



CENTRUM FÖR KEMISKA
BEKÄMPNINGSMEDEL
I MILJÖN



NATIONELL
MILJÖÖVERVAKNING
PÅ UPDRAG AV
NATURVÅRDSVERKET

Ove Jonsson, Maj Rundlöf, Glenn Svensson, Malin Forsberg, Bodil Lindström, Alina Koch, Elin Eriksson, Gustaf Boström & Mikaela Gönczi

Pollinatörers exponering för växtskyddsmedel via pollen, nektar och luft i jordbrukslandskapet



CKB rapport 2022:1

Uppsala 2022

SLU Centrum för kemiska bekämpningsmedel i miljön (CKB)
Sveriges lantbruksuniversitet

SLU Centre for Pesticides in the Environment (CKB)
Swedish University of Agricultural Sciences

Pollinatörers exponering för växtskyddsmedel via pollen, nektar och luft i jordbrukslandskapet

Pollinators' exposure to pesticides via pollen, nectar and air in the agricultural landscape

Ove Jonsson, Maj Rundlöf, Glenn Svensson, Malin Forsberg, Bodil Lindström, Alina Koch, Elin Eriksson, Gustaf Boström & Mikaela Gönczi

Utgivare: Sveriges lantbruksuniversitet, SLU Centrum för kemiska bekämpningsmedel i miljön (CKB)
Utgivningsår: 2022
Utgivningsort: Uppsala
Tryck: Repro, SLU
Omslagsbild: Honungsbi (*Apis mellifera*) som samlar pollen och nektar från en äppelblomma i en skånsk äppelodling i maj. Foto: Maj Rundlöf
Serietitel: CKB rapport
Delnummer i serien: 2022:1
ISBN: 978-91-8046-776-6 (elektronisk)
978-91-8046-775-9 (tryckt)



AirBeeSafe-rapport

Rapportförfattare Ove Jonsson, Maj Rundlöf, Glenn Svensson, Malin Forsberg, Bodil Lindström, Alina Koch, Elin Eriksson, Gustaf Boström & Mikaela Gönczi	Utgivare Sveriges lantbruksuniversitet Centrum för kemiska bekämpningsmedel i miljön (CKB) Postadress SLU Box 7070 750 07 Uppsala Telefon 018-67 10 00
Rapporttitel och undertitel Pollinatörers exponering för växtskyddsmedel via pollen, nektar och luft i jordbrukslandskapet	Beställare Naturvårdsverket 106 48 Stockholm Finansiering Regeringens satsning på pollinatörer/ Ett rikt växt och djurliv
Nyckelord för plats Skåne	
Nyckelord för ämne bekämpningsmedel, växtskyddsmedel, pollinatörer, luft, honungsbin, pesticider, pollen, nektar, miljöövervakning	
Tidpunkt för insamling av underlagsdata 200519 - 211117	
Sammanfattning Syftet med projekt, AirBeeSafe, var att öka kunskapen om bin och andra pollinerande insekters exponering för olika växtskyddsmedel i odlingslandskapet. Projektet utfördes i ett samarbete mellan SLU Centrum för kemiska bekämpningsmedel i miljön (CKB) och Biologiska institutionen, Lunds universitet, samt lantbrukare och biodlare. Finansiering gavs av Naturvårdsverket och det strategiska forskningsområdet BECC, Biodiversity and Ecosystem services in a Changing Climate. Under 2020 och 2021 studerades åtta lokaler i Skåne under upp till tolv veckor, fördelat på tre tidsperioder, maj till oktober. Provlokalerna valdes utifrån en gradient av jordbruksintensitet. Honungsbin (<i>Apis mellifera</i>) användes som modellorganism och i varje lokal placerades två bisamhällen. Prover av luft (154 st), pollen (114 st), bivävnad (65 st), och nektar (66 st) samlades in och analyserades kvantitativt för koncentrationen av upp till 108 växtskyddsmedel. För att uppskatta risker för bin och andra pollinatörer viktades de funna halterna av växtskyddsmedel med deras akuta toxicitet för honungsbin. Dessa riskindex för enskilda ämnen summerades sedan för alla substanser funna i ett prov. Insamlat pollen identifierades till växtart eller grupp. Uppmätta summahalter och riskindex för luft ökade med ökande andel åkermark i det omgivande landskapet, medan det för pollen inte fanns något sådant samband. Generellt var det ofta några få ämnen som gav ett stort utslag på riskindexet. Pollen var den matris där flest ämnen detekterades och där höga summahalter och högst riskindex förekom. Det ämne som utgjorde störst risk i pollen var insekticiden indoxakarb, följt av betydligt lägre värden för fungiciden penkonazol och insekticiderna acetamiprid och imidakloprid. Pollenidentifieringen visade att både grödor och vilda växter bidrar till risken. I luft var herbiciden prosulfokarb och fungiciden penkonazol de mest riskfyllda ämnena. Indoxakarb var även det mest riskfyllda ämnet utifrån analysen av bivävnad, medan insekticiden tiakloprid var ett riskfyllt ämne som förekom i både bin och nektar. Indoxakarbs godkännande som växtskyddsmedel har dock gått ut (september 2022), liksom godkännandena för imidakloprid (2018) och tiakloprid (2021), så fynden av de ämnena bör minska på sikt och göra att riskbilden för bin och andra pollinatörer förändras. Riskindexen för pollen, bivävnad och nektar var statistiskt relaterade, medan riskindexet för luft var orelaterat till de tre andra matriserna. Luftprover verkar alltså kunna ge en något annan bild av riskerna för bin och andra pollinatörer än prover av de andra matriserna. I framtida övervakning av risker från växtskyddsmedel för bin och andra pollinatörer föreslås, av praktiska och etiska skäl samt med tanke på ekologisk relevans, att detta i första hand sker genom bestämning av halter i pollen insamlat av honungsbin och beräkning av riskindex baserade på akut toxicitet för honungsbin. Då riskindex baserade på lufthalter inte relaterade till riskindex baserade på pollenhalter kan man också tänka sig kompletterande mätningar av luft. Se rapporttexten för en mer detaljerad sammanfattning.	

Innehållsförteckning

Sammanfattning.....	2
1. Inledning.....	6
2. Bakgrund.....	6
2.1 Bin, pollen och nektar.....	7
2.2 Luft.....	7
3. Material och metoder.....	8
3.1 Studieområde och markanvändning.....	8
3.2 Provtagning.....	9
Tidsperioder.....	9
Luftprovtagning.....	10
Provtagning av pollen, bin och nektar.....	12
3.3 Analysmetodik.....	14
Kvantifiering av växtskyddsmedel.....	14
Pollenidentifiering.....	14
3.4 Summahalter och riskindex för bin.....	15
3.5 Statistiska analyser.....	17
3.6 Riskbedömning för människor i närområdet baserat på lufthalter.....	17
4. Resultat.....	19
4.1 Luft.....	19
Detekterade substanser, halter och riskindex.....	19
Jämförelser av luftdata med den nationella miljöövervakningen.....	24
4.3 Pollen.....	27
Detekterade substanser, halter och riskindex.....	27
Identifierade pollenkällor.....	32
Näringsväxter och riskfyllda substanser baserat på färgsorterat pollen.....	34
4.4 Bivävnad och nektar.....	35
Detekterade substanser, halter och riskindex.....	35
4.5 Riskbedömning för bin utifrån olika provmatriser.....	39
4.6 Riskbedömning för människor i närområdet baserat på lufthalter.....	41
5. Diskussion.....	42
6. Slutsatser.....	47
7. Tackord.....	49
8. Tänkbar miljöövervakning av pollinatörers exponering för växtskyddsmedel.....	50

9. Referenser	55
10. Bilagor	60
Bilaga 1. Analyserade ämnen och uppskattade detektionsgränser (LOD) i olika provmatriser	61
Bilaga 2. Utvärdering av luftprovtagarens funktion	64
Bilaga 3. Detekterade substanser och deras toxicitetsvärden för bin	66

English Summary

Pollinators' exposure to pesticides via pollen, nectar and air in the agricultural landscape

The aim of the project, AirBeeSafe, was to increase knowledge about the exposure of pollinating insects to various plant protection products in the agricultural landscape, i.e., which substances they are exposed to in the environment and at what concentrations. The project was carried out in collaboration between the SLU Center for Chemical Pesticides in the Environment (CKB) and the Department of Biology, Lund University, as well as farmers and beekeepers. Funding was provided by the Swedish Environmental Protection Agency and the strategic research area BECC, Biodiversity and Ecosystem services in a Changing Climate.

During 2020 and 2021, samples were collected from eight locations in Skåne for up to twelve weeks, spread over three time periods from May to October. The sample sites were distributed along a gradient of agricultural management intensity, defined by the extent of cropland. Samples of air, pollen, bee tissue, and nectar were collected and analyzed for residues from up to 108 pesticide substances. In total, 154 weekly air samples, 114 pollen samples, 66 nectar samples and 65 bee samples were analyzed.

A new quantitative method for weekly air sampling (30 m³/week) was developed for this study and used in all eight locations. The method was compared with the sampling method (3000 m³/week) used within the national environmental monitoring that is carried out in one of the locations.

Two honeybee colonies (*Apis mellifera*) were placed at all locations. At the end of each sampling week, pollen was collected in pollen traps mounted at the entrance of the beehives and about 50 honeybees were collected by hand netting. Nectar was extracted from ten of the collected bees which were then analyzed as bee tissue. Collected pollen was identified to plant species or group. To better trace the pesticide residues to different plant sources, some pollen samples were divided into color fractions which were analyzed both with respect to pesticide residues and plant species/group.

In order to assess risks for bees and other pollinators, the pesticide concentrations were weighted with their acute toxicity for honeybees. These risk indices for individual substances were also summed for all substances found in a sample, with the assumption that the individual toxic effects are additive. Such a risk index has in a previous field study been shown to relate negatively to bee reproduction.

The inhalation risk to residents near agricultural fields was estimated by calculating the daily intake of the pesticide divided by the Acceptable Operator Exposure Level (AOEL). A worst-case scenario for the most vulnerable age category, 1-3 years old children, was used. No significant risks from human exposure were identified.

The results from the air analyzes showed high occurrence of fungicides such as propamocarb and fluopyram as well as the herbicide prosulfocarb. Prosulfocarb had the highest concentrations, generally some orders of magnitude above other substances, which also resulted in a high calculated risk index, relative to other substances. The total concentration

and the risk index per sample increased with an increasing proportion of cropland in the surrounding landscape.

In pollen, fungicides were also found more frequently than herbicides and insecticides. However, the risk index in pollen was predominantly driven by insecticides, mainly indoxacarb but also imidacloprid in 2020 (these substances are however banned as plant protection products since 2022 and 2018, respectively). The pollen samples had the most substances found and the highest risk index during May-June, compared to July and September-October. Neither total levels nor risk index for pollen related to the proportion of cropland in the landscape or the proportion of crop pollen in the samples.

The study of color-sorted pollen showed that indoxacarb contributed the most to the risk index. Although there were a couple of fractions dominated by crop pollen, in both cases apple-type pollen, the two riskiest fractions came from non-crop plants: red clover-type and cornflower.

Fewer substances were detected in bee tissue and nectar and at lower concentrations than in pollen and air. The most commonly occurring substances were the fungicide fluopyram, the herbicide metamitron and the insecticide thiacloprid. Most of the detections were in the first period (June). Indoxacarb gave rise to the highest risk index in bee tissue, but the substance was not detected in nectar.

Generally, the pesticide-related risk to bees and other pollinators in the agricultural landscape was often driven by a few substances' contributions to the risk index. Pollen was the matrix where the most substances were detected and where high summed concentrations and risk indices occurred. However, since several of the riskiest insecticides (indoxacarb, imidacloprid and thiacloprid) have been banned for use as plant protection products since the study was carried out, it is likely that the concentrations of those substances will decrease in the future and that the risk for bees will change.

The risk indices for pollen, bee tissue and nectar were statistically related, while the risk index for air was unrelated to the other three matrices. Air samples thus seem to give a slightly different picture of the risk to bees and other pollinators than samples of the other matrices.

Overall, for practical and ethical reasons and in view of ecological relevance, it is proposed that the risks from pesticide exposure to bees and other pollinators could primarily be evaluated by determining risk indices based on concentrations in pollen collected by honeybees and acute toxicity to honeybees. Since risk indices for air were unrelated to risk indices for pollen, one could also consider complementary measurements of air.

Sammanfattning

Det övergripande målet med detta projekt, AirBeeSafe, har varit att öka kunskapen om pollinerande insekters exponering för olika växtskyddsmedel i odlingslandskapet, dvs. för vilka ämnen och vid vilka halter de riskerar att exponeras i sin livsmiljö. Projektet utfördes i ett samarbete mellan SLU Centrum för kemiska bekämpningsmedel i miljön (CKB) vid Sveriges lantbruksuniversitet (SLU) och forskare vid Biologiska institutionen, Lunds universitet, samt lantbrukare och biodlare. Finansiering gavs av Naturvårdsverket och det strategiska forskningsområdet BECC, Biodiversity and Ecosystem services in a Changing Climate.

Material och metoder

Under 2020 och 2021 samlades prover in från åtta lokaler i Skåne under upp till tolv veckor, fördelat på tre tidsperioder under maj till oktober. Provlokaler fördelade sig längs en gradient av jordbruksintensitet, baserad på andelen jordbruksmark. Vid lokalerna odlades bl.a. höstraps (0-23%) och äpple och annan frukt (0-9%), grödor som delvis pollineras av insekter och som är populära näringsväxter för honungsbin och andra pollinatörer, samt många andra grödor som behandlas med växtskyddsmedel. I projektet togs prover av fyra olika matriser; luft, pollen, bivävnad, och nektar, som analyserades för resthalter av växtskyddsmedel. Totalt analyserades 154 veckovisa luftprover, 114 pollenprover, 66 nektarprover och 65 biprover.

En ny, flexibel och förhållandevis billig provtagningsmetodik för luft utvecklades för denna studie. Veckovisa luftprover samlades in genom att pumpa luft vid ett flöde av 3 liter per minut (ca 30 m³ per vecka) genom en provtagare. Tack vare att luftvolymen registreras för varje prov kan växtskyddsmedelshalterna bestämmas kvantitativt som en medelkoncentration under en vecka. Fokus för luftanalyserna inom detta projekt har varit exponering och potentiell påverkan på pollinatörer, men resultaten har även använts för att bedöma hur humanexponeringen kan se ut i ett svenskt jordbrukslandskap.

Under 2020 samlades prover av luft, pollen och bin in under alla tre perioderna. Under 2021 samlades endast luft och pollen in och pollenprovtagningen begränsades till de två första perioderna. Pollen prioriterades eftersom antalet funna ämnen och koncentrationer visat sig vara högre i pollen än i nektar och bin. Begränsningen till de två första tidsperioderna gjordes eftersom det var då flest ämnen och högst halter hittades, jämfört med tredje perioden, och det dessutom är fler arter av pollinatörer aktiva under de två första perioderna.

Två honungsbisamhällen (*Apis mellifera*) placerades i varje lokal ca en vecka innan den första provtagningen påbörjades. Vid varje provtagningstillfälle håvades ca 50 honungsbin in i anslutning till kuporna. Nektar samlades från tio av de insamlade bina. Pollen samlades med pollenfällor som monterades på bikupornas ingång.

Samtliga bestämningar av växtskyddsmedel utfördes av laboratoriet för organisk miljökemi (OMK) vid SLU i Uppsala. Alla prover i studien analyserades med LC-MS/MS och ett urval av luft- och pollenproverna från 2020 analyserades även med GC-MS. Identifiering av pollenkorn till växtart eller grupp gjordes vid Biologiska institutionen vid Lunds universitet. Pollenprover från två av provplatserna från år 2020 användes vidare för att få en tydligare spårning till växtkällan och kopplingen mellan näringsväxt och växtskyddsmedelsrester. Detta gjordes genom att färgsortera pollenet och sedan använda de färgsorterade fraktionerna för att identifiera både växtart och växtskyddsmedelsrester.

För att ta hänsyn till skillnader i toxicitet mellan olika substanser användes ett medelvärde av LD₅₀ oral och LD₅₀ kontakt för honungsbin. Varje uppmätt koncentration dividerades med substansens toxicitet och värdena summerades för alla substanser funna i ett prov, med antagandet att de enskilda toxiska effekterna är additiva. Ett sådant riskindex har tidigare visat sig relatera negativt till bins reproduktion.

Risken vid inandning för boende i närheten av jordbruksfält uppskattades genom att beräkna det dagliga intaget av växtskyddsmedel dividerat med Acceptable Operator Exposure Level (AOEL). Är det dagliga intaget lägre än AOEL-värdet är riskkvoten <1, vilket innebär att inga negativa hälsoeffekter förväntas av inandning för ett visst ämne. För att uppskatta den totala exponeringen av växtskyddsmedel i luften beräknades summan av riskkvoterna för varje ämne i varje prov. Om summan är <1 förväntas inga negativa hälsoeffekter av blandningen av växtskyddsmedel i luften. För att uppskatta det dagliga intaget genom inandning beräknades ett värsta scenario för den mest sårbara ålderskategorin ”småbarn” (1-3 år).

Resultat

Luft

Fungiciden propamokarb, som främst används i växande potatis, var den mest påträffade substansen båda åren, i 55% respektive 62%, av luftproverna. Fluopyram är en annan fungicid, för användning i potatis men också spannmål, som påträffats i flertalet prover både 2020 och 2021 (35% respektive 59%). Herbiciden prosulfokarb påträffades i 42% respektive 44% av luftproverna, 2020 och 2021, och i högst halter, som generellt låg minst ett par tiopotenser över andra påträffade substanser. Prosulfokarb har, relativt andra substanser, högre beräknat riskindex i första hand på grund av de klart högre halterna.

Summahalten och riskindexet per prov ökade med ökande andel åkermark i det omgivande landskapet. Summahalten var högre för den tredje perioden jämfört med de två andra och liknande mellan de första och andra perioderna. Den höga summahalten under den tredje perioden drevs nästan helt av herbiciden prosulfokarb.

Av de fyra substanserna detekterade med GC-MS i luftproverna var bara insekticiden alfa-cypermترین, tillhörande gruppen pyretroider, godkänd för användning som växtskyddsmedel i Sverige under odlingssäsongen 2020. Alfa-cypermترین hade ett riskindex i ett prov på 0,35, vilket är nära en tiopotens högre än summan för LC-MS/MS-ämnena i samma luftprov.

Inom den nationella miljöövervakningen bestäms sedan 2009 halterna av växtskyddsmedel i luft vid Hallahus på Söderåsen i Skåne. Luftproverna samlas då in med hjälp av en kraftig pump på ett liknande sätt som den lågflödesprovtagare som användes i alla åtta lokalerna i detta projekt. Syftet med att mäta lufthalter med båda utrustningarna i samma lokal var att kunna jämföra resultaten, med avseende på antalet substanser och halter, och därmed bättre kunna relatera resultaten från de sju mer odlingsintensiva lokalerna till tidigare miljöövervakningsdata. 61 enskilda substanser påträffades i proverna från den nationella miljöövervakningen (totalt 217 fynd) jämfört med 15 substanser (28 fynd) i proverna från lågflödesprovtagaren. Parvisa t-test visade att antalet detekterade substanser var signifikant högre i högflödesprovtagningen medan ingen skillnad kunde påvisas för summahalter eller riskindex.

Skillnaden i antal detekterade substanser är sannolikt direkt kopplat till den hundra gånger större luftvolymen som pumpas genom provtagaren med den ordinarie provtagningsutrustningen (3000 m³), jämfört med lågflödesprovtagaren (30 m³). Den större luftvolymen gör det möjligt att nå lägre detektionsgränser än i analyserna med den mindre luftvolymen.

Pollen

Generellt påträffades fler fungicider än herbicider och insekticider i pollen. Av fungiciderna var det främst fluopyram, azoxistrobin, fluxapyroxad, propamokarb, protriokonazol-destio och pyraklostrobin som påträffades i pollenproverna. Riskindex för insekticiderna indoxakarb (förbjuden för användning som växtskyddsmedel från och med september 2022 och som förekom i flera prover båda åren) och imidaklopid (förbjuden för användning på åkermark sedan december 2018 och som påträffades 2020 men inte 2021) var tydligt högre än för de flesta andra substanser.

Pollenproverna hade flest påträffade substanser under maj-juni, jämfört med juli och september-oktober. Proverna från juli hade generellt lägre summahalter jämfört med tidigare på sommaren och senare på hösten. För riskindexet utskilde sig den första provtagningsperioden med högre värden än både den andra och tredje provtagningsperioden. Varken summahalt eller riskindex för pollen relaterade till andel åkermark i landskapet eller andel grödpollen i provet.

I de pollenprover som analyserades med GC-MS påträffades 4 olika substanser som gav upphov till 6 fynd. Av dessa var två av fynden insekticiden deltametrin (pyretroid, godkänt som biocid men inte växtskyddsmedel) vilka hade ett betydande bidrag till toxicitetsindex. Insekticiden tau-fluvalinat (pyretroid, godkänt som växtskyddsmedel) påträffades samtidigt som deltametrin i ett prov men bidraget till riskindex från detta ämne var betydligt lägre. Resterande fynd var hexaklorbensen och endosulfansulfat (nedbrytningsprodukt till endosulfan) vilka är förbjudna för användning i Sverige sedan många år.

Honungsbina samlade i genomsnitt 38% (spann <1-96%) av sitt pollen från jordbruksgrödor och resten från vilda örter, träd och trädgårdsväxter. De grödor som bina samlade mest pollen från var korsblommiga växter som raps (genomsnitt 16%; max 96%), frukt som äpple, päron och plommon (12%; 85%), vitklöver (6%; 76%) och rödklöver (3%; 74%)

Färgsorterat pollen från två av provplatserna analyserades för växtskyddsmedelsrester. Riskfyllda fraktioner kom från båda platserna (5 fraktioner från vardera plats) och indoxakarb var den substans som bidrog mest till riskindexet i alla de tio färgfraktionerna. Även om det fanns ett par fraktioner som dominerades av grödpollen, i båda fallen pollen av äppeltyp, så kom de två mest riskfyllda fraktionerna från icke-grödor: rödklövertyp respektive blåklint.

Bivävnad och nektar

Fungiciden fluopyram, herbiciden metamidon och insekticiden tiaklopid hade flest fynd i både bi- och nektarprover och i likhet med luft och pollen gjordes de flesta fynden under första perioden (juni), med undantag för prosulfokarb i bin, där majoriteten fynd var i sista perioden (oktober). De fyra fynden av indoxakarb gav upphov till högst riskindex i bivävnad. I nektar var antalet påträffade substanser generellt sett lågt. Indoxakarb påträffades inte i nektar.

Riskbedömning för bin och andra pollinatörer

Det var främst några få ämnen som ofta gav ett stort utslag i det summerade riskindexet, så om just de medlen användes och detekterades eller inte var mest avgörande för risken. Pollen var den matris där flest ämnen detekterades och där höga summahalter och riskindex förekom. Det ämne som utgjorde störst risk i pollen var indoxakarb, följt av betydligt lägre värden för fungiciden penkonazol och insekticiderna acetamiprid och imidaklopid. Värt att notera är att samförekomst av penkonazol och acetamiprid kan göra acetamiprid betydligt mer giftigt för bin än ämnet ensamt. I luft var herbiciden prosulfokarb och fungiciden penkonazol de mest riskfyllda ämnena. Indoxakarb var det mest riskfyllda ämnet även utifrån analysen av bivävnad, medan insekticiden tiaklopid var ett riskfyllt ämne som förekom i både bin och nektar. Indoxakarbs godkännande har dock gått ut (september 2022), liksom godkännandena för imidaklopid (2018) och tiaklopid (2021), så fynden av de ämnena bör minska på sikt och göra att riskbilden för bin förändras. Av substanserna detekterade med GC-MS-metoden gav insekticiderna klorpyrifos och alfa-cypermethrin upphov till högst riskindex för luft, medan det för pollen var insekticiden deltametrin som gav upphov till högst risk. Av dessa ämnen är det endast deltametrin som är godkänd, och då endast som biocid, efter att godkännandet för alfa-cypermethrin gick ut februari 2022.

Riskindexen för pollen, bivävnad och nektar var statistiskt relaterade, medan riskindexet för luft var orelaterat till de tre andra matriserna. Luftprover verkar alltså ge en något annan bild av risken för bin än prover av de andra matriserna. Riskindexet baserat på honungsbiinsamlat pollen har i relaterade studier visat sig samvariera med riskindexet för pollen insamlat av två andra biarter. Hur väl det relaterar till andra pollinatörers växtskyddsrelaterade risker är däremot inte känt. Dock är det relevant att påpeka att luft, pollen och nektar är mer eller mindre relevanta exponeringsvägar för pollinatörer generellt.

Sammantaget, av praktiska skäl och med tanke på ekologisk relevans, föreslås att riskerna från växtskyddsmedelsexponering för bin och andra pollinatörer i första hand utvärderas genom bestämning av riskindex baserade på akut toxicitet för honungsbin och halter i pollen insamlat av honungsbin. Då riskindex baserade på lufthalter inte relaterade till riskindex baserade på pollenhalter kan man också tänka sig kompletterande mätningar av luft.

Riskbedömning för människor

Trots att ett värstascenario användes identifierades inga hälsorisker på grund av enskilda växtskyddsmedel (HQ) eller mixen av växtskyddsmedel (HI). Det beräknade dagliga intaget av växtskyddsmedel via inandning baserat på uppmätta lufthalter, var en eller flera tiopotenser lägre än referenskoncentrationen AOEL. Detta tyder på en låg hälsorisk vid inandning av växtskyddsmedel i de undersökta områdena.

1. Inledning

Att bevara och stärka biologisk mångfald i samspel med hållbar livsmedelsproduktion är en viktig del i Sveriges och många andra länders miljömål. Ett sätt att öka avkastning från jordbrukssektorn är att använda kemiska växtskyddsmedel som bland annat skyddar grödan mot konkurrerande ogräs och angrepp från olika svamp- och insektsarter. Dessa ämnen riskerar dock att skada även andra växter och djur i, eller i angränsning till, den odlade marken. Växtskyddsmedel och då främst insekticider, har därför identifierats som ett av flera hot mot pollinerande insekter i Sverige främst vilda bin (inklusive humlor), honungsbin, andra steklar, blomflugor, dag- och nattfjärilar och vissa skalbaggsarter i odlingslandskapet (Borgström et al. 2018). Då de ekosystemfunktioner som dessa arter utför i form av pollinering är avgörande för såväl vilda växter som grödor innebär ett hot mot den biologiska mångfalden, i detta fall, även ett hot mot livsmedelsproduktionen.

Det övergripande målet med projektet AirBeeSafe har varit att öka kunskapen om pollinerande insekters exponering för olika växtskyddsmedel i odlingslandskapet, dvs. för vilka ämnen och vid vilka halter de riskerar att exponeras i sin livsmiljö. De olika exponeringsvägarna som studerades var luft, pollen och nektar.

Mätningar av växtskyddsmedel i luft i Sverige har sedan 2009 gjorts inom den nationella miljöövervakningen av växtskyddsmedel och då endast i en lokal på Söderåsen i västra Skåne (Fredricsson et al. 2021). Avståndet från denna provpunkt till intensivt nyttjad jordbruksmark är relativt stort och proverna anses främst spegla bakgrunds nivåer orsakade av regionala och långväga lufttransporter. Inom AirBeeSafe-projektet har koncentrationer av växtskyddsmedel mätts i luft i odlingslandskap med en stor andel åkermark och i direkt anslutning till insektpollinerade grödor och pollinatörers livsmiljöer, vilket därmed bidrar med ny information till detta forskningsområde. Då många mindre samhällen i södra Sverige är omgärdade av intensivt brukad mark bidrar studien också till ökad kunskap om hur människor i dessa miljöer exponeras för växtskyddsmedel via inandningsluften.

Lokalerna i studien valdes dels utifrån nationell miljöövervakning och dels ett urval av de lokaler som tidigare studerats inom det Formas-finansierade forskningsprojekt MixToxBee (Knapp et al. 2022a). Detta förväntas ge goda synergieffekter och resultaten från denna studie, som alltså förutom pollen och nektar även inkluderar lufthalter samt funna halter i bivaävnad, bidrar därför även med information som har direkt relevans för den internationella forskningen kring modellering av pollinatörers växtskyddsmedelsrelaterade risker.

Till rapporten har ett avslutande kapitel om tänkbar miljöövervakning av pollinatörers exponering för växtskyddsmedel i jordbrukslandskapet, baserat på resultaten från denna studie samt litteraturen, lagts till efter önskemål från Naturvårdsverket.

Projektet utfördes i ett samarbete mellan SLU Centrum för kemiska bekämpningsmedel i miljön (CKB) vid Sveriges lantbruksuniversitet (SLU) och forskare vid Biologiska institutionen, Lunds universitet, samt lantbrukare och biodlare. Finansiering gavs av Naturvårdsverket och det strategiska forskningsområdet BECC, Biodiversity and Ecosystem services in a Changing Climate.

2. Bakgrund

Pollinatörer kan exponeras för växtskyddsmedel på flera olika sätt när användningen sammanfaller med deras aktiviteter (Boyle et al. 2019, Sponsler et al. 2019, Sgolastra et al. 2019). Provtagning och bestämning av växtskyddsmedel i bin, speciellt honungsbin, och den

föda de samlar in i landskapet runt sin boplats, har föreslagits som en metod för att övervaka rester av växtskyddsmedel i den terrestra miljön (Jonsson et al. 2013, de Oliveira et al. 2016). Genom att mäta koncentrationen av växtskyddsmedel i olika relevanta provmatriser kan man få en ökad förståelse för hur den cocktail av substanser som pollinatörer exponeras för varierar i tid, rum och med jordbrukslandskapets karaktär, samt vilka källorna kan vara. Födointag av nektar och pollen är de mest uppenbara och även mest studerade exponeringsvägarna för pollinerande insekter. En annan tänkbar exponeringsväg, som dock är relativt lite studerad, är den via luft.

2.1 Bin, pollen och nektar

Pollinatörer, bland annat bin, som pollinerar en stor del av både odlade och vilda växter (Klein et al. 2007, Ollerton et al. 2011), förlitar sig i huvudsak på pollen och nektar för att täcka sina näringsbehov (Woodard & Jha 2017). Både pollen och nektar kan dock innehålla rester av växtskyddsmedel (Mullin et al. 2010, David et al. 2016, Kyriakopoulou et al. 2017, Böhme et al. 2018, Graham et al. 2021, Rundlöf et al. 2022, Végh et al. 2022). Dessa växtskyddsmedel återfinns generellt i högre halter i pollen än nektar och just pollen kan därför vara en speciellt viktig exponeringsväg för insekter som livnär sig på pollen och nektar (Kyriakopoulou et al. 2017, Zioga et al. 2020). Nektar utgör den huvudsakliga födan för de flesta vuxna bin, medan en blandning av pollen och nektar, hos honungsbin processad av ambn, är huvudsaklig födan för deras larver (Boyle et al. 2019, Sgolastra et al. 2019). Honungsbin och de flesta arter av humlor är generalister och samlar pollen från en mångfald av växtarter (t.ex. Leonhardt & Blüthgen 2012, Böhme et al. 2018, Végh et al. 2022), medan solitärbin ofta samlar pollen från en mindre grupp av närbesläktade växtarter (t.ex. McAulay et al. 2021, Yourstone et al. 2021, Rundlöf et al. 2022). Många andra insekter besöker blommor och livnär sig på dess pollen och nektar (Ahrné et al. 2022). Fjärilar besöker blommor för att få nektar medan blomflugor kan vara ute efter både pollen och nektar (Ahrné et al. 2022). Pollenkorn kan genom sin storlek och morfologi bestämmas till växtart eller grupp (Olsson et al. 2021). Pollen insamlat av bin kan på det sättet användas för att härleda vilka växter bina har besökt och hur dessa potentiellt kan bidra till pollinatörers exponering för växtskyddsmedel (Rundlöf et al. 2022, Végh et al. 2022).

2.2 Luft

Inom några Europeiska länder pågår övervakning av växtskyddsmedel i luft som långsiktiga program eller kortare studier där enskilda substanser undersöks, t.ex. neonicotinoider (López et al. 2018). Både passiva och aktiva luftprovtagare används (Nascimento et al. 2018). Det finns dock osäkerheter med att få en kvantitativ bestämning från de passiva provtagarna då halten behöver beräknas utifrån olika antaganden om upptagshastigheter (Francisco et al. 2017). Detta gör att det i många studier bara rapporteras fynd eller inte fynd, och inte någon uppmätt eller beräknad halt. I storskaliga riskbedömningar är det vanligt att använda fördefinierade koncentrationer för luft, eftersom uppmätta koncentrationer saknas. Till exempel finns det vägledning om bedömning av exponering för växtskyddsmedel från EFSA som anger halter för luft som är 1 eller 15 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ beroende på hur flyktiga ämnen är (EFSA 2022). Dessutom finns det modeller som OPEX från EFSA (OPEX 2022) eller ExpoFIRST från US EPA (ExpoFIRST 2022) för att bedöma exponering via luften.

I det här projektet användes aktiva provtagare, där en väldefinierad luftvolym pumpades genom ett filter och ett adsorbent, och medelhalten av ämnen i luften under en vecka kvantifierades. En fransk studie med aktiva provtagare som utfördes under åren 2012-2017 visade på höga fyndfrekvenser och halter av växtskyddsmedel i både urbana områden och i

jordbruksområden. Totalt 59 idag använda växtskyddsmedel analyserades i 8 lokaler på franska medelhavskusten och på Korsika. Studien visade på en spatial fördelning av detekterade växtskyddsmedel mellan provlokalerna på landsbygden och de i stadsmiljö som tydde på spridning från jordbruksområden till stadsmiljön. Det observerades en årlig fluktuation av halter som speglar användningen under odlingssäsongen och som kunde bekräftas med data från lokal försäljning av växtskyddsmedel (Désert et al. 2018).

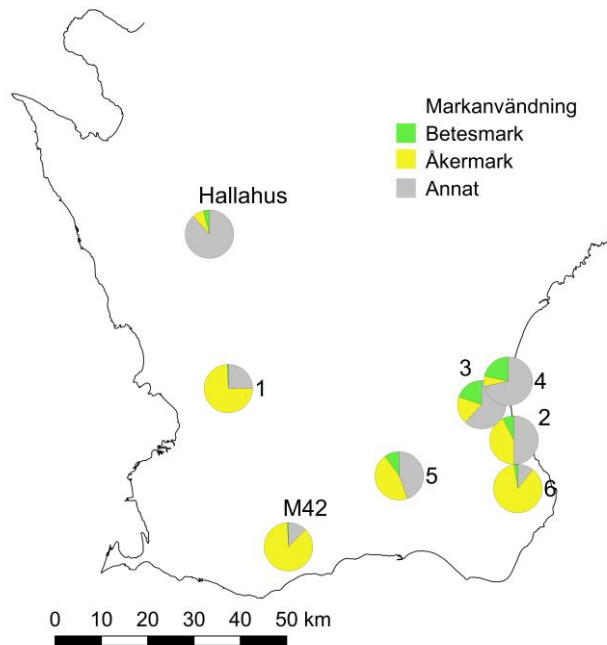
I ett större perspektiv är vikten av att undersöka förekomsten och halterna av växtskyddsmedel i luft, förutom eventuell påverkan på pollinatörer, intressant för att kunna jämföra med studier av mänsklig exponering och dess eventuella hälsoeffekter. I en stor fransk studie utförd 2013 av National Institute of Health and Medical Research (Inserm) undersöktes hälsoeffekter vid exponering av växtskyddsmedel via luft på nationell skala (Inserm 2013). Studien påvisade, tillsammans med senare utförda studier redogjorda för i Désert et al. (2018), flertalet negativa hälsoeffekter såsom astma, ökad risk för Parkinsons sjukdom samt flera typer av cancer.

3. Material och metoder

3.1 Studieområde och markanvändning

Provtagningarna gjordes på åtta platser i Skåne (Figur 1). Två av platserna, Hallahus och M42, ingår i den nationella miljöövervakningen finansierad av Naturvårdsverket. Hallahus på Söderåsen är befintlig lokal för luftprovtagning inom det nationella miljöövervakningsprogrammet "Växtskyddsmedel i nederbörd och luft" och M42 i södra Skåne ingår i programmet "Växtskyddsmedel i typområden och åar". I M42 finns en lång provtagningsserie i ytvatten och goda kunskaper om användningen av växtskyddsmedel inom avrinningsområdet. SLU är utförare för båda dessa miljöövervakningsprogram och proverna analyseras vid Laboratoriet för organisk miljö kemi vid SLU (OMK-laboratoriet) som även gjorde analyserna i detta projekt. De övriga sex platserna i studien ingår i Formas-projektet MixToxBee, där pollen och nektar samlades in för analys av växtskyddsmedelsrester 2019 (Knapp et al. 2022a) och dessutom gjordes uppföljning av effekter på jordhumlesamhällen (opublicerat).

De provtagna platserna fördelade sig längs en gradient av jordbruksintensitet som kvantifierades utifrån andel jordbruksmark, uppdelat på åkermark (7–87%) och betesmark (1–22%), och annan markanvändning (11–88%), där det senare i huvudsak inkluderar skog, tätort och vatten, inom 2 km från provtagningspunkten (Figur 1). Markanvändningen baserades på spatialt explicit jordbruksmarkanvändningsdata för åren 2020–2021 från IACS (Integrated Administration and Control System) via Jordbruksverket och analyserades i QGIS Geographic Information System 2022. I lokalerna odlades bl.a. höstraps (0–23%) och äpple och annan frukt (0–9%), grödor som delvis pollineras av insekter och som är populära näringsväxter för honungsbin och andra pollinatörer, samt många andra grödor som behandlas med växtskyddsmedel. På var och en av dessa åtta platser placerades under första halvan av maj 2020 och 2021 två honungsbisamhällen, skötta av sammanlagt sex lokala biodlare, och utrustningar för luftprovtagning.



Figur 1. De åtta provtagningsplatserna i Skåne. Två nationella miljöövervakningsområden för växtskyddsmedel i luft (Hallahus) respektive vatten (M42) och sex ytterligare provtagningsplatser. Platsernas närområden (2 km radie från provtagningspunkten) fördelar sig längs en gradient i markanvändning, kvantifierad utifrån andelen jordbruksmark, uppdelat på åkermark (gult) och betesmark (grönt), och annan markanvändning (grått; främst skog, tätort och vatten), data från Jordbruksverket.

3.2 Provtagning

Tidsperioder

Under 2020 och 2021 samlades prover in från de åtta lokalerna under upp till tolv veckor, fördelat på tre tidsperioder under maj till oktober (Tabell 1). Av de fyra matriserna luft, pollen, bi och nektar täckte luft in längst period. För 2020 pågick den första provtagningsperioden från 19 maj till 10 juni, och sammanföll med blomning i höstraps och äpple, den andra perioden från 7 till 30 juli, och sammanföll med blomning i rödklöverfröodling, och den tredje periodens första tre veckor från 15 september till 6 oktober, och sammanföll med förväntad höstanvändning av växtskyddsmedel medan honungsbin fortfarande är aktiva utanför kupan. Ytterligare tre veckor, till 28 oktober, provtogs som ett komplement, finansierat av CKB, för att fånga in sen höstanvändning av växtskyddsmedel, särskilt prosulfokarb. För 2021 pågick den första provtagningsperioden från 18 maj till 9 juni, den andra perioden från 6 till 28 juli och den tredje perioden under sex veckor, från 6 oktober till 17 november. Replikering av luftprovtagningen utfördes i vissa lokaler under både 2020 och 2021 för att utvärdera metodens tillförlitlighet och blankprovtagning gjordes för att utvärdera risken för kontaminering vid hanteringen av provtagningsutrustningen i fält.

Tabell 1. Antalet provplatser per matris och provtagnings tidpunkt 2020 och 2021 som analyserades för växtskyddsmedel med en LC-MS/MS metod. Antal inom parentes anger antal provplatser som dessutom analyserades för växtskyddsmedel med en GC-MS metod. För substanser som ingick i respektive metod, se Bilaga 1

Provtagningsperiod	Provvecka	2020				2021	
		Luft	Pollen	Nektar	Bin	Luft	Pollen
1 (maj-juni)	1	8	8	8	8	8	8
	2	8(8)	8 (8)	8	8	8	8
	3	8(8)	8 (6 ¹)	8	8	8	8
2 (juli)	1	8	8	8	8	8	8
	2	8	8	8	8	8	8
	3	8	8	8	8	8	8
3 (sept-okt/nov)	1	7 ² (6 ³)	6 ³ (6 ³)	6 ³	6 ³	4	
	2	8 (6 ³)	6 ³ (6 ³)	6 ³	6 ³	4	
	3	8	6 ³	6 ³	5 ^{3,4}	4	
	4	4 ⁵				3 ^{2,5}	
	5	4 ⁵				4 ⁵	
	6	4 ⁵				4 ⁵	

¹ ej provplats 2 och 6

² ett luftprov från lokal 2, 2020, och ett luftprov från lokal Hallahus, 2021, föll bort pga. fallerad luftpump

³ ej provplats 1 och 2

⁴ ett biprov från lokal 6 kunde ej analyseras.

⁵ ej provplats 2, 3, 4 och 6

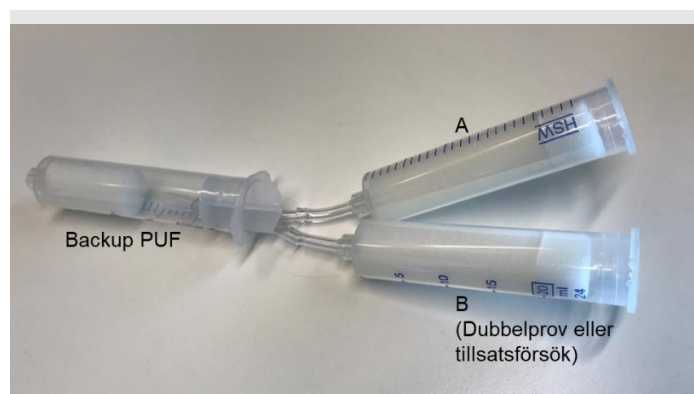
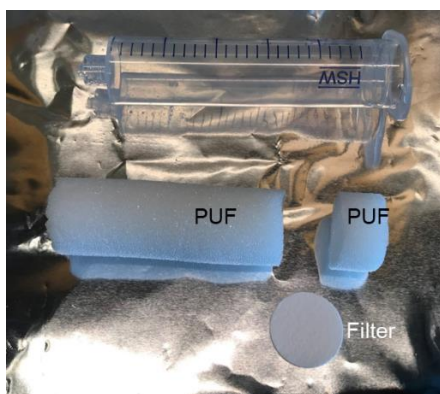
Luftprovtagning

En ny, flexibel och förhållandevis billig provtagningsmetodik för kvantitativ bestämning av växtskyddsmedel i luft utvecklades för denna studie. Veckovisa luftprover samlades in genom att pumpa luft vid ett flöde av 3 liter per minut (lågflödesprovtagning) genom en provtagare innehållande ett glasfiberfilter och ett adsorbent bestående av polyuretanskum (PUF). Den totala provvolymen blev således ca 30 kubikmeter luft per vecka. Filtrets syfte är att fånga in partikelburna substanser och PUF:ens att binda molekyler i gasfas. Pumpen (AirChek touch 1–5 l/min från SKC, USA) som drivs av det inbyggda batteriet kopplades till 220 V elanslutning för kontinuerlig drift vilket möjliggjorde provtagning under en hel vecka. Pumpen placerades i en plasthink som monterades under ett enkelt kamerastativ och skyddande plasthölje (Figur 2). Provtagaren med PUF och filter monterades sedan i överkanten på stativet utanför plastskyddet, cirka 1 meter över marken, och anslöts till pumpen via en slang. Efter varje veckoprovtagning noterades provvolymen som registrerats av pumpen, provtagaren monterades bort, pluggades och placerades i en tät zip-lock-påse som lades i en isolerad väska med kylklampar, varpå en ny provtagare monterades på pumpen och nästa veckas provtagning startades. Luftproverna förvarades i frys vid -20 °C i väntan på transport till analyslaboratoriet på SLU i Uppsala. Tack vare att luftvolymen registreras för varje prov kan växtskyddsmedelshalterna bestämmas kvantitativt som en medelkoncentration under en vecka.



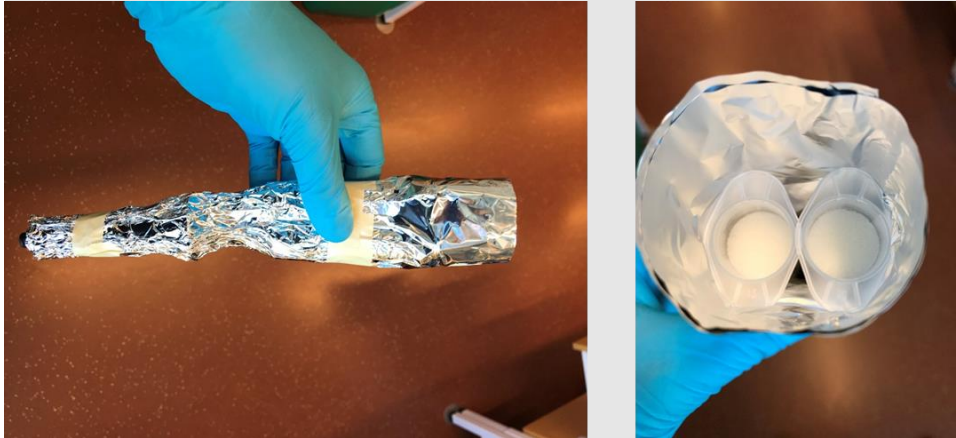
Figur 2. Tre luftprovtagningsutrustningar monterade på kamerastativ och omslutna av skyddande plasthölje. Foto: Glenn Svensson.

Konstruktion av provtagare: För att minimera kostnader och kunna erbjuda parallella provtagningar i alla åtta provlokaler monterades provtagarna ihop med hjälp av en engångsspruta och andra enkla förbrukningsartiklar. Filtrets diameter anpassades genom att stansa ut bitar med 21 mm diameter från större glasfiberfilter. PUF:en delades i två delar och filtret monterades sedan emellan dessa delar inuti engångssprutan (Figur 3). Två sådana sprutor monterades sedan parallellt med varandra och i serie med ytterligare en spruta innehållande en halv PUF som backup-adsorbent för att kunna utvärdera genombrott vid höga halter eller för flyktiga ämnen. De tre provtagarsprutorerna monterades ihop med en specialkonstruerad Y-koppling (Figur 3).



Figur 3. Lågflödesprovtagning av luft. Ett glasfiberfilter monterar mellan två adsorbent av polyuretanskum (PUF) inuti en plastspruta, vänster. Två provtagningssprutor monterar parallellt och sedan i serie med ett backup-adsorbent, höger. Luftflödet vid provtagning går således från höger till vänster i bilden. Foton: Ove Jonsson

Provtagarna slogs in i aluminiumfolie (Figur 4) för att skydda mot UV-strålning, regn och smuts och lades sedan i en zip-lock-påse för transport till fält.



Figur 4. De två provtagnings-sprutorna och backup-sprutan slås in i skyddande aluminiumfolie och kan sedan anslutas till luftpumpen via en slang. Till höger ses de två provtagarna från kortsidan där luften sugas in. Foton: Ove Jonsson

Den nyutvecklade provtagnings-tekniken bygger på att luftflödet fördelar sig lika mellan de två parallella provtagarna (A och B i Figur 3) och att därmed mängden växtskyddsmedel är lika stor i båda. På så sätt kan man använda den ena provtagaren för analys av medelhalt i provet medan den andra kan användas vid tillsatsförsök för metodvalidering, alternativt analyseras som dubbelprov. För att utvärdera att metodiken fungerar som det är tänkt analyserades ett antal av dessa som dubbelprover och de funna halterna av enskilda substanser jämfördes.

Inom den nationella miljöövervakningen bestäms sedan 2009 också halten av växtskyddsmedel i luft vid Hallahus på Söderåsen i Skåne. Luftproverna samlas då in med hjälp av en kraftig pump (Becker sidkanalfläkt) som suger luften genom en kassett med ett glasfiberfilter och en PUF på liknande sätt som den lågflödesprovtagare som användes i alla åtta lokalerna i detta projekt. Luftflödet mäts också här kontinuerligt och totalvolymen under en veckas provtagning registreras. Jämfört med lågflödesprovtagningen är flödet ca 100 gånger högre och den totala provvolymen är därmed cirka 3000 kubikmeter luft per vecka. Syftet med att mäta lufthalter med båda utrustningarna i samma lokal var att kunna jämföra resultaten, med avseende på antalet substanser och halter, erhållna med lågflödesprovtagaren med dem från ordinarie provtagning och därmed bättre kunna relatera resultaten från de sju mer odlingsintensiva lokalerna till tidigare miljöövervakningsdata.

Provtagning av pollen, bin och nektar

Under 2020 samlades prover av pollen och bin in under alla tre perioderna för bestämning av resthalter av växtskyddsmedel, dock begränsat till sex platser för den tredje perioden då det saknades tillgång till bisamhällen i lokal 1 och 2. Under 2021 samlades endast pollen in, parallellt med luftproverna, och pollenprovtagningen begränsades till de två första perioderna. Pollen prioriterades eftersom antalet funna ämnen och koncentrationer visat sig vara högre i pollen än i nektar och bin. Dessutom finns en riskkorrelation mellan pollen och nektar (Knapp et al. 2022a). Begränsningen till de två första tidsperioderna gjordes eftersom det var då flest ämnen och högst halter hittades, jämfört med tredje perioden, och dessutom är det fler arter av pollinatörer aktiva under de två första perioderna jämfört med den tredje. Denna prioritering var således ett sätt att satsa projektets resurser där de förväntades bidra med mest kunskap och göra mest nytta.

Två honungsbisamhällen (*Apis mellifera*) placerades i varje lokal ca en vecka innan den första provtagningen påbörjades (Figur 5). För att samla in bin stängdes samhällena igen vid provtagningen, för att huvudsakligen provta bin som återvände till samhället efter födosök. I

anslutning till kuporna håvades ca 50 honungsbin in och avlivades med hjälp av torris (Figur 5). Bina förvarades sedan frysta i 50 ml polypropenrör i väntan på analys. De bin som användes för analys av växtskyddsmedel i bivävnad tömdes på nektar (se nedan) innan de analyserades. Detta gjordes på analyslaboratoriet.



Figur 5. Inför provtagningen av bin och pollen placerades två honungsbisamhällen på varje lokal. Bin provtogs genom att häva in återvändande födosökare och sedan föra över dem till ett 50 ml rör (vänstra bilden). Pollen provtogs genom att montera pollenfällor på bikuporna (högra bilden), som gjorde att delar av det pollen som bina återvände till kuporna med föll ner i ett tråg (se Figur 6). Foton: Maj Rundlöf

Nektar samlades från tio av de insamlade bina med hjälp av en teknik utvecklad vid OMK-laboratoriet (Jonsson & Kreuger 2017). I denna procedur kapas bakkroppen från mellankroppen med en skalpell varefter nektar försiktigt pressas ut ur nektarmagen i bakkroppen och samlas upp i en glaskapillär. All nektar samlades från biet så att den återstående bivävnaden innehöll så lite nektar som möjligt. Eventuellt synligt pollen avlägsnades också. Nektarn från de tio bina samlades i ett provrör, mixades och centrifugerades varpå ett delprov om 20 μ l nektar användes för analys.

Pollen samlades med pollenfällor som monterades på bikupornas ingång (Figur 5). Fällan fungerar så att en del av det pollen som bina samlat i sina pollenkorgar på bakbenen skrapas av i de trånga passagerna och faller ner i en behållare under kupans ingång (Figur 6). Fällan aktiverades under en och i undantagsfall två dagar i slutet av varje vecka vilket innebar att det provtagna pollenet motsvarade det som samlats under slutet av respektive provtagningsvecka. Tanken var att det insamlade pollenet därmed, i alla fall teoretiskt, hade exponerats för växtskyddsmedel under ungefär samma period som det insamlade luftprovet. Två delprov om 4 g pollen vardera togs ut för vidare kvantifiering av växtskyddsmedel respektive identifiering av växtart. Under tredje perioden 2020 samlade bina in begränsade mängder pollen eftersom det var sent på säsongen, vilket gjorde att 11 av 18 prover blev mindre (0,14-3,8 g). Dessa delades lika mellan kvantifiering av växtskyddsmedel och identifiering av växtart. För att säkerställa provernas integritet och minimera risken att studerade substanser bryts ner kylades alla prover redan i fält med kylklampar i isolerade väskor och förvarades sedan frysta vid $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ i väntan på vidare analys. Transporten till analyslaboratoriet skedde på torris, dvs. vid

-78 °C, och proverna och deras extrakt förvarades sedan frysta vid -20 °C i väntan på upparbetning respektive instrumentell analys.

3.3 Analysmetodik

Kvantifiering av växtskyddsmedel

Samtliga bestämningar av växtskyddsmedel utfördes av OMK-laboratoriet vid SLU i Uppsala. Analysmetoderna för alla fyra provmatriserna är utvecklade på OMK-laboratoriet med finansiering av Naturvårdsverket och CKB. Metoden för provtagning av luft och den efterföljande kemiska bestämningen utvecklades speciellt för detta projekt och finansierades inom ramen för projektet. Alla prover i studien analyserades med en multimetod baserad på vätskekromatografi kopplad till tandem-masspektrometri (LC-MS/MS) med positiv elektroprayjonisering (Jansson & Kreuger 2010, något modifierad). Ett urval av luft- och pollenproverna analyserades även med gaskromatografi kopplad till masspektrometri (GC-MS) med negativ kemisk jonisering. I GC-MS metoden ingår flera ämnen ur den intressanta insekticidgruppen pyretroider. Analysomfånget med LC-MS/MS, 108 substanser, och GC-MS, 14 substanser, motsvarar till stor del det som används inom den nationella miljöövervakningen för vatten och luft och den instrumentella delen var densamma. Vilka ämnen som gick att bestämma med de två metoderna, i vilka provmatriser, samt en uppskattning av detektionsgränser redovisas i Bilaga 1.

En kortfattat beskrivning av principerna för hur de olika provmatriserna upparbetades före den instrumentella bestämningen ges nedan.

Luft: Provtagningsadsorbenten (PUF + filter tillsammans) extraherades med aceton under kraftigt ultraljud. Extraktet delades sedan upp i två separata extrakt som dunstades in till torrhet. Det ena extraktet återlöstes i acetonitril för analys med LC-MS/MS, det andra i cyklohexan:aceton, 9:1, för bestämning med GC-MS.

Pollen: Det insamlade pollenet homogeniserades med glasstav och metallspatel. Av detta homogenerat användes 0,2 g som extraherades med acetonitril i en homogeniseringsutrustning följt av kraftigt ultraljud, varpå extraktet analyserades med LC-MS/MS. Ett delextrakt togs även från ett antal prover, dunstades in och återlöstes i cyklohexan:aceton, 9:1, för analys med GC-MS.

Bin: 10 stycken bin, ca 0,8 g, som först tömts på sin nektar (enligt ovan) extraherades med acetonitril i en homogeniseringsutrustning följt av kraftigt ultraljud, på liknade sätt som för pollenproverna. Det sammanslagna extraktet indunstades och återlöstes i en liten volym acetonitril för vidare analys med LC-MS/MS.

Nektar: Ur det poolade nektarprovet som samlats från 10 stycken bin, enligt ovan (provtagning nektar), togs 20 µl ut och blandades med acetonitril för proteinfällning varpå extraktet analyserades med LC-MS/MS.

Pollenidentifiering

Identifiering av pollenkorn till växtart eller grupp gjordes vid Biologiska institutionen vid Lunds universitet. Vanligen är detta en manuell process som består av att preparera mikroskoppreparat av pollenet som sedan identifieras till växtart/grupp genom att i mikroskop jämföra pollenkornens morfologi, som storlek och form, med referensprover i ett lokalt insamlat pollenbibliotek. Bestämningssteget i denna studie drog istället nytta av en automatiserad metod som baserar sig på djupinlärning via neurala nätverk som nyligen

utvecklats vid institutionen (Olsson et al. 2021). Pollen gjuts in i en färgad gel på objektglas som sedan scannas med 40 gångers förstoring till bildfiler där enskilda pollenkorner är väl synliga. Modeller tränas mot referensprover från kända växtarter och dessa modeller används sedan för att klassificera pollenkorner från prover med okänt växtursprung (Olsson et al. 2021).

Fraktionerna om 4 g pollen, men i undantagsfall en mindre mängd, löstes upp i 70-procentig etanol, med ca 1 del pollen och 8 delar etanol i vikt. Provet skakades tills pollenlasterna löstes upp och från det suspenderade pollenet togs 2 µl ut med pipett och sattes på ett objektglas tillsammans med en ca 2 mm³ kub av anilinrödfärgad gel. Provet värmdes till ca 50 °C, täcktes med ett täckglas och lämnades för att svalna. Provet förseglades därefter med transparent nagellack.

Pollenidentifieringsmodellen som användes har 134 morfologiskt och systematiskt definierade grupper (baserade på Beug 2015), som har tränats på referensprover av känt växtursprung (Olsson et al. 2021). Utifrån den här klassificeringen har grupper som innehåller grödor som kan vara direkt behandlade med växtskyddsmedel valts ut. Dessa grupper är jordgubbe och fingerörter (*Potentilla* spp.), rödklöver (*Trifolium pratense* och *T. medium*), andra klövrar (*Trifolium* spp. utom *T. pratense* och *T. medium*), raps och andra korsblommiga växter (*Brassicaceae*), potatis och andra skattaväxter (*Solanum* spp.), äpple och andra fruktbarande träd och buskar som t.ex. päron, hallon, körsbär, hägg, oxlar och hagtorn (t.ex. *Prunus* spp., *Pyrus* spp., *Rubus* spp.) och åkerböna och vickerarter (*Vicia* spp.) och dessutom honungsört (*Phacelia tanacetifolia*) som odlas på åkermark men inte som gröda utan oftast för att gynna blombesökande insekter.

Pollenprover från M42 och provplats 2 från år 2020 användas vidare för att få en tydligare spårning till växtkällan och kopplingen mellan pollennäringsväxt och växtskyddsmedelsrester. Detta gjordes genom att färgsortera pollenet och sedan använda de färgsorterade fraktionerna för att identifiera både växtart och växtskyddsmedelsrester. Denna strategi att koppla resthalter i pollen till specifika växtarter, alternativt växtgrupper, har tidigare beskrivits i litteraturen (Végh et al. 2022). Färgsortering bygger på att växters pollen varierar i färg och att enskilda honungsbin under en födosökstur ofta samlar pollen från endast en växtart vilket ger en homogen sammansättning inom enskilda pollenlaster (Figur 6).



Figur 6. Pollen insamlad av honungsbin, med en variation i färg mellan pollen från olika växter. Till vänster: fyra pollenfallor från fyra bisamhällen. Till höger: sex prover med pollenlaster från olika bisamhällen, platser och tidpunkter. Foton: Theresia Widhalm.

3.4 Summahalter och riskindex för bin

Halten av olika substanser i födoämnen som pollen och nektar, men även i själva bivävnaden och material som bin kommer i kontakt med som jord, vegetation och luft är relevanta för att uppskatta exponering (Boyle et al. 2019, Sgolastra et al. 2019). Med exponering menas här att insekterna kan komma i kontakt med substanserna i sin livsmiljö, t.ex. via födoäntag,

direktkontakt eller via andningsorganen. Hur stort det faktiska intaget är av de material som har analyserats här, luft, pollen och nektar, hur hög biotillgängligheten är via olika exponeringsvägar, och vad därmed kan komma att utöva en toxisk effekt, är okänt och varierar troligen mellan olika arter av bin (Boyle et al. 2019, Sponsler et al. 2019). För att inte behöva göra mycket osäkra antaganden om intag och relevans av de analyserade materialen har en förenkling gjorts baserad på uppmätta koncentrationer viktade med toxicitet för honungsbin.

En summering av halterna för alla substanser som förekommer i ett prov av ett visst material ger en sammanvägd bild av förekomsten av den aktuella blandningen av substanser i just det provet och potentialen för exponering. Detta sätt att uppskatta exponering för blandningar tar dock inte hänsyn till att olika substanser är olika toxiska för pollinatörer. Ett sätt att ta hänsyn till skillnader i toxicitet, och därmed den potentiella risken som en exponering för en viss blandning av substanser innebär, är att beräkna ett riskindex vilket kombinerar halter och toxicitet. En substans koncentration divideras då med substansens toxicitet (Stoner & Eitzer 2013, Sanchez-Bayo & Goka 2014) och värdena summeras för alla substanser funna i provet, med antagandet att de enskilda toxiska effekterna är additiva (EFSA 2019). I projektet använde vi detta sätt att väga samman koncentrationer och toxicitet hos substanser i växtskyddsmedelsblandningar eftersom indexet tidigare har visat sig relatera negativt till bins reproduktion (Rundlöf et al. 2022) och för att det bygger på tillgänglig information och är en flexibel indikator för att jämföra risker med växtskyddsmedelsblandningar i tid och rum (Nowell et al. 2014).

Ekvation nedan användes för att räkna ut riskindexet (i likhet med Knapp et al. 2022a och Rundlöf et al. 2022):

$$Riskindex = \sum_{i=1}^n \frac{\text{koncentration substans } (i)}{\text{medel } LD_{50} \text{ substans } (i), \frac{ug}{bi}}$$

Där enheten på koncentrationen är ng/m³ för luft, ng/g för pollen och bin och ng/ml för nektar.

Olika växtskyddsmedels toxicitet anges bland annat med LD₅₀-värden för honungsbin, som speglar dosen då 50% av bina i de exponerade testpopulationerna dör i kontrollerade laboriebaserade studier. I denna studie användes ett medelvärde av LD₅₀ oral och LD₅₀ kontakt för honungsbin (PPDB 2022), utifrån antagandet att bin och andra pollinatörer kan komma i kontakt med substanserna genom direktkontakt, via födointag och inandning (Boyle et al. 2019). Dessa uppgifter, LD₅₀ oral och LD₅₀ kontakt för honungsbin, finns tillgängligt för nästan alla växtskyddsmedel vilket möjliggör en likvärdig bedömning för de olika analyserade substanserna (Bilaga 3). I vissa fall har så kallade "limit-test" använts för att uppskatta toxicitet (angivet med större än-tecknet, >, i PPDB och i Bilaga 3). Detta innebär att den testade (relativt höga) dosen inte visade någon tillräckligt hög letal toxicitet men att man inte gått vidare och testat med högre doser. I dessa fall användes den testade dosen som LD₅₀-värde vilket gör att dessa ämnens toxicitet överskattas. För vissa transformationsprodukter där LD₅₀-värden saknas har samma värde som för modersubstansen antagits.

3.5 Statistiska analyser

Summan av halterna av alla substanser i ett provtaget material (summahalten) och det summerade riskindexet, där substansernas halt viktats med toxicitet för honungsbin innan summeringen (se avsnitt 3.4 för vidare beskrivning), jämfördes mellan de olika provtagna matriserna (luft, pollen, bin, nektar) med linjära mixade modeller. Den beroende variabeln var summahalten eller riskindexet för ett visst material och den förklarande variabeln var summahalten eller riskindexet för ett annat material. Modellerna inkluderade även faktorerna provtagningsplats och period inom provtagningsplats för att ta hänsyn till att prover tagna från samma plats och inom en viss period inte är oberoende av varandra. För luft och pollen, som provtagits över två år, inkluderades även provtagningsplats och period inom år. Variablerna transformerades ($\ln(x+1)$) innan analys för att bättre uppfylla villkoren om normalfördelade residualer.

Summahalt och riskindex i luft och pollen relaterades till provtagningsår, period, andel åkermark i det omgivande landskapet och samtliga interaktioner mellan dessa variabler med linjära mixade modeller. Även här inkluderades provtagningsplats, period inom provtagningsplats och provtagningsplats och period inom år som så kallad randomstruktur. Både summahalt och riskindex transformerades ($\ln(x+1)$) innan analys. Heterogen varians för provtagningsperiod hanterades genom att inkludera period som en gruppfaktor i randomstrukturen. Liknande modeller, men där andel åkermark ersatts av andelen grödpollen, användes för summahalt och riskindex för pollen. Motsvarande analyser gjordes inte för bin och nektar eftersom datamaterialet var betydligt mindre för dessa material och därför inte lämpade sig lika väl som luft och pollen för den här typen av statistiska analyser.

För jämförelsen av luftdata med den nationella miljöövervakningen testades skillnader i antal påträffade substanser, summahalter och riskindex per prov med parvisa t-test. Jämförelserna gjordes för de sju veckor då det fanns parallell provtagning i denna studie och den nationella miljöövervakningen. Alla responsvariabler transformerades ($\ln(x)$) innan analys, för att uppnå approximativ normalfördelning och homogen varians. I dessa analyser inkluderades inte provtagningsperioden som en variabel eftersom antalet prover (totalt och per period) är litet. Detta gör att vi inte kan uttala oss om ifall det finns en skillnad mellan olika säsonger. Ingen hänsyn togs till möjlig temporal autokorrelation för efterföljande prover tagna från samma plats inom en viss period.

Resultaten från de statistiska modellerna presenteras i form av F-, eller t-värden och P-värden, tillsammans med antalet provenheter (N) eller antalet frihetsgrader (df). F- och t-värdena är relaterade till olika sannolikhetsfördelningar och gör att man kan hitta ett signifikansvärde (P). Den vanligaste signifikansnivån (5 %) har här använts som gräns för när nollhypotesen kan förkastas och den alternativa hypotesen stöds. Vanligen är nollhypotesen att det inte finns något samband mellan den beroende variabeln och den eller de förklarande variablerna i den statistiska modellen och den alternativa hypotesen är att det finns ett samband. När P-värdet är lägre än 0,05 förkastas nollhypotesen.

3.6 Riskbedömning för människor i närområdet baserat på lufthalter

Indikatorn Hazard Quotient (HQ) användes för uppskattning av risken vid inandning för boende i närheten av jordbruksfält (US EPA 2000). Riskkvoten HQ räknas här som det dagliga intaget av växtskyddsmedel per kilo kroppsvikt ($DI_{\text{inhalation}}$, mg/(kg*dygn)) dividerat

med Acceptable Operator Exposure Level (AOEL mg/(kg*dygn)) (EFSA 2022). AOEL-värdena för varje växtskyddsmedel har hämtats från Pesticide Properties Data Base (PPDB 2022). Är $DI_{inhalation}$ lägre än AOEL-värdet är riskkvoten $HQ < 1$, vilket innebär att inga negativa hälsoeffekter förväntas av inandning för ett visst ämne (US EPA 2000).

$$HQ = \frac{DI_{inhalation}}{AOEL}$$

För att uppskatta exponeringen av växtskyddsmedelsblandningar i luften bestämdes Hazard Index (HI). Riskindex HI är summan av HQ-värdena för varje ämne i varje prov. Om $HI < 1$ förväntas inga negativa hälsoeffekter av blandningen av växtskyddsmedel i luften (US EPA 2000).

$$HI = \sum HQ$$

Det dagliga intaget av växtskyddsmedel genom inandning ($DI_{inhalation}$, i mg/(kg*dygn)) uppskattades på grundval av exponeringsbedömningen baserad på US Exposure Factors Handbook (US EPA 2011) som:

$$DI_{inhalation} = \frac{C_{air} \times IR \times ED}{AT \times BW}$$

där C_{air} är koncentrationen (mg/m³) av ett visst växtskyddsmedel, IR är inandningstakten (m³/dygn), ED är exponeringstiden (timmar), AT är genomsnittstiden (timmar) och BW är kroppsvikten (kg). För att uppskatta det dagliga intaget genom inandning beräknades ett värsta scenario. För detta valdes den mest sårbara ålderskategorin ”småbarn” (1-3 år). De rekommenderade värdena för vikt är 10 kg och IR är 8 m³/dygn enligt EFSA:s nuvarande riktlinjer (EFSA 2022). För ED och AT valdes samma värden, 24 timmar. HQ och HI för tre av de detekterade substanserna, alfa-cypermethrin, klorpyrifos och terbutylazindesetyl, kunde inte beräknas eftersom AOEL-värden saknades.

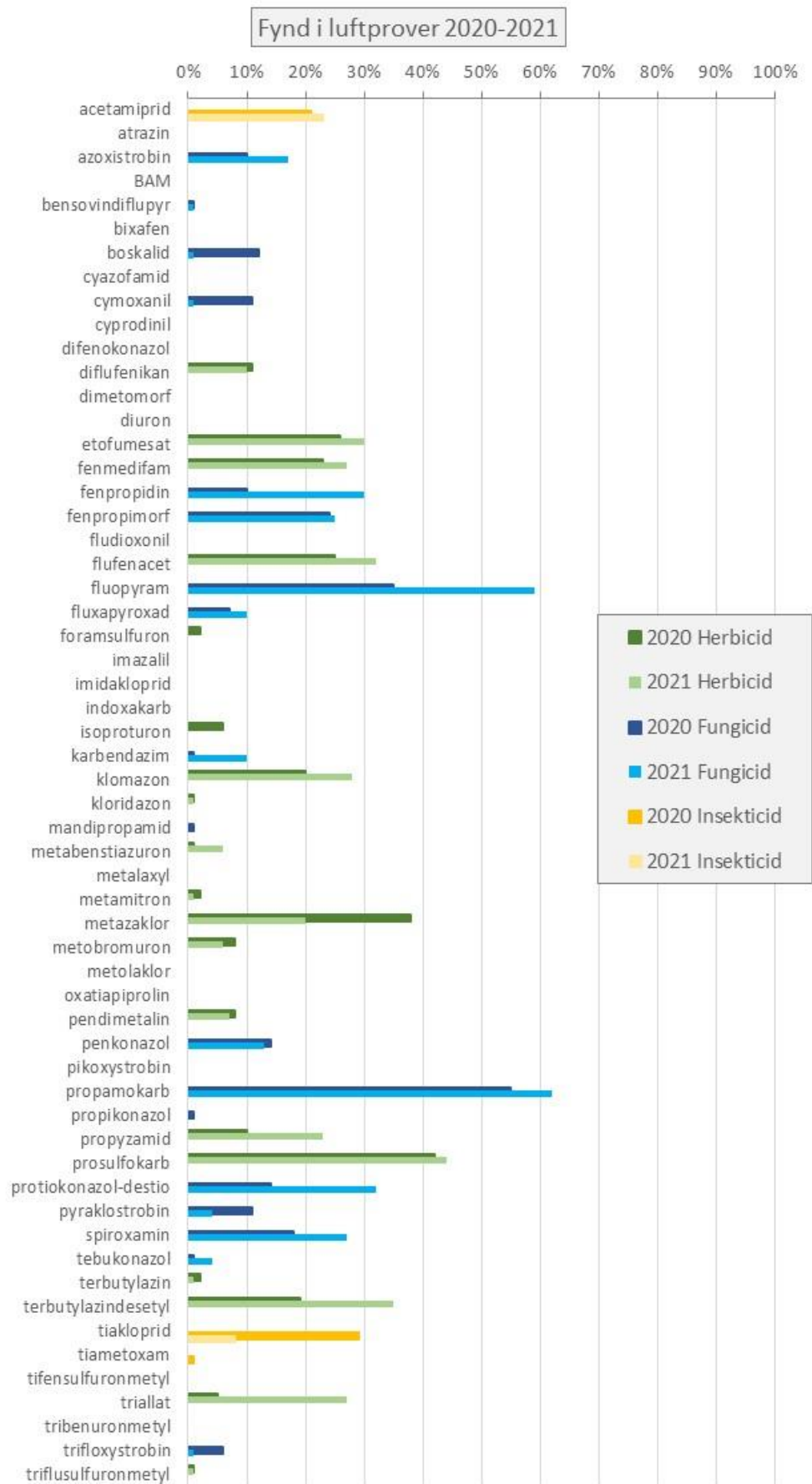
4. Resultat

4.1 Luft

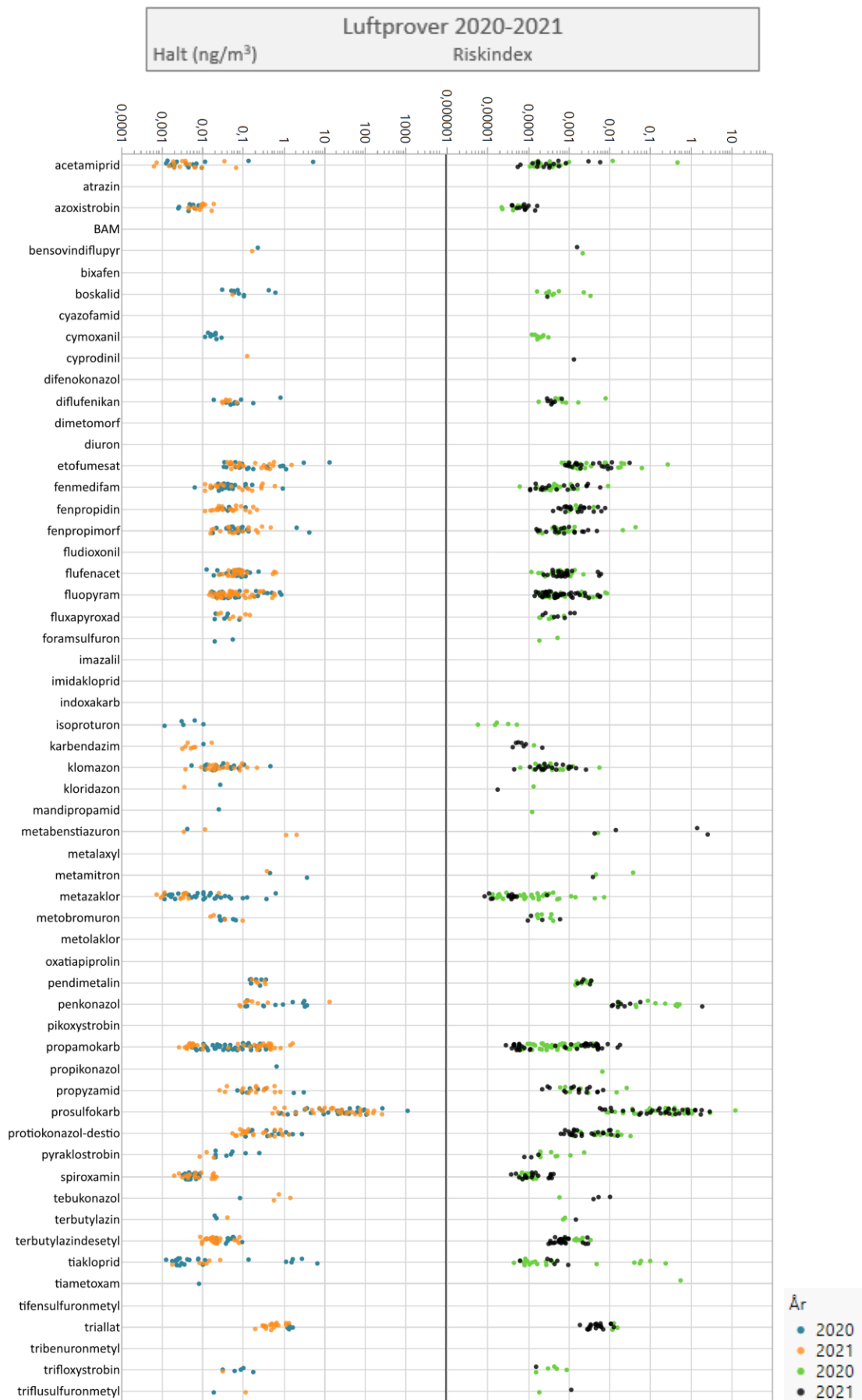
Detekterade substanser, halter och riskindex

Luftprover samlades in under 12 veckor under båda åren, men endast i fyra av lokalerna under de sista tre respektive sex veckorna 2020 och 2021 (Tabell 1). Vid ett fåtal tillfällen misslyckades luftprovtagningen helt eller delvis på grund av att elanslutningen tagits bort av misstag, och vid ytterligare något tillfälle efter att, som det verkade, något djur bitit av luftslangen mellan pumpen och provtagaren. Två prover, ett från 2020 och ett från 2021 utgick helt på grund av att ingen luft hade pumpats (Tabell 1). Totalt samlades 97 luftprover in 2020 och 90 prover 2021, vilket inkluderar fältblankprov och ett antal dubbelprover som togs för metodvalidering. Borräknat blank- och dubbelprover ingick 84 respektive 72 prover i utvärderingen av data, för 2020 och 2021, respektive. Analys och utvärdering av dubbelproverna visar att den nya luftprovtagningen med analys fungerar väl (Bilaga 2).

I Figur 7 redovisas fyndfrekvens och i Figur 8 halter samt riskindex i luftprover, för alla detekterade substanser i studien, tagna på de åtta lokalerna under 2020 och 2021. Av de 105 analyserade substanserna i luft (LC-MS/MS) påträffades 40 vid minst ett tillfälle i något av alla luftprover som togs under båda åren, varav 35 var gemensamma för båda åren (40 påträffades under 2020 och 35 under 2021). Här ingår flera herbicider, fungicider och insekticider, både godkända och inte längre godkända substanser. Den godkända fungiciden propamokarb, som främst används till potatis (Bekämpningsmedelsregistret, 2022), var den mest påträffade substansen båda åren, i 55% respektive 62%, av luftproverna. Fluopyram är en annan fungicid, godkänd för användning i potatis men också spannmål, som påträffats i flertalet prover både 2020 och 2021 (35% respektive 59%) främst under juni. De uppmätta halterna av dessa två fungicider låg runt 0,01 till 1,0 ng/m³ luft (Figur 8). Herbiciden prosulfokarb påträffades i 42% respektive 44% av luftproverna, 2020 och 2021, och i halter som generellt sett låg minst ett par tiopotenser över andra påträffade substanser (Figur 8). Då substansen är en herbicid som används i höstsått spannmål är det inte överraskande att den främst påträffades under oktober. Prosulfokarb har, relativt andra substanser detekterade i luftproverna, högre beräknat riskindex, vilket i första hand beror på de klart högre halterna. Fynden av fungiciden penkonazol har ett riskindex i liknande storlek som prosulfokarb. Majoriteten av fynden av penkonazol påträffades under juni-juli och endast i två av lokalerna. Av de analyserade insekticiderna var det acetamiprid och tiaklopid, båda neonikotinoider, som påträffades flest gånger. Acetamiprid är godkänd för användning i bland annat frukt- och grönsaksodling. För tiaklopid var fyndfrekvensen 29% år 2020 och 8% år 2021, vilket kan återspegla förbudet för användning av substansen som trädde ikraft inför odlingsäsongen 2021. De högsta påträffade halterna av tiaklopid hade ett riskindex liknande det för prosulfokarb och penkonazol. Även flertalet fynd av herbiciden etofumesat, godkänd för olika typer av betor, hade ett riskindex liknande de nämnda ämnena.

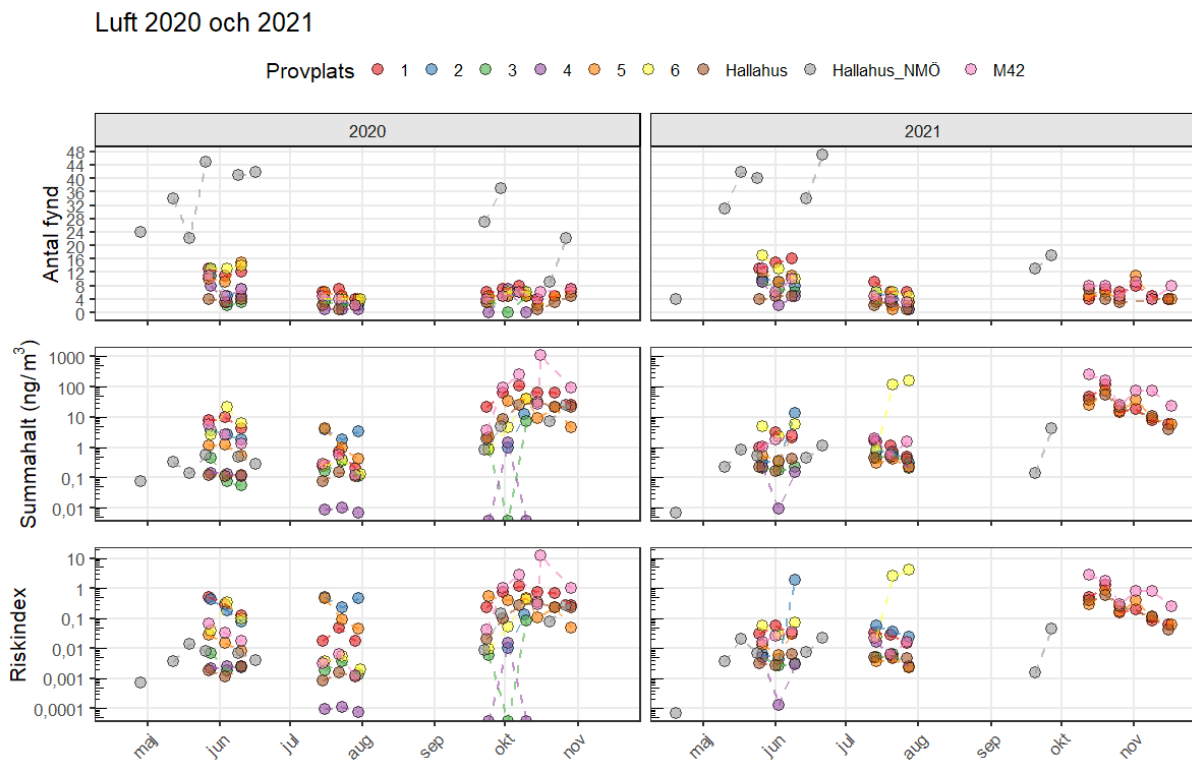


Figur 7. Fyndfrekvenser i luft för alla substanser som detekterades i studien (LC-MS/MS). Prover insamlade i åtta lokaler under 2020 och 2021.



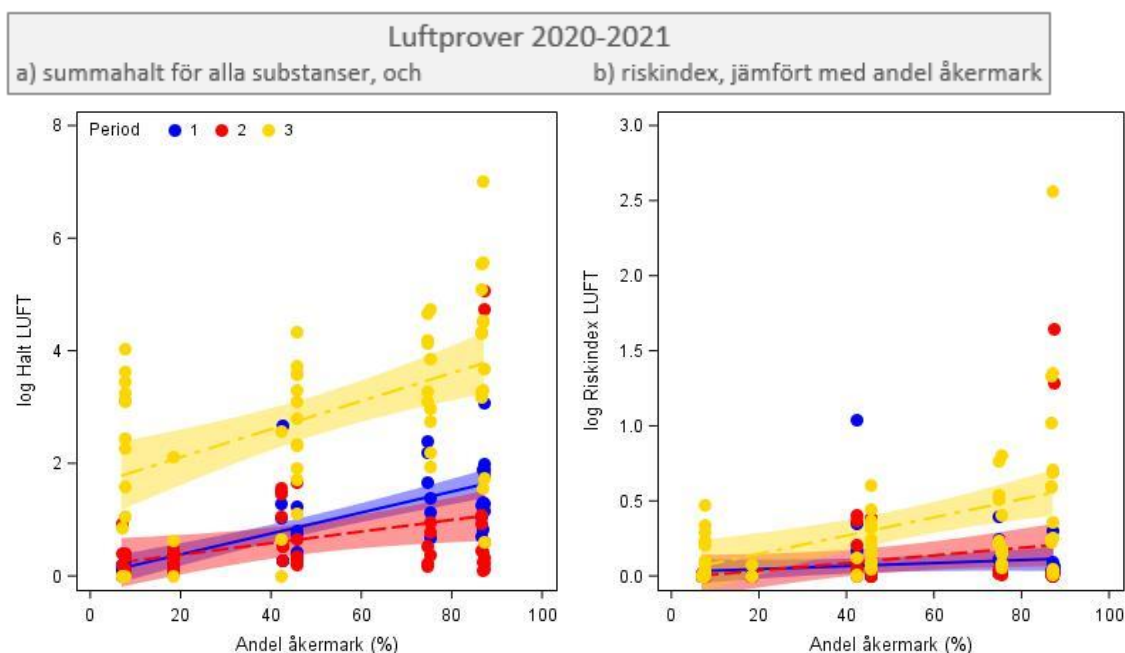
Figur 8. Uppmätta halter och riskindex i luftprover för alla substanser som detekterades i studien (LC-MS/MS). Prover insamlade i åtta lokaler under 2020 och 2021. Observera att skalan är logaritmisk.

I Figur 9 visas antal påträffade substanser, summahalt av påträffade substanser och riskindex i luft, per prov. Flest olika substanser detekterades under den första provtagningsperioden maj-juni (2–17 substanser, i medel 9), jämfört med juli (1–9, medel 3) och oktober-november (0–11, medel 5) (Figur 9). Proverna tagna inom den nationella miljöövervakningen i Hallahus sticker ut med avsevärt högre antal detekterade substanser, för summahalt och riskindex avviker inte dessa prover. Läs mer om skillnaderna i provtagningsmetodik i nästa avsnitt.



Figur 9. Antal påträffade substanser, summahalt av påträffade substanser samt riskindex i luft per prov i åtta lokaler under 2020 och 2021. Observera att skalan för summahalt och riskindex är logaritmisk. Summahalter och riskindex för prover där ingen substans var över detektionsgränsen visas som en punkt på grafens baslinje. Streckade linjer binder ihop prover som tagits under efterföljande provtagningsperioder. För Hallahus redovisas både data från denna studie och de som uppmätts inom den nationella miljöövervakningen (NMÖ).

Summahalt och riskindex i luft, per prov, relaterades till provtagningsår, period, andel åkermark i det omgivande landskapet och samtliga interaktioner mellan dessa variabler med linjära mixade modeller. Den summerade halten av alla substanser i luft förklarades av andel åkermark i det omgivande landskapet ($F_{1, 113} = 25,33$, $P < 0,0010$) och provtagningsperioden ($F_{2, 15} = 6,36$, $P = 0,010$) (Figur 10a), men inte av år ($F_{1, 21} = 0,13$, $P = 0,72$) eller av interaktionerna mellan de förklarande variablerna. Summahalten ökade med ökande andel åkermark i det omgivande landskapet (Figur 10a). Summahalten var högre för den tredje perioden jämfört med de två andra och liknande mellan de första och andra perioderna (Figur 9 och 10a). Den höga summahalten under den tredje perioden drivs av herbiciden prosulfokarb. Prosulfokarb förekom även i förhöjda halter (113 och 155 ng/m^3) under juli 2021 i lokal 6 (Figur 9). Riskindexet i luft var relaterat till andel åkermark ($F_{1, 111} = 4,00$, $P = 0,048$), men inte år ($F_{1, 19} = 0,30$, $P = 0,59$) eller provtagningsperiod ($F_{2, 19} = 1,66$, $P = 0,22$) (Figur 10b) eller deras interaktioner. Substanser med relativt sett högt riskindex inkluderar herbiciderna prosulfokarb och metabenstiazuron under period 3 (Figur 10b).



Figur 10 Summahalt (ng/m^3) (a) och riskindex (b) för luftprover i relation till andel åkermark i det omgivande landskapet, från åtta lokaler och under tre tidsperioder 1) maj-juni, 2) juli och 3) september-oktober under 2020 och 2021. Linjerna visar de linjära sambanden uppskattat från proverna inom respektive period och de skuggade områdena är 95%-igt konfidensintervall.

Av de 84 luftprover som samlades in 2020 valdes 28 ut för att även analyseras med GC-MS för bestämning av ytterligare 14 substanser (Bilaga 1). De utvalda luftproverna var från alla åtta lokaler under de två sista veckorna i första perioden (juni) samt från sex lokaler (lokal 1 och 2 exkluderade) under de två första veckorna i tredje perioden (september). Urvalet var bland annat baserat på förväntad användning av insekticidgruppen pyretroider i åkergrödor. Av de 14 substanserna påträffades 4 som gav upphov till 18 fynd. Endosulfan-alfa och klorpyrifos påträffades i de flesta lokalerna under sista veckan i juni, vilket gav riskindex som i flera fall var betydligt högre än riskindex för de påträffade substanserna analyserade med LC-MS/MS-metoden i motsvarande prov (Tabell 2). Av de fyra substanserna detekterade med GC-MS-metoden i luftproverna var bara pyretroiden alfa-cypermترین godkänd för användning som växtskyddsmedel i Sverige under odlingsäsongen 2020 (användningsförbud för alfa-cypermترین från 2022-02-01). Alfa-cypermترین hade ett riskindex på 0,35 i period 3 vecka 2 lokal 6, vilket är nära en tiopotens högre än summan för LC-MS-ämnen i samma prov.

Tabell 2. Jämförelse mellan riskindex baserat på ämnen analyserade med LC-MS/MS-metoden respektive GC-MS-metoden för de 28 luftprover som analyserades med båda metoderna. Streck (-) betyder att inget prov togs detta tillfälle

Provlokal	Riskindex							
	Period 1: vecka 2		Period 1: vecka 3		Period 3: vecka 1		Period 3: vecka 2	
	LC-ämnen	GC-ämnen	LC-ämnen	GC-ämnen	LC-ämnen	GC-ämnen	LC-ämnen	GC-ämnen
1	0,28	0,004	0,12	0,25	0,23	-	0,71	-
2	0,18		0,075	0,42		-	0,01	-
3	0,002		0,003	0,26	0,006	0,001		
4	0,002		0,002	0,32			0,015	
5	0,016		0,008	0,24	0,56		0,38	
6	0,35		0,097	0,29	0,009		0,051	0,35
Hallahus	0,001		0,003		0,021		0,09	
M42	0,030		0,017		0,041		1,0	0,23

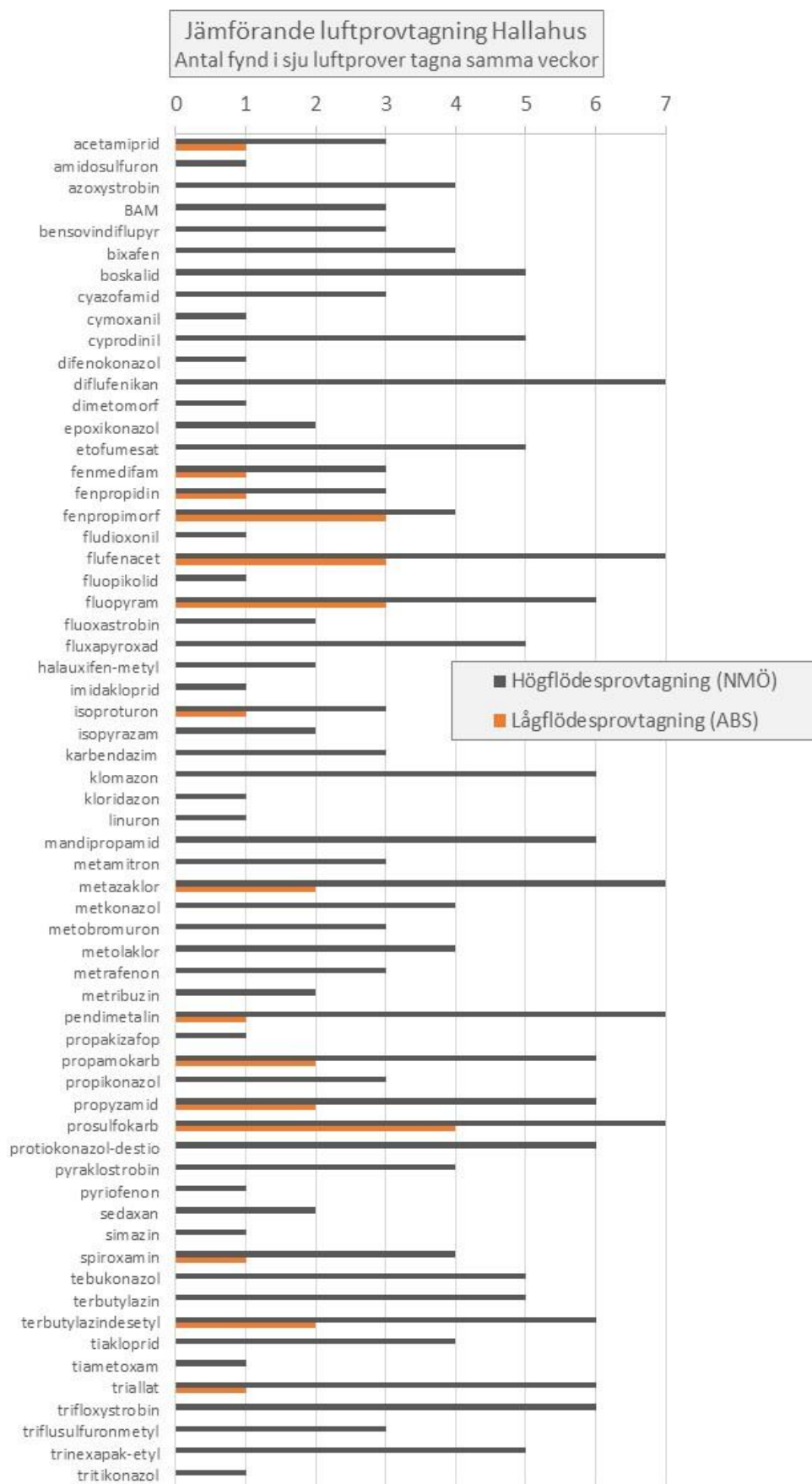
Jämförelser av luftdata med den nationella miljöövervakningen

I detta avsnitt jämförs luftresultaten från lokalen vid Hallahus erhållna inom denna studie med lågflödesprovtagning, med de från den ordinarie högflödesprovtagningen som används inom den nationella miljöövervakningen (Nanos et al. 2021). Av de 23 veckolånga luftprover som togs över två år inom denna studie (AirBeeSafe) var sju av veckorna samtidigt som ordinarie provtagning inom nationella miljöövervakningen. De sju parallella provveckorna fördelade sig under 2020 över månadsskiftet maj-juni, slutet av september och slutet av oktober och under 2021 på en vecka i maj.

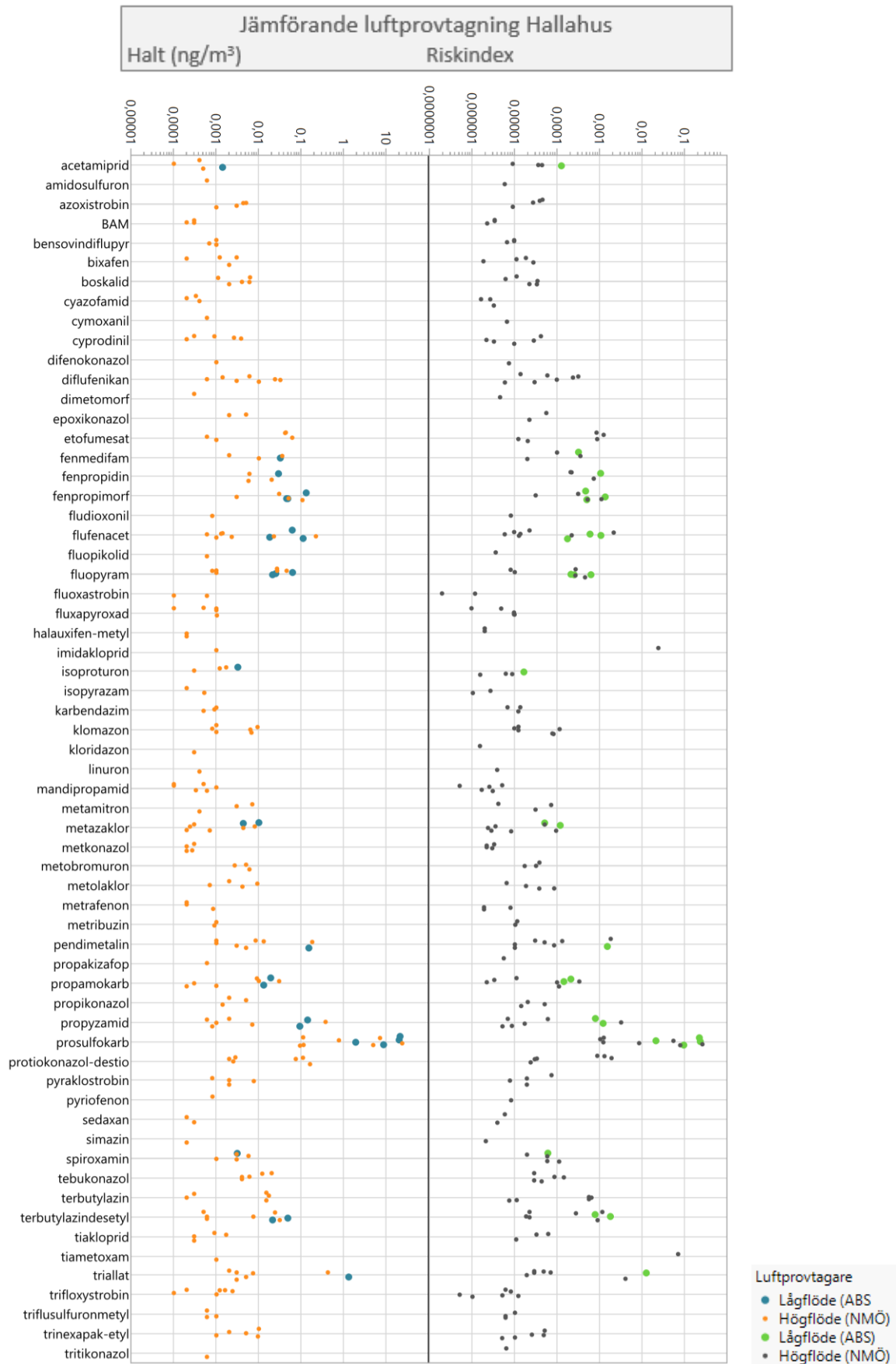
Data från senaste årens miljöövervakning av luft visar generellt på många detekterade substanser under sommaren, men med låga halter och summahalter. Under hösten är det färre detekterade substanser, men med relativt sett högre halter vilket resulterar i högre summahalter per prov (Nanos et al. 2021). Detta mönster drivs framför allt av herbiciden prosulfokarb som påträffas i jämförelsevis höga halter under hösten.

Av de 105 substanser som analyserades i båda typerna av luftprover från Hallahus under de sju parallella veckorna påträffades totalt 61 enskilda substanser i proverna från den nationella miljöövervakningen (totalt 217 fynd) jämfört med 15 substanser (28 fynd) i proverna från lågflödesprovtagaren som användes inom AirBeeSafe-projektet (ABS). I Figur 11 visas antal fynd av olika substanser i proverna från Hallahus, dels från den ordinarie provtagaren i den nationella miljöövervakningen och dels från lågflödesprovtagaren. Skillnaden i antal detekterade substanser är sannolikt direkt kopplat till den hundra gånger större luftvolymen som pumpas genom provtagaren med den ordinarie provtagningsutrustningen (3000 m^3), jämfört med lågflödesprovtagaren (30 m^3). Den större luftvolymen gör det möjligt att nå lägre detektionsgränser än i analyserna med den mindre luftvolymen. Själva infångningen av substanserna är likvärdig mellan metoderna då samma filter och PUF-adsorbent används, vidare är extraktions- och analysmetoderna snarlika om än inte identiska.

Antal detekterade substanser, summahalter och riskindex per prov för de två olika provtagningsmetoderna som användes vid Hallahus jämfördes med parvisa t-test. Antalet detekterade substanser var signifikant högre i högflödesprovtagningen ($t = -10,5$, $df = 6$, $P < 0,0001$) medan ingen skillnad kunde påvisas för summahalter eller riskindex (Figur 9). Samma mönster sågs även ifall prosulfokarb exkluderades ur beräkningarna. Då antalet prover är relativt litet så är det svårt att säga ifall det inte finns någon faktisk systematisk skillnad på vilka summahalter och riskindex som metoderna kan uppmäta, eller om antalet prover är för litet för att påvisa en sådan skillnad. Jämförelserna pekar dock på att, även om antalet substanser som detekterades med högflödesprovtagningen är signifikant högre, så bidrar de låga halter som inte kan mätas med lågflödesprovtagningen inte på ett betydande sätt till summahalter eller riskindex i denna studie.



Figur 11. Antal fynd av enskilda substanser i sju parallellt tagna prover från Hallahus, dels från den ordinarie provtagaren (högflödesprovtagaren) i den nationella miljöövervakningen (NMÖ) och dels från lågflödesprovtagaren i AirBeeSafe projektet (ABS).



Figur 12. Uppmätta halter och riskindex av substanser detekterade i sju parallellt tagna prover från Hallahus, dels från den ordinarie provtagaren (högflödesprovtagaren) i den nationella miljöövervakningen (NMÖ) och dels från lågflödesprovtagningen i detta projekt (ABS). Observera att skalan är logaritmisk.

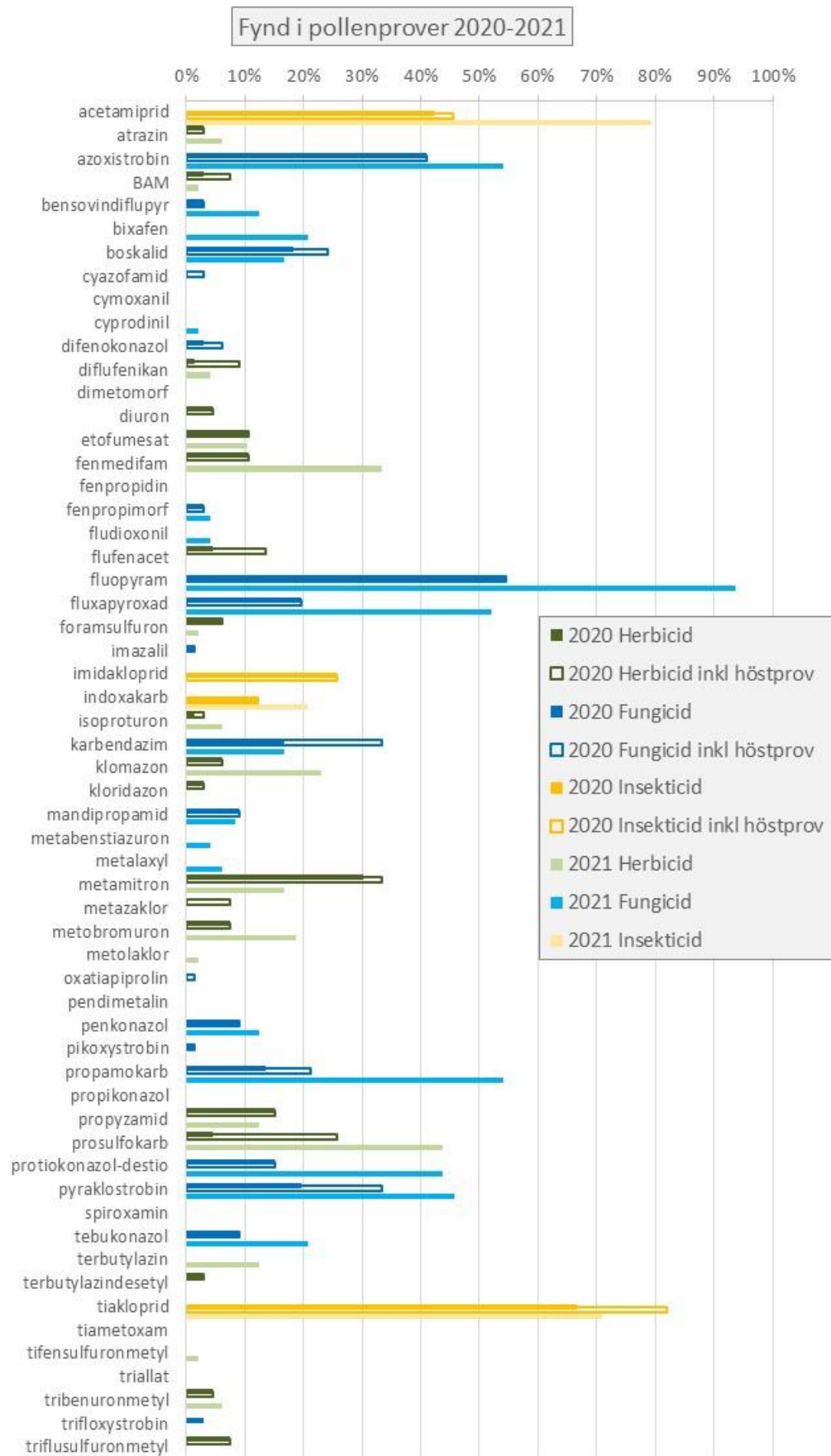
4.3 Pollen

Detekterade substanser, halter och riskindex

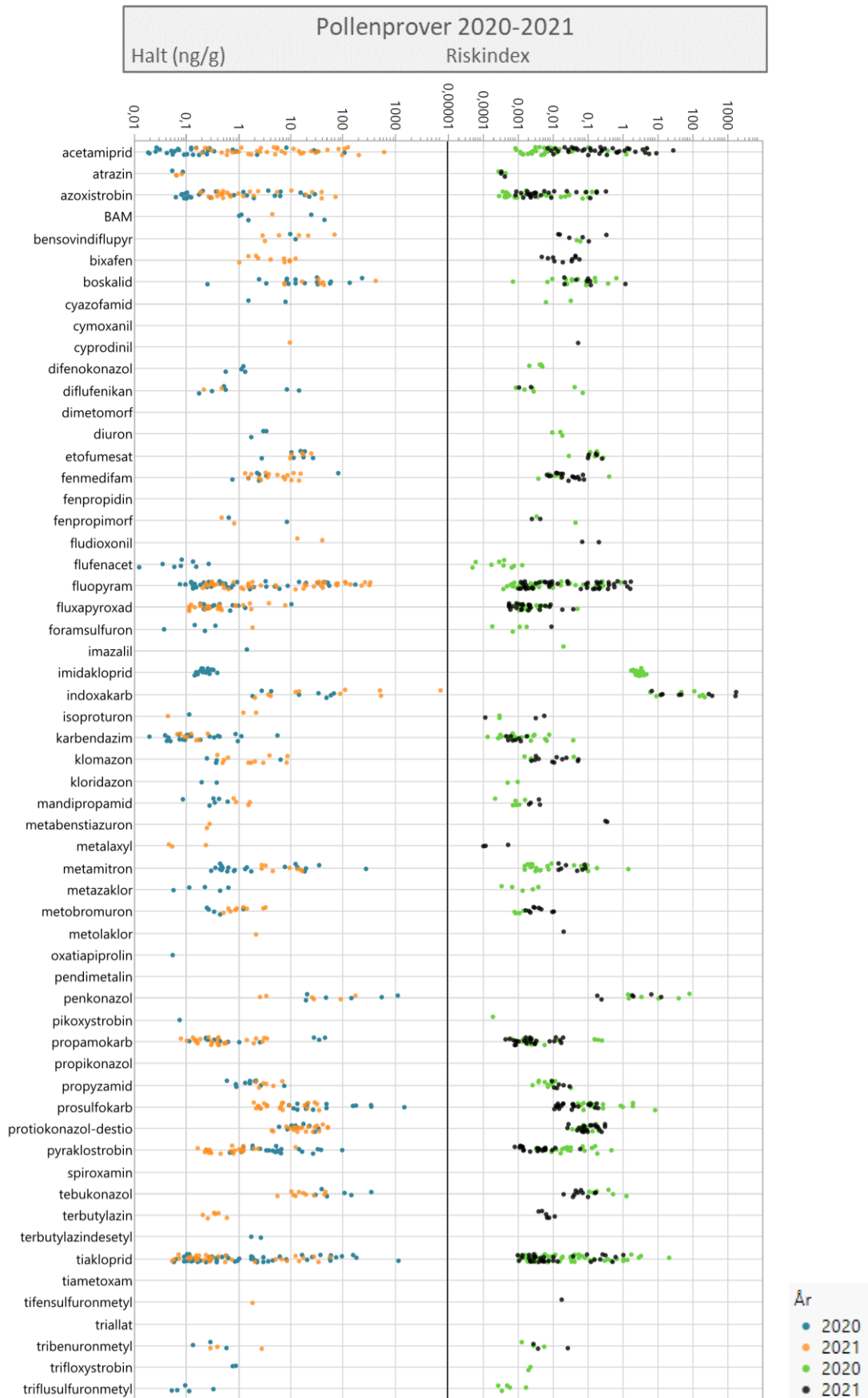
Under de två första perioderna 2020, 3 + 3 veckor, kunde alla prover samlas från de åtta lokalerna, under den tredje perioden (ytterligare 3 veckor) saknades tillgång till bisamhällen i lokal 1 och 2 varför endast kvarvarande sex lokaler kunde provtas för pollen (Tabell 1). Under 2020 samlades totalt 66 pollenprover in, målsättningen var att samla in 72 prover (inklusive planerad provtagning i lokal 1 och 2, period tre). Under 2021 samlades totalt 48 pollenprover in från de två första perioderna (åtta lokaler 3 + 3 veckor) vilket var det planerade antalet. I Figur 13 redovisas fyndfrekvens för 2020 dels för period ett och två (sex veckor), som motsvarar provtagningsperioderna för 2021 års prover, dels som 2020 års fynd inklusive höstproverna, period tre.

Av de 98 substanser som kunde bestämmas i pollen med LC-MS/MS påträffades totalt 50 olika substanser vid minst ett tillfälle, något av åren. Under de två första perioderna 2020 påträffades 39 olika substanser. Ytterligare tre substanser detekterades enbart under den tredje perioden 2020. Under de två undersökta perioderna 2021 påträffades 37 substanser varav 29 gemensamma med motsvarande period 2020.

I pollenproverna påträffades ett stort antal fungicider, främst fluopyram, azoxistrobin, fluxapyroxad, propamokarb, protiokonazol-destio och pyraklostrobin, alla godkända för användning de undersökta åren (Bekämpningsmedelsregistret, 2022). Halterna av dessa varierade mellan 0,1 till 100 ng/g pollen och gav riskindex liknande de andra typerna av substanser (Figur 14). Dock stack de relativt få fynden av fungiciden penkonazol ut när det gäller förhöjt riskindex. Viktigt att notera är dock att toxiciteten för penkonazol baseras på ett så kallat "limit-test" vilket gör att toxiciteten troligen överskattas. Bland insekticiderna var det acetamiprid och tiaklopid som var vanligast förekommande i pollenproverna båda åren. Tiaklopid blev förbjuden för användning inför odlingssäsongen 2021 men acetamiprid är fortsatt godkänd för användning. Halterna av dessa låg i samma spann som ovan nämnda fungicider och majoriteten av riskindex låg också i nivå med andra substanser, dock med några förhöjda värden. Däremot låg riskindex för insekticiderna indoxakarb (förbjuden för användning som växtskyddsmedel från och med september 2022 och som förekom i flera prover båda åren) och imidaklopid (förbjuden för användning på åkermark sedan december 2018 och som påträffades 2020 men inte 2021) tydligt högre än för de flesta andra substanser. Bland herbiciderna var det främst prosulfokarb och metomitron som påträffades, i jämförbara halter och storlek på riskindex som majoriteten av substanserna.

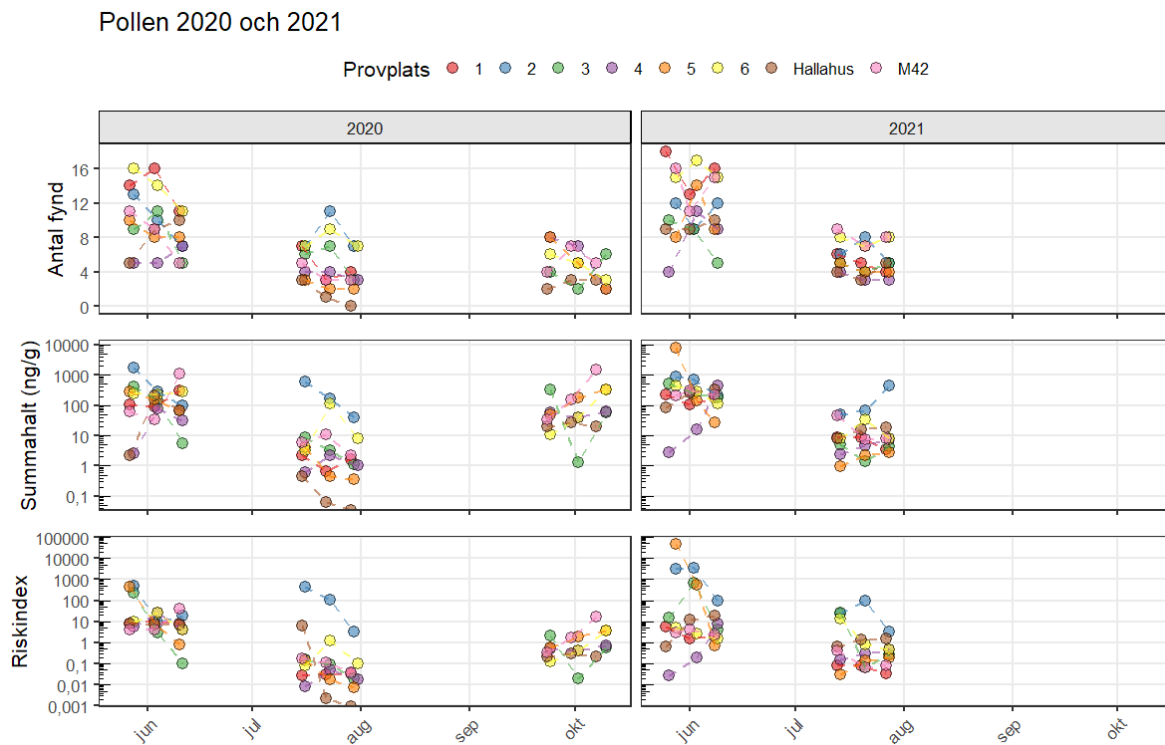


Figur 13. Fyndfrekvens i pollen för alla substanser som detekterades i studien (LC-MS/MS). Prover insamlade i åtta lokaler under 2020 och 2021.



Figur 14. Uppmätta halter och riskindex i pollen för alla substanser som detekterades i studien (LC-MS/MS). Prover insamlade i åtta lokaler under 2020 och 2021. Observera att skalan är logaritmisk. Observera att skalan är logaritmisk.

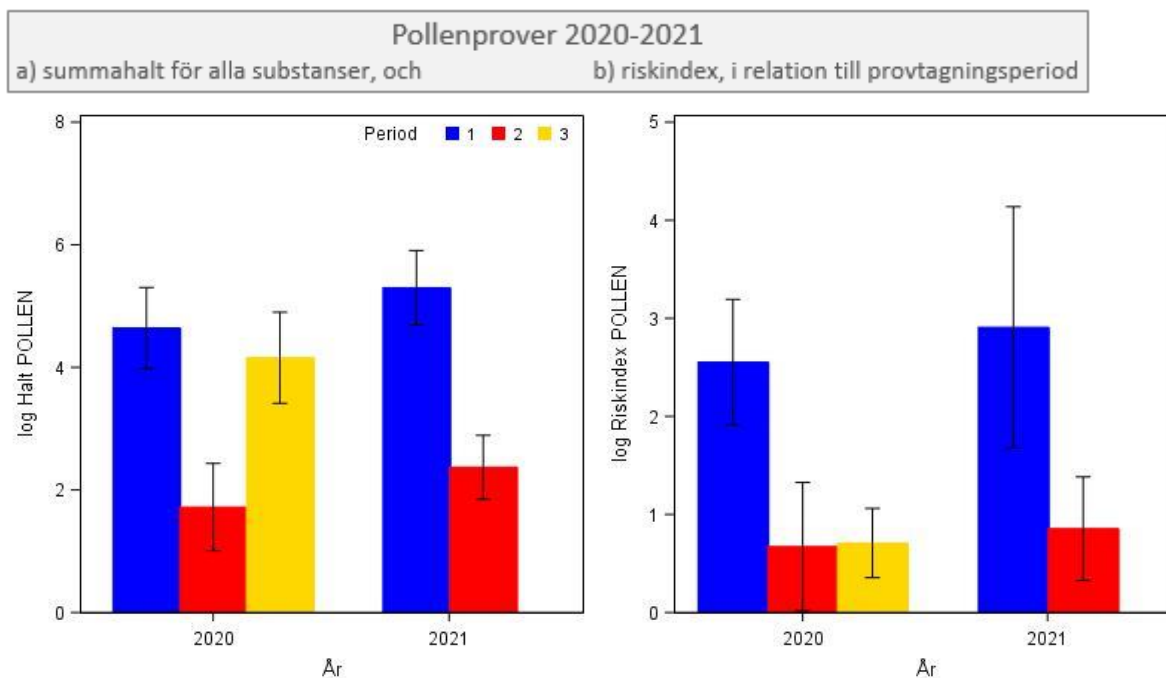
Pollenproverna visade viss säsongsbetonad variation vad gäller antal påträffade substanser, summahalt och riskindex per prov. Pollenproverna från juli hade generellt lägre summahalter jämfört med tidigare på sommaren och senare på hösten (Figur 15). Antalet substanser per prov visade en generell nedgång över säsongen med flest påträffade substanser under maj-juni (4-18 substanser, medel 11), jämfört med juli (0-11, medel 5) och september-oktober (2-8, medel 5). (Figur 15).



Figur 15. Antal påträffade substanser, summahalt av påträffade substanser samt riskindex i pollen per prov i åtta lokaler under 2020 och 2021. Observera att skalan för summahalt och riskindex är logaritmisk. Summahalter och riskindex för prover där ingen substans var över detektionsgränsen visas som en punkt på grafens baslinje. Streckade linjer binder ihop prover som tagits under efterföljande provtagningsperioder.

Summahalt och riskindex för pollen relaterades till provtagningsår, period, andel åkermark i det omgivande landskapet och samtliga interaktioner mellan dessa variabler med linjära mixade modeller. Summahalten i pollen varierade mellan provtagningsperioder ($F_{2,8} = 38,88$, $P < 0,0010$) och år ($F_{1,7} = 7,13$, $P = 0,032$) (Figur 16a), men relaterade inte till andel åkermark i det omgivande landskapet ($F_{1,75} = 1,72$, $P = 0,19$) eller någon av interaktionerna mellan dessa variabler. Summahalten var högre 2021 än 2020 och lägre under den andra provtagningsperioden jämfört med både den första och den tredje (Figur 16a).

Riskindexet för pollen relaterade till provtagningsperiod ($F_{1,15} = 5,47$, $P = 0,016$), men inte år ($F_{1,15} = 0,47$, $P = 0,50$), andel åkermark i landskapet ($F_{1,75} = 0,15$, $P = 0,70$) eller någon av interaktionerna mellan dessa variabler. För riskindexet utskilde sig den första provtagningsperioden med högre värden än både den andra och tredje provtagningsperioden (Figur 16b).



Figur 16. Summahalt (ng/g) (a) och riskindex (b) för pollenprover i relation till de tre tidsperioderna 1) maj-juni, 2) juli och 3) september-oktober och de två provtagningsåren 2020 och 2021. Pollenproverna är insamlade från åtta lokaler. Staplarna visar medelvärden och felstaplarna 95%-igt konfidensintervall.

Av de 66 pollenprover som samlades in 2020 valdes 26 ut för att analyseras även med en GC-MS-metod för bestämning av ytterligare 14 substanser (Bilaga 1). De utvalda pollenproverna var från de två sista veckorna i första perioden (åtta respektive sex lokaler, lokal 2 och 6 exkluderade) samt från de två första veckorna i tredje perioden (sex lokaler, lokal 1 och 2 exkluderade). Urvalet var bland annat baserat på förväntad användning av insekticidgruppen pyretroider i åkergrödor. Av de 14 substanserna påträffades 4 som gav upphov till 6 fynd. För en av substanserna, hexaklorbensen, förbjuden som växtskyddsmedel sedan många år, saknas LD₅₀-värde varför inget riskindex kunde beräknas. De fyra resterande fynden fördelade sig på tre prover från första veckan i tredje perioden (september; Tabell 3). Två av fynden var deltametrin, en insekticid som inte är tillåten som växtskyddsmedel i grödor men som får användas som biocid mot bland annat myror inomhus och runt byggnader, som gav riskindex på 22 och 8,4 (lokal 6 respektive M42). Jämfört med summan för riskindex av LC-MS-ämnena (0,13 respektive 0,35) i samma prover var storleken på riskindex av deltametrin betydande. Ytterligare ett fynd av ett godkänt GC-MS-ämne, tau-fluvalinat, påträffades samtidigt som deltametrin i M42 men bidraget till riskindex från detta ämne var betydligt lägre (0,0006). Båda dessa ämnen är insekticider och tillhör gruppen pyretroider. Det sjätte fyndet (i lokal 4, period 3, vecka 1) utgjordes av nedbrytningsprodukten endosulfansulfat som också saknar LD₅₀-värde varför värdet för modersubstansen endosulfan (inte tillåten för användning i Sverige) användes för att beräkna riskindex.

Tabell 3. Jämförelse mellan riskindex baserat på ämnen analyserade med LC-MS/MS-metoden respektive GC-MS-metoden för de 26 pollenprover som analyserades med båda metoderna. Streck (-) betyder att inget prov togs detta tillfälle.

Provlokala	Riskindex							
	Period 1: vecka 2		Period 1: vecka 3		Period 3: vecka 1		Period 3: vecka 2	
	LC- ämnen	GC- ämnen	LC- ämnen	GC- ämnen	LC- ämnen	GC- ämnen	LC- ämnen	GC- ämnen
1	11		9,8		-	-	-	-
2	3354		110	-	-	-	-	-
3	693		4,01		2,2		0,020	
4	27		12		0,52	0,033	0,41	
5	562		1,5		0,55		1,9	
6	29		5,8	-	0,13	22	0,40	
Hallahus	20		26		0,22		0,29	
M42	8,3		43		0,35	8,4	1,7	

Identifierade pollenkällor

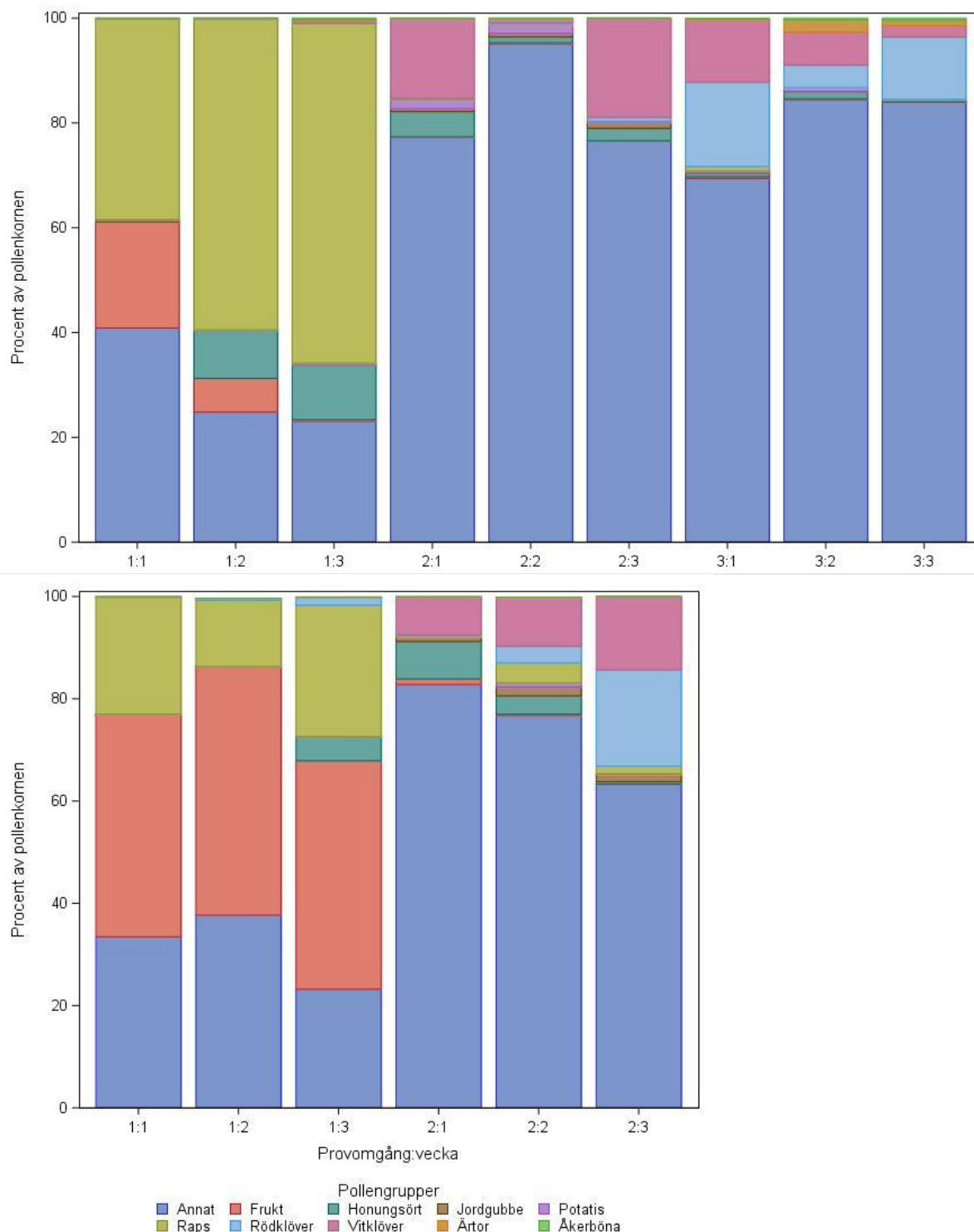
Honungsbina samlade i genomsnitt 38% (spänn <1-96%) av sitt pollen från jordbruksgrödor och resten från vilda örter, buskar, träd och trädgårdsväxter (tillsammans 4-100%). De grödor som bina samlade mest pollen från var korsblommiga växter som raps (genomsnitt 16%; max 96%), frukt som äpple, päron och plommon (12%; 85%), vitklöver (6%; 76%) och rödklöver (3%; 74%) (Figur 17), där klövrarna kan vara både odlad för frö eller foder och växa vilt. Honungsört, som oftast inte är en gröda utan odlas för att gynna blombesökande insekter, var också en populär pollenkälla för honungsbina (3%: 56%) (Figur 17). Dessutom nyttjades potatis (max 12%), ärtor (11%), jordgubbe (7%) och bondböna (2%) i genomsnitt mindre än en procent som pollenkällor (Figur 17).

Under den första provtagningsperioden i maj-juni samlade honungsbina en stor andel av sitt pollen från raps och andra korsblommiga växter (Figur 17). Under hela första perioden 2021 och den första provtagningsveckan 2020 kom en betydande del av pollenet från fruktträd, troligen främst äpple. Sammansättningen på pollenet under andra och tredje provtagningsperioden var i grova drag liknande mellan veckorna och dominerades av icke-grödor (pollengrupp "annat"; Figur 17).

Pollenprover: identifierade växter

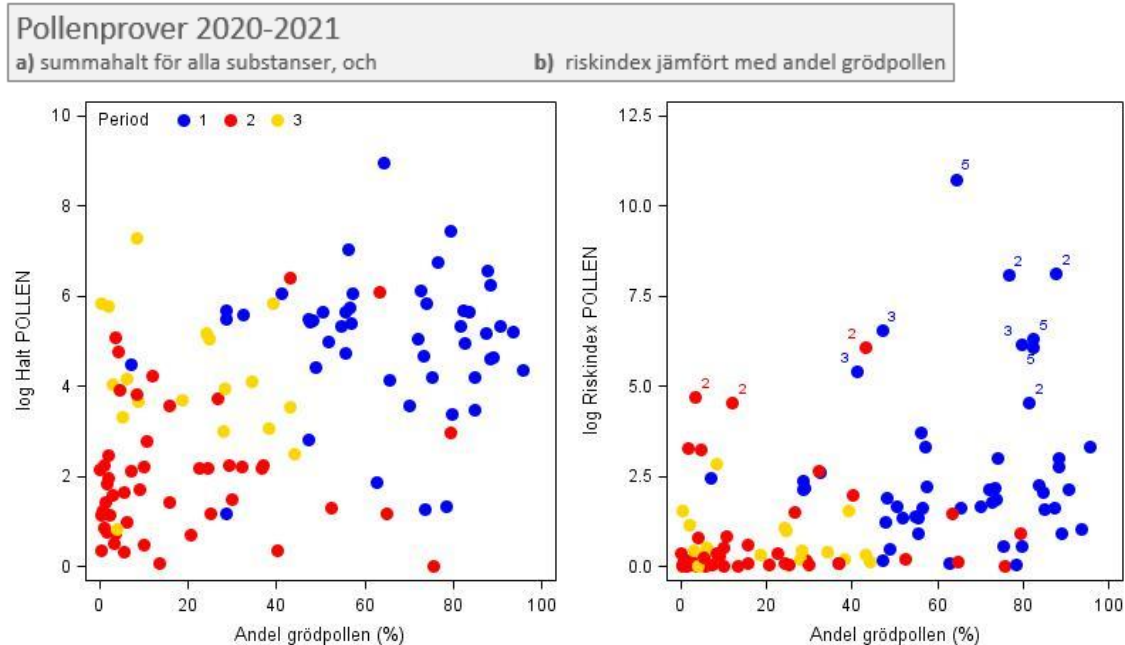
a) tre tidsperioder med vardera tre veckor 2020 (övre figur)

b) två tidsperioder med vardera tre veckor 2021 (nedre figur)



Figur 17. Grödor och andra växter (honungsvört, annat) som honungsbina samlat pollen från i de 8 lokalerna under de tre tidsperioderna maj-juni (1.1-1.3), juli (2.1-2.3) och september-oktober (3.1-3.3) under 2020 (a, övre bilden) och 2021 (b, undre bilden), med tre provtagningsveckor per period.

Summahalt och riskindex för pollen, per prov, relaterades till provtagningsår, period, andel grödpollen och samtliga interaktioner mellan dessa variabler med linjära mixade modeller. Varken summahalten ($F_{1,75} = 0,24$, $P = 0,62$) eller riskindexet ($F_{1,75} = 0,65$, $P = 0,42$) för pollen relaterade till andel grödpollen i provet (Figur 18). Några prover från lokalerna 2, 3 och 5 särskiljer sig genom höga riskindex, drivet av ämnet indoxakarb (Figur 18b).



Figur 18. Summahalt (ng/g) (a) och riskindex (b) för pollenprover i relation till andel grödpollen, från åtta lokaler (Hallahus, M42, 1-6) och under tre tidsperioder 1) maj-juni, 2) juli och 3) september-oktober under 2020 och 2021. Nummer vid punkterna i (b) indikerar lokalidentiteter (Figur 1).

Näringsväxter och riskfyllda substanser baserat på färgsorterat pollen

I detta avsnitt finns resultat från det färgsorterade pollenet från år 2020 och provplats 2 och M42, för att göra en ansats att koppla ihop potentiellt riskfyllda pollenkällor med näringsväxternas identitet. Totalt analyserades 48 färgfraktionerade pollenprov. Från varje färgfraktion i de analyserade proven summerades halt och riskindex över samtliga funna substanser och de tio fraktioner med högst riskindex redovisas i Tabell 4. Riskfyllda fraktioner kom från båda platserna (5 fraktioner från vardera platsen) och indoxakarb var den substans som bidrog mest till riskindexet i alla de tio färgfraktionerna. Även om det fanns ett par fraktioner som dominerades av grödpollen, i båda fallen pollen av äppeltyp, så kom de två mest riskfyllda fraktionerna från icke-grödor: rödklövertyp respektive blåklint. Andra växtarters pollen som förekom i hög andel i de tio mest riskfyllda fraktionerna inkluderade vitklövertyp, vallmo, vintergröna, ginst, smörblomstyp, viden, svartkämpetyp, styvmorsvioltyp och honungsört.

Tabell 4. De tio färgfraktioner med högst riskindex av de 48 analyserade färgfraktionerna från två av provplatserna (2 och M42) 2020, med information om provtagningsperiod och vecka, summahalt (ng/g), funna substanser (sorterade från högst till lägst halt och med fetstil på den substans som bidrar mest till riskindexet) och identifierade pollenkällor (sorterade från högst till lägst andel och exkluderande källor under 2%, grödpollen med fetstil)

Provplats	Period	Vecka	Summahalt	Riskindex	Substanser	Pollenkällor	
M42	2	2	360000	2300000	indoxakarb , oxatiapiprolin, karfentrazonetyl, fluxapyroxad, propyzamid, tiaklopid, spiroxamin, propamokarb, metazaklor	89% rödklövertyp, 3% fibbletyp, 2% måretyp, 2% solvända	
M42	2	2	120000	740000	indoxakarb , oxatiapiprolin, karfentrazonetyl, fluxapyroxad, propyzamid, tiaklopid, spiroxamin, propamokarb	96% blåklint	
	2	1	1	20000	8100	penkonazol, indoxakarb , acetamiprid, boskalid, spiroxamin, fluopyram, pyraklostrobin	61% äppeltyp , 13% ramslökstyp, 12% hunkäxtyp, 4% robinia, 2% puktörmetyp
	2	2	2	640	3800	indoxakarb , penkonazol, tiaklopid, spiroxamin, propamokarb	84% vitklövertyp, 5% kronilltyp, 5% puktörmetyp
M42	2	2	200	1200	indoxakarb , tiaklopid, fluxapyroxad, fluopyram, oxatiapiprolin, propamokarb	49% råg-/kornvallmo, 37% vintergröna, 7% snöklöcketyp, 2% skelört	
	2	1	1	1600	440	penkonazol, indoxakarb , acetamiprid, boskalid, tiaklopid, spiroxamin, fluopyram	94% äppeltyp , 2% rapstyp
	2	1	1	86	140	penkonazol, indoxakarb , acetamiprid, boskalid, tiaklopid, metamitron, fluopyram, spiroxamin, azoxistrobin	62% ginsttyp, 15% robinia, 10% äppeltyp , 5% fingerborgsblommor, 4% fetknoppar
	2	1	1	390	130	penkonazol, indoxakarb , acetamiprid, tiaklopid, protiokonazol-destio, spiroxamin, fenmedifam, fluopyram	50% smörblomstyp, 36% viden, 3% rapstyp , 2% rutor
M42	2	2	29	120	indoxakarb , fluxapyroxad, fluopyram, diflufenikan, spiroxamin, propamokarb, azoxistrobin	35% svartkämpetyp, 21% styvmorsvioltyp, 11% solvändetyp, 8% bergklingstyp, 4% rutor, 3% blåklint, 3% vintergäck, 2% avenbok, 2% glimmartyp, 2% groblad, 2% smörblomstyp	
M42	2	2	20	96	indoxakarb , tiaklopid, spiroxamin, fluopyram, propamokarb, fluxapyroxad, oxatiapiprolin	93% honungsört, 4% johannesörtytyp	

4.4 Bivävnad och nektar

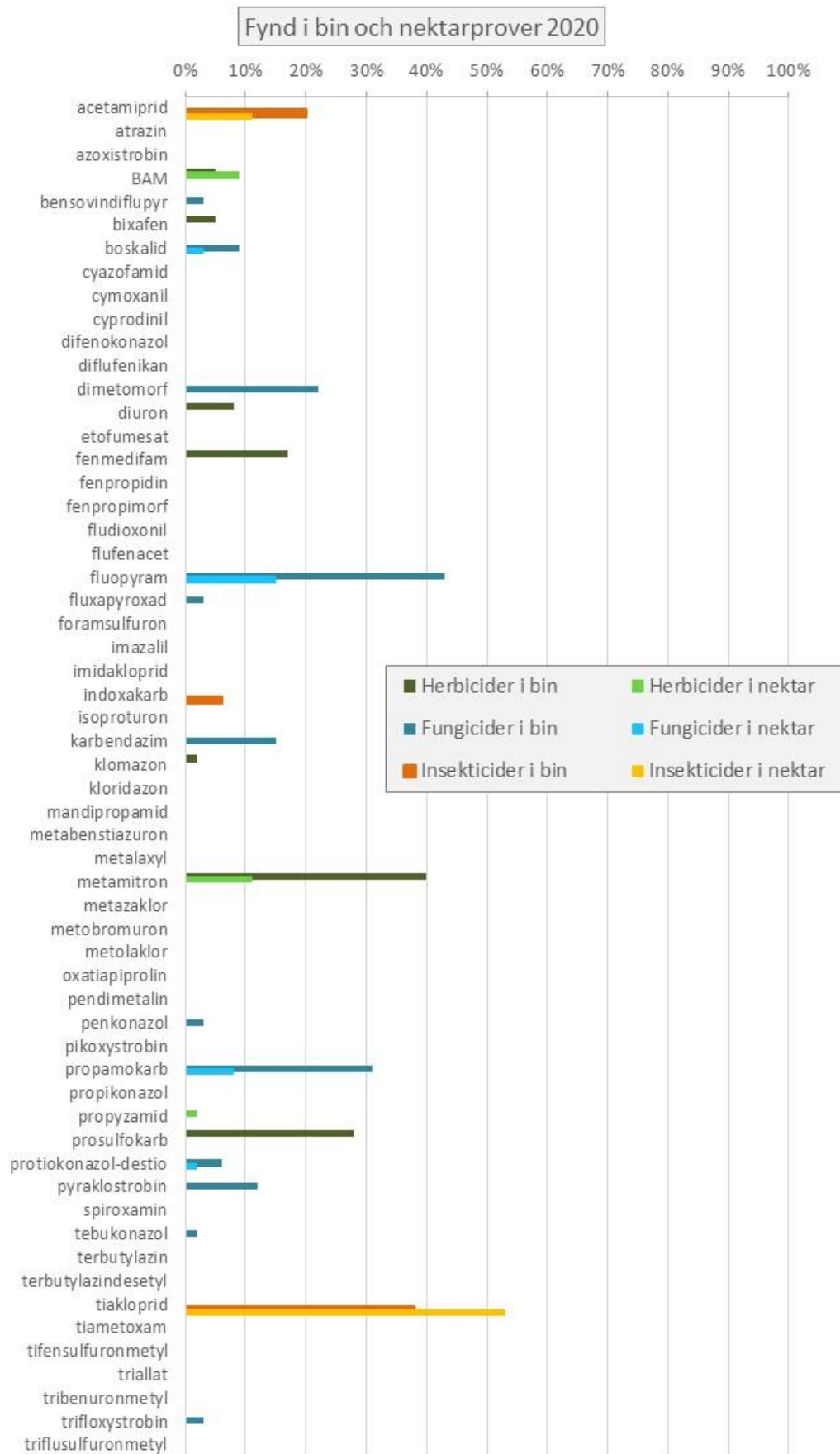
Detekterade substanser, halter och riskindex

Under de två första perioderna 2020, 3 + 3 veckor, kunde alla biprover samlas från de åtta lokalerna, under den tredje perioden saknades tillgång till bisamhällen i lokal 1 och 2 varför endast kvarvarande sex lokaler kunde provtas för bi- och nektaranalys. Detta resulterade i att totalt 66 bi- och nektarprover samlades in 2020, målsättningen var att samla in 72 prover. Under 2021 togs inga prover från bin och nektar, i enlighet med projektplanen. Några få bi- och nektarprover utgjordes av ett mindre antal individer än planerat på grund av låg aktivitet i samhället vid kallt och dåligt väder och att därför färre än tio individer bar på nektar som

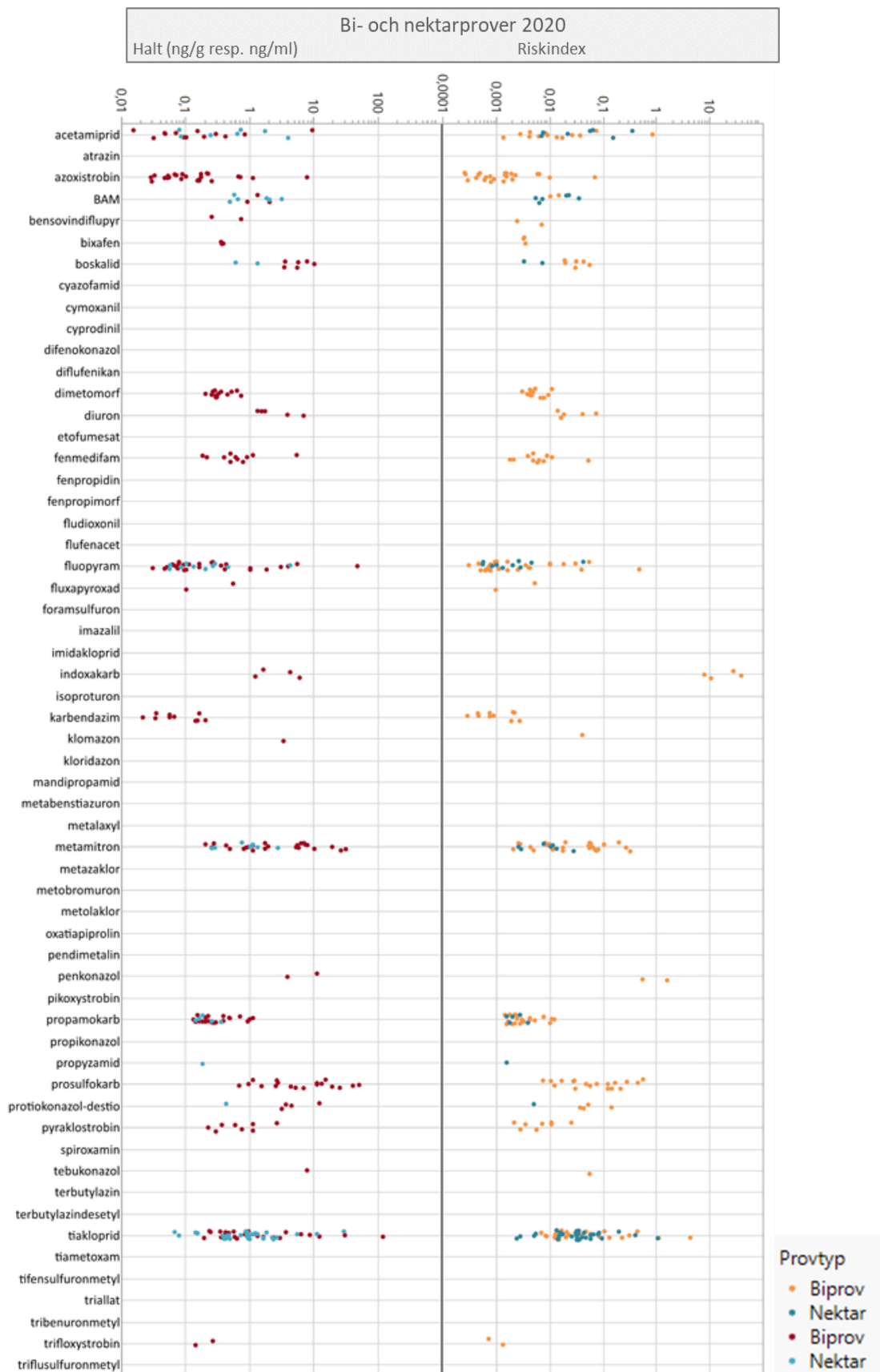
kunde samlas in. Dessa prover kunde dock analyseras ändå med ett något justerat protokoll, med undantag för ett biprov (sista provet i tredje perioden från provplats 6). Poängterat bör att varje nektarprov direkt motsvaras av ett biprov, eftersom nektarn togs från de individer som sedan utgjorde biprovet.

Av de 100 analyserade substanserna i bivävnad och 108 substanserna i nektar påträffades 23 i biproverna och 9 i nektarproverna, varav 8 var gemensamma (ett fynd av propyzamid i nektar matchades inte av något fynd i motsvarande biprov). Fluopyram (godkänd fungicid; Bekämpningsmedelsregistret, 2022), metamidon (godkänd herbicid) och tiakloprid (insekticid godkänd till och med 2020) hade flest fynd i både bi- och nektarprover (Figur 19). De flesta fynden av de påträffade substanserna gjordes under första perioden (juni) med undantag för prosulfokarb i bin, där majoriteten fynd var i sista perioden (oktober). Som nämndes i kapitlet om luft är prosulfokarb en herbicid som sprutas i höstsått spannmål. Halterna för de substanser med flest fynd varierar med mer än två tiopotenser: från 0,1 ng/g bi respektive ng/ml nektar till halter över 10 ng/g bi respektive ng/ml nektar, för metamidon, prosulfokarb och tiakloprid. De fyra fynden av indoxakarb har dock jämförelsevis högst riskindex (Figur 20).

I Figur 21 redovisas antal detekterade substanser, summahalter och riskindex i bin och nektar per prov insamlade under 2020. För bin uppvisar antalet påträffade substanser liknande mönster som för luft och pollen, med generellt flest antal substanser under maj-juni (bin 3-10, medel 5), jämfört med juli (bin 0-5, medel 2) och september-oktober (1-4 medel, 4). Även nektar har ett liknande mönster, men där var antalet påträffade substanser generellt lågt, i maj-juni (1-5, medel 2), juli (0-2, medel 1) och september-oktober (0-3, medel 1). Summahalter och riskindex i både bivävnad och nektar var generellt lägst i juli.

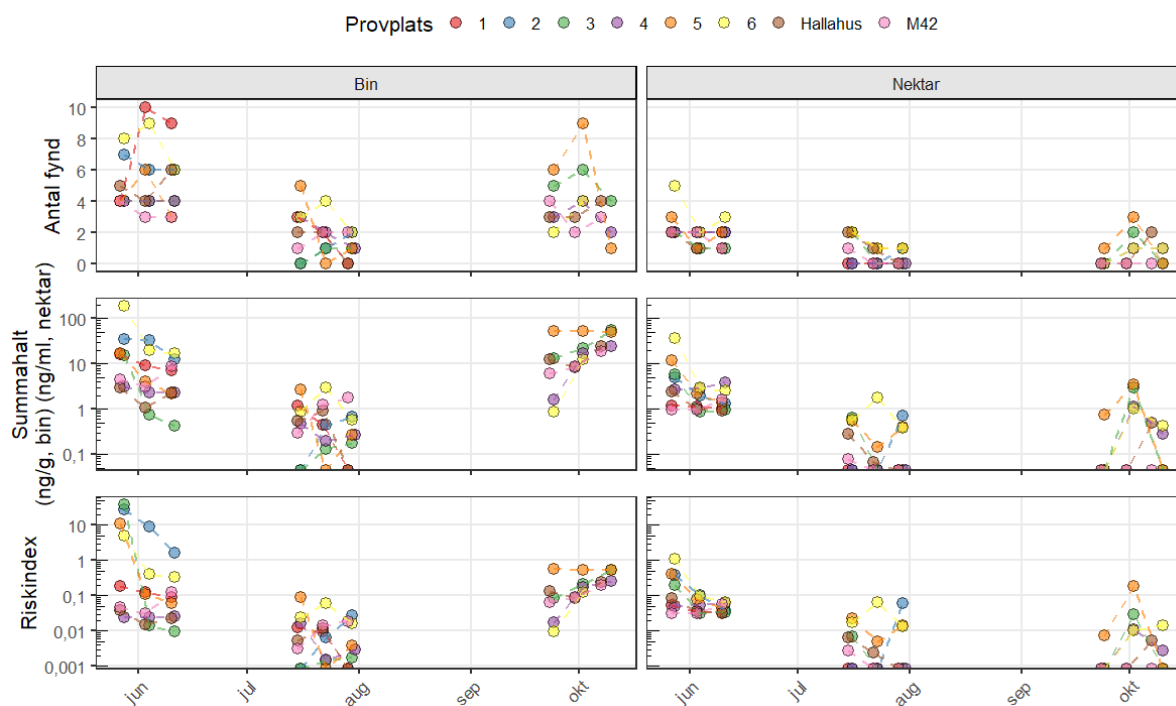


Figur 19. Fyndfrekvens i bin och nektar för alla substanser som detekterades i studien (LC-MS/MS). Prover insamlade i åtta lokaler under 2020.



Figur 20. Uppmätta halter och riskindex i prover av bin och nektar för alla substanser som detekterades i studien (LC/MS-MS). Prover insamlade i åtta lokaler under 2020. Observera att skalan är logaritmisk.

Bin och nektar 2020



Figur 21. Antal påträffade substanser, summahalt av påträffade substanser (ng/g för bin och ng/ml för nektar) samt riskindex i bin och nektar per prov i åtta lokaler under 2020. Observera att skalan för summahalt och riskindex är logaritmisk. Summahalter och riskindex för prover där ingen substans var över detektionsgränsen visas som en punkt på grafens baslinje. Streckade linjer binder ihop prover som tagits under efterföljande provtagningsperioder.

4.5 Riskbedömning för bin utifrån olika provmatriser

Ett antal analyser har gjorts för att på ett övergripande sätt peka ut hur riskerna för bin ser ut baserat på resultaten i denna studie. De tio mest riskfyllda substanserna (utifrån LC-MS/MS metoden som alla prover analyserats med) baserat på substansriskindex som summerar riskindexet för alla prov för varje substans och för varje matris separat, finns listade i Tabell 5. Tabellen kan läsas utifrån respektive provmatris kolumn, för att jämföra hur olika substanser förekommer och driver risken för just den matrisen. För luft är herbiciden prosulfokarb och fungiciden penkonazol de mest riskfyllda substanserna. För pollen är insekticiden indoxakarb och fungiciden penkonazol de två mest riskfyllda och indoxakarb är den mest riskfyllda för bin, medan insekticiden tiakloprid är en riskfylld substans som förekommer i både bin och nektar. Tabellen kan också läsas utifrån respektive substans rad, för att jämföra hur mycket och i vilka matriser just den substansen förekommer. Som exempel förekommer indoxakarb i detekterbara mängder bara i pollen och bin och imidakloprid bara i pollen medan t. ex. acetamiprid, tiakloprid och fluopyram förekommer i alla fyra matriserna. Dock finns det flera aspekter som är viktiga att ta med sig när tabellen läses. Vid jämförelsen av samma substans mellan olika matriser är det t. ex. viktigt att komma ihåg att halterna, som riskindexet bygger på, mäts i olika enheter och att den summerade risken bygger på olika antal prov för de olika matriserna. Eftersom vi inte gör några antaganden om hur mycket bin och pollinatörer utsätts för, hanterar eller konsumerar av de olika matriserna så är även detta viktigt att ta med sig och speciellt i jämförelsen mellan de olika matrisernas riskindex. Vidare är toxicitetsmått för vissa substanser (se Tabell 5) baserade på så kallade "limit-test" istället för dos-respons-test. För de substanser där riskindexet baserar sig på toxicitet från limit-test överskattas risken för den substansen jämfört med substanser som har riskindex som bygger

på dos-respons-test. Slutligen är inte GS-MS-resultaten med i sammanställningen nedan eftersom den analysmetoden endast använts för ett begränsat antal prover (se Tabell 2 och 3).

Av de detekterade substanserna med GC-MS-metoden gav insekticiderna klorpyrifos (medel LD₅₀ 0,11) och alfa-cypermethrin (medel LD₅₀ 0,046) upphov till högst riskindex för luft och för pollen var det insekticidern deltametrin (medel LD₅₀ 0,036) som gav upphov till högst risk. Av dessa ämnen är det endast deltametrin som är godkänd, och då endast som biocid, efter att godkännandet för alfa-cypermethrin gick ut februari 2022.

Tabell 5. De tio substanserna med högst risk sett till alla prov, analyserade med LC-MS/MS-metoden, och de fyra provtagna matriserna. Notera att halterna, som riskindexet bygger på, är mätta i olika enheter och att olika många prover har tagits för matriserna (luft: ng/m³, 156 prover; pollen: ng/g, 114 prover; bin: ng/g, 65 prover; nektar: ng/ml, 66 prover). För GC-MS-metoden, se Tabell 2 och 3

Substans	Summahalt	Medel LD ₅₀	Summa riskindex	Summa riskindex per matris			
				Luft	Pollen	Bin	Nektar
indoxakarb	8700	0,160	56000		56000	83	
penkonazol*	2200	7,10*	310	4,4	310	2,1	
acetamiprid	1600	11,3	150	0,48	140	1,0	0,65
imidakloprid	4	0,0400	91		91		
tiakloprid	2500	28,1	88	0,49	78	6,9	2,7
prosulfokarb**	6700	91,7**	74	39	32	2,31	
fluopyram*	2600	101*	26	0,086	25	0,65	0,057
protiokonazol-destio*	630	85,5	7,4	0,20	6,9	0,27	
boskalid*	1300	183*	6,9	0,0090	6,7	0,19	0,010
tebukonazol*	910	142*	6,5	0,020	6,4	0,050	0,0050

*Toxicitet baserad på limit-test.

**Toxicitet endast för kontaktp exponering baserad på limit-test.

En statistisk analys av relationen mellan summahalter respektive riskindex för bin och olika provmatriser visar att summahalten i bin relaterade positivt till summahalten i de tre andra provtagna matriserna (luft, pollen, nektar) och det samma gäller pollen i relation till luft och nektar (Tabell 6). Däremot fanns ingen relation mellan summahalterna i luft och nektar. När det gäller risk så var riskindexet för luft inte relaterat till något av de andra provtagna matriserna (pollen, bin, nektar; Tabell 6). Däremot fanns det positiva relationer för riskindexet mellan pollen, bin och nektar (Tabell 6).

Tabell 6. Relation för summahalt och riskindex mellan olika provtagna matriserna (luft, pollen, bin, nektar)

	Pollen		Bin		Nektar	
	F _{df}	P	F _{df}	P	F _{df}	P
Summahalt						
Luft	8,48 _{1,75}	0,0047	15,89 _{1,42}	<0,0010	0,03 _{1,43}	0,86
Pollen			21,63 _{1,42}	<0,0010	4,33 _{1,43}	0,044
Bin					41,29 _{1,42}	<0,0010
Riskindex						
Luft	<0,01 _{1,75}	0,99	0,40 _{1,42}	0,53	0,02 _{1,43}	0,88
Pollen			45,51 _{1,42}	<0,0010	13,98 _{1,43}	<0,0010
Bin					48,95 _{1,42}	<0,0010

4.6 Riskbedömning för människor i närområdet baserat på lufthalter

En övergripande analys av riskerna som människor i närområdet kan utsättas för genom inandning av luft innehållande växtskyddsmedel baserat på resultaten av denna studie har gjorts. Det dagliga intaget av växtskyddsmedel via luft ($DI_{\text{inhalation}}$), riskkvoten HQ och riskindex HI beräknades för alla prover för 2020 och 2021. AOEL-värde (Acceptable Operator Exposure Level) fanns för 102 av de 108 analyserade substanserna med LC-MS/MS-metoden och 10 av 14 substanser analyserade med GC-MS-metoden. Tabell 7 och 8 visar det prov från varje området för varje år som hade de högsta beräknade riskindex. I de utvalda proverna i tabellen detekterades inga GC-substanser.

Alla HQ-värden som uppskattades i denna studie var lägre än 1. De flesta ämnen hade HQ-värden som var 5-8 tiopotenser lägre än 1. Undantaget prosulfokarb, som hade de högsta HQ-värdena med 0,00014-0,13 år 2020 och 0,00011-0,012 år 2021. När det gäller kumulativ exponering var riskindexen (HI) mellan 1 och 3 tiopotenser lägre än 1. Här hade M42 de högsta HI-värdena med 0,13 år 2020 och 0,010 år 2021. Följd av lokal 6 med 0,013 2021 och lokal 1 med 0,012 också 2021. I alla prover drevs riskindex av höga värdena för herbiciderna prosulfokarb samt propyzamid och flufenacet.

Trots att de värsta scenarierna användes identifierades inga hälsorisker på grund av enskilda växtskyddsmedel (HQ) eller mixen av växtskyddsmedel (HI) eftersom det beräknade dagliga intaget av växtskyddsmedel via inandning, baserat på uppmätta lufthalter, var en eller flera tiopotenser lägre än referenskoncentrationen AOEL. Detta tyder på en låg hälsorisk vid inandning av växtskyddsmedel i de undersökta områdena.

Tabell 7. Beräknade riskkvoter (HQ) och riskindex (HI) för alla detekterade växtskyddsmedel för ett utvalt värstafalls-prov från varje område år 2020

HQ 2020	Hallahus	M42	1	2	3	4	5	6
Datum	2020-10-14	2020-10-15	2020-10-06	2020-10-08	2020-10-09	2020-10-01	2020-10-09	2020-10-09
acetamiprid						2,0·10 ⁻⁷		
boskalid			3,9·10 ⁻⁷	8,0·10 ⁻⁷	2,3·10 ⁻⁷	8,0·10 ⁻⁷		
diflufenikan		5,8·10 ⁻⁶	2,7·10 ⁻⁷			1,3·10 ⁻⁷		4,1·10 ⁻⁷
fenmedifam		9,8·10 ⁻⁷						
flufenacet		1,1·10 ⁻⁵	2,4·10 ⁻⁶	3,2·10 ⁻⁶	2,5·10 ⁻⁶		4,3·10 ⁻⁶	4,0·10 ⁻⁶
isoproturon				5,3·10 ⁻⁷				
klomazon			1,9·10 ⁻⁷					
metazaklor		3,8·10 ⁻⁷	6,0·10 ⁻⁸	4,0·10 ⁻⁸	2,4·10 ⁻⁸	4,0·10 ⁻⁸	2,9·10 ⁻⁸	8,0·10 ⁻⁸
pendimetalin							6,6·10 ⁻⁷	9,4·10 ⁻⁷
propamokarb			5,5·10 ⁻⁸	1,8·10 ⁻⁸	1,4·10 ⁻⁸	6,9·10 ⁻⁸	3,3·10 ⁻⁸	1,5·10 ⁻⁸
propyzamid		4,8·10 ⁻⁵						
prosulfokarb	3,5·10 ⁻³	1,3·10 ⁻¹	1,2·10 ⁻²	1,4·10 ⁻³	8,3·10 ⁻⁴	1,4·10 ⁻⁴	4,7·10 ⁻³	4,5·10 ⁻³
pyraklostrobin			1,1·10 ⁻⁶			1,1·10 ⁻⁶		
HI (ΣHQ)	0,0035	0,13	0,012	0,0014	0,00084	0,00014	0,0047	0,0045

Tabell 8. Beräknade riskkvoter (HQ) och riskindex (HI) för alla detekterade växtskyddsmedel för ett utvalt värstafalls-prov från varje område år 2021

HQ 2021	Hallahus	M42	1	2	3	4	5	6
Datum	2021-11-09	2021-10-28	2021-10-06	2021-10-08	2021-10-09	2022-07-14	2021-11-09	2021-07-21
boskalid			$3,9 \cdot 10^{-7}$	$8,0 \cdot 10^{-7}$	$2,3 \cdot 10^{-7}$			
diflufenikan		$5,0 \cdot 10^{-7}$	$2,7 \cdot 10^{-7}$					
flufenacet	$3,7 \cdot 10^{-6}$	$6,6 \cdot 10^{-6}$	$2,4 \cdot 10^{-6}$	$3,3 \cdot 10^{-6}$	$2,5 \cdot 10^{-6}$		$3,1 \cdot 10^{-6}$	
fluopikolid								
fluopyram						$7,4 \cdot 10^{-7}$		$8,2 \cdot 10^{-7}$
isoproturon				$5,3 \cdot 10^{-7}$				
klomazon			$1,9 \cdot 10^{-7}$					$1,0 \cdot 10^{-7}$
metazaklor		$6,8 \cdot 10^{-9}$	$6,0 \cdot 10^{-8}$	$4,0 \cdot 10^{-8}$	$2,4 \cdot 10^{-8}$			$1,3 \cdot 10^{-8}$
pendimetalin		$1,6 \cdot 10^{-6}$						
propamokarb			$5,5 \cdot 10^{-8}$	$1,8 \cdot 10^{-8}$	$1,4 \cdot 10^{-8}$	$1,3 \cdot 10^{-6}$		$1,2 \cdot 10^{-6}$
propyzamid	$3,2 \cdot 10^{-6}$	$2,7 \cdot 10^{-5}$					$3,2 \cdot 10^{-6}$	
prosulfokarb	$1,1 \cdot 10^{-3}$	$1,0 \cdot 10^{-2}$	$1,2 \cdot 10^{-2}$	$1,4 \cdot 10^{-3}$	$8,3 \cdot 10^{-4}$	$1,1 \cdot 10^{-4}$	$1,0 \cdot 10^{-3}$	$1,3 \cdot 10^{-2}$
pyraklostrobin			$1,1 \cdot 10^{-6}$					
triallat	$8,8 \cdot 10^{-6}$	$3,3 \cdot 10^{-5}$					$7,3 \cdot 10^{-6}$	
HI (ΣHQ)	0,0012	0,010	0,012	0,0014	0,00084	0,00012	0,0010	0,013

5. Diskussion

Relevans av fyndfrekvens, halt respektive riskindex

Fyndfrekvensen för enskilda substanser beror huvudsakligen på i vilken grad substansen har använts i närområdet alternativt spridit sig till området, men även på vilken detektionsgräns den aktuella substansen har i en viss provmatris. Det senare kan ge en överrepresentation av ämnen som uppvisar hög känslighet på analysinstrumentet jämfört med okänsliga ämnen. Då fyndfrekvensbegreppet inte tar hänsyn till detekterbarheten blir betydelsen av detta mått något begränsad. Uträknade halter ökar naturligtvis informationsvärdet stort, inte minst med tanke på att skillnaden mellan de lägsta och de högsta uppmätta halterna kan vara fem tiopotenser eller mer. Ur ett pollinatörsperspektiv måste man dock också ta hänsyn till de olika ämnernas toxicitet och beräkna riskindex för att kunna bedöma relevansen av de resthalter som hittas. De analyserade ämnernas akuta toxicitet för honungsbin varierar med cirka fyra tiopotenser, vilket visar hur viktigt det är att på lämpligt sätt försöka ta hänsyn till denna aspekt och inte endast presentera halter. För akut toxicitet finns det en positiv samvariation mellan substansers toxicitet för honungsbin och toxicitet för andra bin (Arena & Sgolastra 2014). Hur samvariationen i toxicitet ser ut mellan bin och andra grupper av pollinatörer är dock mer oklart.

Riskindex beräknades i denna studie genom att dividera den funna halten av ett visst ämne med medelvärdet av akut toxicitet (LD_{50}) för oral respektive apikal (kontakt) dosering av honungsbin. Orsaken till att de två akuta toxicitetsmått för honungsbin användes för att vikta halten var dels att dessa data finns tillgänglig för i stort sett alla de substanser som ingick i analyserna, dels utifrån antagandet att båda exponeringsvägarna är ekologiskt relevanta ur ett allmänt perspektiv – se Boyle et al. (2019) för en diskussion kring relevansen för olika exponeringsvägar och matriser mellan några biarter.

Också för bedömning av risken för pollinatörer via luftexponering användes samma LD₅₀-medelvärde. Motiveringen till detta var att exponering via luft delvis kan antas utgöras av direkt kontakttoxicitet, vilket kan associeras med LD₅₀ kontakt-värdet, men också att något mått på inhalationstoxicitet för insekter inte finns att tillgå. Utifrån förutsättningarna vad gäller befintliga toxicitetsdata ansågs detta vara det mest relevanta och hanterbara tillvägagångssättet.

För att få en samlad bild av toxiciteten av blandningen av växtskyddsmedel i ett prov summerades riskindex för de ämnen som detekterades i provet, med antagandet att de toxiska effekterna från de enskilda ämnena är additiva. Detta är den vanligaste modellen för att väga samman halter och toxicitet för flera substanser i en blandning (Belden et al. 2007). Additionsmodellen har visat sig fungera bra i akvatiska system, för substanser som har samma verkningsmekanism, men överskatta risken för blandningar av substanser som har olika verkningsmekanismer (Belden et al. 2007, Backhaus & Faust 2012). Den additiva modellen är alltså konservativ, dvs. skyddande, och anses vara en enkel men ändå robust metod för att uppskatta den samlade risken från komplexa blandningar av växtskyddsmedel som förekommer i miljön (Nowell et al. 2014). Dock är enbart toxicitetsinformation inte tillräckligt för att bedöma sanna risker i miljön, så länge man inte samtidigt vet hur exponeringsnivåerna varierar i tid och rum för olika relevanta exponeringsvägar och matriser. En sådan viktning av riskerna har inte kunnat göras inom studien eftersom kunskap saknas. Mängden födoämnen i form av nektar och pollen som hanteras eller konsumeras och volymen luft som inandas av eller är i kontakt med olika organismer, är alla okända parametrar.

Det finns flera aspekter på beräkningen av riskindex. Bland annat kan det vara svårt att veta vilket toxicitetsmått som är mest relevant i en given situation, på individ-, samhälls- och populationsnivå, då pollinatörer utgör en divers grupp av insekter i Sverige (Ahrné et al. 2022) som har olika livsstilar, ofta kallade livshistorieegenskaper, som t.ex. storleken på födosöksområde, sättet att mata sin avkomma, socialitet, dietbredd, fenologi och var eventuella boplatser finns, som kan påverka deras exponeringsvägar (Boyle et al. 2019, Sponsler et al. 2019). Istället för ett medelvärde av de två akuta toxicitetsmått hade man också kunnat välja det lägsta LD₅₀-värdet, som ett värstafallscenario, men då hade beräkningarna baserats på olika exponeringsvägar för olika substanser, vilket bedömdes som en nackdel. Att använda medelvärdet kan också ha en stabiliserande effekt på extremvärden som skulle kunna bero på mätfel i toxicitetsbedömningen (Nowell et al. 2014). Vad det gäller bestämningen av de akuta LD₅₀-värdena är det dessutom många ämnen som endast testats upp till en viss koncentration, utan att en faktisk letal dos har observerats, så kallade "limit-test". Dessa anges som LD₅₀ > en viss given dos i PPDB-databasen (PPDB 2022) och den faktiska dos som skulle ge 50% dödlighet ligger högre men är okänd. Riskindex för alla dessa substanser är således överskattade. Detta rör främst ämnen som inte är så akutgiftiga för honungsbin, men skulle även kunna ha med ämnenas fysikaliskkemiska egenskaper att göra, t.ex. att de är mycket lipofila och svårslösliga i administreringslösningen som används i testet och därför bara kan hanteras till en viss koncentration.

Vidare finns det för vissa substanser också andra tillgängliga toxicitetsdata, framför allt för ämnen som introducerats mer nyligen och sådana som visat sig vara skadliga för insekter. Det kan handla om toxicitetsstudier utförda på andra arter som t.ex. jordhumla, rödmurarbi, andra sociala eller solitära bin samt andra pollinatörer och nyttoinsekter (PPDB 2022). Det kan i undantagsfall även finnas data för kronisk toxicitet för honungsbin och toxicitet för honungsbilaver. All denna information är relevant och värdefull och skulle kunna användas för kompletterande riskutvärdering i specifika situationer. Ur ett ekologiskt perspektiv hade det generellt sett också varit värdefullt med mer information som också väger in effekter från långvarig kronisk exponering, subletala effekter dvs. effekter som är negativa men inte direkt

dödliga, och indirekta effekter som t.ex. att användningen av herbicider kan påverka mängden blommande växter i och kring åkrar och därmed födotillgången. En ytterligare aspekt som pekar på vikten av att olika pollinatörer måste ses i sina ekologiska sammanhang är exempel där en hanterbar risk från en insekticid visat sig kunna uppvägas av den ökade födotillgången en rikt blommande, behandlad gröda (Knapp et al. 2022b), eller ej direkt behandlad blomrensa (Rundlöf et al. 2022) kan erbjuda. Dessutom kan sociala bin, som honungsbin och humlor, ha en viss buffrande förmåga eftersom samhällena kan förlora en andel av sin arbetarstyrka och fortfarande lyckas reproducera sig (Straub et al. 2015). Riskindexet baserat på honungsbiinsamlat pollen har dock i relaterade studier visat sig samvariera med riskindexet för pollen insamlat av jordhumlor och rödmurarbin (Knapp et al. 2022a). Hur väl det relaterar till andra pollinatörers växtskyddsrelaterade risker är däremot inte känt. Dock är det relevant att påpeka att luft, pollen och nektar är mer eller mindre relevanta exponeringsvägar för pollinatörer generellt.

Olika matriser visar delvis olika resultat

I studien har de olika provmatriserna luft, pollen, bin och nektar undersökts. Resultaten skiljer sig delvis mellan dem. Det går dock inte rakt av att jämföra halter och riskindex mellan de olika matriserna då halterna mäts i olika enheter och den summerade risken för substanser, i denna studie, bygger på olika antal prov för de olika matriserna. Eftersom vi inte gör några antaganden om hur mycket pollinatörer utsätts för, hanterar eller konsumerar av de olika matriserna kan vi inte säkert avgöra vilken exponeringsväg som ger upphov till högst risk.

Pollen utmärker sig dock med högst antal detekterade substanser och det förekommer höga summahalter och riskindex. Både antalet funna ämnen och de uppmätta koncentrationerna av dessa är lägre i nektar och bin än i pollen, vilket också visats i andra studier (Kyriakopoulou et al. 2017, Zioga et al. 2020, Graham et al. 2021, Knapp et al. 2022a). Då den statistiska analysen gjord i denna studie visade positiva relationer mellan riskindex för pollen, bin och nektar bedöms provtagning och analys av pollen kunna ge en bild som även är representativ för bin och nektar. Dessutom är det mindre invasivt att provta pollen än nektar och bin.

I luft detekteras nästa lika många substanser som i pollen. Många substanser är de samma och summahalterna för luft korrelerar till summahalterna i pollen och bin. Men vissa viktiga skillnader gör att riskindex för luft inte korrelerar till någon av de andra matriserna. Luftprover verkar alltså ge en något annan bild av risken för bin än pollenprover. Två av de detekterade substanserna med högst riskindex, indoxakarb och imidaklopid, förekom endast i pollen- och biprover och inte i något av luftproven. Just dessa två substanser kommer dock inte vara relevanta i framtiden. Imidaklopid får inte längre användas som växtskyddsmedel (användningsförbud för utomhusbruk 2018) och sista användningsdag för indoxakarb som växtskyddsmedel i Sverige var i september 2022 (det finns dock ett myrmedel tillåtet). Det skulle kunna betyda att det i kommande undersökningar kommer att finnas ett starkare samband mellan riskindex för pollen och luft, om dessa två relativt sett mycket toxiska substanserna försvinner. I luftproverna utgjorde prosulfokarb den största risken, främst på grund av de höga koncentrationerna. De flesta förhöjda koncentrationerna uppmättes dock sent på säsongen under oktober när många pollinatörer inte längre är lika aktiva. Prosulfokarb är dock en av flera substanser som har ett toxicitetsvärde baserat på ett "limit-test" vilket gör att risken för bin kan vara överskattad.

Skillnad mellan områden och år beror mest på om några få riskfyllda substanser används

I studien testades hur andel åkermark i en radie av 2 km från provpunkten relaterade till summahalter och riskindex för luft och pollen. För luft relaterade andel åkermark till både summahalter och riskindex, för pollen däremot kunde ingen sådan relation ses. Inte heller kunde någon statistisk skillnad i riskindex mellan åren påvisas för någon av provmatriserna. Data visar att det är några få substanser som ger stort utslag i det summerade riskindexet, så vilken risk som förekommer i ett område beror till stor del på om just de medlen använts. Det verkar också kunna vara stor variation i halter i pollen mellan enskilda växter. I den fördjupade analysen av färgfraktionerade pollen hade vissa pollenlasters halter av indoxakarb som låg flera tiopotenser högre än halterna i det poolade provet från samma lokal och period. Att enskilda händelser påverkar riskindex mycket ser vi också i toxicitetsindex (PTI) som används för den akvatiska miljöövervakningen (Nanos et al. 2021). PTI bedöms ändå vara relevant för att ranka olika provers toxicitet, olika substansers bidrag till den totala toxiciteten och för att se tidstrender (Nowell et al. 2014).

Från avrinningsområdet för M42 finns uppgifter om odlade grödor och användning av växtskyddsmedel. Dock visade det sig tydligt att avrinningsområdet till provpunkten för vattenproverna inte stämmer överens med födosöksområdet för bina som studerades. Under 2020 rapporterades t.ex. ingen användning av indoxakarb i avrinningsområdet för M42 men höga halter hittades i pollen från bikuporna i området. Det har därför inte varit relevant att göra kopplingar mellan användning och fynd i M42. Det skulle naturligtvis vara intressant att koppla den sortens uppgifter i födosöksområdet till de uppmätta halterna och riskerna men insamling av den sortens data har inte gjorts inom detta projekt. Däremot pågår det arbete inom MixToxBee-projektet med att undersöka om de intervjuade insamlingarna av växtskyddsmedelsanvändningsdata som görs av Statistikmyndigheten SCB på uppdrag av Kemikalieinspektionen (Kemikalieinspektionen & SCB 2018) skulle kunna användas i detta syfte.

Riskfyllda substanser

Insekticiden indoxakarb är den substans som ger upphov till högst riskindex i studien. I pollen och bin är det ytterligare några insekticider som utgör hög risk, acetamiprid, imidakloprid och tiakloprid. Dessa ämnens riskindex ligger dock två till tre tiopotenser lägre än indoxakarbs. Fungiciden penkonazol och herbiciden prosulfokarb ligger också högt i riskindex för pollen, luft och bin. Dessa båda substansers toxicitetsvärden baseras dock på så kallade "limit-tester" vilka kan göra att risken överskattas.

De tre neonicotinoiderna imidakloprid, klotianidin och tiametoxam har blivit förbjudna för användning som växtskyddsmedel inom EU på grund av sin höga giftighet för bin. Imidakloprid förbjöds för användning som växtskyddsmedel på åkermark december 2018 men hittades fortfarande i halter som ger upphov till höga riskindex i pollenprover 2020, dock inte alls 2021. Inga fynd av imidakloprid gjordes i luftproverna från de två åren. Tiakloprids godkännande gick ut innan säsongens början 2021 och indoxakarbs godkännande som växtskyddsmedel har också gått ut, sista användningsdag i Sverige var i september 2022, så även fynden av de substanserna kommer troligen försvinna (det finns dock ett myrmedel tillåtet). Detta kommer göra att riskbilden för bin förändras avsevärt. En aspekt som kan vara relevant att lyfta för framtiden är att vissa fungicider, som penkonazol, kan verka synergistiskt med vissa insekticider, som acetamiprid, och göra insekticiden många gånger mer toxisk än om substanserna inte förekommer tillsammans (Sanchez-Bayo & Goka 2014).

Vilka substanser som analyseras är naturligtvis avgörande för vad som detekteras. I den här studien har vi i första hand använt en LC-MS/MS-metod som inkluderar upp till 108 växtskyddsmedel, beroende på matris. Då vissa växtskyddsmedel som skulle kunna påverka pollinatörer saknas i den metoden analyserades även ett urval av proverna med GC-MS. I majoriteten av dessa prover detekterades inga substanser alls, men i de få prover som hade fynd slog dessa i vissa fall igenom kraftigt i riskindex för provet. Flera av de detekterade substanserna är inte godkända för användning i Sverige. Det finns dock några få pyretroider som är godkända för användning (tau-fluvalinat och gamma cyhalotrin, samt deltametrin som bara får användas som biocid) och som kan ha relevans för den totala riskbilden. Anledningen till att inte fler pollenprover analyserades med GC-MS-metoden var att dessa extrakt innehåller mycket lipider och andra matriskomponenter som påverkar analysinstrumentet negativt och försvårar analyserna. Med tanke på att flera av de insekticider som funnits vara mest riskfyllda i AirBeeSafe-studien har förbjudits, ökar intresset att kunna bestämma kvarvarande insekticider, varför det kan bli aktuellt att försöka utveckla GC-MS-metoden vidare för att göra den mer robust och därmed tillåta analys av fler prover i kommande studier.

Riskfyllda substanser och näringsväxter i färgsorterat pollen

Pollen är en extra intressant matris för att försöka spåra bin och andra pollinatörers exponering för växtskyddsmedel eftersom man både kan uppskatta halten av växtskyddsmedel och identifiera vilken växtart eller växtgrupp pollenet kommer från. Precis som tidigare studier stödjer resultaten att växtskyddsmedelsrelaterad risk kan komma från både odlade grödor och icke odlade växter (McArt et al. 2017, Böhme et al. 2018, Knapp et al. 2022a, Rundlöf et al. 2022, Végh et al. 2022). Från det färgsorterade pollenet kan vi dra slutsatsen att de mest riskfyllda fraktionerna kom från växter som antingen inte odlas som grödor, som blåklint och vallmo som är vanliga åkerogräs, eller som både kan odlas som grödor och växa vilt, som röd- och vitklöver som odlas till frö eller i vall och då inte behandlas med speciellt mycket växtskyddsmedel. Detta belyser att avdrift till blommande växter, som inte är grödor, i eller intill ett område som behandlas med växtskyddsmedel kan vara betydande för exponeringen. Det fanns även några högriskprover där äppelpollen utgjorde 10-94% av pollenkornen, där man skulle kunna anta att risken kommer från just den behandlade grödans pollen. I dessa fall förekom höga halter av fungiciden penkonazol tillsammans med den riskdrivande insekticiden indoxakarb. Tillsammans visar detta att både behandlade blommande grödor och avdrift från alla behandlade grödor till blommor i närliggande miljöer kan bidra till riskfylld exponering av blombesökande insekter via pollen.

Riskbedömning för närboende människor

En bedömning gjordes av hur människor boende i de områden som analyserats i studien skulle kunna påverkas av att andas in luften med de uppmätta koncentrationerna av växtskyddsmedel. Metodiken baseras på den som EFSA använder i registreringsprocessen för växtskyddsmedel i kombination med beräkningar från US EPA.

Trots att värstafalls-scenarier användes identifierades inga hälsorisker på grund av enskilda växtskyddsmedel eller mixen av växtskyddsmedel. Metoden för att värdera risken för människor är mer utvecklad än den som använts för bin i denna studie, och har använts inom lagstiftningen under lång tid, vilket gör att resultaten får bedömas tillförlitliga.

Ny luftprovtagningsmetodik

Den nyutvecklade luftprovtagaren, med lågflödespump (3 l/min) kopplad till en billig och förenklad monterning av PUF-adsorbent och partikelfilter fungerade bra och endast ett fåtal provtagningar fallerade under de två provtagningsåren. De främsta fördelarna med denna utrustning jämfört med den större och kraftfullare (300 l/min) som används inom den nationella miljöövervakningen är pris, flexibilitet, ljudnivå, transporter och provhantering på analyslaboratoriet. Egenskaper som möjliggör provtagning på många platser och nära bebyggelse. Den största nackdelen är att den 100 gånger mindre provvolymen resulterar i betydligt högre detektionsgränser vilket visas av jämförelsen av antal funna ämnen i Hallahuslokalen med de två teknikerna. Jämförelserna i denna studie pekar dock på att, även om antalet substanser som detekterades med högflödesprovtagningen var signifikant högre, så bidrog de låga halter som inte kunde mätas med lågflödesprovtagningen inte på ett betydande sätt till summahalter eller riskindex. Med lågflödesprovtagning finns det dock en risk att låga halter av någon mycket giftig substans missas och att en felaktig bedömning av riskindex för luftexponering görs. I studier där rumslig upplösning prioriteras och där provtagningen sker nära fält, med förväntat relativt höga lufthalter, har den nyutvecklade metoden en plats att fylla.

6. Slutsatser

Det övergripande målet med projektet AirBeeSafe var att öka kunskapen om pollinerande insekters exponering för olika växtskyddsmedel i odlingslandskapet, dvs. för vilka ämnen och vid vilka halter de riskerar att exponeras i livsmiljön. De matriser som studerades för att bättre förstå exponeringen var luft, pollen och nektar. Halter av växtskyddsmedel har också analyserats i bivävnad. Utifrån de data som tagits fram i denna studie, baserat på två års provtagning, kan följande slutsatser dras:

- Pollen är den matris där flest substanser detekteras och där höga summahalter och riskindex förekommer. Riskindex för pollen relaterade statistiskt till riskindex för bin och nektar, och provtagning och analys av växtskyddsmedel i pollen bedöms därför kunna ge en bild som även är representativ för bin och nektar. Pollen har dessutom fördelen att vara mer etiskt försvarbart att provta än bin och nektar, då inga djur behöver dödas. Det ämne som utgjorde störst risk i pollen var insekticiden indoxakarb, följt av betydligt lägre värden för fungiciden penkonazol och insekticiderna acetamiprid och imidaklopid. Värt att notera är att samförekomst av penkonazol och acetamiprid kan göra acetamiprid betydligt mer giftigt för bin än ämnet ensamt. För riskindexet i pollen spelade varken andel grödpollen i provet eller andelen jordbruksmark i det omgivande landskapet någon avgörande roll.
- I luft detekterades nästa lika många substanser som i pollen. Många substanser var desamma som i pollen och summahalterna för luft korrelerade med summahalterna i pollen och bin, men riskindex för luft skiljde sig från de andra matrisernas riskindex. Det beror till stor del på att varken indoxakarb eller imidaklopid, två av de detekterade ämnen med högst riskindex, förekom i något av luftproven. I luftproverna utgjorde herbiciden prosulfokarb den största risken, främst pga. de höga koncentrationerna sent på säsongen under oktober när många pollinatörer inte längre är lika aktiva. Luftprover verkar alltså ge en något annan bild av risken för bin än

prover av de andra matriserna. För både halt och riskindex i luft var andelen jordbruksmark i det omgivande landskapet av betydelse.

- Data från studien visar att det är några få substanser som ofta ger stort utslag i det summerade riskindexet, så om produkter med just de substanserna använts eller inte är mest avgörande för risken.
- Insekticiden indoxakarb var den substans som gav upphov till högst riskindex i studien. I pollen och bin var det ytterligare några insekticider som utgjorde hög risk, acetamiprid, imidaklopid och tiaklopid. Riskindex för dessa ämnen låg dock två till tre tiopotenser lägre än indoxakarbs. Indoxakarbs godkännande som växtskyddsmedel har gått ut, sista användningsdag i Sverige var i september 2022, liksom godkännandena för imidaklopid (2018) och tiaklopid (2021), så fynden av de ämnena bör minska och göra att riskbilden för bin förändras.
- Fungiciden penkonazol och herbiciden prosulfokarb låg också högt i riskindex för pollen, luft och bin. Dessa båda substansers toxicitetsvärden, liksom många andra herbicider och fungicider, baseras dock på så kallade "limit-tester". Det innebär att den testade (relativt höga) dosen inte visade någon tillräckligt hög letal toxicitet men att man inte gått vidare och testat med högre doser. Ämnenas toxicitet, och därmed riskindex, överskattas därför.
- Precis som tidigare studier stödjer våra resultat från det färgsorterade pollenet att det inte enbart är behandling av blommande grödor som kan leda till riskfylld exponering för blombesökande insekter via pollen, utan även icke odlade växter. De mest riskfyllda fraktionerna kom från växter som antingen inte odlas som grödor, som blåklint och vallmo som är vanliga åkerogräs, eller som både kan odlas som grödor och växa vilt, som röd- och vitklöver. Detta belyser att avdrift till blommande växter, som inte är grödor, i eller intill områden som behandlas med växtskyddsmedel kan vara betydande för exponeringen.
- Riskindex för pollinatörer kan beräknas på olika sätt. Tillgängliga data för toxicitet utgörs dock till absolut största delen av akut toxicitet för honungsbin vid oral och apikal dosering. Beräkning av riskindex baserat på medelvärdet av dessa LD₅₀-värden har visat stöd i den vetenskapliga litteraturen för effekter på bin och skulle kunna vara en pragmatisk och tillräckligt relevant metod för att följa växtskyddsmedelsrelaterade risker för pollinatörer.
- Inga hälsorisker för närboende människor till följd av inandning av luft kunde visas, varken för enskilda växtskyddsmedel eller blandningen av växtskyddsmedel.
- Den nyutvecklade luftprovtagaren fungerade bra för ändamålet. De främsta fördelarna med denna utrustning jämfört med den större och kraftfullare som används inom den nationella miljöövervakningen är pris, flexibilitet, ljudnivå, transporter och provhantering på analyslabbet. Egenskaper som möjliggör provtagning på många platser och nära bebyggelse. Den största nackdelen är att den 100 gånger mindre provvolymen resulterar i betydligt högre detektionsgränser. Jämförelserna i denna studie pekar dock på att, även om antalet substanser som detekterades med

högflödesprovtagningen är signifikant högre, så bidrar de låga halter som inte kan mätas med lågflödesprovtagningen inte på ett betydande sätt till summahalter eller riskindex.

7. Tackord

Vi vill tacka alla som gjort det här projektet möjligt. Finansiärerna Naturvårdsverket och det strategiska forskningsområdet BECC (Biodiversity and Ecosystem services in a Changing Climate) och alla som arbetet inom projektet. Särskilt tack till berörda markägare och biodlare. Vi riktar också tack till Georg Andersson, Jessica Knapp och Charlotte Musser för hjälp med fältarbetet, Georg Andersson, Isabella Blomlöf och Ola Olsson för arbete med identifiering av pollen till växtart/grupp, Sara Erling vid laboratoriet för organisk miljökemi (OMK) vid SLU för hjälp i samband med GC-MS-analyserna samt Maria Björkman och Weronika Axelsson-Linkowski på Naturvårdsverket som gett feedback på en tidigare version av rapporten.

8. Tänkbar miljöövervakning av pollinatörers exponering för växtskyddsmedel

I det här avsnittet diskuteras aspekter som rör en tänkbar miljöövervakning av växtskyddsmedel i terrester miljö med fokus på pollinatörer. Utgångspunkten är resultaten från detta projekt samt kunskap från tidigare studier och litteraturen.

Befintlig miljöövervakning av växtskyddsmedel i den akvatiska miljön

Naturvårdsverket finansierar den nationella miljöövervakningen av växtskyddsmedel i jordbruksområden. Övervakningen har pågått sedan 2002 och bland annat mäts halter av växtskyddsmedel i ytvatten och sediment i fyra små, jordbruksintensiva typområden i södra Sverige samt i två större åar i Skåne (Boye et al. 2019; Nanos et al. 2021). Typområdena representerar de fyra stora odlingsregionerna i Sverige, Västergötland, Östergötland, Halland och Skåne och odlingen är intensiv med 85-92% odlad mark. De två åarna skalar upp avrinningsområdena för att fånga en lite bredare bild av växtskyddsmedelsanvändningen, dock fortfarande med 57-72% åkermark (Nanos et al. 2021). Som komplement till dessa sex frekvent undersökta områden har även screeningar med olika inriktning gjorts, däribland i ett utökad antal vattendrag i odlingsintensiva områden (Boström et al. 2016; Lindström et al. 2017), men även t.ex. nedströms växthusanläggningar (Kreuger et al. 2019; Boye et al. 2021).

Halterna i ytvatten och sediment visar vilken exponering av växtskyddsmedel vattenlevande organismer utsätts för. Riktvärden, bedömningsgrunder eller gränsvärden används för att sätta halterna i relation till vilken påverkan de kan ha på olika organismgrupper. Denna information om olika ämnens toxicitet tas fram genom standardiserade laborietester med bland annat alger/vattenväxter, bottenfauna och fisk. Inom miljöövervakningen räknas ett toxicitetsindex fram, baserat på halter och toxicitet hos olika organismer, som visar på den samlade toxiciteten i vattendragen (Asp & Kreuger 2005). Detta index är också en av indikatorerna som används inom miljömålet Giftfri miljö ([Sveigesmiljomal.se](https://www.sveigesmiljomal.se)).

För att försöka bedöma hur de vattenlevande organismsamhällena ser ut och utvecklas över tid och få ett mått på den biologiska mångfalden, provtas olika organismsamhällen (kiselalger och bottenfauna) i vattendragen i typområdena årligen, finansierat av CKB. Proverna analyseras genom att organismerna räknas och identifieras till art, släkte eller familj. Resultaten har i olika rapporter relaterats till uppmätta halter av växtskyddsmedel på samma plats och olika index för att bedöma om populationerna är påverkade av mänsklig aktivitet har använts (Goedkoop & Kahlert 2015 och 2018; Hallstan et al. 2020).

Tänkbar miljöövervakning av terrester miljö och specifikt inriktat på pollinatörer

Hur en miljöövervakning av växtskyddsmedel i den landbaserade (terrestra) miljön bör se ut beror på vilket syftet är. Syftet med den nationella miljöövervakningen generellt är enligt Naturvårdsverket att ge en lägesbeskrivning av tillståndet i miljön och varna för störningar. Övervakningen inom programområde Jordbruksmark syftar till att ta fram underlag för att bedöma inverkan av miljöproblem inom jordbruksområdet, t.ex. i form av utarmning av den biologiska mångfalden och övergödning. Havs- och vattenmyndigheten skriver om miljöövervakningen att återkommande systematiskt genomförda undersökningar visar på miljötillståndet, belastningar på miljön och dess effekter. Med detta som grund skulle den terrestra miljöövervakningen kunna vara uppbyggd på motsvarande sätt som den akvatiska miljöövervakningen beskriven ovan.

Provmatriser

Baserat på resultaten från denna studie bedöms pollen vara den mest intressanta matrisen att analysera för att ge en bild av pollinatörers exponeringen för växtskyddsmedel. Pollen utgör viktig föda för många pollinatörer och är därför en exponeringsväg för växtskyddsmedel. Även nektar är en mycket viktig energikälla för pollinatörer, främst för de vuxna, flygande individerna men i vissa fall även i larvstadiet. Pollen är den matris där flest olika substanser detekteras i AirBeeSafe och där höga summahalter och riskindex förekommer. Riskindex i pollen relaterar statistiskt till riskindex i nektar och provtagning och analys av växtskyddsmedel i pollen bedöms därmed kunna ge en bild som även är representativ för den exponeringsvägen. Pollen har dessutom fördelen att vara mer etiskt försvarbart att provta än bin och nektar, då inga djur behöver dödas. Läs utförligare resonemang i diskussionen i denna rapport.

Att samla in och analysera bin visar vilka substanser de har exponerats för. De behöver inte nödvändigtvis bli påverkade av exponeringen om ämnena inte tar sig in i kroppen. Även provtagning och analys av vilda bin och andra arter kunde vara intressant för att få en mer komplett bild av vilka växtskyddsmedel insekter exponeras för. Detta har bl.a. gjorts av Hladik et al. (2015). Dock är bedömningen åter igen att pollen är prioriterat då fler substanser, högre koncentrationer och högre riskindex hittas i pollen och att även positiva relationer mellan riskindex för pollen och bin visades.

Honungsbin användes i denna studie som modellart för andra pollinatörer. En stor fördel med att använda honungsbin är att de är relativt lätta att hålla och sköta och ger dessutom säkra och större prover av pollen, nektar och vävnad utan att påverkan från provtagningen blir alltför stor på bisamhällena. Att polleninsamling är en icke invasiv metod som är enkel att utföra och därmed lätt att tillämpa i olika sammanhang, både i systematisk miljöövervakning och i kompletterande screeningstudier, är ytterligare en styrka. Honungsbin som modellart kan anses relevant ur ett exponeringsperspektiv då de födosöker både nektar och pollen från en mängd olika växtslag och dessutom över stora ytor. Opublicerade resultat från MixToxBee-projektet tyder dessutom på att exponeringen för växtskyddsmedel via pollen är relaterad mellan honungsbin, jordhumlor och rödmurarbin (Knapp et al. 2022a). Insektsarter som är mer specialiserade på endast en eller ett fåtal växtarter kan dock erfara en annan exponering för växtskyddsmedel än vad som uppmäts i ett samlingsprov från ett honungsbisamhälle, vilket bör tas i beaktande.

I luft detekteras nästa lika många substanser som i pollen. Många substanser är desamma och summahalterna för luft korrelerar till summahalterna i pollen och bin, men riskindex skiljer sig. Varken indoxakarb eller imidakloprid, de två detekterade substanserna med högst riskindex, förekom i något av luftproven. Utifrån detta får analyser av pollen anses ha större relevans för växtskyddsmedelsrisk för pollinatörer än luftanalyser. Dock kan bilden eventuellt ändras framöver när godkännanden för växtskyddsmedel ändras. Imidakloprid får inte längre användas som växtskyddsmedel (användningsförbud för utomhusbruk 2018) och sista tillåtna användning av indoxakarb som växtskyddsmedel (det finns ett myrmedel tillåtet) var september 2022. I luftproverna utgjorde herbiciden prosulfokarb den största risken, främst på grund av den höga koncentrationen sent på säsongen under oktober när många pollinatörer inte längre är lika aktiva. Luftprover verkar alltså ge en något annan bild av risken för bin än pollenprover.

Halter av växtskyddsmedel kan mätas i luftprover i närheten av åkermark på motsvarande sätt som gjorts i detta projekt. Just provtagningen i anslutning till åkermark har potentialen att på ett bra sätt fånga den faktiska exponeringen via luft som olika organismer i odlingslandskapet utsätts för. Den provtagnings- och analysmetod för luftprovtagning som utvecklats inom detta

projekt fungerar väl för ändamålet, även om resultaten från studien visar att antalet detekterade ämnen är avsevärt lägre än i proverna från den nationella miljöövervakningen där provvolymen är 100 gånger större. Jämförelserna i denna studie pekar dock på att, även om antalet substanser som detekterades med högflödesprovtagningen är signifikant högre, så bidrar de låga halter som inte kan mätas med lågflödesprovtagningen inte på ett betydande sätt till summahalter eller riskindex.

Analyspaket

Hur omfattande analyspaketet bör vara vid resthaltsbestämningen beror av frågeställningen. Är det den allmänna bilden som söks så bör man också analysera så brett som det bara går. Detta innebär bestämning med flera olika multimetoder, baserade på olika kromatografiska system, på liknande sätt som utförs inom dagens miljöövervakning i akvatisk miljö. Detta är resurskrävande och dyrt, dels beroende på antalet metoder men även på det stora antalet ämnen som ingår i respektive metod. Om man istället fokuserar på riskerna för pollinerande insekter kan man minska antalet ämnen att analysera. Med denna förenkling riskerar man dock att inte ha all information som kan vara relevant när diskussionerna går framåt gällande synergistiska effekter eller om nya effekter uppdagas hos redan befintliga ämnen.

Ett ytterligare problem med denna förenkling är också att ämnen i den så viktiga insekticidgruppen pyretroider, som generellt sett är mycket giftiga för insekter, behöver analyseras med en speciell metod baserad på gaskromatografi, vilket fungerar dåligt för den komplexa provmatris som pollen utgör. Det skulle eventuellt gå att specialanpassa den relativt generella GC-metoden till att fokusera just på pyretroiderna och då få en robustare analys av dessa.

Val av provplatser

Inom den akvatiska övervakningen av växtskyddsmedel har provplatserna valts för att representera mycket jordbruksintensiva områden, och utgör värsta-falls-områden när det gäller exponering. Andel åkermark i avrinningsområdet har visat sig vara en viktig variabel som påverkar de uppmätta halterna av växtskyddsmedel (Boström et al. 2016). I denna studie testades hur andel åkermark i en radie av 2 km från provpunkten relaterade till summahalter och riskindex för luft och pollen. För luft relaterade andel åkermark till både summahalter och riskindex, för pollen däremot kunde ingen sådan relation ses.

För att kunna dra nytta av all kringinformation som tas in i typområdena (detaljerad information om grödor, växtskyddsmedelsanvändning etc.) skulle det kunna vara lämpligt att lägga platserna för den terrestra provtagningen på samma ställen. Dock visade det sig tydligt i den rapporterade studien, att avrinningsområdet till provpunkten för vattenproverna inte stämmer överens med födosöksområdet för honungsbin. Under 2020 rapporterades t.ex. ingen användning av indoxakarb i avrinningsområdet till M42 men höga halter hittades i pollen från bikuporna i området.

Typområdena är som sagt utvalda för att representera områden med intensiv odling i Sverige. Det behöver dock utvärderas om all relevant användning kopplat till risk för pollinatörer finns representerad i områdena om de ska användas för miljöövervakning av pollinatörer. De preparat som är utpekade som farliga för pollinerande insekter enligt Jordbruksverket (2021c) har olika användningsområden. Vissa får endast användas inom växthusodling vilket inte finns representerat i typområdena.

I övrigt får de utpekade preparaten användas på grödor som odlas i typområdena. Hur stor den faktiska användningen är går att ta reda på genom att analysera underlagen om användning som samlas in varje år. Däremot odlas inte så mycket perenna eller blommande grödor i dessa områden, om man undantar höstraps. Varken frukt- och bärodlingar eller klöverfröodlingar finns representerade. Då blommande gröda som behandlas med växtskyddsmedel troligen är en viktig exponeringsväg för pollinatörer (Rundlöf et al. 2015, Woodcock et al. 2016, McArt et al. 2017, Böhme et al. 2018, Rundlöf och Lundin 2019, Véggh et al. 2022) vore det lämpligt att inkludera lokaler med förekomst av helst flera blommande grödor. Det bör dock påpekas att ingen korrelation mellan uppmätta summahalter eller riskindex och andelen grödpollen kunde verifieras, vilket tyder på att pollen från växter som inte är grödor också har stor betydelse för exponering och risk. Lokaler skulle kunna väljas så att det förekommer ett flertal olika grödor, gärna både perenna och annuella, och dessutom gärna grödor som ofta behandlas med många växtskyddsmedel och dessutom många gånger, som t.ex. äpple och annan fruktodling och potatis, eftersom dessa aspekter skulle skapa förutsättningar för att fånga upp en stor och divers växtskyddsmedelsanvändning (Garthwaite et al. 2015, Nicholson & Williams 2021).

Det kunde vara lämpligt att börja med en screening av halter i pollen och luft på fler platser i det svenska jordbrukslandskapet. På så sätt kan ett antal lokaler väljas ut som kan anses representativa för miljöövervakning av pollinatörers växtskyddsmedelsexponering.

Tidpunkter

Luft och pollen har provtagits under i princip hela växstsäsongen i denna studie. Resultaten visar att för både luft och pollen är summahalten högre under den första och tredje provtagningsperioderna (slutet av maj – mitten av juni respektive mitten av september till slutet av oktober) och lägre mitt i sommaren i juli. För pollen var speciellt den första provtagningsperioden riskfylld utifrån riskindex, medan det inte fanns några tydliga skillnader i riskindex för luftproverna mellan perioderna. Ett undantag från detta är de höga halterna av prosulfokarb i luft från M42 under den tredje provtagningsperioden. Då olika pollinatörer är aktiva under olika perioder av en odlingsäsong kan det vara betydelsefullt att försöka fånga dynamiken i exponering och riskindex över större delen av säsongen åtminstone i ett initialt skede.

Riskindex

Baserat på toxicitetsstudier som tas fram inför registreringen av nya växtskyddsmedel skulle riktvärden eller toxicitetsvärden kunna tas fram för pollinatörer på motsvarande sätt som för vattenlevande organismer. Med hjälp av dessa kan de uppmätta halterna sättas i relation till troliga biologiska effekter. I denna studie har vi använt ett medelvärde av LD₅₀ oral och apikal (kontakt) för honungsbin. Dessa uppgifter brukar alltid finnas tillgängliga vilket ger en likvärdig bedömning för alla substanser. Ibland finns också studier på andra pollinatörer, t.ex. jordhumlor, men eftersom jordhumlor ofta är större än honungsbin tål de ofta en högre dos i laboriebaserade toxicitetsstudier (Arena och Sgolastra 2014). Humlor och solitärbin kan dock i sitt ekologiska sammanhang vara känsligare än honungsbin eftersom de har mindre eller helt saknar den buffrande kapaciteten ett honungsbisamhälle med flera tusen individer innebär (Rundlöf et al. 2015). Det behöver diskuteras vidare vilka värden som är lämpligast att använda som underlag för ett riskindex. Den metod som använts här behöver testas i relation till potential för biologiska effekter. En enskild sådan utvärdering gjordes för två vilda arter av bin i Kalifornien och där relaterade deras reproduktion negativt till riskindexet (Rundlöf et al. 2022).

Biologisk mångfald

För att faktiskt mäta eventuella effekter på biologisk mångfald behöver även den övervakas. Biologisk mångfald kan mätas på olika sätt. I ett parallellt projekt till detta, finansierat av Naturvårdsverket, utvecklas metoder för provtagning av pollinatörer och det finns flera andra studier som kan vara relevanta att titta vidare på i sammanhanget.

När data finns för biologisk mångfald och växtskyddsmedelsrisker på samma platser kan det möjligen gå att utveckla en biologisk indikator som svarar mot växtskyddsmedelspåverkan. Det skulle vara intressant att testa samma koncept som SPEAR-index för akvatisk bottenfauna vilket är en indikator specifikt framtagen för att visa påverkan från växtskyddsmedel (Liess & von der Ohe 2005). De olika arterna klassas som toleranta eller känsliga baserat på ett antal olika kriterier. Områden som har många känsliga arter bedöms som opåverkade medan de platser som har mest toleranta arter bedöms som påverkade.

Lärdomar från andra projekt

I det EU-finansierade projektet INSIGNIA-EU (<https://www.insignia-bee.eu>), som syftar till att utveckla ett nytt protokoll för miljöövervakning, har liknande provtagning som i AirBeeSafe utförts för att studera honungsbins exponering för växtskyddsmedel och det pollen de samlar in från det omgivande landskapet. I det projektet har emellertid delvis andra metoder använts för provtagning och analys. Istället för att analysera växtskyddsmedel i bin, pollen, nektar och luft så placerades passiva provtagare (APIStrip) i bikuporna, med en annan typ av adsorbent (Tenax) jämfört med den som använts i luftpumparna i AirBeeSafe. Förekomst av ämnen som fastnat på adsorbenten kunde sedan studeras via liknande kemiska analysmetoder som i AirBeeSafe. Precis som i AirBeeSafe samlades pollen in med hjälp av pollenfällor för att studera vilka växtarter bina besökt, men DNA-teknik användes istället för AI-baserade bildanalyser av morfologi för att generera data om pollenets växtursprung. Resultaten från dessa analyser används sedan för att utveckla modeller för att förutse pollen-diversitet och exponering för växtskyddsmedel och därmed vilken risk bin är utsatta för på lokal nivå. En annan skillnad mellan INSIGNIA-EU och AirBeeSafe är att provtagningen har utförts av biodlar-volontärer som ett "citizen science" projekt. Dessutom begränsas inte projektet till analyser av växtskyddsmedel utan inkluderar även förekomst av mikroplaster, tungmetaller och andra luftföroreningar.

Det finns både för- och nackdelar med metodiken i INSIGNIA-EU jämfört med den i AirBeeSafe. Aktiva provtagare av luft som använts i AirBeeSafe möjliggör kvantifiering av ämnens koncentration i luft, vilket inte alltid är fallet när passiva provtagare används. Kostnaden för de passiva APIStrip provtagarna är förmodligen lägre jämfört med luftpumparna vi använt, men dessa kostnader är i längden små jämfört med kostnaderna för de kemiska analyserna. Provtagning av luft utanför kupan ger en mer generell bild av luftmatrisen medan provtagning inne i kupan speglar honungsbins inommiljö, och dessutom substanser som potentiellt används för skadegörarkontroll i kupan. Provtagningen i kupan speglar sannolikt därför sämre de lufthalter som pollinatörer utsätts för mer generellt. Provtagning av nektar och pollen som honungsbin samlar in ger ytterligare information med bred relevans för andra insekter som konsumerar dessa ämnen. Att som i INSIGNIA-EU låta biodlar-volontärer sköta provtagningen skulle vara en möjlighet även i en eventuell fortsatt övervakning i Sverige då både insamling av pollen och provtagning med luftpumparna är lätt att utföra.

9. Referenser

- Ahrné, K., Johansson, N., Ljungberg, H. & Nordström, S. (2022). Blombesökande insekter – pollen och nektar som föda hos steklar, fjärilar, tvåvingar och skalbaggar. SLU Artdatabanken rapporterar 27. Uppsala: SLU Artdatabanken.
- Arena, M. & Sgolastra, F. (2014) A meta-analysis comparing the sensitivity of bees to pesticides. *Ecotoxicology*, 23:324-334.
- Asp, J. & Kreuger, J., 2005. Riskvärdering av bekämpningsmedel i ytvatten – Utveckling och utvärdering av indikatorer baserade på riktvärden och miljöövervakningsdata. *Ekohydrologi* 88. Avdelningen för vattenvårdslära, Sveriges lantbruksuniversitet, Uppsala.
- Belden, J. B.; Gilliom, R. J.; Lydy, M. J. (2007) How well can we predict the toxicity of pesticide mixtures to aquatic life? *Int. Environ. Assess. Manage.* 3:364–372.
- Backhaus T, Faust M. (2012) Predictive environmental risk assessment of chemical mixtures: a conceptual framework. *Environ Sci Technol* 46:2564–73.
- Bekämpningsmedelsregistret, Kemikalieinspektionen
<https://apps.kemi.se/BkmRegistret/Kemi.Spider.Web.External/> (Hämtad 2022-10-19)
- Beug, H.-J. (2015) Leitfaden der Pollenbestimmung für Mitteleuropa und angrenzende Gebiete. Verlag Dr. Friedrich Pfeil, München.
- Boye, K., Lindström, B., Boström, G. & Kreuger, J. 2019. Long-term data from the Swedish national environmental monitoring program of pesticides in surface waters. *Journal of Environmental Quality*. 48:1109-1119
- Boye, K., Boström, G., Jonsson, O., Gönczi, M., Löfkvist, K. & Kreuger, J. (2021) Greenhouse production contributes to pesticide occurrences in Swedish streams. *Science of the Total Environment* 809: 152215.
- Boyle, N.K., Pitts-Singer, T.L., Abbott, J., Alix, A., Cox-Foster, D.L., Hinarejos, S., Lehmann, D.M., Morandin, L., O'Neill, B., Raine, N.E., Singh, R., Thompson, H.M., Williams, N.M. & Steeger, T. (2019) Workshop on Pesticide Exposure Assessment Paradigm for Non-Apis Bees: Foundation and Summaries. *Environmental Entomology*, 48:4–11.
- Borgström, P., Ahrné, K. & Johansson, N. (2018) Pollinatörer och pollinering i Sverige – värden, förutsättningar och påverkansfaktorer. Naturvårdsverkets rapport 4861. Naturvårdsverket, Stockholm.
- Boström, G., Lindström, B., Gönczi, M. och Kreuger, J. (2016) Nationell screening av bekämpningsmedel i yt- och grundvatten 2015 (pdf). CKB rapport 2016:1. Sveriges lantbruksuniversitet, Uppsala.
- Böhme, F., Bischoff, G., Zebitz, C.P.W., Rosenkranz, P. & Wallner, K. (2018) Pesticide residue survey of pollen loads collected by honeybees (*Apis mellifera*) in daily intervals at three agricultural sites in South Germany. *Plos One*, 13:e0199995.
- David, A., Botías, C., Abdul-Sada, A., Nicholls, E., Rotheray, E.L., Hill, E.M., & Goulson, D. (2016) Widespread contamination of wildflower and bee-collected pollen with complex mixtures of neonicotinoids and fungicides commonly applied to crops. *Environmental International* 88:169–178.
- De Oliveira, R.C., Queiroz, S.C.d.N., da Luz, C.F.P., Porto, R.S. & Rath, S. (2016) Bee pollen as a bioindicator of environmental pesticide contamination. *Chemosphere* 163:525-534.

Désert, M., Raviera, S., Gilleb, G., Quinapalloa, A., Armengaudb, A., Pochetc, G., Savellic, J-L., Worthama, H. & Quivet, E. (2018) Spatial and temporal distribution of current-use pesticides in ambient air of Provence-Alpes-Côte-d'Azur Region and Corsica, France. *Atmospheric Environment*, 192:241-256.

EC (2021) Commission Implementing Regulation (EU) 2021/2081 concerning the non-renewal of approval of the active substance indoxacarb.

EFSA Scientific Committee, More, S.J., Bampidis, V., Benford, D., Bennekou, S.H., Bragard, C., Halldorsson, T.I., Hernández-Jerez, A.F., Koutsoumanis, K., Naegeli, H., Schlatter, J.R., Silano, V., Nielsen, S.S., Schrenk, D., Turck, D., Younes, M., Benfenati, E., Castle, L., Cedergreen, N., Hardy, A., Laskowski, R., Leblanc, J.C., Kortenkamp, A., Ragas, A., Posthuma, L., Svendsen, C., Solecki, R., Testai, E., Dujardin, B., Kass, G.E.N., Manini, P., Jeddi, M.Z., Dorne, J-L.C.M. & Hogstrand, C. (2019) Guidance on harmonised methodologies for human health, animal health and ecological risk assessment of combined exposure to multiple chemicals. *EFSA Journal*, 17:5634.

EFSA (2022) Guidance on the assessment of exposure of operators, workers, residents and bystanders in risk assessment of plant protection products. *EFSA Journal*, 20:7032. doi: 10.2903/j.efsa.2022.7032

ExpoFIRST (2022). Exposure Factors Interactive Resource for Scenarios Tool (ExpoFIRST). V.2.1. <https://www.epa.gov/expobox/exposure-factors-interactive-resource-scenarios-tool-expofirst> (hämtad 2022-08-16)

Francisco, A.P., Harner, T. & Eng, A. (2017) Measurement of polyurethane foam – air partition coefficients for semivolatile organic compounds as a function of temperature: Application to passive air sampler monitoring. *Chemosphere*, 174:638-642.

Fredricsson, M., Danielsson, H., Hansson, K., Pihl Karlsson, G., Nerentorp, M., Potter, A., Hansson, H.C., Areskoug, H., Tunved, P., Mellqvist, J., Lindström, B., Nanos, T., Andersson, S., Carlund, T. & Leung, W. (2021) Nationell luftövervakning. Sakrapport med data från övervakning inom Programområde Luft t.o.m 2019.

Garthwaite, D., Sinclair, C., Glass, R., Pote, A., Trevisan, M., Sacchetti, G., Spanoghe, P., Doan Ngoc, K., Fevery, D., Machera, K., Charistou, A., Nikolopoulou, D., Arapaki, N., Tsakirakis, A., Gerritsen-Ebben, R., Spaan, S., Egea González, F., Stobiecki, S., Śliwiński, W., ... Hakaite, P. (2015) Collection of pesticide application data in view of performing Environmental Risk Assessments for pesticides. *EFSA Supporting Publication* 12:846E.

Goedkoop, W. & Kahlert, M. (2015) Biologiska effekter av bekämpningsmedel i vattendrag - erfarenheter från 6 års studier av bottenfauna och kiselalger i jordbruksbäckar. *CKB rapport*. 2015:2. Sveriges lantbruksuniversitet, Uppsala.

Goedkoop, W. & Kahlert, M. (2018) Undersökning av pesticidors akade effekter på bentiska organismsamhällen i jordbrukspåverkade vattendrag. *CKB rapport* 2018:2. Sveriges lantbruksuniversitet, Uppsala.

Graham, K. K., Milbrath, M.O., Zhang, Y., Soehnen, A., Baert, N., McArt, S., & Isaacs, R. (2021) Identities, concentrations, and sources of pesticide exposure in pollen collected by managed bees during blueberry pollination. *Scientific Reports*, 11:1–13.

Hallstam, S., Boström, G. & Gönczi, M. (2020) Övervakning av biologi i vattendrag i jordbruksintensiva områden - resultat av elva års övervakning samt utvärdering av övervakningsprogrammet. *CKB rapport* 2020:2. Sveriges lantbruksuniversitet, Uppsala.

Hladik, M.L., Vandever, M. & Smalling, K.L. (2016) Exposure of native bees foraging in an agricultural landscape to current-use pesticides. *Science of the Total Environment*, 542:469-477.

Inserm (ed.). (2013) Pesticides: Health effects. Report. Paris: Inserm, XII-1001 pp. - (Collective Expertise). <http://hdl.handle.net/10608/4820> (hämtad 2022-08-16)

Jansson, C. & Kreuger, J. (2010) Multiresidue analysis of 95 pesticides at low nanogram/liter level in surface water using online preconcentration and high performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Journal of AOAC International*, 93:1732-1747.

Jonsson, O., Fries, I. & Kreuger, J. (2013) Utveckling av analysmetoder och screening av växtskyddsmedel i bin och pollen. CKB rapport 2013:1. Sveriges lantbruksuniversitet, Uppsala.

Jonsson, O & Kreuger, J. (2017) Studie av växtskyddsmedels stabilitet i honungsbin samt av individvariation i fältexponering. CKB rapport 2017:1. Sveriges lantbruksuniversitet, Uppsala.

Jordbruksverket (2021a) Bekämpningsrekommendationer. Svampar och insekter 2021. Jordbruksverket, Jönköping.

Jordbruksverket (2021b) Växtskyddsmedel 2021 – frukt. Jordbruksverket, Jönköping.

Jordbruksverket (2021c) Preparat, farliga för pollinerande insekter, lantbruk och yrkesmässig trädgårdsodling 2021. Jordbruksverket. Jönköping.

Kemikalieinspektionen & SCB (2018) Växtskyddsmedel i jord- och trädgårdsbruket 2017. Användning i grödor. Kemikalieinspektionen, Sundbyberg.

Kendall, L.K., Mola, J.M., Portman, Z.M., Cariveau, D.P., Smith, H.G. & Bartomeus, I. (2022) The potential and realized foraging movements of bees are differentially determined by body size and sociality. *Ecology*, in press (10.1002/ecy.3809).

Klein, A.-M., Vaissière, B.E., Cane, J.H., Steffan-Dewenter, I., Cunningham, S.A., Kremen, C. & Tscharntke, T. (2007) Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 274:303-313.

Knapp, J., Nicholson, C.C., Jonsson, O., de Miranda, J.R. & Rundlöf, M. (2022a) Ecological traits interact with landscape context to determine bees' pesticide risk. Manuskript under granskning.

Knapp J.L., Bates, A., Jonsson, O., Klatt, B., Krausl, T., Sahlin, U., Svensson, G.P. & Rundlöf, M (2022b) Pollinators, pests and yield—Multiple trade-offs from insecticide use in a mass-flowering crop. *Journal of Applied Ecology* 59:2419-2429.

Kreuger, J., Jonsson, O., Löfkvist, K., Hansson, T., Boström, G., Gutfreund, C., Lindström, B. & Gönczi, M. (2019) Screening av växtskyddsmedel i vattendrag som avvattnar växthusområden i södra Sverige 2017-2018. CKB rapport 2019:1. Sveriges lantbruksuniversitet, Uppsala.

Kyriakopoulou, K., Kandris, I., Pachiti, I., Kasiotis, K.M., Spyropoulou, A., Santourian, A., Kitromilidou, S., Pappa, G. & Glossioti, M. (2017) Collection and analysis of pesticide residue data for pollen and nectar – final report. EFSA Supporting Publication 14.

Leonhardt, S.D. & Blüthgen, N. (2012) The same, but different: pollen foraging in honeybee and bumblebee colonies. *Apidologie* 43:449-464.

- Liess, M. & von der Ohe, P.C. (2005) Analyzing effects of pesticides on invertebrate communities in streams. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 24:954-965.
- Lindström, B., Boström, G., Gönczi, M. och Kreuger, J. (2017) Nationell screening av bekämpningsmedel i åar i jordbruksområden 2016 - Uppföljning av 2015 års undersökning. Rapport 2017:5. Sveriges lantbruksuniversitet, Uppsala.
- López, A., Coscollà, L. & Yusà, V. (2018) Evaluation of sampling adsorbents and validation of a LC-HRMS method for determination of 28 airborne pesticides. *Talanta*, 189: 211-219.
- McArt, S.H., Urbanowicz, C., McCoshum, S., Irwin, R.E., Adler, L.S. (2017) Landscape predictors of pathogen prevalence and range contractions in US bumblebees. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 284:20172181.
- McAulay, M.K., Killingsworth, S.Z. & Forrest, J.R.K. (2021) Understanding pollen specialization in mason bees: a case study of six species. *Oecologia*, 195:559-574.
- Mullin, C.A., Frazier, M., Frazier, J.L., Ashcraft, S., Simonds, R., van Engelsdorp, D. & Pettis, J.S. (2010) High levels of miticides and agrochemicals in North American apiaries: implications for honey bee health. *Plos One*, 5:e9754.
- Nanos T., Gutfreund C., Lindström, B. (2021). Resultat från miljöövervakningen av bekämpningsmedel (växtskyddsmedel). Årssammanställning 2019. Sveriges lantbruksuniversitet, Uppsala.
- Nascimento, M.M., da Rocha, G.O. & de Andrade, J.B. (2018) Pesticides in the atmospheric environment: an overview on their determination methodologies. *Analytical Methods*, 10:4484-4504.
- Nicholson, C.C. & Williams, N.M. (2021) Cropland heterogeneity drives frequency and intensity of pesticide use. *Environmental Research Letters* 16: 074008.
- Nowell, L.H., Norman, J.E., Moran, P.W., Martin, J.D. & Stone, W.W. (2014) Pesticide Toxicity Index—A tool for assessing potential toxicity of pesticide mixtures to freshwater aquatic organisms. *Science of the Total Environment* 476–477:144–157.
- Ollerton, J. Winfree, R. & Tarrant, S. (2011) How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos*, 120:321-326.
- Olsson, O., Karlsson, M., Persson, A.S., Smith, H.G., Varadarajan, V., Yourstone, J. & Stjernman, M. (2021) Efficient, automated and robust pollen analysis using deep learning. *Methods in Ecology and Evolution*, 12:850-86.
- OPEX (2022). Exposure assessment for operator, worker, bystander and resident. v.0.3.22. <https://r4eu.efsa.europa.eu/app/opex> (hämtad 2022-08-16)
- PPDB (2022) Pesticide Properties DataBase. University of Hertfordshire. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/index.htm> (hämtad 2022-01-31)
- Rundlöf, M., Andersson, G.K.S., Bommarco, R., Fries, I., Hederström, V., Herbertsson, L., Jonsson, O., Klatt, B.K., Pedersen, T.R., Yourstone, J. & Smith, H.G. (2015) Seed coating with a neonicotinoid insecticide negatively affects wild bees. *Nature*, 521:77-80.
- Rundlöf, M. & Lundin, O. (2019) Can costs of pesticide exposure for bumblebees be balanced by benefits from a mass-flowering crop? *Environmental Science and Technology*, 53:14144-14151.

- Rundlöf, M., Stuligross, C., Lindh, A., Malfi, R.L., Burns, K., Mola, J.M., Cibotti, S., & Williams, N.M. (2022) Flower plantings support wild bee reproduction and may also mitigate pesticide exposure effects. *Journal of Applied Ecology*, 59: 2117-2127.
- Sanchez-Bayo, F. & Goka, K. (2014) Pesticide Residues and Bees – A Risk Assessment. *PLoS ONE*, 9:e94482.
- Sgolastra, F., Hinarejos, S., Pitts-Singer, T.L., Boyle, N.K., Joseph, T., Lückmann, J., Raine, N.E., Singh, R., Williams, N.M., & Bosch, J. (2019) Pesticide exposure assessment paradigm for solitary bees. *Environmental Entomology*, 48:22–35.
- Sponsler, D.B. Grozinger, C.M., Hitaj, C., Rundlöf, M., Botías, C., Code, A., Lonsdorf, E.V., Melathopoulos, A.P., Smith, D.J., Suryanarayanan, S., Thogmartin, W.E., Williams, N.M., Zhang, M., & Douglas, M.R. (2019) Pesticides and pollinators: A socioecological synthesis. *Science of the Total Environment*, 662:1012–1027.
- Steffan-Dewenter, I., & Kuhn, I. (2003) Honeybee foraging in Differentially Structured Landscapes.” *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 270:569–75.
- Stoner, KA. & Eitzer, BD. (2013) Using a Hazard Quotient to Evaluate Pesticide Residues Detected in Pollen Trapped from Honey Bees (*Apis mellifera*) in Connecticut. *PLoS ONE*, 8:e77550.
- Straub, L., Williams, G.R., Pettis, J., Fries, I. & Newmann, P. (2015) Superorganism resilience: eusociality and susceptibility of ecosystem service providing insects to stressors. *Current Opinion in Insect Science* 12:109–112.
- US EPA (2011) Exposure Factors Handbook. U.S. Environmental protection agency national center for environmental assessment, Washington, DC. EPA/600/R-09/052F). <https://www.epa.gov/expobox/about-exposure-factors-handbook> (hämtad 2022-08-16)
- US EPA (2000) Risk Characterization Handbook. Science Policy Council. EPA 100-B-00-002. <https://clu-in.org/download/contaminantfocus/sediments/risk-characterization-handbook.pdf> (hämtad 2022-08-16)
- Végh, R., Sörös, C., Majercsik, N. & Sipos, L. (2022) Determination of pesticides in bee pollen: validation of a multiresidue high-performance liquid chromatography-mass spectrometry/mass spectrometry method and testing pollen samples of selected botanical origin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (in press).
- Woodard, S.H. & Jha, S. (2017) Wild bee nutritional ecology: predicting pollinator population dynamics, movement, and services from floral resources. *Current Opinion in Insect Science*, 21:83-90.
- Woodcock, B.A., Isaac, N.J.B., Bullock, J.M., Roy, D.B., Garthwaite, D.G., Crowe, A. & Pywell, R.F. (2016) Impacts of neonicotinoid use on long-term population changes in wild bees in England. *Nature Communications*, 7:12459.
- Yourstone, J., Karlsson, M., Klatt, B.K., Olsson, O. & Smith, H.G. (2021) Effects of crop and non-crop resources and competition: high importance of trees and oilseed rape for solitary bee reproduction. *Biological Conservation*, 261:109249.
- Zioga, E., Kelly, R., White, B. & Stout, J.C. (2020) Plant protection product residues in plant pollen and nectar: a review of current knowledge. *Environmental Research*, 189:109873.

10. Bilagor

Bilaga 1. Analyserade ämnen och uppskattade detektionsgränser (LOD) i olika provmatriser

Bilaga 2. Utvärdering av luftprovtagarens funktion

Bilaga 3. Detekterade substanser och deras toxicitetsvärden för bin

Bilaga 1. Analyserade ämnen och uppskattade detektionsgränser (LOD) i olika provmatriser

				Luft LOD ^a (ng/m ³)	Pollen LOD ^b (ng/g)	Nectar LOD ^c (ng/ml)	Bivävnad LOD ^d (ng/g)
Ämne	CAS Nr	Metodik					
1	acetamiprid	135410-20-7	LC-MS/MS	0,0005	0,03	0,05	0,01
2	alaklor	15972-60-8	LC-MS/MS	1	NA	5	1
3	amidosulfuron	120923-37-7	LC-MS/MS	1	5	0,5	0,1
4	amisulbrom	348635-87-0	LC-MS/MS	5	NA	20	NA
5	atrazin	1912-24-9	LC-MS/MS	0,005	0,1	0,1	0,05
6	atrazindesetyl	6190-65-4	LC-MS/MS	0,005	5	0,05	0,05
7	atrazindesisopropyl	1007-28-9	LC-MS/MS	0,1	1	0,5	0,1
8	azoxystrobin	131860-33-8	LC-MS/MS	0,005	0,05	0,05	0,02
9	BAM	2008-58-4	LC-MS/MS	0,01	1	0,1	0,5
10	bensovindiflupyr	1072957-71-1	LC-MS/MS	0,1	0,3	0,1	0,2
11	bitertanol	55179-31-2	LC-MS/MS	0,1	10	2	0,2
12	bixafen	581809-46-3	LC-MS/MS	0,5	0,3	0,1	0,2
13	boskalid	188425-85-6	LC-MS/MS	0,01	1	0,5	3
14	cyazofamid	120116-88-3	LC-MS/MS	0,5	1	0,5	2
15	cyflufenamid	180409-60-3	LC-MS/MS	1	5	0,5	NA
16	cykloxidim	101205-02-1	LC-MS/MS	0,05	1	1	50
17	cymoxanil	57966-95-7	LC-MS/MS	0,01	5	0,5	1
18	cyprodinil	121552-61-2	LC-MS/MS	0,1	2	0,5	2
19	difenokonazol	119446-68-3	LC-MS/MS	0,05	0,3	0,5	1
20	diflufenikan	83164-33-4	LC-MS/MS	0,01	5	0,5	1
21	dimetoat	60-51-5	LC-MS/MS	0,01	0,5	0,1	0,1
22	dimetomorf	110488-70-5	LC-MS/MS	0,01	0,1	0,5	0,2
23	diuron	330-54-1	LC-MS/MS	0,1	5	0,5	1
24	epoxikonazol	135319-73-2	LC-MS/MS	0,05	10	0,3	20
25	etofumesat	26225-79-6	LC-MS/MS	0,01	1	0,5	5
26	fenmedifam	13684-63-4	LC-MS/MS	0,005	0,1	0,05	0,1
27	fenpropidin	67306-00-7	LC-MS/MS	0,01	0,3	0,3	0,05
28	fenpropimorf	67564-91-4	LC-MS/MS	0,01	0,5	0,1	1
29	florasulam	145701-23-1	LC-MS/MS	0,05	0,5	0,3	2
30	fludioxonil	131341-86-1	LC-MS/MS	0,5	2	1	1
31	flufenacet	142459-58-3	LC-MS/MS	0,01	0,1	0,05	1
32	fluopikolid	239110-15-7	LC-MS/MS	0,5	5	1	1
33	fluopyram	658066-35-4	LC-MS/MS	0,01	0,03	0,05	0,02
34	fluoxastrobin	361377-29-9	LC-MS/MS	0,05	0,5	0,2	0,1
35	flupyrsulfuronmetyl	144740-54-5	LC-MS/MS	0,05	0,5	0,5	0,2
36	flurtamon	96525-23-4	LC-MS/MS	0,01	0,05	0,05	0,1
37	fluxapyroxad	907204-31-3	LC-MS/MS	0,01	0,05	0,05	0,1
38	foramsulfuron	173159-57-4	LC-MS/MS	0,01	0,05	0,5	0,2
39	hexazinon	51235-04-2	LC-MS/MS	0,01	2	0,05	0,05
40	hexytiazox	78587-05-0	LC-MS/MS	5	0,5	0,3	10

				Luft LOD^a	Pollen LOD^b	Nectar LOD^c	Bivävnad LOD^d
	Ämne	CAS Nr	Metodik	(ng/m³)	(ng/g)	(ng/ml)	(ng/g)
41	imazalil	35554-44-0	LC-MS/MS	0,05	5	0,5	1
42	imidakloprid	138261-41-3	LC-MS/MS	0,05	0,1	0,5	1
43	indoxakarb	173584-44-6	LC-MS/MS	0,2	0,3	1	1
44	ipkonazol	125225-28-7	LC-MS/MS	0,5	NA	1	5
45	isoproturon	34123-59-6	LC-MS/MS	0,001	0,01	0,04	0,05
46	isopyrazam	881685-58-1	LC-MS/MS	0,05	0,1	0,1	0,1
47	jodsulfuronmetyl	144550-36-7	LC-MS/MS	0,1	5	5	2
48	karbendazim	10605-21-7	LC-MS/MS	0,001	0,05	0,1	0,02
49	karfentrazonetyl	128639-02-1	LC-MS/MS	0,5	0,5	0,5	1
50	kinmerak	90717-03-6	LC-MS/MS	0,05	NA	0,2	NA
51	kletodim	99129-21-2	LC-MS/MS	NA	NA	1	NA
52	klomazon	81777-89-1	LC-MS/MS	0,003	0,2	0,1	1
53	kloridazon	1698-60-8	LC-MS/MS	0,003	0,2	0,08	1
54	klotianidin	210880-92-5	LC-MS/MS	0,005	0,2	0,5	1
55	linuron	330-55-2	LC-MS/MS	0,05	2	0,1	1
56	mandipropamid	374726-62-2	LC-MS/MS	0,02	0,2	0,1	0,2
57	mesotrion	104206-82-8	LC-MS/MS	0,1	NA	50	NA
58	metabenziazuron	18691-97-9	LC-MS/MS	0,003	0,2	0,05	0,02
59	metalaxyl	57837-19-1	LC-MS/MS	0,005	0,05	0,1	0,1
60	metamitron	41394-05-2	LC-MS/MS	0,3	0,3	0,1	0,2
61	metazaklor	67129-08-2	LC-MS/MS	0,0005	0,1	0,05	0,2
62	metiokarb	2023-65-7	LC-MS/MS	0,05	5	0,5	0,5
63	metkonazol	125116-23-6	LC-MS/MS	0,5	5	1	2
64	metobromuron	3060-89-7	LC-MS/MS	0,01	0,3	0,5	2
65	metolaklor	51218-45-2	LC-MS/MS	0,05	0,5	0,5	2
66	metrafenon	220899-03-6	LC-MS/MS	0,05	0,5	0,5	1
67	metribuzin	21087-64-9	LC-MS/MS	0,2	5	0,3	2
68	metsulfuronmetyl	74223-64-6	LC-MS/MS	0,05	5	0,5	0,2
69	napropamid	15299-99-7	LC-MS/MS	0,01	0,1	0,1	0,2
70	oxatiapiprolin	1003318-67-9	LC-MS/MS	0,05	0,5	0,5	0,02
71	pendimetalin	40487-42-1	LC-MS/MS	0,1	NA	0,5	NA
72	penkonazol	66246-88-6	LC-MS/MS	0,05	0,5	0,5	3
73	pikolinafen	137641-05-5	LC-MS/MS	0,1	10	0,5	10
74	pikoxystrobin	117428-22-5	LC-MS/MS	0,05	0,1	0,05	0,1
75	pirimikarb	23103-98-2	LC-MS/MS	0,01	1	0,1	2
76	prokloraz	67747-09-5	LC-MS/MS	0,1	0,5	0,3	1
77	propakizafop	111479-05-1	LC-MS/MS	0,5	5	0,5	1
78	propamokarb	24579-73-5	LC-MS/MS	0,002	0,1	0,1	0,1
79	propikonazol	60207-90-1	LC-MS/MS	0,05	5	1	10
80	propyzamid	23950-58-5	LC-MS/MS	0,02	0,5	0,1	1
81	prosulfokarb	52888-80-9	LC-MS/MS	0,2	1	0,3	0,5
82	protiokonazol-destio	120983-64-4	LC-MS/MS	0,05	2	0,5	3
83	pymetrozin	123312-89-0	LC-MS/MS	0,05	NA	0,5	2
84	pyraklostrobin	175013-18-0	LC-MS/MS	0,005	0,05	0,1	0,2

				Luft LOD ^a (ng/m ³)	Pollen LOD ^b (ng/g)	Nectar LOD ^c (ng/ml)	Bivävnad LOD ^d (ng/g)
Ämne	CAS Nr	Metodik					
85	pyriofenon	688046-61-9	LC-MS/MS	0,05	1	0,5	0,2
86	pyroxsulam	422556-08-9	LC-MS/MS	0,01	0,5	0,5	0,1
87	rimsulfuron	122931-48-0	LC-MS/MS	0,05	0,5	0,5	1
88	sedaxan	874967-67-6	LC-MS/MS	0,01	0,5	0,1	2
89	siltiofam	175217-20-6	LC-MS/MS	NA	0,5	0,1	2
90	simazin	122-34-9	LC-MS/MS	0,005	5	0,5	1
91	spiroxamin	118134-30-8	LC-MS/MS	0,001	0,5	0,5	0,1
92	sulfosulfuron	141776-32-1	LC-MS/MS	0,3	1	1	0,2
93	tebukonazol	107534-96-3	LC-MS/MS	0,05	1	1	5
94	terbutryn	886-50-0	LC-MS/MS	0,05	5	0,5	2
95	terbutylazin	5915-41-3	LC-MS/MS	0,01	0,5	0,5	1
96	terbutylazidesetyl	30125-63-4	LC-MS/MS	0,005	5	0,1	5
97	tiakloprid	111988-49-9	LC-MS/MS	0,001	0,05	0,01	0,2
98	tiametoxam	153719-23-4	LC-MS/MS	0,005	2	0,1	1
99	tienkarbazon-metyl	317815-83-1	LC-MS/MS	0,2	10	20	5
100	tifensulfuronmetyl	79277-27-3	LC-MS/MS	0,05	1	1	0,5
101	tiofanatmetyl	23564-05-8	LC-MS/MS	NA	NA	1	NA
102	triallat	2303-17-5	LC-MS/MS	0,2	NA	1	NA
103	tribenuronmetyl	101200-48-0	LC-MS/MS	0,05	0,1	0,1	0,2
104	trifloxystrobin	141517-21-7	LC-MS/MS	0,03	0,1	0,05	0,1
105	trifloxystrobin-syra	252913-85-2	LC-MS/MS	0,2	10	1	0,5
106	triflusaluronmetyl	126535-15-7	LC-MS/MS	0,02	0,1	0,1	0,5
107	trinexapak-etyl	95266-40-3	LC-MS/MS	0,5	2	1	5
108	tritikonazol	131983-72-7	LC-MS/MS	0,5	5	5	20
109	alfa-cypermترین	67375-30-8	GC-MS	0,01	1	NA	NA
110	beta-cyflutrin	1820573-27-0	GC-MS	0,05	1	NA	NA
111	cyflutrin	68359-37-5	GC-MS	0,03	1	NA	NA
112	cypermترین	52315-07-8	GC-MS	0,01	0,5	NA	NA
113	deltamترین	52918-63-5	GC-MS	0,01	1	NA	NA
114	endosulfan-alfa	959-98-8	GC-MS	0,003	0,5	NA	NA
115	endosulfan-beta	33213-65-9	GC-MS	0,001	0,5	NA	NA
116	endosulfansulfat	1031-07-8	GC-MS	0,001	0,2	NA	NA
117	esfenvalerat	66230-04-4	GC-MS	0,003	1	NA	NA
118	hexaklorbensen	118-74-1	GC-MS	0,02	0,09	NA	NA
119	klorpyrifos	2921-88-2	GC-MS	0,01	0,5	NA	NA
120	lambda-cyhalotrin	91465-08-6	GC-MS	0,004	0,5	NA	NA
121	permetrin	52645-53-1	GC-MS	0,01	10	NA	NA
122	tau-fluvalinat	102851-06-9	GC-MS	0,01	1	NA	NA

NA: Fungerade inte i metoden, alternativt provmatrisen analyserades inte med metoden.

^a Detektionsgränser uppskattade från tillsatsförsök till adsorbent/filter motsvarande koncentrationer 0,0067-125 ng/m³, samt från fynd i studieprover.

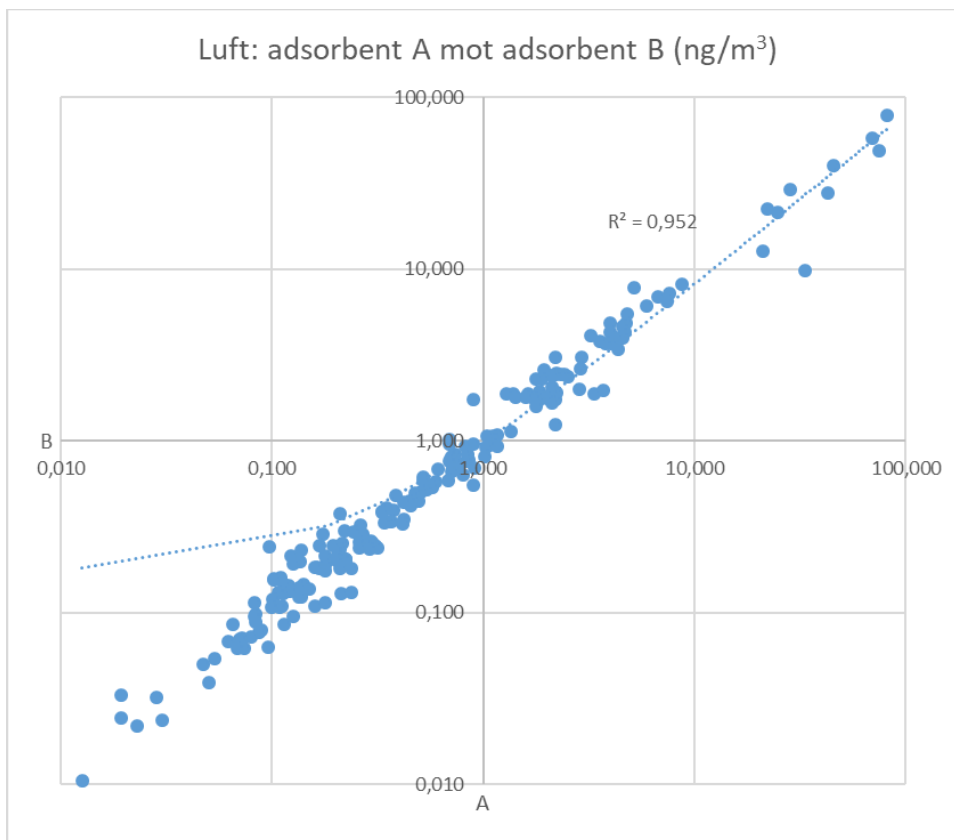
^b Detektionsgränser uppskattade från tillsatsförsök till pollen vid koncentrationer 0,1-125 ng/g, samt från fynd i studieprover.

^c Detektionsgränser uppskattade från kalibreringskurva i sockerlösning.

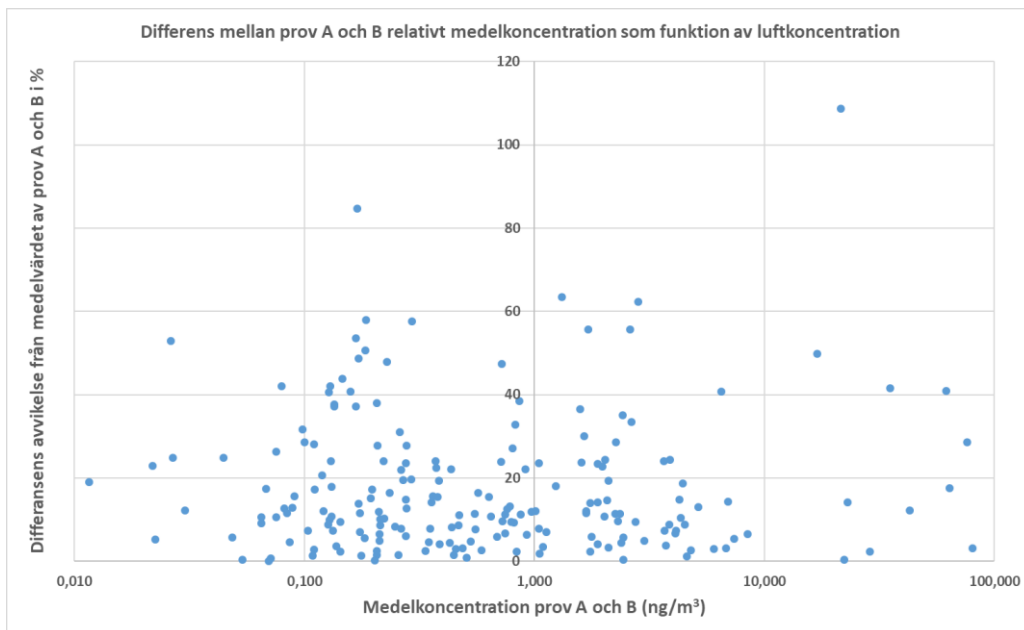
^d Detektionsgränser uppskattade från tillsatsförsök till bivävnad vid koncentrationer 2,5-62,5 ng/g, samt från fynd i studieprover.

Bilaga 2. Utvärdering av luftprovtagarens funktion

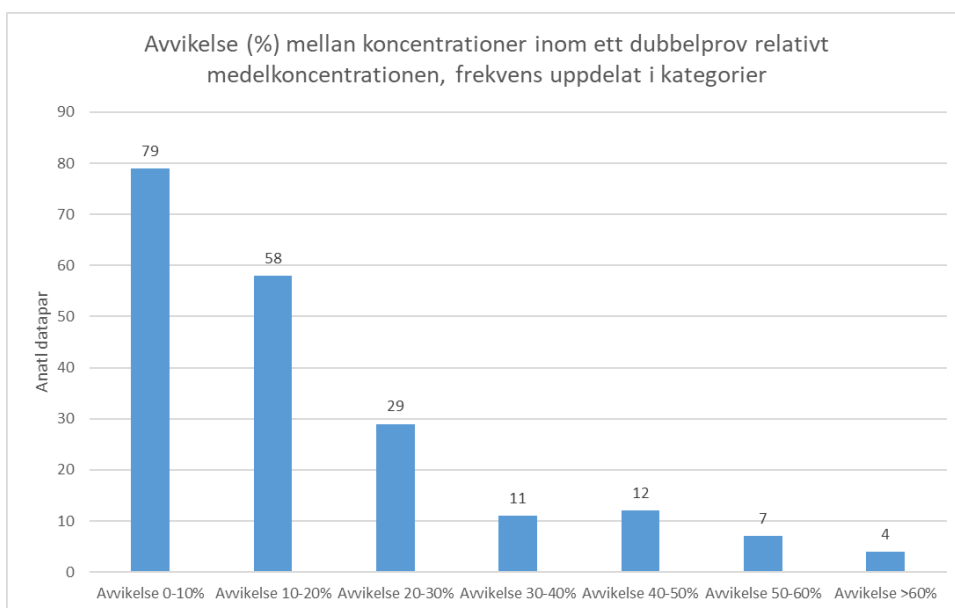
För att kunna bedöma om flödena genom de två parallella luftprovtagarna var lika stora analyserades 28 dubbelprover (dvs. 56 prover totalt) vilket resulterade i 200 datapar fördelat på 28 olika ämnen. Då de olika dataparen plottades mot varandra erhöles korrelationen $R^2=0,952$ vilket får anses bra, inte minst med tanke på att spridningen mellan de båda dubbelproven här representerar inte bara skillnader i faktisk provvolym utan även spridning härstammande från provupparbetning och instrumentell analys med LC-MS/MS. Vidare utvärderades skillnaden i koncentration mellan de två proven (A och B) inom ett datapar dividerat med medelkoncentrationen. Medel- och median för dessa avvikelser var 18% respektive 12% och för 166 av de 200 dataparen var den relativa avvikelsen mindre än 30%. Spridningen mellan dubbelproven verkade inte korrelera med uppmätta koncentrationer.



Figuren visar resultaten från de två parallella provtagarna (A och B) plottade mot varandra. Dat utgörs av uppmätta koncentrationer i 28 dubbelprov (56 prover totalt) som gav 200 datapar fördelat på 28 olika ämnen.



Figuren visar samma data som i figuren ovan fast här som den relativa avvikelsen mellan de två dubbelproven A och B ($[A-B]/\text{medel av A och B}$) som funktion av medelkoncentrationen av A och B.



Figuren visar frekvenser för olika avvikelsekategorier, baserat på samma dataunderlag som figurerna ovan.

Bilaga 3. Detekterade substanser och deras toxicitetsvärden för bin

Lista över alla substanser som har detekterats i någon matris samt vilken typ av substans det är (F = fungicid, H = herbicid, I = insekticid, N = nedbrytningsprodukt, TV = tillväxtreglerare) och medelvärde av substansens toxicitet för bin. Toxiciteten är ett medelvärde av LD₅₀ oral och LD₅₀ kontakt för honungsbin (PPDB, 2022). För vissa nedbrytningsprodukter har samma värde som för deras modersubstans antagits.

Substans	Typ av substans	Medelvärde av toxicitet för bin (µg per bi)
acetamiprid	I	11
alaklor	H	16
alfa-cypermترین	I	0,046
amidosulfuron	H	>105
amisulbrom	F	>100
atrazin	H	>100
azoxistrobin	F	>113
BAM ^a	N (H)	>90
bensovindiflupyr	F	>105
beta-cyflutrin	I	0,031
bitertanol	F	>152
bixafen	F	>111
boskalid	F	>183
cyazofamid	F	>126
cyflufenamid	F	>100
cyflutrin	I	0,026
cykloxidim	H	>101
cymoxanil	F	>93
cypermترین	I	0,098
cyprodinil	F	>94
deltametrin	I	0,036
difenokonazol	F	>139
diflufenikan	H	>104
dimetoat	I	0,10
dimetomorf	F	>67
diuron	H	>94
endosulfan-alfa/beta	I	>12
endosulfansulfat ^b	N (I)	>12
epoxikonazol	F	>92
esfenvalerat	I	0,14
etofumesat	H	>50
fenmedifam	H	>102
fenpropidin	F	>28
fenpropimorf	F	>98
florasulam	H	>100
fludioxonil	F	>100
flufenacet	H	>105
fluopikolid	F	>171
fluopyram	F	>101
fluoxastrobin	F	>522

Substans	Typ av substans	Medelvärde av toxicitet för bin (µg per bi)
flupyrsulfuronmetyl	H	>28
flurtamon	H	>103
fluxapyroxad	F	>105
foramsulfuron	H	>105
halauxifen-metyl	H	>103
hexaklorbensen ^c	F	-
hexazinon	H	>100
hexytiazox	I	>156
imazalil	F	37
imidakloprid	I	0,042
indoxakarb	I	0,16
ipkonazol	F	>100
isoproturon	H	198
isopyrazam	F	>196
jodsulfuronmetyl	H	>115
karbendazim	F	>75
karfentrazonetyl	H	>81
kletodim	H	>47
klomazon	H	>83
kloridazon	H	>200
klorpyrifos	I	0,11
klotianidin	I	0,024
kinmerak	H	>104
lambda-cyhalotrin	I	0,48
linuron	H	>105
mandipropamid	F	>200
mesotrion	H	>56
metabenstiazuron	H	0,80
metalaxyl	F	235
metamitron	H	>99
metazaklor	H	>86
metiokarb	I	0,16
metkonazol	F	>93
metobromuron	H	>160
metolaklor	H	>110
metrafenon	F	>107
metribuzin	H	>88
metsulfuronmetyl	H	>47
napropamid	H	>100
oxatiapiprolin	F	>70
pendimetalin	H	>101
penkonazol	F	>7
pikolinafen	H	>200
pikoxystrobin	F	>200
pirimikarb	I	11
prokinazid	F	>161
prokloraz	F	>121
propakizafop	H	>110

Substans	Typ av substans	Medelvärde av toxicitet för bin (µg per bi)
propamokarb	F	>92
propikonazol	F	>100
propyzamid	H	>118
prosulfokarb	H	>92
protiokonazol-destio ^b	N (F)	>86
pymetrozin	I	>81
pyraklostrobin	F	>105
pyriofenon	F	>100
pyroxsulam	H	>104
rimsulfuron	H	>64
sedaxan	F	>52
siltiofam	F	>103
simazin	H	97
spiroxamin	F	>52
sulfosulfuron	H	>28
tau-fluvalinat	I	12
tebukonazol	F	>142
terbutryn	H	0,69
terbutylazin	H	>27
terbutylazindesetyl ^b	N (H)	>27
tiaklopid	I	28
tiametoxam	I	0,015
tienkarbazon-metyl	H	>200
tifensulfuronmetyl	H	>54
tiofanatmetyl	F	>107
triallat	H	>106
tribenuronmetyl	H	>54
trifloxystrobin	F	>200
triflusulfuronmetyl	H	>100
trinexapak-etyl	TV	>200
tritikonazol	F	>96

a Medelvärde av toxiciteten för de två olika modersubstanserna fluopikolid (>100 µg/bi och >241 µg/bi) och diklobenil (11 µg/bi)

b samma toxicitet som för modersubstansen har antagits

c toxicitetsvärde saknas