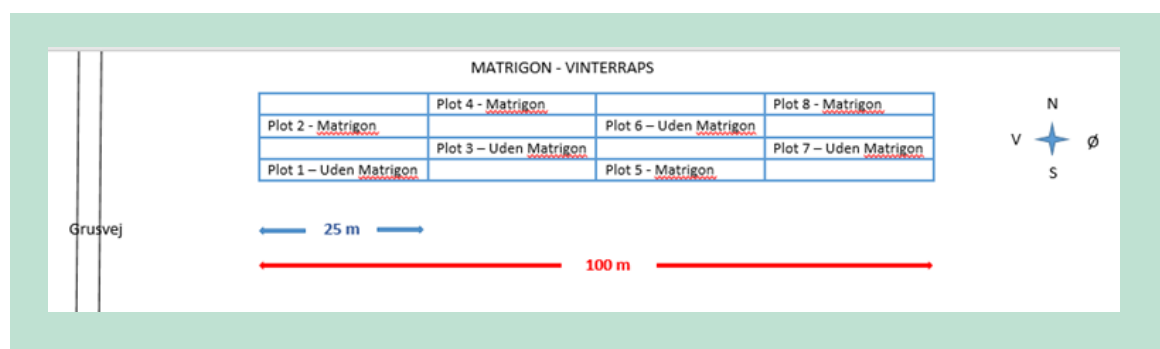
Forsøgene blev gennemført i vinterraps på Højbakkegaard (Københavns Universitet, Taastrup) og i 10 kommercielle vinterrapsmarker i 2019 og 2020 (se kort med markernes placering på figur S1 og S2). Der blev anvendt forskellige forsøgsmarker ved Højbakkegaard og hos landmændene i de to forsøgsår.

5.2 Indsamling af nektar- og pollen prøver fra forsøgsmarker i Taastrup

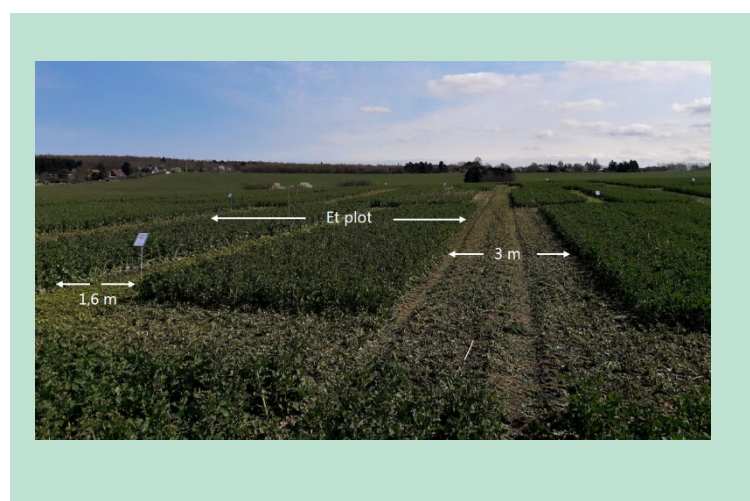
Forsøgsplan.

Der blev udtaget nektar- og pollenprøver fra otte parceller, heraf fire usprøjtede og fire sprøjtet med clopyralid. Forsøgsbehandlingen blev fordelt tilfældigt indenfor hver gentagelse. Forsøgsplanen er vist i Figur 1, 2 og Tabel 1).

Der blev anvendt 0,11 kg/ha Matrigon 72 SG, reg. nr. 64-74, som angivet på etiketten (<https://www.cor-teva.dk/produkter/plantevaern/matrigon-72sg.html>). Der blev anvendt 200 liter vand pr. ha, 1 bars tryk og en dysen "Lechler – IDKT 120-03 POM".



FIGUR 1. Skitse af forsøgsplan for sprøjtning med Matrigon 72 SG reg. nr. 64-74 i Taastrup 2019. Hver parcel var 25 x 12 m. Forsøgsparcellerne var adskilt af 3 m brede striber, og der var en tom parcel mellem hver forsøgsparcel for at undgå afdrift. I midten af hver parcel blev der slået en stribe, der var 1,6 m bred, hvorfra prøverne blev udtaget. Der blev ikke udtaget prøver i de yderste to meter af hvert plot.



FIGUR 2. Plotdesignet i Taastrup. Foto: Lise Hansted

Tabel 1. Fordeling af kontrolparceller og parceller sprøjtet med 0,11 kg/ha Matrigon 72 SG, reg. nr. 64-74 på de to forskellige marker, der indgik i forsøget i 2019 og 2020 ved Højbakkegaard, Taastrup.

| Plot | 2019 | 2020 |
|------|----------------|----------------|
| 1 | Kontrol | Matrigon 72 SG |
| 2 | Matrigon 72 SG | Kontrol |
| 3 | Kontrol | Matrigon 72 SG |
| 4 | Matrigon 72 SG | Kontrol |
| 5 | Matrigon 72 SG | Kontrol |
| 6 | Kontrol | Matrigon 72 SG |
| 7 | Kontrol | Kontrol |
| 8 | Matrigon 72 SG | Matrigon 72 SG |

Udbringning af Matrigon 72 SG reg. nr. 64-74

Marken blev sprøjtet med Matrigon 72 SG reg. nr. 64-74, da rapsplanterne var i vækststadiet BBCH 53-55 (Figur 3). I 2019 lød vejrudsigten på sprøjtetidspunktet på varme dage, hvor planterne hurtigt kunne udvikle sig længere end til stadium 55. Efter sprøjtningen kom der en lang ret kølig periode. I 2020 var temperaturen 10 grader på sprøjtetidspunktet, det var solskin, og der var en let vind. Efter sprøjtningen kom der en lang kølig periode med temperaturer under 10°C bortset fra en enkelt dag. Sprøjtetidspunkter og antal dage fra sprøjtning til første indsamlingsdag fremgår af tabel 2.



FIGUR 3. Udbringning af Matrigon 72 SG reg. nr. 64-74 indeholdende clopyralid i forsøgsmarken i Taastrup 2019. Foto: Lise Hansted.

| | 2019 | 2020 |
|---|--------------------|-----------------|
| Sprøjteditidspunkt | 5. april kl. 10 | 20. marts kl. 9 |
| Indsamlingsdatoer | 25. april – 1. maj | 17-22 april |
| Antal dage fra sprøjtning til første indsamlingsdag | 20 | 28 |

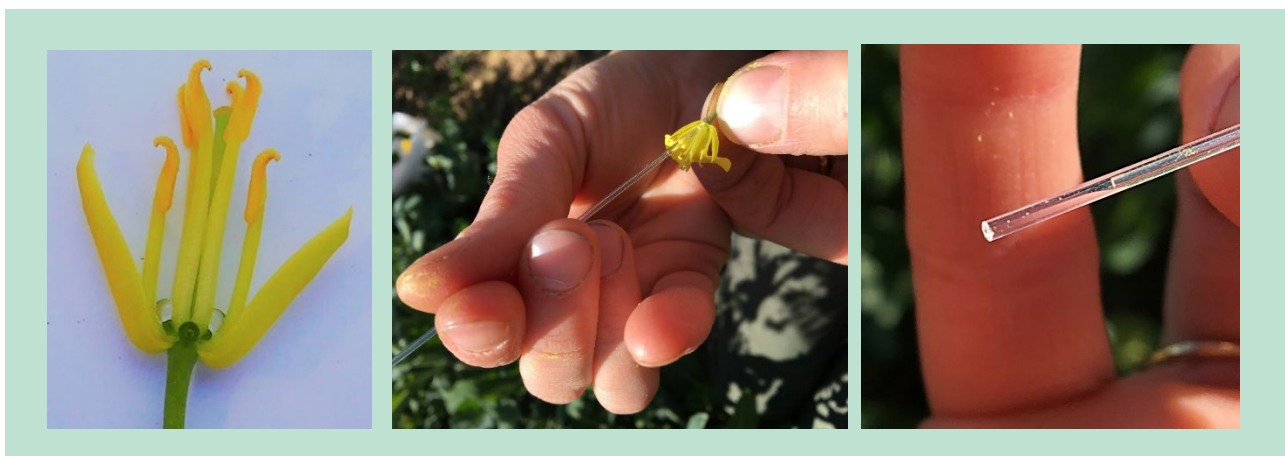
Tabel 2. Sprøjtetidspunkter, indsamlingsdage og antal dage fra sprøjtning til første indsamlingsdag for forsøgsmarken i Taastrup.

Indsamling af nektar- og pollenprøver

I forsøgsmarken i Taastrup blev der fra hver af de otte forsøgsparceller indsamlet fire nektarprøver á 50 µl og fire pollenprøver á 200 mg. Prøverne blev indsamlet fra udækkede blomster fra vækststadiet BBCH 63–65 svarende til, at de blev indsamlet fra når 30% af blomsterne på hovedstænglen var åbne til planterne var i fuld blomst med 50% åbne blomster på hovedstænglen og begyndende fald af ældre kronblade. Temperaturen var over 13°C, der faldt ikke nedbør under indsamlingen, og det var relativt vindstille de fleste dage.

Nektarindsamlingen foregik i marken, og den blev startet mellem 9.30 og 11.00 om formiddagen, når blomsterne var tørre, og nektaren ikke var for tynd, og indsamlingen sluttede kl. 15.45. Nektaren blev opsamlet med 5 eller 10 µl mikropipetter fra udækkede blomster, der var sprunget ud samme morgen (Figur 4). Opsamling af nektar med kalibrerede mikropipetter er tidligere blevet anvendt til påvisning af pesticidrester i rapsnektar, da det betragtes som den sikreste måde at undgå krydskontaminering (Botias et al., 2015; Botias - personlig meddelelse). Der blev anvendt en blomst på hovedstænglen per plante. Mikropipetten blev forsigtigt ført ned til de to store nektardråber i bunden af blomsten ved basis af de to korte støvdragere. Nektaren blev opsuget vha. kapillærkraften og derefter overført til 50 µl indsats. Ved hjælp af et simpelt pust i mikropipetterne blev nektaren overført til indsatserne. En mikropipette blev anvendt en gang, men der blev opsamlet nektar fra flere blomster i den for at få en tilstrækkelig stor mængde nektar at puste ud. Der blev indsamlet fire prøver á 50 µl per parcel plus en ekstra til standardisering af analysemetoden. Der blev anvendt ca. 108–923 blomster/prøve i 2019 og ca. 109–851 blomster/prøve i 2020 (Tabel S1). Blomsterantallet blev kun talt nogenlunde dels fordi det ikke er afgørende, og dels fordi nektarindsamlingen krævede stor koncentration og var meget tidskrævende.

Der var stor forskel på blomsterne, og der var begge år en del tomme blomster, som ikke blev talt med. Der var også forskel på, hvor man kunne tage nektaren. Den blev indsamlet fra den første pæne friske udviklede blomst på hovedstænglen. Eneste undtagelse var den 29-4-2019, hvor vi måtte tage nogle blomster lidt længere nede i blomsterstanden for at få blomster nok, da der ikke var nektar i de øverste blomster.



FIGUR 4. Til venstre: Nektaren opsamles fra de to store nektardråber, der ses til venstre og højre i bunden af blomsten. Foto: Lise Hansted. I midten: De to store nektardråber findes ved bunden af de to korte støvdragere. Her kan man med lidt forsigtighed, men relativt let, stikke en mikropipette ned og opsuge dråben. Foto: Marie-Louise Olsen. Til højre: Nektaren ses tydeligt i mikropipetten. Foto: Marie-Louise Olsen.

Pollenprøverne blev indsamlet direkte i marken fra tidlig formiddag, når blomsterne var blevet så tørre og nektaren så tykflydende, at vand og/eller nektar ikke blev blandet med pollenet og umuliggjorde indsamlingen. Plante-stænglerne blev klippet over, og alle blomsterne blev derefter slået mod en si med huller, der var 0,500 mm i diameter (Figur 5 og 6). Pollenet blev siet herigennem i marken, hvorefter det blev taget indenfor i et uopvarmet rum og siet gennem en si med hul-størrelse 0,250 mm i diameter. Evt. urenheder blev fjernet. Derefter blev pollenet frosset ved -18°C. Der blev indsamlet fire pollenprøver per parcel. For hver prøve blev der brugt 43–151 planter og 80–200 planter i henholdsvis 2019 og 2020, bortset fra en enkelt prøve i 2020, hvor der blev brugt 300 planter (Tabel S3). Alle blomster på en plante blev anvendt. Der blev altid indsamlet rigeligt med pollen for at sikre, at alle prøver var store nok efter frasortering af planterester, små dyr med mere.



FIGUR 5. Til venstre: Blomsterne slås forsigtigt mod en si. Til højre: Urenheder fjernes. Fotos: Lise Hansted.



FIGUR 6. Til venstre: Pollenindsamling 2019. Til højre: For overskuelighedens skyld blev planterne skåret over, da antal planter anvendt per pollen-prøve skulle tælles i 2019. Alle de afskårne planter blev brugt til en pollenprøve. Fotos: Lise Hansted.

5.2.1 Indsamling fra kommercielle rapsmarker.

I begge forsøgsår (2019 og 2020) blev der ved 10 kommercielle rapsmarker placeret på Sjælland og i Jylland, der alle var behandlet med clopyralid, udsat en honningbifamilie efter at marken var begyndt at blomstre. Der blev efterfølgende indsamlet en honningprøve og en pollenprøve fra hver bifamilie, i alt 10 honningprøver og 10 pollenprøver per år.

Udbringning af clopyralid.

Clopyralid blev på alle marker udbragt senest i vækststadiet BBCH 55. På behandlingstidspunktet blev der taget et eller flere fotos af markens udviklingsstadium. De fleste stadier er angivet af landmændene og derefter tjekket af Lise Hansted på fotos. Nogle få stadier er kun tjekket fra fotos. Vækststadiet jfr. BBCH skalaen på sprøjtetidspunktet og datoer for sprøjtning er angivet i Tabel 3.

TABEL 3. Sprøjtetider og vækststadier BBCH ved sprøjtning med clopyralid. Marknumrene henfører til forskellige marker i 2019 og 2020.

| Mark nr. | 2019 | | 2020 | |
|----------|---------------|-------------------|---------------|-------------------|
| | Sprøjtet dato | Vækststadiet BBCH | Sprøjtet dato | Vækststadiet BBCH |
| R-1 | 3. april | 52 | 16. marts | 53-55 |
| R-2 | 7. april | Ca. 52 | 26. marts | 55 |
| R-3 | 3. april | 53-54 | 26. marts | 55 |
| R-4 | * | 55 | 5. april | 55 |
| R-5 | 28. marts | 55 | 27. marts | 55 |
| R-6 | 6. april | 52-55 | 6. april | 52-55 |
| R-7 | 30. marts | 55 | * | 55 |
| R-8 | 4. april | 51 | 26. marts | 50 |
| R-9 | 28. marts | 53-55 | 10. april | 55 |
| R-10 | 3. april | 54 | 4. april | 55 |

* Sprøjtetidspunkt ikke opgivet af landmand.

Indsamling af honning og pollen

I hver bifamilie blev der indsat en ny ramme med en voksplade i det magasin, der stod lige over honninggitteret. Honningen blev udelukkende høstet fra denne tavle. Det er biavlernes erfaring, at honningbierne stopper med at trække på vinterraps, når hvidtjørnen begynder at blomstre. Honningen blev derfor taget fra, da den første hvidtjørneblomst sås, uanset om den på det tidspunkt var forseglet eller ej for at være sikker på, at den udelukkende var indsamlet under rapsens blomstring. Ved høsten blev honning og voks (minus midterpladen) skrabet ned i to honningglas. Voksrester og eventuelle andre urenheder, der flød oven på honningen, blev skummet af. Hver prøve var på minimum 500 g i 2019. I 2020 var nogle få prøver mindre end 500 g, men der var rigeligt til analyse.

Der blev sat en pollenfælde foran indgangen på hvert bistade til opsamling af det pollen, bierne bragte hjem til stadet. Pollenet blev i de fleste tilfælde indsamlet to gange i to på hinanden følgende dage i løbet af rapsens blomstring, hver gang efter at pollenfælden havde været monteret et døgn. I 2019 blev den indsamlet tre gange fra tre af staderne på Sjælland, og for de fire marker i Jylland blev pollenfælden sat på om formiddagen dag 1, og pollenet blev taget fra om eftermiddagen dag 2.

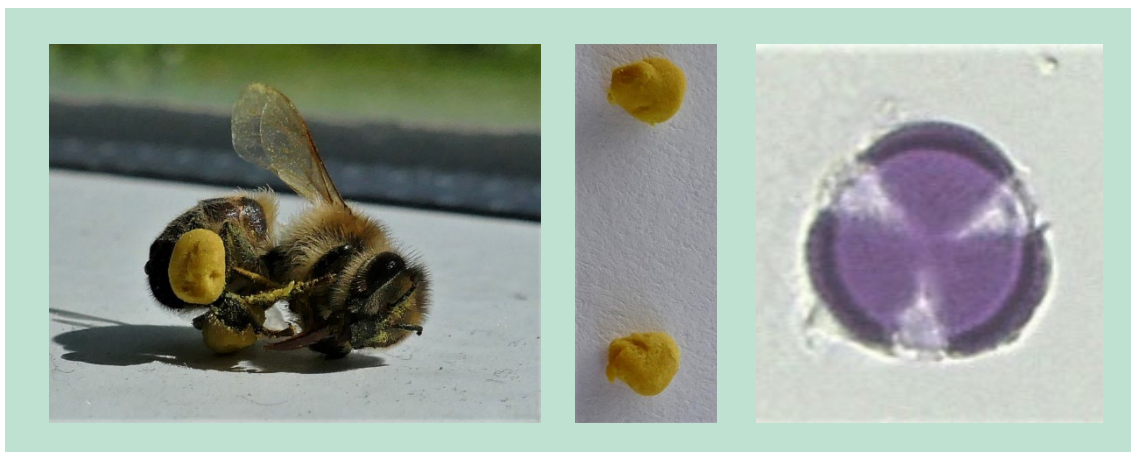
5.2.2 Rapspollen reference

I 2019 blev der indsamlet 10 honningbier, mens de indsamlede pollen fra rapsplanter på en tilfældig kommerciel rapsmark, som ikke havde noget med de øvrige forsøg at gøre. Pollenet blev brugt som reference for rapspollens farve og rapspollens udseende. Det vil være udelukkende rapspollen, da en honningbi kun indsamler føde fra en planteart på en fourageringstur (Leonhardt & Blüthgen, 2012). Pollenbukserne (de to pollenklumper på bagbenene) blev adskilt fra bierne og derefter opbevaret på frost ved -18°C (Figur 7).

5.2.3 Analyser

Analyse af pollen fra kommercielle rapsmarker

Rapspollenet indsamlet af de 10 honningbier (afsnit 5.2.2) blev anvendt som standard for rapspollen fra prøverne fra de kommercielle rapsmarker, da de forekom på samme måde, det vil sige at de begge var indsamlet af honningbier i biernes pollenbukser. Pollenet blev undersøgt visuelt i naturlig størrelse og i mikroskop (Figur 7). Den samme farve kan se meget forskellig ud i forskelligt lys. Når pollenfarver skal sammenlignes, er det derfor nødvendigt at sammenligne pollen i den samme tilstand og under de samme lysforhold.



FIGUR 7. Til venstre: Honningbi med pollenbukser fra rapsmark. I midten: Pollenbukser adskilt fra bien. Til højre: Rapspollen. Forstørrelse: 40 x Fotos: Lise Hansted.

Ved undersøgelse af pollenet, der var blevet indsamlet fra de kommercielle rapsmarker, blev pollen med samme farve som det rapspollen, der var indsamlet af de ti honningbier, adskilt fra den øvrige pollen. For hver mark, blev der undersøgt fire tilfældige pollenklumper under mikroskop, og de blev sammenlignet med referencen for rapspollen for at sikre, at det adskilte pollen var rapspollen.

Mikroskopi af pollen

En beholder med glycerin jelly med fuchsin (gjf) blev sat i mikrobølgeovnen i ti sekunder, så den blev flydende. Derefter blev der lagt en dråbe vand på et objektglas, og lidt pollen skåret af en pollenklump og lagt i vanddråben. Pollenklumpen blev rørt lidt rundt, så pollenkornene løsnede sig fra hinanden og fordelte sig i vandet, hvorefter objektglasset blev lagt på en varmeplade (50°C) indtil vandet var fordampet. Samtidig blev et dækglass opvarmet på varmepladen. Der blev lagt en dråbe gjf (15 µl) på hver indtørret vanddråbe, hvorefter det varme dækglass forsigtigt blev lagt på dråben. Derefter blev objektglasset lagt på varmepladen i ti minutter, og efter at afkøling og hærdning i to timer blev de forsejlet med klar neglelak.

Kemiske analyser

Da projektet kun fokuserer på clopyralid, blev der anvendt en enkelt analysemetode. På grund af prøvernes størrelse og den forventede meget lave koncentration af clopyralid, blev analysen udført med LCMS QqQ (Agilent UHPLC 1290 Infinity II og MS 6465). Adskillelsen udførtes på en C18-søjle (Zorbax Eclipse Plus C18, 50 x 2.1 mm, 1.8 µm) en søjle hvis polaritet er bedst egnet til polære forbindelser som clopyralid. Gradienten blev optimeret for bedst mulig separation fra baggrundsstøj. MilliQ vand med 0,05% myresyre og acetonitril med 0,05% myresyre blev brugt som solvent A og B. Gradienten var: 0–0,2 min 5 % B, 0,2–1,9 min 5–40% B, 1,9–2,0 min. 40–100% B, 2,0–2,8 min. 100% B, 2,8–2,85 min. 100–5% B og 2,85–4,0 min. 5% B. Søjletemperatur var 40°C. Analysen på massespektrometeret blev kørt med MRM (multi reaction monitoring) for øget følsomhed. Parameter til MRM blev optimeret for høj følsomhed og nøjagtig måling og kvantificering af clopyralid. Måling foregik i kombineret positiv og negativ mode, fordi clopyralid kan detekteres i begge modi: positiv mode precursor ion m/z 192,0 → product ions m/z 146,0 (Collision energy, CE= 20 V), 173,8 (CE=8 V), 109,9 (CE=40 V) og 74,9 (CE=72 V); negativ mode precuros ion m/z 189,9 → product ions m/z 146,0 (CE=4 V) og 34,9 (CE=12 V). Product ion 146,0 blev brugt som quantifier ion i begge modi. Parameter blev optimeret til fragmentor voltage 48 V, dwell time 74,47

ms. Ioniseringsparameter blev optimeret til: gas temperature 325°C, gas flow 10 L/min, nebulizer 30 psi, sheath gas temperature 250°C og sheath gas flow 12 L/min. Capillary voltage var 4500 V i positiv mode og 2000 V i negativ mode. I positiv mode var nozzle voltage 1000 V og 0 V i negativ mode. Detektionsgrænsen (LLOD) blev målt som 0,1 ng/ml, mens kvantificeringsgrænsen (LLOQ) er 1 ng/ml. Linearitet er fra 0,2 ng/ml til 2 µg/ml. Kvantificering blev udført med ekstern standardrække fra 0,01 ng/ml – 10 µg/ml clopyralid. Alle prøver blev analyseret i triplikater. For at undgå matrixeffekter blev alle prøver fortyndet med MilliQ vand inden analyse: 5x for pollen- og honningprøver og 10x for nektarprøverne.

De kemiske analyser blev foretaget på Institut for Plante- og Miljøvidenskab, sektion for Molekylær Plantebiologi på Københavns Universitet (KU) af Christoph Crocoll.

Analyse af nektar og pollen indsamlet fra rapsblomster

Forberedelse af nektarprøverne: 5 µl nektar blev mikset direkte i analyserør med 45 µl 20% metanol.

Densitetsberegningerne for nektar er baseret på:

<https://www.vinolab.hr/calculator/gravity-density-sugar-conversions-en19>

Analyse af honning og pollen indsamlet fra bistader udsat ved rapsmarker

Pollen og honning blev ekstraheret i 85% metanol. Omkring 100 mg honning blev ekstraheret i 1 ml 85% metanol, mens omkring 30 mg pollen fra bistader og blomster blev ekstraheret med 350 µl 85% metanol. Prøverne blev vortexet og inkuberet ved stuetemperatur i 1,5 time. Bagefter blev prøverne vortexet igen og centrifugeret i 3 min ved 20000 x g. Supernatanten blev overført til nye rør og frosset ned til senere brug. Direkte inden analysen blev supernatanten tørt op og 5 x fortyndet med milliQ vand.

Analyse for indhold af clopyralid og pollen ved Quality Services International (QSI)

Udover analysen på KU blev honningen også analyseret ved Quality Services International GmbH, Flughafen-damm 9a 28199 Bremen i Tyskland. Honning høstet fra bifamilier kan stamme fra flere forskellige planter, og pollen fra disse planter vil forekomme i honning. For at undersøge i hvor høj grad, honningen stammede fra rapsblomster, blev andelen af rapspollen i honningen undersøgt. QSI anvendte den kombinerede procedure af metoderne DFG S19 og QuEChERS også i henhold til AOAC metode 2007.01.

5.2.4 Beregninger

Analyseresultaterne for indhold af clopyralid i nektar angives i µg/l. Ved omregning til mg/kg skal der tages hensyn til sukkerindholdet i nektaren, da den påvirker massefylden.

Når bierne har hentet nektaren hjem til stedet, forarbejder de den til honning, og som en del af processen inddamper de den til et vandindhold på 17–20%, så den kan holde sig uden at gære (Crane, 1980). For vinterraps har Ohe & Ohe (1998) fundet en middelværdi for vandindholdet i 399 rapshonninger på 16,7%. I følge EU's honning direktiv (Council of the European Union, 2002) må honning med enkelte undtagelser højst indeholde 20% vand.

I tabel 7 er clopyralidindholdet i den indsamlede nektar omregnet til indholdet i den honning, bierne kunne have produceret herfra, hvis der havde været 30%, 50% eller 80% sukker i nektaren.

Eksempel:

For plot 2 havde en af prøverne et clopyralid indhold på 80,76 µg/l i 2019 (Tabel S2). Hvis det antages, at nektaren har indeholdt 50% sukker, er omregningsfaktoren i følge "<https://www.vinolab.hr/calculator/gravity-density-sugar-conversions-en19>" 1,189. Dvs. at der er $80,76 \times 1,189/1000$ mg/kg = 0,096 mg clopyralid/kg nektar med 50% sukker.

Det svarer til, at der er $0,096 \text{ mg clopyralid/kg} / 50\% \times 80\% = 1,54$ mg clopyralid/kg i en honning med sukkerindhold på 80%.

5.2.5 Statistiske analyser

Forskelle på clopyralidindholdet i honning analyseret af KU og QSI blev analyseret vha. en parret t-test.

Forskelle på clopyralidindholdet i pollen indsamlet fra blomster og af bier blev analyseret vha. en uparret t-test.

6. Resultater og diskussion

6.1 Honning fra kommercielle rapsmarker

Der var 35–98% og 87–99% rapspollen i honningprøverne fra kommercielle rapsmarker i henholdsvis 2019 og 2020 (Tabel 4). Det indikerer, at alle bifamilierne har trukket på vinterraps, men i varierende grad i 2019, mens de overvejende har trukket på vinterraps i 2020, og dermed stammer den indsamlede honning overvejende fra vinterraps.

Tabel 4. Andel af rapspollen i honning indsamlet af honningbier fra kommercielle rapsmarker

| Plot nr. | 2019 Rapspol- len % | 2019 (KU) Clopyralid indhold mg/kg | 2019 (QSI) Clopyralid indhold mg/kg | Plot nr. | 2020 Rapspol- len % | 2020 (KU) Clopyralid indhold mg/kg | 2020 (QSI) Clopyralid indhold mg/kg |
|------------|----------------------------------|--|---|------------|----------------------------------|--|---|
| HB-2019-1 | 96 | 0,07 | 0,08 | HB-2020-1 | 98 | 0,19 | 0,16 |
| HB-2019-2 | 35 | 0,08 | 0,05 | HB-2020-2 | 90 | 0,14 | 0,13 |
| HB-2019-3 | 98 | 0,09 | 0,1 | HB-2020-3 | 87 | 0,11 | 0,09 |
| HB-2019-4 | 97 | 0,13 | 0,13 | HB-2020-4 | 95 | 0,21 | 0,19 |
| HB-2019-5 | 95 | 0,05 | 0,06 | HB-2020-5 | 95 | 6,83 | 4,20 |
| HB-2019-6 | 82 | 0,06 | 0,07 | HB-2020-6 | 86 | 0,14 | 0,09 |
| HB-2019-7 | 72 | 0,10 | 0,12 | HB-2020-7 | 96 | 0,08 | 0,07 |
| HB-2019-8 | 57 | 0,27 | 0,32 | HB-2020-8 | 87 | 0,11 | 0,05 |
| HB-2019-9 | 77 | 0,08 | 0,09 | HB-2020-9 | 99 | 0,08 | 0,07 |
| HB-2019-10 | 89 | 0,16 | 0,11 | HB-2020-10 | 89 | 0,07 | 0,04 |

Honningen blev analyseret både ved QSI og på KU. Der var ikke nogen signifikant forskel i de detekterede indhold af clopyralid i honningen i resultaterne fra KU og QSI (Tabel 4, 5, S6 og S7).

Tabel 5. Clopyralid i honning indsamlet af honningbier fra kommercielle rapsmarker, der var sprøjtet med Matri- gon 72 SG reg. nr. 64-74.

| | 2019 | | 2020 | |
|--------------------------|------------------|--------------------|------------------|--------------------|
| | Analyseret på KU | Analyseret ved QSI | Analyseret på KU | Analyseret ved QSI |
| Antal (N) | 10 | 10 | 10 | 10 |
| N >0,05 (mg/kg) | 9 | 10 | 10 | 8 |
| N >0,1 (mg/kg) | 4 | 4 | 7 | 4 |
| Interval (mg/kg) | 0,05–0,27 | 0,05–0,32 | 0,07–6,83 | 0,04–4,20 |
| Middelværdi ± SD (mg/kg) | 0,11±0,07 | 0,11±0,08 | 0,80±2,12 | 0,51±1,303 |
| Median (mg/kg) | 0,09 | 0,09 | 0,12 | 0,09 |

Alle marker var sprøjtet med den godkendte dosering af clopyralid senest i vækststadiet BBCH 55 (50–55) (Tabel 5, S6 og S7). Der var clopyralid i alle 10 honningprøver fra hvert år. Bortset fra en prøve fra KU og to fra QSI var mængden større end MRL på 0,05 mg/kg i alle prøverne. Der var mere end 0,10 mg/kg i knap halvdelen af dem,

hvilket medfører forbud af salg af honningen. Der er derfor behov for at få sat en MRL for clopyralid, som ikke er default sat til detektionsgrænsen (LOD).

I to af prøverne fra 2019, HB-2019-2 og HB-2019-9, var mængden af clopyralid i honningen mindre end 0,10 mg/kg i 2019, men andelen af rapspollen var lavt, henholdsvis 35% i HB-2019-2 og 77% i HB-2019-9 (Tabel 4). Pollen fra forskellige planter kommer i forskellig grad til udtryk i honningen. Det afhænger bl.a. af blomstens bygning, der har betydning for, hvor meget pollen bierne får med hjem til stedet, når de indsamler nektar. For raps gælder, at pollenet generelt er lidt overrepræsenteret (Ohe & Ohe, 2000). Det betyder, at man, når man analyserer pollenindholdet i en honning, vil finde en større andel af rapspollen, end den andel af honningen, der reelt er indsamlet fra raps. Dvs. at andelen af honning, der blev indsamlet fra vinterraps i HB-2019-2 og HB-2019-9, sandsynligvis var lavere end henholdsvis 35% og 77%. Havde bierne indsamlet udelukkende fra raps, må man antage, at indholdet af clopyralid var blevet højere end 0,10 mg/kg for HB-2019-2 og måske også for HB-2019-9.

I prøve HB-2019-8 fra 2019 var kun 57% af pollenet fra raps. På trods af den forholdsvis lave andel af honningen, der stammede fra raps, blev der fundet henholdsvis 0,27 mg clopyralid/kg (KU) og 0,32 mg clopyralid/kg (QSI).

6.2 Pollen fra kommercielle rapsmarker

Der var mere end 0,1 mg/kg clopyralid i alle pollenprøverne i begge år (Tabel 6 og S5). Det medfører ikke forbud mod salg af pollen, da der på nuværende tidspunkt ikke er fastlagt en MRL for pollen, da pollen endnu ikke er identificeret og opført i EU's pesticiddatabase i gruppen for honning og andre biavlprodukter (kodenummer 1040000) (EU Pesticides Database) og da pollens kemiske egenskaber er forskellige fra honnings ((EU) 2018/62). Det vides ikke på nuværende tidspunkt hvornår og om der vil blive sat en MRL for clopyralid i pollen, og hvilken værdi en sådan MRL eventuelt vil blive.

Pollen er et produkt, som de danske biavlere i de senere år har arbejdet med at udvikle som et "nyt" produkt i Danmark, bl.a. i projektet "Udvikling og kvalitet i biprodukter". Det betyder, at dansk pollen i stigende grad indsamles og udbydes til salg i Danmark (Vejsnæs m.fl., 2019, Biavl.dk). På nuværende tidspunkt kan det ikke forbydes at sælge pollen pga. af højt indhold af clopyralid, da der ikke er sat en MRL for clopyralid i pollen. Hvis der i fremtiden sættes en MRL, bør den sættes på grundlag af analytiske undersøgelser, så det sikres at pollenprodukter ikke er sundhedsskadelige, og ikke på grundlag af den analytiske detektionsgrænse. Ellers vil den potentielt kunne reducere salg af pollen indsamlet fra bier uden sundhedsfaglig grund.

Tabel 6. Clopyralid i pollen indsamlet af honningbier fra kommercielle rapsmarker, der var sprøjtet med Matrigon 72 SG reg.nr. 64-74.

| | 2019 | 2020 |
|--------------------------|-----------|-----------|
| Antal (N) | 10 | 10 |
| N >0,05 (mg/kg) | 10 | 10 |
| N >0,1 (mg/kg) | 10 | 10 |
| Interval (mg/kg) | 0,51–1,63 | 0,33–1,03 |
| Middelværdi ± SD (mg/kg) | 0,94±0,41 | 0,70±0,23 |
| Median (mg/kg) | 0,83 | 0,62 |

6.3 Nektar fra Taastrup

Både i 2019 og 2020 var der clopyralid i alle nektarprøverne (udtaget 20–25 dage og 28–31 dage efter sprøjtning i henholdsvis 2019 og 2020) fra plots, der var sprøjtet med Matrigon 72 SG reg.nr. 64-74. Der var ikke noget i de usprøjtede plots (Tabel 7 og S2)

Sukkerprocenten i den indsamlede nektar er ikke kendt, men i tidligere undersøgelser har rapsnektar indeholdt 26–84% sukker (Knopper et al., 2016; Westcott & Nelson, 2001; Enkegaard et al., 2016; Hansted & Jørgensen,

2019). I undersøgelser fra Danmark har nektar indsamlet ved centrifugalkraft haft en gennemsnitlig sukkerkoncentration på 31% (Enkegaard et al., 2016) og nektar indsamlet med mikropipetter fra 15 vinterrapsorter en gennemsnitlig sukkerkoncentration på 55% (Hansted og Jørgensen, 2019).

Bier ser ud til at foretrække nektar med et sukkerindhold på 50–65% (Kim et al. 2011; Knopper et al., 2016). Når de har hentet nektaren hjem til stedet, forarbejder de den til honning, og som en del af processen inddamper de den, så den kan holde sig uden at gære (Crane, 1980). For vinterraps har Ohe & Ohe (1998) fundet en middelværdi for vandindholdet i 399 raps honninger på 16,7%. Ifølge EU's Honning direktiv (Council of the European Union, 2002) må honning med enkelte undtagelser højst indeholde 20% vand. Hvis vi antager at den indsamlede nektar indeholdt 80% sukker, ville clopyralidindholdet i nektaren svare nogenlunde til indholdet i den honning, bierne kunne have produceret herfra. Det er dog usandsynligt, at al nektaren har indeholdt 80% sukker. Det er en meget tyktflydende masse, som det ikke ville have været muligt at opsamle med mikropipetter. Dertil kommer, at det både i 2019 og 2020 var tydeligt, at det var lettere at opsamle nektaren om formiddagen end om eftermiddagen de fleste dage, fordi nektaren var mere tyndtflydende, og fordi der var mere af den i de enkelte blomster. Dette er i overensstemmelse med Pernal & Curie (1998) og Mohr & Jay (1990), der fandt den laveste sukkerkoncentration i rapsnektar om morgenen og den højeste om eftermiddagen, og tilsvarende at suktermængden i nektaren var lavest tidligt på dagen og højest senere på dagen. Ved at indsamle nektaren fra kl. 9.30–16, må man forvente, at sukkerprocenten i den indsamlede nektar ligger i den lavere ende, fordi den største mængde som nævnt ovenfor, blev indsamlet i løbet af formiddagen, hvor der var mere nektar i blomsterne, og hvor den var lettere at opsuge i mikropipetterne end om eftermiddagen.

I Tabel 7 er indholdet af clopyralid i en honning, bierne kunne have produceret fra den indsamlede nektar udregnet for 30% sukker, som er tæt på den laveste suktermængde, der er fundet i rapsnektar, for 50% sukker, som er attraktivt for bier, og for 80% sukker, som er den laveste tilladte suktermængde i honning iflg. EU's regulativ. Ved omregningen fås de højeste clopyralidmængder ved 30% sukker i nektaren og de laveste ved 80%. En sukkerprocent, der i gennemsnit har været på omkring 50%, anses for realistisk (Hansted og Jørgensen, 2019). Ved 50% sukker i nektaren ville der minimum have været 0,05 mg/kg clopyralid og maximum 0,40 mg/kg clopyralid/kg i en honning indsamlet fra de sprøjtede plots i 2019 og 2020, og der ville have været mere end 0,10 mg/kg, i 75% af prøverne fra 2019 og i 100% af prøverne fra 2020.

Tabel 7. Clopyralid i nektar indsamlet fra forsøgsmark i Taastrup. Mængden af clopyralid i nektaren er omregnet til relevante mængder i honning med 80% sukker, bierne kunne have produceret herfra.

| År | | Kontrol | Clopyralid i nektar | | |
|------|--------------------------|-----------|--|--|---|
| | | | Omregnet til honning ved 30% sukker i nektar | Omregnet til honning ved 50% sukker i nektar | Uden omregning svarende til 80% sukker i nektar |
| 2019 | Antal (N) | 16 | 16 | 16 | 16 |
| | N >0,05 (mg/kg) | 16 | 16 | 16 | 15 |
| | N >0,1 (mg/kg) | 15 | 15 | 12 | 6 |
| | Interval (mg/kg) | 0,00–0,00 | 0,08–0,42 | 0,05–0,27 | 0,04–0,18 |
| | Middelværdi ± SD (mg/kg) | 0,00±0,00 | 0,22±0,09 | 0,14 ± 0,06 | 0,09 ± 0,04 |
| | Median (mg/kg) | 0 | 0,19 | 0,12 | 0,08 |
| 2020 | Antal (N) | 16 | 16 | 16 | 16 |
| | N >0,05 (mg/kg) | 16 | 16 | 16 | 16 |
| | N >0,1 (mg/kg) | 16 | 16 | 16 | 16 |
| | Interval (mg/kg) | 0,00–0,00 | 0,26–0,63 | 0,16–0,40 | 0,11–0,27 |
| | Middelværdi ± SD (mg/kg) | 0,00±0,00 | 0,42±0,10 | 0,27 ± 0,06 | 0,18 ± 0,04 |
| | Median (mg/kg) | 0,00 | 0,39 | 0,25 | 0,17 |

6.4 Pollen fra Taastrup

Der var væsentligt mere end 0,10 mg/kg clopyralid i samtlige pollenprøver fra plots sprøjtet med Matrigon 72 SG reg. nr. 64-74, mens pollen fra usprøjtete plots ikke indeholdt clopyralid (Tabel 8 og S4). Minimumsmængden af clopyralid var 18,5 gange højere end den tilladte MRL-værdi for honning på 0,05 mg clopyralid/kg og maksimumsmængden var 147,8 gange højere. Det er vigtigt at bemærke, at MRL for honning ikke gælder for andre biavlsprodukter på grund af deres forskellige kemiske egenskaber, som det også er beskrevet i pkt. 6.2. Der er på nuværende tidspunkt ikke en MRL for pollen, men de høje mængder i pollen betyder, som beskrevet i 6.2, at en evt. fremtidig MRL bør fastlægges på grundlag af analytiske undersøgelser under hensyntagen til eventuelle sundhedsrisici og ikke på grundlag af den analytiske detektionsgrænse.

I begge år var der et signifikant højere indhold af clopyralid i pollen indsamlet fra blomsterne i Taastrup end i pollen indsamlet af bierne ($P < 0,05$) (Tabel 5 og 8), hvilket er i overensstemmelse med tidligere studier (Kyriakopoulou et al., 2017). Årsagen kan være en fortyndingseffekt, fordi honningbierne kan have hentet pollen fra rapsmarker i nærheden, der ikke har været sprøjtet med clopyralid (Bonmatin et al., 2015; Rolke et al., 2016), eller der kan være andre forskelle, der har influeret på i hvor høj grad clopyralid er blevet optaget i pollen, f.eks. klimaforhold, jordbundsforhold, sort med mere. Uanset årsagen til forskellene var mængden af clopyralid mere end tre gange så højt som tilladt for honning i den pollenprøve indsamlet af bierne, der havde den mindste mængde clopyralid og over 16 gange så højt i den prøve, der havde den største mængde. De tilsvarende tal for pollen indsamlet fra blomsterne var 18 og 147.

Tabel 8. Clopyralid i pollen indsamlet fra forsøgsmark i Taastrup.

| | 2019 | | 2020 | |
|--------------------------|-----------|-------------|-----------|-------------|
| | Kontrol | +clopyralid | Kontrol | +clopyralid |
| Antal (N) | 16 | 16 | 16 | 16 |
| N >0,05 (mg/kg) | 0 | 16 | 0 | 16 |
| N >0,1 (mg/kg) | 0 | 16 | 0 | 16 |
| Interval (mg/kg) | 0,00–0,00 | 1,85–4,19 | 0,00–0,00 | 8,68–14,78 |
| Middelværdi ± SD (mg/kg) | 0,00±0,00 | 3,21±0,63 | 0±0 | 11,16±1,62 |
| Median (mg/kg) | 0,00 | 3,19 | 0,00 | 11,27 |

6.5 Konklusion og perspektivering

Der blev fundet rester af clopyralid i samtlige nektar-, pollen- og honningprøver fra sprøjtete plots og marker, mens der intet blev fundet i usprøjtete plots. I en stor del af prøverne blev der fundet mere end 0,10 mg/kg, som betyder, at honning ikke må sælges. Der blev fundet væsentligt højere mængder clopyralid i pollen end i honning og nektar, men da der ikke er en MRL for pollen, kan der ikke nedlægges forbud mod salg af pollen pga. indhold af clopyralid uanset mængde. En evt. fremtidig MRL for pollen bør fastlægges på grundlag af analytiske undersøgelser under hensyntagen til eventuelle sundhedsrisici og ikke på grundlag af den analytiske detektionsgrænse.

I hvor høj grad et pesticid optages i nektar og pollen afhænger især af mængden af pesticidet og timingen af udbringningen (Gierer et al., 2019). Jo længere tid, der går fra udbringning af clopyralid til afgrødens blomstring, og jo mindre der udbringes, jo mindre forventes restkoncentrationerne i honning, nektar og pollen at være. Forholdet mellem forskellige vækststadier for vinterraps på udbringningstidspunktet, mængde af clopyralid og restkoncentration af clopyralid i honning, nektar og pollen indsamlet af honningbier er ikke kendt. For at sikre, at mængden af clopyralid i honning ikke overstiger MRL værdien, bør der derfor laves undersøgelser over effekten af forskellige lavere koncentrationer af clopyralid på både restkoncentrationerne i honning og på ukrudtsbekæmpelsen samt af effekten af at udbringe clopyralid i et tidligere udviklingsstadium. Det kan dog være vanskeligt at udbringe Matrigon 72 SG reg. nr. 64-74 meget tidligere end i rapsens vækststadium BBCH 55, fordi det kan være svært at finde dage, hvor temperaturen er høj nok til at produktet kan virke på ukrudtet.

En anden mulighed for at nedsætte mængden af restkoncentrationer af clopyralid i honning og pollen kunne være kun at sprøjte en del af marken (såkaldt pletsprøjtning). Hvis bierne indsamler nektar og pollen fra hele marken, kunne det betyde, at restkoncentrationen af clopyralid blev nedsat pga. en fortyndingseffekt. Man kan dog ikke udelukke et scenarie, hvor det meste nektar og pollen bliver hentet i den del af marken, der er behandlet med clopyralid. Det betyder, at man med denne metode ikke vil kunne sikre, at der ikke kommer for store restkoncentrationer af clopyralid i honning. Det vil være værd at undersøge, hvor stor del af en mark som vil kunne sprøjtes uden at overskride grænseværdien for pesticidrester i honning. For eksempel vil en 50% sprøjtet mark være tilstrækkelig, eller skal man måske helt ned på omkring max. 15% af marken?

En fastlæggelse af en MRL-værdi for clopyralid i honning som baseres på restanalyseforsøg, kan resultere i en højere MRL-værdi, og det vil kunne gøre det lovligt at sælge honning, der indeholder større mængder af clopyralid end 0,1 mg/kg. En forhøjelse af MRL-værdien kan dog også medføre, at nogle forbrugere vil fravælge at købe honning, da honning blandt andet efterspørges, fordi det forventes at være et rent naturprodukt.

Et alternativ til Matrigon 72 SG reg. nr. 64-74 kunne være herbicidet Galera reg. nr. 64-71, der indeholder 267 g/l clopyralid og 67 g/l picloram og som kan anvendes tidligere end Matrigon 72 SG reg. nr. 64-74 (Galera kan udbringes ved 8°C) (<https://www.corteva.dk/produkter/plantevaern/galera.html>). Risikoen for kontaminering af nektar, pollen og honning må derfor antages at være mindre, men da det udbringes med den samme mængde clopyralid per ha som Matrigon 72 SG reg. nr. 64-74, og da det må udbringes helt frem til vækststadiet BBCH 50, er det sandsynligt, at der kan komme rester af clopyralid i honning. Restkoncentrationer af clopyralid i honning ved brug af Galera reg. nr. 64-74 bør derfor undersøges.

Vi anser en nedsættelse af dosen og/eller en fremrykning af udbringningstidspunktet som de bedste muligheder. Hvis undersøgelser viser, at det ikke er muligt at reducere clopyralidindholdet til maksimalt 0,1 mg/kg honning ved disse metoder samtidig med, at den nuværende MRL fastholdes, anbefaler vi, at brugen af clopyralidholdige produkter ophører i vinterraps. Alternativt bør man afsøge at fastsætte en specifik MRL for honning baseret på restanalyseforsøg.

7. Anerkendelser

De mange landmænd, der har deltaget i projektet, takkes for at give tilladelse til at gennemføre forsøgene i deres marker og for at hjælpe med billeder og oplysninger om udbringningen af clopyralid.

Biavlerne, der satte honningbier ud til markerne, takkes for en stor indsats.

Corteva Agriscience Denmark A/S takkes for at stille Matrigon 72 SG reg. nr. 64-74 til rådighed for landmændene.

Miljøstyrelsen takkes for økonomiske støtte til projektet.

Fra den 12. marts 2020 begyndte nedlukningen af Danmark pga. Covid 19, hvilket vanskeliggjorde forsøgsarbejdet i 2020 betydeligt, da adgangen til mark og laboratorier var begrænset. Personalet på PlanteFaciliteter & Værksteder, Institut for Plante- og Miljøvidenskab takkes for løbende at holde øje med udviklingen af planterne og for den tætte kontakt via e-mail og telefon. Ledelsen på Institut for Plante- og Miljøvidenskab og PlanteFaciliteter & Værksteder takkes for stor samarbejdsvillighed, så det blev muligt at gennemføre forsøgene i marken med passende restriktioner pga. Covid 19.

8. Litteratur

- Andreasen C, Stryhn H (2007) Increasing weed flora in Danish arable fields and its importance for biodiversity. *Weed Res.* 48, 1–9. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.2008.00603.x>
- Biavl.dk. <https://biavl.dk/pollen/direkte-fra-biavlveren/>. Tilgået 14-6-2021.
- Bommuraj V, Chen Y, Klein H, Sperling R, Barel S, Shimshoni JA (2019). Pesticide and trace element residues in honey and beeswax combs from Israel in association with human risk assessment and honey adulteration. *Food Chem.* 299, 125123.
- Bonmatin J - M, Moineau I, Charvet R, Fleche C, Colin ME, Bengsch ER (2003). A LC/APCI MS/MS method for analysis of imidacloprid in soils, in plants, and in pollens. *Anal. Chem.* 75, 2027–2033.
- Bonmatin JM, Giorio C, Girolami V, Goulson D, Kreuzweiser DP, Krupke C, Liess M, Long E, Marzaro M, Mitchell EA, Noome DA (2015). Environmental fate and exposure; neonicotinoids and fipronil. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 22(1): 35–67.
- Botias C, David A, Horwood J, Abdul-Sada A, Nicholls E, Hill E, Goulson D (2015). Neonicotinoid residues in wildflowers, a potential route of chronic exposure for bees. *Environ. Sci. Technol.* 49, 21, 12731–12740.
- Bruus M, Dupont YL, Grant R, Mathiassen SK, Kryger P, Spliid NH, Stjernholm M, Strandberg B, Sørensen PB (2013). Betydningen af pesticider for forekomsten af vilde bier – og metoder til undersøgelse af denne. Miljøstyrelsen, København. ISBN nr.978 - 87 - 92903 - 76 - 1.
- Byrne FJ, Visscher PK, Leimkuehler B, Fischer D, Grafton - Cardwell EE, Morse JG (2014). Determination of exposure levels of honey bees foraging on flowers of mature citrus trees previously treated with imidacloprid. *Pest. Manag. Sci.* 70, 470–482.
- Canola Council of Canada (2017). Growth stages of the canola plant. <https://www.canolacouncil.org/canola-encyclopedia/crop-development/growth-stages/#growth-stage-6-flowering>.
- Council of the European Union (2002). COUNCIL DIRECTIVE 2001/110/EC of 20 December 2001 relating to honey. <https://www.fsai.ie/uploadedfiles/Dir%202001.110%20EC.pdf>.
- Crane, E (1980). *A book of honey*. Oxford University press. Oxford, UK. 193 pages.
- Devine, MD, Bestman HD, Vanden Borg WH (1990). Physiological basis for the different phloem mobilities of chlorsulfuron and clopyralid. *Weed Sci.* 38, 1-9.
- EFSA (2012). EFSA Panel on Plant Protection Products and their Residues (PPR); Scientific Opinion on the science behind the development of a risk assessment of Plant Protection Products on bees (*Apis mellifera*, *Bombus* spp. and solitary bees). *EFSA Journal* 10(5), 2668, 275 pp. Doi:10.2903/j.efsa.2012.2668. Available online: www.efsa.europa.eu/efsajournal.
- EFSA (2018). Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance clopyralid. *EFSA Journal* 16(8), 5389, 21 pp. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5389>.
- EI-Nahhal Y (2020). Pesticide residues in honey and their potential reproductive toxicity. *Sci. Total Environ.* 139953.
- Enkegaard A, Kryger P, Boelt B (2016). Determinants of nectar production in oilseed rape. *J. Apicult. Res.* 1, 55(1), 89–99.
- EU Pesticides Database. <https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/products/?event=search.pr>. Accessed 7 June 2021.
- EU (2018/62). <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/DA/TXT/PDF/?uri=CELEX:32018R0062&from=DA> .

Faita MR, de Medeiros Oliveira E, Júnior VVA, Orth AI, Nodari RO (2018). Changes in hypopharyngeal glands of nurse bees (*Apis mellifera*) induced by pollen-containing sublethal doses of the herbicide Roundup®. *Chemosphere* 211, 566–572.

Gierer F., Vaughan S, Slater M, Thompson HM, Elmore JS, Girling RD (2019). A review of the factors that influence pesticide residues in pollen and nectar: Future research requirements for optimising the estimation of pollinator exposure. *Environ. Pollut.* 249: 236–247.

Hansted L, Jørgensen AS (2019). Vinterraps – en attraktiv trækilde for bier? *Tidsskr. for Biavl* 5.

IPBES (2016). The assessment report of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services on pollinators, pollination and food production. Potts SG, Imperatriz-Fonseca VL, Ngo HT (eds). Secretariat of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services, Bonn, Germany. 552 pages. <https://doi.org/10.5281/zenodo.3402856>.

Karise R, Raimets R, Bartkevics V, Pugajeva I, Pihlik P, Keres I, ... Mänd M (2017). Are pesticide residues in honey related to oilseed rape treatments? *Chemosphere*, 188, 389–396.

Kim, W, Gilet, T, Bush, JW (2011). Optimal concentrations in nectar feeding. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(40), 16618–16621.

Knopper LD, Dan T, Reisig DD, Johnson JD, Bowers LM (2016). Sugar concentration in nectar: a quantitative metric of crop attractiveness for refined pollinator risk assessments. *Pest Manag. Sci.* 72(10), 1807–1812.

Kryger P, Enkegaard A, Strandberg B, Axelsen JA (2011). Bier og Blomster – honningbiens fødegrundlag i Danmark. DJF Rapport Markbrug 150 – Maj 2011. Aarhus Universitet. 65 sider.

Kyriakopoulou K, Kandris I, Pachiti I, Kasiotis KM, Spyropoulou A, Santourian A, Kitromilidou S, Pappa G, Glossioti M (2017). Collection and analysis of pesticide residue data for pollen and nectar e final Report. EFSA Suppl. Publ. 14.

Lancashire PD., Bleiholder H, Langelüddecke P, Stauss R, Van Den Boom T, Weber E, et al. (1991). A uniform decimal code for growth stages of crops and weeds. *Ann. Appl. Biol.* 119: 561–601. Doi: 10.1111/j.1744 - 7348.1991.tb04895.x.

LandbrugsInfo.dk (2017). 5. maj 2017. Opfølgning 5/5 - 2017.

Leonhardt SD, Blüthgen N (2012). The same, but different: pollen foraging in honeybee and bumblebee colonies. *Apidologie*, 43, 449–64.

Lundin O, Rundlöf M, Smith HG, Fries I, Bommarco R (2015). Neonicotinoid Insecticides and Their Impacts on Bees: A Systematic Review of Research Approaches and Identification of Knowledge Gaps. *PLoS ONE* 10(8): e0136928. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0136928>.

Mitchell EA, Mulhauser B, Mulot M, Mutabazi A, Glauser G, Aebi A (2017). A worldwide survey of neonicotinoids in honey. *Sci.* 6, 358(6359), 109–11.

Mohr NA, Jay SC (1990). Nectar production of selected cultivars of *Brassica campestris* L. and *Brassica napus* L. *J. Apicult. Res.* 29, 95–100.

Mullin CA, Frazier M, Frazier JL, Ashcraft S, Simonds R, Pettis JS (2010). High levels of miticides and agrochemicals in North American apiaries: implications for honey bee health. *PLoS ONE* 19, 5(3): e9754.

Mulvey J, Cresswell JE (2020). Time-dependent effects on bumble bees of dietary exposures to farmland insecticides (imidacloprid, thiamethoxam and fipronil). *Pest Manag. Sci.* 76 (8): 2846–2853.

Ohe W von der, Ohe K von der (1998). Rapshonig. Das Bieneninstitut Celle Informiert (8). Niedersächsisches Landesinstitut für Bienenkunde, Celle. 3 Seiten.

Ohe K von der, Ohe W von der (2000). Celle's Melissopalynological Collection. Niedersächsisches Landesinstitut für Bienenkunde, Celle.

Pernal SF, Currie RW (1998). Nectar quality in open-pollinated pol CMS hybrid, and dominant SI hybrid oilseed summer rape. *Can. J. Plant Sci.* 78, 79–89.

Raimets R, Bontšutšnaja A, Bartkevics V, Pugajeva I, Kaart T, Puusepp L., ... Karise R (2020). Pesticide residues in beehive matrices are dependent on collection time and matrix type but independent of proportion of foraged oilseed rape and agricultural land in foraging territory. *Chemosphere* 238, 124555.

Reg. (EU) 396/2005. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32005R0396&from=DA>.

Reg. (EU) 2018/1514. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/DA/TXT/PDF/?uri=CELEX:32018R1514&from=EN>.

Rolke D, Persigehl M, Peters B, Sterk G, Blenau W (2016). Large-scale monitoring of effects of clothianidin-dressed oilseed rape seeds on pollinating insects in northern Germany: residues of clothianidin in pollen, nectar and honey. *Ecotoxicology* 25, 1691e1701.

Sante 12682/2019. "Analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed".

Schmuck R, Schöning R, Stork A, Schramel O (2001). Risk posed to honeybees (*Apis mellifera* L, *Hymenoptera*) by an imidacloprid seed dressing of sunflowers. *Pest. Manag. Sci.* 57, 225–238.

Simon-Delso N, San Martin G, Bruneau E, Delcourt C, Hautier L (2017). The challenges of predicting pesticide exposure of honey bees at landscape level. *Scientific Reports* 19, 7(1), 3801.

Spurgeon D, Hesketh H, Lahive E, Svendsen C, Baas J, Robinson A, ... & Heard, M. (2016). Chronic oral lethal and sub-lethal toxicities of different binary mixtures of pesticides and contaminants in bees (*Apis mellifera*, *Osmia bicornis* and *Bombus terrestris*). *EFSA Supporting Publications* 13(9).

Stanley DA, Garratt MPD, Wickens JB, Wickens VJ, Potts SG, Raine NE (2015). Neonicotinoid pesticide exposure impairs crop pollination services provided by bumblebees. *Nature* 528(7583), 548–550. doi:10.1038/nature16167.

Vejsnæs F, Kilpinen O, Barry S, Christensen LB, Langschwager K (2019). Pollen og propolis – spændende nye produkter. Danmarks Biavlerforening. 52 sider.

Westcott L, Nelson D (2001). Canola pollination: an update, *Bee World*, 82(3): 115-129. DOI: 10.1080/0005772X.2001.11099514.

9. Appendix

9.1 Nektar fra rapsblomster Taastrup

TABEL S1. Antal blomster anvendt ved indsamling af nektar i Taastrup.

| Nr. | 2019 | 2020* |
|--------|------|-------|
| NT-1-1 | 199 | 109 |
| NT-1-2 | 302 | - |
| NT-1-3 | 248 | 250 |
| NT-1-4 | 923 | 325 |
| NT-2-1 | 214 | 110 |
| NT-2-2 | 108 | 760 |
| NT-2-3 | 206 | - |
| NT-2-4 | 344 | - |
| NT-3-1 | 427 | 331 |
| NT-3-2 | 258 | 560 |
| NT-3-3 | 152 | 320 |
| NT-3-4 | 481 | >358 |
| NT-4-1 | 239 | 429 |
| NT-4-2 | 689 | - |
| NT-4-3 | 565 | 279 |
| NT-4-4 | 519 | 320 |
| NT-5-1 | 288 | 497 |
| NT-5-2 | 196 | 470 |
| NT-5-3 | 186 | 851 |
| NT-5-4 | 240 | 300 |
| NT-6-1 | 251 | 121 |
| NT-6-2 | 310 | 152 |
| NT-6-3 | 315 | 202 |
| NT-6-4 | 668 | - |
| NT-7-1 | 512 | 274 |
| NT-7-2 | 256 | >225 |
| NT-7-3 | 199 | 660 |
| NT-7-4 | 451 | 522 |
| NT-8-1 | 299 | 140 |
| NT-8-2 | 299 | 328 |
| NT-8-3 | 236 | 420 |
| NT-8-4 | 827 | 300 |

* Nogle enkelte af deltagerne fik ikke talt antal blomster.

TABEL S2. Clopyralid i nektar indsamlet i Taastrup 2019 og 2020 og i den honning, bierne kunne have produceret herfra. Prøverne er analyseret i triplikater.

| | Nektar | Clopyralid | Stddev | Omregning fra ug/l til mg/kg ved forskellige sukkerkoncentrationer i nektaren. | | | Omregning fra nektar til honning ved forskellige sukkerprocenter i nektaren. Honning forudsættes at have 80% sukker | | |
|------|--------------------------|------------|--------|--|----------------|----------------|---|----------------|----------------|
| | | | | Ved 30% sukker | Ved 50% sukker | Ved 80% sukker | Ved 30% sukker | Ved 50% sukker | Ved 80% sukker |
| År | Prøvenavn | ug/L | | mg/kg | mg/kg | mg/kg | mg/kg | mg/kg | mg/kg |
| 2019 | Nektar field 2019 NT-1-1 | nd | | | | | | | |
| | Nektar field 2019 NT-1-2 | nd | | | | | | | |
| | Nektar field 2019 NT-1-3 | nd | | | | | | | |
| | Nektar field 2019 NT-1-4 | nd | | | | | | | |
| | Nektar field 2019 NT-2-1 | 80,8 | 4,29 | 0,09 | 0,1 | 0,1 | 0,24 | 0,15 | 0,1 |
| | Nektar field 2019 NT-2-2 | 27 | 1,95 | 0,03 | 0,03 | 0,04 | 0,08 | 0,05 | 0,04 |
| | Nektar field 2019 NT-2-3 | 66 | 7,94 | 0,07 | 0,08 | 0,09 | 0,2 | 0,13 | 0,09 |
| | Nektar field 2019 NT-2-4 | 49,8 | 2,84 | 0,06 | 0,06 | 0,06 | 0,15 | 0,09 | 0,06 |
| | Nektar field 2019 NT-3-1 | nd | | | | | | | |
| | Nektar field 2019 NT-3-2 | nd | | | | | | | |
| | Nektar field 2019 NT-3-3 | nd | | | | | | | |
| | Nektar field 2019 NT-3-4 | nd | | | | | | | |
| | Nektar field 2019 NT-4-1 | 140,4 | 21,21 | 0,16 | 0,17 | 0,18 | 0,42 | 0,27 | 0,18 |
| | Nektar field 2019 NT-4-2 | 77,4 | 2,7 | 0,09 | 0,09 | 0,1 | 0,23 | 0,15 | 0,1 |
| | Nektar field 2019 NT-4-3 | 58,8 | 4,87 | 0,07 | 0,07 | 0,08 | 0,17 | 0,11 | 0,08 |
| | Nektar field 2019 NT-4-4 | 55,8 | 10,9 | 0,06 | 0,07 | 0,07 | 0,17 | 0,11 | 0,07 |

| | | | | Omregning fra ug/l til mg/kg ved forskellige sukkerkoncentrationer i nektaren. | | | Omregning fra nektar til honning ved forskellige sukkerprocenter i nektaren. Honning forudsættes at have 80% sukker | | |
|--------------------------|--------------------------|-------|--------|--|----------------|----------------|---|----------------|----------------|
| | | | | Clopyralid | Ved 30% sukker | Ved 50% sukker | Ved 80% sukker | Ved 30% sukker | Ved 50% sukker |
| År | Prøvenavn | ug/L | Stddev | mg/kg | mg/kg | mg/kg | mg/kg | mg/kg | mg/kg |
| 2019 | Nektar field 2019 NT-5-1 | 99,2 | 14,4 | 0,11 | 0,12 | 0,13 | 0,29 | 0,19 | 0,13 |
| | Nektar field 2019 NT-5-2 | 61,2 | 0,32 | 0,07 | 0,07 | 0,08 | 0,18 | 0,12 | 0,08 |
| | Nektar field 2019 NT-5-3 | 44,4 | 0,87 | 0,05 | 0,05 | 0,06 | 0,13 | 0,08 | 0,06 |
| | Nektar field 2019 NT-5-4 | 69 | 6,17 | 0,08 | 0,08 | 0,09 | 0,21 | 0,13 | 0,09 |
| | Nektar field 2019 NT-6-1 | nd | | | | | | | |
| | Nektar field 2019 NT-6-2 | nd | | | | | | | |
| | Nektar field 2019 NT-6-3 | nd | | | | | | | |
| | Nektar field 2019 NT-6-4 | nd | | | | | | | |
| | Nektar field 2019 NT-7-1 | nd | | | | | | | |
| | Nektar field 2019 NT-7-2 | nd | | | | | | | |
| | Nektar field 2019 NT-7-3 | nd | | | | | | | |
| | Nektar field 2019 NT-7-4 | nd | | | | | | | |
| | Nektar field 2019 NT-8-1 | 56,6 | 4,09 | 0,06 | 0,07 | 0,07 | 0,17 | 0,11 | 0,07 |
| | Nektar field 2019 NT-8-2 | 91,5 | 9 | 0,1 | 0,11 | 0,12 | 0,27 | 0,17 | 0,12 |
| Nektar field 2019 NT-8-3 | 51,3 | 1,1 | 0,06 | 0,06 | 0,07 | 0,15 | 0,1 | 0,07 | |
| Nektar field 2019 NT-8-4 | 135,3 | 15,18 | 0,15 | 0,16 | 0,18 | 0,4 | 0,26 | 0,18 | |

| År | Nektar | Clopyralid | Stddev | Omregning fra ug/l til mg/kg ved forskellige sukkerkoncentrationer i nektaren. | | | Omregning fra nektar til honning ved forskellige sukkerprocenter i nektaren. Honning forudsættes at have 80% sukker | | |
|------|--------------------------|------------|--------|--|----------------|----------------|---|----------------|----------------|
| | | | | Ved 30% sukker | Ved 50% sukker | Ved 80% sukker | Ved 30% sukker | Ved 50% sukker | Ved 80% sukker |
| | Prøvenavn | ug/L | | mg/kg | mg/kg | mg/kg | mg/kg | mg/kg | mg/kg |
| 2020 | Nektar field 2020 1-1-20 | 114,9 | 2,92 | 0,13 | 0,14 | 0,15 | 0,34 | 0,22 | 0,15 |
| | Nektar field 2020 1-2-20 | 123,9 | 8,7 | 0,14 | 0,15 | 0,16 | 0,37 | 0,24 | 0,16 |
| | Nektar field 2020 1-3-20 | 211,4 | 10,52 | 0,24 | 0,25 | 0,27 | 0,63 | 0,4 | 0,27 |
| | Nektar field 2020 1-4-20 | 112,3 | 10,28 | 0,13 | 0,13 | 0,15 | 0,33 | 0,21 | 0,15 |
| | Nektar field 2020 2-1-20 | nd | | | | | | | |
| | Nektar field 2020 2-2-20 | nd | | | | | | | |
| | Nektar field 2020 2-3-20 | nd | | | | | | | |
| | Nektar field 2020 2-4-20 | nd | | | | | | | |
| | Nektar field 2020 3-1-20 | 107,2 | 14,05 | 0,12 | 0,13 | 0,14 | 0,32 | 0,2 | 0,14 |
| | Nektar field 2020 3-2-20 | 170,2 | 2,87 | 0,19 | 0,2 | 0,22 | 0,51 | 0,32 | 0,22 |
| | Nektar field 2020 3-3-20 | 156,5 | 2,56 | 0,17 | 0,19 | 0,2 | 0,47 | 0,3 | 0,2 |
| | Nektar field 2020 3-4-20 | 117,7 | 5,62 | 0,13 | 0,14 | 0,15 | 0,35 | 0,22 | 0,15 |
| | Nektar field 2020 4-1-20 | nd | | | | | | | |
| | Nektar field 2020 4-2-20 | nd | | | | | | | |
| | Nektar field 2020 4-3-20 | nd | | | | | | | |
| | Nektar field 2020 4-4-20 | nd | | | | | | | |

| | | | | Omregning fra ug/l til mg/kg ved forskellige sukkerkoncentrationer i nektaren. | | | Omregning fra nektar til honning ved forskellige sukkerprocenter i nektaren. Honning forudsættes at have 80% sukker | | |
|--------------------------|--------------------------|------------|--------|--|----------------|----------------|---|----------------|----------------|
| | Nektar | Clopyralid | | Ved 30% sukker | Ved 50% sukker | Ved 80% sukker | Ved 30% sukker | Ved 50% sukker | Ved 80% sukker |
| År | Prøvenavn | ug/L | Stddev | mg/kg | mg/kg | mg/kg | mg/kg | mg/kg | mg/kg |
| 2020 | Nektar field 2020 5-1-20 | nd | | | | | | | |
| | Nektar field 2020 5-2-20 | nd | | | | | | | |
| | Nektar field 2020 5-3-20 | nd | | | | | | | |
| | Nektar field 2020 5-4-20 | nd | | | | | | | |
| | Nektar field 2020 6-1-20 | 86,7 | 3,59 | 0,1 | 0,1 | 0,11 | 0,26 | 0,16 | 0,11 |
| | Nektar field 2020 6-2-20 | 132,7 | 12,08 | 0,15 | 0,16 | 0,17 | 0,39 | 0,25 | 0,17 |
| | Nektar field 2020 6-3-20 | 132,3 | 3,28 | 0,15 | 0,16 | 0,17 | 0,39 | 0,25 | 0,17 |
| | Nektar field 2020 6-4-20 | 115,4 | 3,28 | 0,13 | 0,14 | 0,15 | 0,34 | 0,22 | 0,15 |
| | Nektar field 2020 7-1-20 | nd | | | | | | | |
| | Nektar field 2020 7-2-20 | nd | | | | | | | |
| | Nektar field 2020 7-3-20 | nd | | | | | | | |
| | Nektar field 2020 7-4-20 | nd | | | | | | | |
| | Nektar field 2020 8-1-20 | 153,1 | 9 | 0,17 | 0,18 | 0,2 | 0,46 | 0,29 | 0,2 |
| | Nektar field 2020 8-2-20 | 173,2 | 24,71 | 0,19 | 0,21 | 0,23 | 0,51 | 0,33 | 0,23 |
| | Nektar field 2020 8-3-20 | 171,2 | 3,92 | 0,19 | 0,2 | 0,22 | 0,51 | 0,33 | 0,22 |
| Nektar field 2020 8-4-20 | 157 | 3,87 | 0,18 | 0,19 | 0,2 | 0,47 | 0,3 | 0,2 | |

9.2 Pollen fra rapsblomster i Taastrup

TABEL S3. Antal rapsplanter anvendt per prøve i Taastrup.

| Prøve- navn | 2019 | 2020 |
|----------------|------|------|
| PT-1-1 | 151 | 100 |
| PT-1-2 | 90 | 100 |
| PT-1-3 | 86 | 100 |
| PT-1-4 | 78 | 100 |
| PT-2-1 | 80 | 110 |
| PT-2-2 | 57 | 120 |
| PT-2-3 | 94 | 150 |
| PT-2-4 | 64 | 180 |
| PT-3-1 | 71 | 200 |
| PT-3-2 | 50 | 130 |
| PT-3-3 | 55 | 100 |
| PT-3-4 | 82 | 100 |
| PT-4-1 | 43 | 106 |
| PT-4-2 | 73 | 130 |
| PT-4-3 | 43 | 81 |
| PT-4-4 | 63 | 83 |
| PT-5-1 | 102 | 80 |
| PT-5-2 | 101 | 86 |
| PT-5-3 | 73 | 88 |
| PT-5-4 | 63 | 93 |
| PT-6-1 | 49 | 180 |
| PT-6-2 | 53 | 180 |
| PT-6-3 | 52 | 180 |
| PT-6-4 | 67 | 180 |
| PT-7-1 | 86 | 180 |
| PT-7-2 | 65 | 180 |
| PT-7-3 | 65 | 180 |
| PT-7-4 | 62 | 180 |
| PT-8-1 | 73 | 300 |
| PT-8-2 | 68 | 200 |
| PT-8-3 | 96 | 200 |
| PT-8-4 | 88 | 200 |

TABEL S4. Clopyralid i pollen fra rapsblomster i Taastrup 2019 og 2020. Prøverne er analyseret i triplikater.

| År | Prøvenavn | Clopyralid mg/kg | std- dev |
|--------------------------|--------------------------|---------------------|-------------|
| 2019 | Pollen field-2019 PT-1-1 | nd | |
| | Pollen field-2019 PT-1-2 | nd | |
| | Pollen field-2019 PT-1-3 | nd | |
| | Pollen field-2019 PT-1-4 | nd | |
| | Pollen field-2019 PT-2-1 | 3,7 | 0,6 |
| | Pollen field-2019 PT-2-2 | 3,8 | 0,4 |
| | Pollen field-2019 PT-2-3 | 4,2 | 0,2 |
| | Pollen field-2019 PT-2-4 | 3,6 | 0,0 |
| | Pollen field-2019 PT-3-1 | nd | |
| | Pollen field-2019 PT-3-2 | nd | |
| | Pollen field-2019 PT-3-3 | nd | |
| | Pollen field-2019 PT-3-4 | nd | |
| | Pollen field-2019 PT-4-1 | 3,1 | 0,1 |
| | Pollen field-2019 PT-4-2 | 3,9 | 0,2 |
| | Pollen field-2019 PT-4-3 | 3,4 | 0,0 |
| | Pollen field-2019 PT-4-4 | 3,9 | 0,0 |
| | Pollen field-2019 PT-5-1 | 2,9 | 0,2 |
| | Pollen field-2019 PT-5-2 | 2,5 | 0,1 |
| | Pollen field-2019 PT-5-3 | 2,9 | 0,2 |
| | Pollen field-2019 PT-5-4 | 3,0 | 0,1 |
| | Pollen field-2019 PT-6-1 | nd | |
| | Pollen field-2019 PT-6-2 | nd | |
| | Pollen field-2019 PT-6-3 | nd | |
| | Pollen field-2019 PT-6-4 | nd | |
| | Pollen field-2019 PT-7-1 | nd | |
| | Pollen field-2019 PT-7-2 | nd | |
| | Pollen field-2019 PT-7-3 | nd | |
| | Pollen field-2019 PT-7-4 | nd | |
| | Pollen field-2019 PT-8-1 | 1,9 | 0,5 |
| | Pollen field-2019 PT-8-2 | 2,5 | 0,1 |
| Pollen field-2019 PT-8-3 | 2,8 | 0,0 | |
| Pollen field-2019 PT-8-4 | 3,3 | 0,2 | |

| År | Prøvenavn | Clopyralid mg/kg | std- dev |
|----------------------------|----------------------------|---------------------|-------------|
| 2020 | Pollen field-2020 P-1-1-20 | 11,8 | 1,5 |
| | Pollen field-2020 P-1-2-20 | 11,6 | 1,3 |
| | Pollen field-2020 P-1-3-20 | 11,0 | 0,6 |
| | Pollen field-2020 P-1-4-20 | 10,6 | 0,3 |
| | Pollen field-2020 P-2-1-20 | nd | |
| | Pollen field-2020 P-2-2-20 | nd | |
| | Pollen field-2020 P-2-3-20 | nd | |
| | Pollen field-2020 P-2-4-20 | nd | |
| | Pollen field-2020 P-3-1-20 | 11,4 | 1,3 |
| | Pollen field-2020 P-3-2-20 | 11,2 | 2,2 |
| | Pollen field-2020 P-3-3-20 | 9,5 | 1,5 |
| | Pollen field-2020 P-3-4-20 | 11,6 | 0,3 |
| | Pollen field-2020 P-4-1-20 | nd | |
| | Pollen field-2020 P-4-2-20 | nd | |
| | Pollen field-2020 P-4-3-20 | nd | |
| | Pollen field-2020 P-4-4-20 | nd | |
| | Pollen field-2020 P-5-1-20 | nd | |
| | Pollen field-2020 P-5-2-20 | nd | |
| | Pollen field-2020 P-5-3-20 | nd | |
| | Pollen field-2020 P-5-4-20 | nd | |
| | Pollen field-2020 P-6-1-20 | 13,6 | 1,0 |
| | Pollen field-2020 P-6-2-20 | 11,7 | 0,2 |
| | Pollen field-2020 P-6-3-20 | 9,8 | 0,8 |
| | Pollen field-2020 P-6-4-20 | 12,6 | 0,9 |
| | Pollen field-2020 P-7-1-20 | nd | |
| | Pollen field-2020 P-7-2-20 | nd | |
| | Pollen field-2020 P-7-3-20 | nd | |
| | Pollen field-2020 P-7-4-20 | nd | |
| | Pollen field-2020 P-8-1-20 | 9,5 | 0,6 |
| | Pollen field-2020 P-8-2-20 | 14,8 | 0,5 |
| Pollen field-2020 P-8-3-20 | 8,7 | 0,7 | |
| Pollen field-2020 P-8-4-20 | 9,3 | 0,2 | |

Alle prøver der indeholdt clopyralid stammer fra parceller sprøjtet med Matrigon, mens de øvrige stammer fra usprøjtede parceller.

9.3 Pollen fra kommercielle rapsmarker

TABEL S5. Indhold af clopyralid i pollen indsamlet af honningbier fra kommercielle rapsmarker.

| | | | Clopyralid | mg/kg | |
|------|----------------------------|-------|------------|-------|--------|
| År | Prøvenavn | RT | mg/kg | mean | Stddev |
| 2019 | Pollen bier 2019 PB-1-1 R1 | 1,379 | 1,14 | 1,28 | 0,15 |
| | Pollen bier 2019 PB-1-1 R2 | 1,379 | 1,44 | | |
| | Pollen bier 2019 PB-1-1 R3 | 1,379 | 1,27 | | |
| | Pollen bier 2019 PB-2-2 R1 | 1,371 | 0,84 | 0,70 | 0,12 |
| | Pollen bier 2019 PB-2-2 R2 | 1,371 | 0,62 | | |
| | Pollen bier 2019 PB-2-2 R3 | 1,371 | 0,64 | | |
| | Pollen bier 2019 PB-3-2 R1 | 1,371 | 0,62 | 0,57 | 0,09 |
| | Pollen bier 2019 PB-3-2 R2 | 1,371 | 0,62 | | |
| | Pollen bier 2019 PB-3-2 R3 | 1,371 | 0,47 | | |
| | Pollen bier 2019 PB-4-2 R1 | 1,371 | 1,65 | 1,63 | 0,11 |
| | Pollen bier 2019 PB-4-2 R2 | 1,371 | 1,73 | | |
| | Pollen bier 2019 PB-4-2 R3 | 1,371 | 1,52 | | |
| | Pollen bier 2019 PB-5-1 R1 | 1,371 | 1,31 | 1,34 | 0,10 |
| | Pollen bier 2019 PB-5-1 R2 | 1,371 | 1,46 | | |
| | Pollen bier 2019 PB-5-1 R3 | 1,371 | 1,26 | | |
| | Pollen bier 2019 PB-6-1 R1 | 1,371 | 0,63 | 0,54 | 0,08 |
| | Pollen bier 2019 PB-6-1 R2 | 1,363 | 0,46 | | |
| | Pollen bier 2019 PB-6-1 R3 | 1,371 | 0,54 | | |
| | Pollen bier 2019 PB-7 R1 | 1,371 | 0,50 | 0,51 | 0,01 |
| | Pollen bier 2019 PB-7 R2 | 1,371 | 0,52 | | |
| | Pollen bier 2019 PB-7 R3 | 1,371 | 0,51 | | |
| | Pollen bier 2019 PB-8 R1 | 1,371 | 0,98 | 0,96 | 0,06 |
| | Pollen bier 2019 PB-8 R2 | 1,371 | 0,89 | | |
| | Pollen bier 2019 PB-8 R3 | 1,371 | 1,00 | | |
| | Pollen bier 2019 PB-9 R1 | 1,371 | 1,38 | 1,26 | 0,16 |
| | Pollen bier 2019 PB-9 R2 | 1,371 | 1,32 | | |
| | Pollen bier 2019 PB-9R3 | 1,371 | 1,07 | | |
| | Pollen bier 2019 PB-10 R1 | 1,379 | 0,66 | 0,65 | 0,02 |
| | Pollen bier 2019 PB-10 R2 | 1,371 | 0,62 | | |
| | Pollen bier 2019 PB-10 R3 | 1,371 | 0,67 | | |

| År | Prøvenavn | RT | Clopyralid mg/kg | mg/kg mean | Stddev |
|------|--------------------------------|-------|---------------------|---------------|--------|
| 2020 | Pollen bier 2020 PB-1-2020 R1 | 1,371 | 0,76 | 0,59 | 0,17 |
| | Pollen bier 2020 PB-1-2020 R2 | 1,371 | 0,43 | | |
| | Pollen bier 2020 PB-1-2020 R3 | 1,371 | 0,57 | | |
| | Pollen bier 2020 PB-2-2020 R1 | 1,371 | 0,72 | 0,76 | 0,10 |
| | Pollen bier 2020 PB-2-2020 R2 | 1,371 | 0,69 | | |
| | Pollen bier 2020 PB-2-2020 R3 | 1,371 | 0,88 | | |
| | Pollen bier 2020 PB-3-2020 R1 | 1,380 | 0,56 | 0,66 | 0,13 |
| | Pollen bier 2020 PB-3-2020 R2 | 1,380 | 0,62 | | |
| | Pollen bier 2020 PB-3-2020 R3 | 1,379 | 0,80 | | |
| | Pollen bier 2020 PB-4-2020 R1 | 1,379 | 0,94 | 0,97 | 0,16 |
| | Pollen bier 2020 PB-4-2020 R2 | 1,379 | 0,83 | | |
| | Pollen bier 2020 PB-4-2020 R3 | 1,379 | 1,15 | | |
| | Pollen bier 2020 PB-5-2020 R1 | 1,379 | 0,55 | 0,57 | 0,01 |
| | Pollen bier 2020 PB-5-2020 R2 | 1,379 | 0,58 | | |
| | Pollen bier 2020 PB-5-2020 R3 | 1,371 | 0,58 | | |
| | Pollen bier 2020 PB-6-2020 R1 | 1,371 | 0,28 | 0,33 | 0,08 |
| | Pollen bier 2020 PB-6-2020 R2 | 1,371 | 0,42 | | |
| | Pollen bier 2020 PB-6-2020 R3 | 1,379 | 0,28 | | |
| | Pollen bier 2020 PB-7-2020 R1 | 1,371 | 0,52 | 0,53 | 0,05 |
| | Pollen bier 2020 PB-7-2020 R2 | 1,371 | 0,48 | | |
| | Pollen bier 2020 PB-7-2020 R3 | 1,371 | 0,58 | | |
| | Pollen bier 2020 PB-8-2020 R1 | 1,371 | 0,95 | 1,00 | 0,06 |
| | Pollen bier 2020 PB-8-2020 R2 | 1,371 | 1,07 | | |
| | Pollen bier 2020 PB-8-2020 R3 | 1,371 | 0,99 | | |
| | Pollen bier 2020 PB-9-2020 R1 | 1,371 | 0,51 | 0,56 | 0,05 |
| | Pollen bier 2020 PB-9-2020 R2 | 1,371 | 0,57 | | |
| | Pollen bier 2020 PB-9-2020 R3 | 1,379 | 0,60 | | |
| | Pollen bier 2020 PB-10-2020 R1 | 1,379 | 1,04 | 1,03 | 0,05 |
| | Pollen bier 2020 PB-10-2020 R2 | 1,379 | 1,07 | | |
| | Pollen bier 2020 PB-10-2020 R3 | 1,379 | 0,97 | | |

9.4 Honning fra kommercielle rapsmarker

TABEL S6. Indhold af clopyralid i honning indsamlet af honningbier fra kommercielle rapsmarker og analyseret på KU.

| År | Prøvenavn | | RT | mg/kg | Mean | stddev |
|------|----------------------------|--------|-------|-------|-------|--------|
| 2019 | Honning bier 2020 HB-1 R1 | Sample | 1,388 | 0,071 | 0,069 | 0,004 |
| | Honning bier 2020 HB-1 R2 | Sample | 1,388 | 0,072 | | |
| | Honning bier 2020 HB-1 R3 | Sample | 1,388 | 0,065 | | |
| | Honning bier 2020 HB-2 R1 | Sample | 1,388 | 0,089 | 0,085 | 0,007 |
| | Honning bier 2020 HB-2 R2 | Sample | 1,388 | 0,089 | | |
| | Honning bier 2020 HB-2 R3 | Sample | 1,388 | 0,076 | | |
| | Honning bier 2020 HB-3R1 | Sample | 1,388 | 0,086 | 0,093 | 0,008 |
| | Honning bier 2020 HB-3 R2 | Sample | 1,388 | 0,094 | | |
| | Honning bier 2020 HB-3 R3 | Sample | 1,388 | 0,101 | | |
| | Honning bier 2020 HB-4 R1 | Sample | 1,388 | 0,137 | 0,134 | 0,007 |
| | Honning bier 2020 HB-4 R2 | Sample | 1,388 | 0,139 | | |
| | Honning bier 2020 HB-4 R3 | Sample | 1,388 | 0,126 | | |
| | Honning bier 2020 HB-5 R1 | Sample | 1,388 | 0,047 | 0,048 | 0,002 |
| | Honning bier 2020 HB-5 R2 | Sample | 1,388 | 0,050 | | |
| | Honning bier 2020 HB-5 R3 | Sample | 1,388 | 0,047 | | |
| | Honning bier 2020 HB-6 R1 | Sample | 1,388 | 0,050 | 0,061 | 0,010 |
| | Honning bier 2020 HB-6 R2 | Sample | 1,388 | 0,061 | | |
| | Honning bier 2020 HB-6 R3 | Sample | 1,388 | 0,070 | | |
| | Honning bier 2020 HB-7 R1 | Sample | 1,388 | 0,103 | 0,103 | 0,004 |
| | Honning bier 2020 HB-7R2 | Sample | 1,388 | 0,108 | | |
| | Honning bier 2020 HB-7 R3 | Sample | 1,388 | 0,099 | | |
| | Honning bier 2020 HB-8R1 | Sample | 1,388 | 0,275 | 0,269 | 0,010 |
| | Honning bier 2020 HB-8 R2 | Sample | 1,388 | 0,276 | | |
| | Honning bier 2020 HB-8 R3 | Sample | 1,388 | 0,258 | | |
| | Honning bier 2020 HB-9 R1 | Sample | 1,388 | 0,071 | 0,077 | 0,008 |
| | Honning bier 2020 HB-9 R2 | Sample | 1,388 | 0,075 | | |
| | Honning bier 2020 HB-9R3 | Sample | 1,388 | 0,086 | | |
| | Honning bier 2020 HB-10 R1 | Sample | 1,388 | 0,163 | 0,161 | 0,003 |
| | Honning bier 2020 HB-10 R2 | Sample | 1,388 | 0,162 | | |
| | Honning bier 2020 HB-10 R3 | Sample | 1,388 | 0,158 | | |

| År | Prøvenavn | | RT | mg/kg | Mean | stddev |
|------|--------------------------|--------|-------|-------|-------|--------|
| 2020 | Honning bier 2019 H1 R1 | Sample | 1,388 | 0,198 | 0,194 | 0,026 |
| | Honning bier 2019 H1 R2 | Sample | 1,388 | 0,166 | | |
| | Honning bier 2019 H1 R3 | Sample | 1,388 | 0,217 | | |
| | Honning bier 2019 H2 R1 | Sample | 1,388 | 0,132 | 0,139 | 0,009 |
| | Honning bier 2019 H2 R2 | Sample | 1,388 | 0,149 | | |
| | Honning bier 2019 H2 R3 | Sample | 1,388 | 0,137 | | |
| | Honning bier 2019 H3 R1 | Sample | 1,388 | 0,108 | 0,106 | 0,007 |
| | Honning bier 2019 H3 R2 | Sample | 1,388 | 0,112 | | |
| | Honning bier 2019 H3 R3 | Sample | 1,388 | 0,099 | | |
| | Honning bier 2019 H4 R1 | Sample | 1,388 | 0,203 | 0,214 | 0,012 |
| | Honning bier 2019 H4 R2 | Sample | 1,388 | 0,227 | | |
| | Honning bier 2019 H4 R3 | Sample | 1,388 | 0,213 | | |
| | Honning bier 2019 H5 R1 | Sample | 1,388 | 7,025 | 6,828 | 0,347 |
| | Honning bier 2019 H5 R2 | Sample | 1,388 | 6,427 | | |
| | Honning bier 2019 H5 R3 | Sample | 1,388 | 7,030 | | |
| | Honning bier 2019 H6 R1 | Sample | 1,388 | 0,141 | 0,137 | 0,004 |
| | Honning bier 2019 H6 R2 | Sample | 1,388 | 0,137 | | |
| | Honning bier 2019 H6 R3 | Sample | 1,388 | 0,132 | | |
| | Honning bier 2019 H7 R1 | Sample | 1,388 | 0,067 | 0,076 | 0,009 |
| | Honning bier 2019 H7 R2 | Sample | 1,388 | 0,076 | | |
| | Honning bier 2019 H7 R3 | Sample | 1,388 | 0,086 | | |
| | Honning bier 2019 H8 R1 | Sample | 1,388 | 0,114 | 0,113 | 0,003 |
| | Honning bier 2019 H8 R2 | Sample | 1,388 | 0,115 | | |
| | Honning bier 2019 H8 R3 | Sample | 1,396 | 0,110 | | |
| | Honning bier 2019 H9 R1 | Sample | 1,388 | 0,069 | 0,078 | 0,008 |
| | Honning bier 2019 H9 R2 | Sample | 1,388 | 0,086 | | |
| | Honning bier 2019 H9 R3 | Sample | 1,388 | 0,079 | | |
| | Honning bier 2019 H10 R1 | Sample | 1,388 | 0,076 | 0,069 | 0,013 |
| | Honning bier 2019 H10 R2 | Sample | 1,388 | 0,077 | | |
| | Honning bier 2019 H10 R3 | Sample | 1,388 | 0,053 | | |

TABEL S7. Indhold af clopyralid i honning indsamlet af honningbier fra kommercielle rapsmarker og analyseret på QSI.

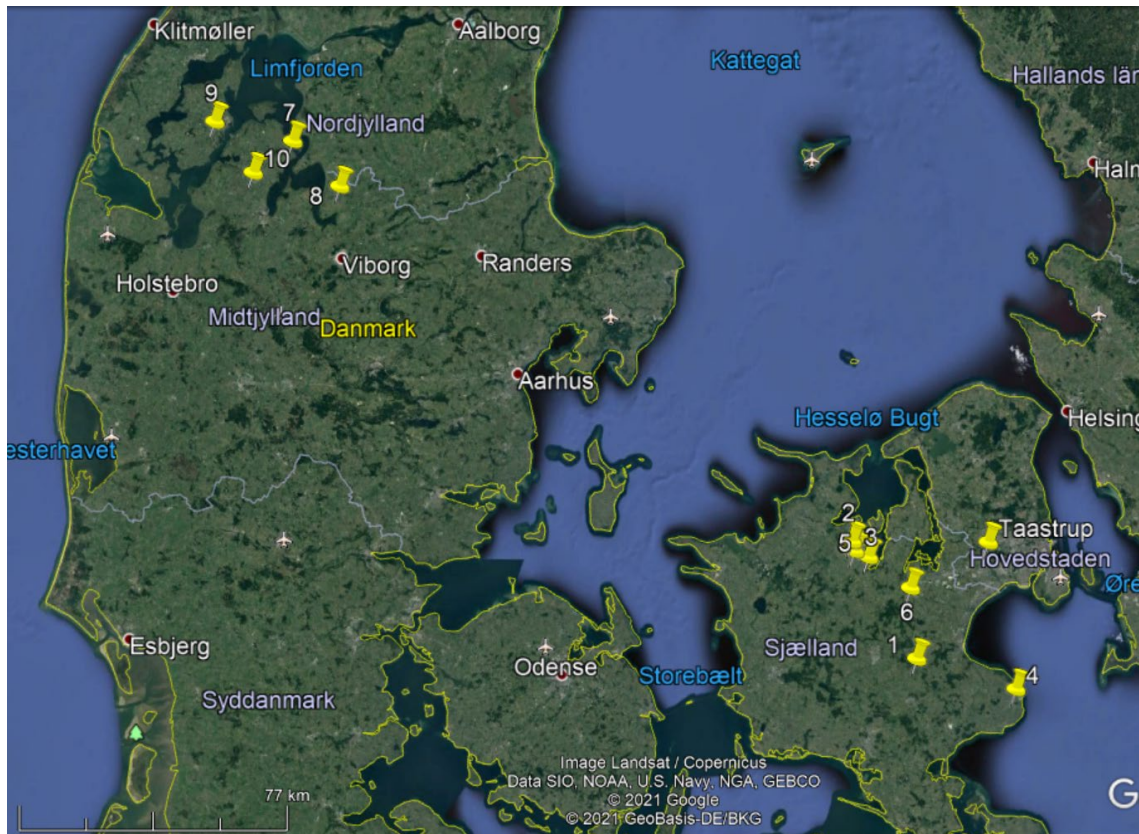
| År | Prøvenavn | QSI |
|------|------------|------------|
| | | Clopyralid |
| | | mg/kg |
| 2019 | HB-2019-1 | 0,077 |
| | HB-2019-2 | 0,052 |
| | HB-2019-3 | 0,1 |
| | HB-2019-4 | 0,13 |
| | HB-2019-5 | 0,056 |
| | HB-2019-6 | 0,067 |
| | HB-2019-7 | 0,12 |
| | HB-2019-8 | 0,32 |
| | HB-2019-9 | 0,089 |
| | HB-2019-10 | 0,11 |
| 2020 | HB-2020-10 | 0,16 |
| | HB-2020-2 | 0,13 |
| | HB-2020-3 | 0,087 |
| | HB-2020-4 | 0,19 |
| | HB-2020-5 | 4,2 |
| | HB-2020-6 | 0,09 |
| | HB-2020-7 | 0,067 |
| | HB-2020-8 | 0,05 |
| | HB-2020-9 | 0,067 |
| | HB-2020-10 | 0,037 |

9.5 Godkendte produkter indeholdende clopyralid

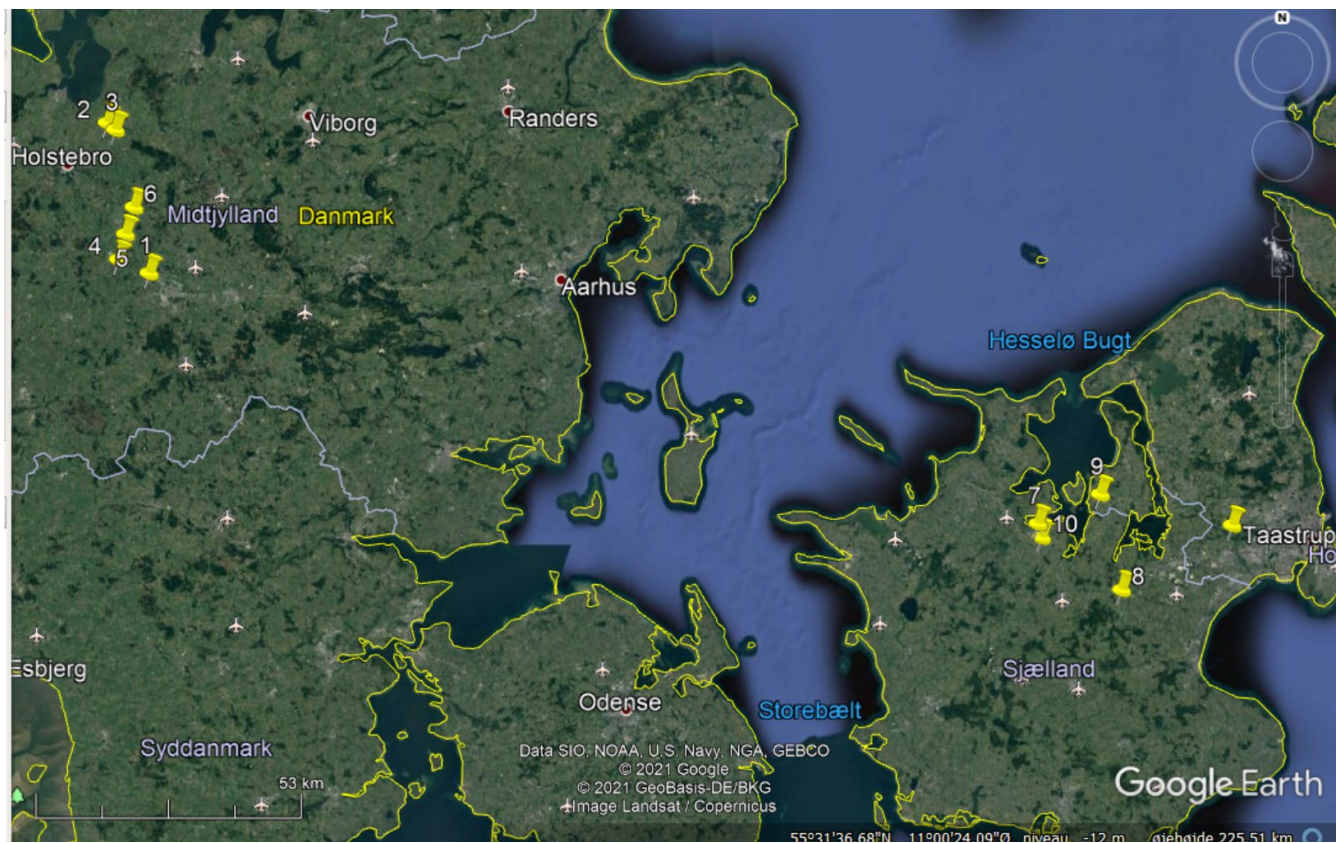
Tabel S8. Godkendte produkter til ukrudtsbekæmpelse i raps indeholdende clopyralid i 2021jfr. Bekæmpelsesmiddeldataseten den 8 september 2021 (<https://mst.dk/kemi/database-for-bekaempelsesmidler/bmd/>).

| Handelsnavn | Registrerings nummer | Godkendelsesindehaver |
|-------------------------|----------------------|---|
| ATR Clopico | 826-5 | STEFES GmbH, Wendenstrasse, 21 b, 20097 Hamborg |
| ATR Clopyralid | 826-11 | STEFES GmbH, Wendenstrasse, 21 b, 20097 Hamborg |
| Cliophar 600 SL | 361-31 | Arysta LifeScience Benelux SPRL, Rue de Renory 26, B-4102 Ougrée |
| Galera | 64-71 | Corteva Agriscience Denmark A/S, Langebrogade 1, 141, København K |
| Korvetto | 64-93 | Corteva Agriscience Denmark A/S, Langebrogade 1, 1411 København K |
| LFS Clopyralid-Picloram | 318-176 | LFS Kemi A/S, Navervej 4, 6600 Vejen |
| Matrignon 600 SL | 64-84 | Corteva Agriscience Denmark A/S, Langebrogade 1, 1411 København K |
| Matrignon 72 SG | 64-74 | Corteva Agriscience Denmark A/S, Langebrogade 1, 1411 København K |

9.6 Kort over markernes placering



Figur S1. Forsøgsmarker 2019.



Figur S2. Forsøgsmarker 2020.

Clopyralid i dansk honning og pollen fra vinterraps

I 2017 fandt man for første gang clopyralid i dansk honning. Clopyralid er et aktivstof, der indgår i en række ukrudtsmidler (f.eks. Matrigon 72 SG, reg. nr. 64-74 og Galera reg. nr. 64-71), som kan anvendes i vinterraps og vårraps til bekæmpelse af ukrudt fra kurvblomstfamilien. Der er på EU plan sat en maksimal grænseværdi (kaldet MRL; Maximum Residue Level) for hvor stor en rest, der må være af et givent aktivstof i en given fødevare inkl. honning. For clopyralid i honning er MRL 0,05 mg/kg.

I henholdsvis 2019 og 2020 blev indholdet af clopyralid i nektar og pollen undersøgt i en forsøgsmark sprøjtet med Matrigon 72 SG på det sidste mulige lovlige sprøjtetidspunkt. Desuden blev der begge år samlet honning og pollen ind fra 10 bi-stader placeret op af Matrigon 72 SG sprøjtede marker hos landmænd. Der blev fundet rester af clopyralid i samtlige nektar og pollenprøver fra sprøjtede plots i forsøgsmarken og i samtlige honning og pollenprøver fra de øvrige marker. I en stor del af dem var værdien højere end 0,1 mg/kg, som betyder, at honningen ikke overholder lovgivningen og derfor ikke må sælges som fødevare.

Hvis ikke det er muligt at nedsætte restkoncentrationen af clopyralid i honning tilstrækkeligt ved at ændre dosis, reducere brugen af clopyralid ved blot at pletsprøjte og/eller ændre udbringningstidspunktet, samtidig med at der bevares en effektiv ukrudtsbekæmpelse, anbefaler vi, at brugen af clopyralid i vinterraps stoppes. Alternativt bør man fastsætte en specifik MRL for clopyralid i honning.



Miljøstyrelsen
Tolderundsvej 5
5000 Odense C

www.mst.dk